



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

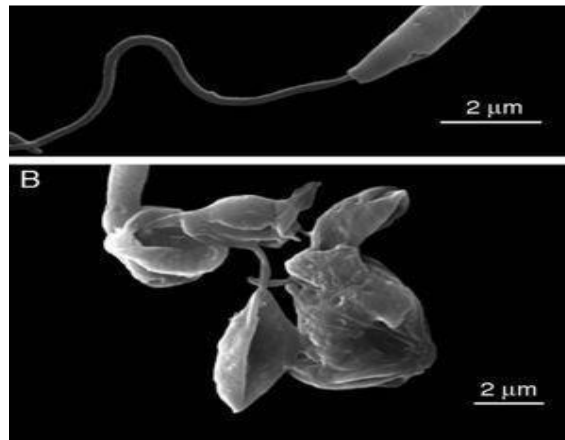


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Επισκόπηση της αντιλεϊσμανιακής δράσης φυσικών προϊόντων

POST GRADUATE THESIS

Recent update on natural products with antileishmanial activity



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Σταυρούλα Κρουστάλη

Stavroula Kroustali

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Χρυσάνθη Βογιατζάκη/ Chrysa Voyiatzaki

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2022



Faculty of Health and Caring Professions

Department of Biomedical Sciences

Postgraduate program:

Biomedical Methods and Technology in Diagnosis



POST GRADUATE THESIS

Recent update on natural products with antileishmanial activity

STAVROULA KROUSTALI

20011

krostav@yahoo.gr

FIRST SUPERVISOR

CHRISANTHI VOYIATZAKI

SECOND SUPERVISOR

DESPINA SMIRLIS

AIGALEO 2022

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 10/2/2023

Ονόματα εξεταστών Υπογραφή

1^{ος} Εξεταστής Χρυσάνθη Βογιατζάκη

2^{ος} Εξεταστής Δέσποινα Σμυρλή

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Σταυρούλα Κρουστάλη του Παναγιώτη, με αριθμό μητρώου 20011 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Σταυρούλα Κρουστάλη

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την εισηγήτρια μου Δρ.Χρυσάνθη Βογιατζάκη, Επίκουρη Καθηγήτρια του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών και τη Δρ. Δέσποινα Σμυρλή, Κύρια Ερευνήτρια του εργαστηρίου Μοριακής Παρασιτολογίας του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ για τις υποδείξεις, την καθοδήγηση, την πολύπλευρη συμπαράστασή τους, καθ' όλη την πορεία της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Τέλος θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, η οποία με στήριξε στις σπουδές μου ποικιλοτρόπως, φροντίζοντας για την καλύτερη δυνατή μόρφωσή μου.

Αφιέρωσεις

Στην Ευθυμία.

Περίληψη

Η λεισμανίαση αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές του κόσμου. Αιτιολογικός παράγοντας του νοσήματος είναι το ενδοκυττάριο παράσιτο του γένους *Leishmania*. Παρά το γεγονός ότι η λεισμανίαση είναι η δεύτερη σημαντικότερη παρασιτική νόσος μετά την ελονοσία σε έτη ζωής προσαρμοσμένα στην αναπηρία (DALYS), εξακολουθεί να είναι μια παραμελημένη τροπική νόσος, χωρίς διαθέσιμα εμβόλια για τον άνθρωπο. Η θεραπεία του νοσήματος, αποτελώντας σήμερα σχεδόν τον μοναδικό τρόπο ελέγχου, βασίζεται στη χημειοθεραπεία, όμως παρουσιάζει σημαντικούς περιορισμούς συμπεριλαμβανομένης της εμφάνισης ανθεκτικότητας στελεχών του παρασίτου στα υπάρχοντα φάρμακα. Επιτακτική είναι η ανάγκη να ξεπεραστούν οι σημερινοί περιορισμοί της χημειοθεραπείας της λεισμανίασης, δημιουργώντας νέα αντιλεισμανιακά φάρμακα. Φυσικά προϊόντα θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια καλή πηγή αντιλεισμανιακών φαρμάκων. Φυσικά προϊόντα, που δείχνουν αντιλεισμανικές ιδιότητες έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία με ιδιαίτερη έμφαση να δίνεται στους δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών. Οι κυριότερες κατηγορίες αυτών αποτελούν οι φαινολικές ενώσεις που ανιχνεύονται στο ολικό φαινολικό κλάσμα από παρθένο ελαιόλαδο, τα τερπένια τα οποία ανευρίσκονται στα αιθέρια έλαια με χαρακτηριστικό παράδειγμα το αιθέριο έλαιο του γένους *Piper* και του γένους *Syzygium* και οι αζωτούχες ενώσεις, τα σεσκιτερπένια δ-καδινένιο και (E)-καρυοφυλλένιο που ανευρίσκονται στο πτητικό έλαιο των φύλλων *A. Coriacea*, η οξυγονωμένη χαλκόνη *Licochalcone A* που μπορεί να απομονωθεί από τη ρίζα του κινεζικού φυτού γλυκόριζας *Glycyrrhiza glabra* και *Glycyrrhiza inflata* και η επιγαλλοκατεχίνη 3-O-γαλλική (EGCG) που αποτελεί флаβονοειδές συστατικό του πράσινου τσαγιού. Ένας νέος τομέας εξερεύνησης για την εύρεση πιθανών θεραπειών είναι τόσο τα ενδοφυτικά βακτήρια των φυτών *Fagonia indica*, *Polygala paniculata*, *P. polytycha* και οι ενδοφυτικοί μύκητες όπως είναι ο *Fusarium sp* και ο *Trichosporum sp.*, όσο και διάφορες θαλάσσιες πηγές και το μικροβίωμα αυτών. Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης, τα οποία συλλέχθηκαν από PubMed, Elvesier, Google Scholar, συνοψίζουν βιοδραστικά φυσικά προϊόντα και φυτά κατά των παρασίτων του γένους *Leishmania*, αναφέρονται και αξιολογούνται η ανασταλτική τους δραστηριότητα, η

μελέτη των οποίων δύναται να οδηγήσει σε νέους δρόμους τη θεραπεία και την πρόληψη της λεισμανίασης.

Abstract

Leishmaniasis is a major public health problem in tropical and subtropical countries around the world, caused by the intracellular protozoan parasite *Leishmania*. Despite leishmaniasis coming only second after malaria in DALYS, it remains a neglected tropical disease. Moreover, there are no human vaccines available and chemotherapies have major limitations including the appearance of drug resistance. Thus, as the only available treatment strategy is chemotherapy, it is crucial to overcome the current limitations of antileishmanial chemotherapy by improving the armory of current antileishmanial drugs. A good provenance of potential antiparasitics are natural compounds. Natural products have been reported in the literature as showing anti-leishmanial properties. The main categories of which are phenolic compounds detected for example in the total phenolic fraction of virgin olive oil, terpenes, which in turn are found in essential oils with atypical example being the essential oil of the genus *Piper* and the genus *Syzygium* and nitrogenous compounds. Promising compounds are the sesquiterpenes δ -ca-dinene and (E)-caryophyllene found in the volatile oil of *A. Coriacea* leaves, the oxygenated chalcone *Licochalcone A* which can be extracted from the root of the Chinese licorice plant *Glycyrrhiza glabra* and *Glycyrrhiza inflata*, and epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG) which is a flavonoid component of green tea. A new area of exploration to find potential treatments is both the endophytic bacteria of the plants *Fagonia indica*, *Polygala paniculata*, *P. polymyxa* and fungi such as *Fusarium sp* and *Trichosporum sp.*, as well as various marine sources and their microbiome. The review presented data are collected predominantly from Pubmed, Elsevier, Google Scholar reports. Summarize the activity of bioactive natural products and plants against *Leishmania* parasites, we also discuss inhibitory activities in order to

enlighten our perception for discovering new ways for the treatment of leishmaniasis .

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	5
Ευχαριστίες	6
Αφιερώσεις	7
Περίληψη	8
Abstract	10
Συνοπμογραφίες.....	14
Πρόλογος.....	17
Κεφάλαιο 1	19
Εισαγωγή.....	19
Το παράσιτο Leishmania	24
Διάγνωση.....	33
Θεραπείες για τη λεισμανίαση	36
Μελλοντική έρευνα.....	41
Κεφάλαιο 2.	43
Φυτικές πηγές	43
Δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών	43
Εισαγωγή σε φαρμακευτικά φυτά.....	55
Φυσικά αντιλεϊσμνιακά εκχυλίσματα, έλαια και απομονώσεις από φυτά.....	55
Ολικό φαινολικό κλάσμα από παρθένοελαιόλαδο	62
<i>Olea ferruginea</i>	63
Αιθέρια έλαια (Essential Oils ή EO).....	64
Αντιλεϊσμνιακή δράση του γένους Piper	68
<i>A. coriacea</i>	68
Φυσικά προϊόντα που στοχεύουν στην Αργινάση της Leishmania	69
Κινόνες (Quinones).....	70
Φαινολικά παράγωγα (Phenolic derivatives ή PD)	71
Κεφάλαιο 3. Ενδόφυτα	77
Ενδοφυτικά βακτήρια	78
<i>Fagonia indica</i>	83

Polygala paniculata	84
P. polymyxa	87
Ενδοφυτικοί μύκητες	90
Fusarium sp.	90
Bipolaris sp.....	92
Trichosporum sp.....	93
Aspergillus sp. strain F1544	94
Κεφάλαιο 4. Θαλάσσιες πηγές.....	96
Θαλάσσιο μικροβίωμα και θαλάσσια προϊόντα και οργανισμοί	96
Raecilomyces sp	108
Marine Cyanobacteria.....	108
Συμπεράσματα	109
Πίνακες.....	110
Πίνακας εικόνων	111
Βιβλιογραφία	112

Συντομογραφίες

Σύντμηση	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
C		
CBC	Complete Blood Count	Γενική αίματος
CDC	Centers for Disease Control and Prevention	Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Ασθενειών
CL	Cutaneous Leishmaniasis	Δερματική λεισμανίαση
CMP	Comprehensive Metabolic Panel	Ολοκληρωμένο μεταβολικό πάνελ
COPS	Colonizing opportunistic pathogens	Αποικισμός ευκαιριών παθογόνων
D		
DALYS	Disability-adjusted life years	Έτη ζωής προσαρμοσμένα στην αναπηρία
DAT	Direct Agglutination Test	Δοκιμή άμεσης συγκόλλησης
DCL	Disseminated Cutaneous Leishmaniasis	Διάχυτη δερματική λεισμανίαση
DL	Disseminated leishmaniasis	Διάχυτη λεισμανίαση
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DOT	Directly Observed Therapy	Άμεση παρατηρούμενη θεραπεία
E		
EC₅₀	The half-maximal effective concentration	Αποτελεσματική συγκέντρωση κατά 50%
EGCG	Epigallocatechin Gallate	Γαλλική επιγαλοκατεχίνη ή επιγαλοκατεχίνη-3-γαλλική
EKG	Electrocardiogram	Ηλεκτροκαρδιογράφημα
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	Ενζυμική Ανοσοροφητική Δοκιμασία
EO	Essential Oils	Αιθέρια έλαια

EVOO	Extra Virgin Olive Oil	Έξτρα παρθένο ελαιόλαδο
I		
IC₅₀	Half maximum inhibitory concentration	Ανασταλτική συγκέντρωση κατά 50%
IL	Interleukin	Ιντερλευκίνη
IM	Intramuscular	Ενδομυϊκά
INF	Interferon	Ιντερφερόνη
IV	Intravenous	Ενδοφλέβια
L		
LCA	Leishmaniocidal Activity	Λεισμανιοκτόνος δραστικότητα
LFT	Liver Functional Test	Τεστ ελέγχου λειτουργικότητας ήπατος
LN	Lymph Node	Λεμφαδένας
M		
MCL	Mucocutaneous Leishmaniasis	Βλεννογοδερματική λεισμανίαση
N		
NO	Nitric Oxide	Μονοξείδιο του αζώτου
NPE	Natural Products Extract	Εκχύλισμα Φυσικών Προϊόντων
NPE	Nonylphenol ethoxylates	Αιθοξυλικά εννεύλοφαινόλης
NTD	Neglected Tropical Diseases	Παραμελημένα Τροπικά Νοσήματα
P		
PAHO	Pan American Health Organization	
PCR	Polymerase Chain ReactionDNA	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης DNA
PD	Phenolic derivatives	Φαινολικά παράγωγα
T		

TPF	Total Phenolic Fraction	Ολικό φαινολικό κλάσμα
V		
VL	Visceral Leishmaniasis	Σπλαχνική λεισημανίαση
W		
W.H.O.	World Health Organisation	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, Π.Ο.Υ.

Πρόλογος

Η λεισμανίαση είναι παρασιτική νόσος, η αιτιοπαθογένεια της οποίας βασίζεται στο ενδοκυττάριο παράσιτο του γένους *Leishmania*. Ενδιάμεσοι ξενιστές του πρωτοζώου *Leishmania* είναι θηλυκές σκνίπες του γένους *Phlebotomus* (Ευρώπη, Ασία, Αφρική) και *Lutzomyia* (Αμερική), οι οποίες μεταδίδουν το παράσιτο σε ζώα (ζωόφιλες), ή σε άνθρωπο (ανθρωπόφιλες, ζωοανθρωπόφιλες) κατά την απομύζηση του αίματος από τον κύριο ξενιστή. Κύριοι ξενιστές του παρασίτου αποτελούν ο σκύλος, η αλεπού, το τσακάλι, ο λύκος, το ρακούν, υραξ, τρωκτικά και ο άνθρωπος. Ο τροπισμός του παρασίτου στο ανοσοποιητικό σύστημα των θηλαστικών εξαρτάται από το είδος του παρασίτου που μολύνει. Η λεισμανίαση μπορεί να εμφανιστεί με διάφορες κλινικές μορφές από τις οποίες τέσσερις είναι οι πλέον σημαντικές: η δερματική, βλεγοννοδερματική, η μετακαλαζάρ λεισμανίαση και η σπλαγχνική, η οποία είναι θανατηφόρα χωρίς την έγκαιρη και κατάλληλη θεραπεία. Η εμφάνιση της νόσου συνδέεται με τη φτώχεια και εντοπίζεται σε χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας, της Ανατολικής Αφρικής και της Λατινικής Αμερικής, με τον υποσιτισμό, την μη επαρκή ή σωστή λειτουργία της άμυνας του οργανισμού, τις περιβαλλοντικές αλλαγές όπως η αποψίλωση των δασών, η κατασκευή φραγμάτων, τα αρδευτικά συστήματα και η αστικοποίηση. Εκτιμάται ότι έως 1.000.000 νέες περιπτώσεις παρουσιάζονται ετησίως. Ακριβείς πληροφορίες σχετικά με την νόσο και το αντίκτυπο αυτής στην ποιότητα ζωής και στην πιθανότητα πρόωρου θανάτου μπορούν να συντελέσουν στην λήψη καλύτερων αποφάσεων από τους ειδικούς προκειμένου να γίνει καλύτερη κατανομή πόρων στον τομέα της υγείας. Για την καλύτερη αξιολόγηση ασθενειών σε παγκόσμιο επίπεδο ο Π.Ο.Υ. όρισε έναν δείκτη προκειμένου να εκτιμηθεί η συνολική επιβάρυνση που προκαλεί η νόσος στη ζωή ενός ατόμου. Το ακρωνύμιο του δείκτη αυτού εκφράζεται ως έτη προσαρμοσμένα στην αναπηρία (disability adjusted years, DALYS) (WHO, 2020). Επιπλέον, η αντιμετώπιση της παρασιτικής νόσου τόσο από άποψη πρόληψης όσο και από άποψη θεραπείας, αποτελεί επιτακτική αναγκαιότητα εξαιτίας της έλλειψης αποτελεσματικών ανθρώπινων εμβολίων και των περιορισμό των εφαρμοζόμενων θεραπειών όπως η ανάπτυξη παρασίτων που εμφανίζουν φαρμακευτική

αντίσταση, η τοξικότητα των χορηγούμενων φαρμάκων, οι δυσκολίες χορήγησης, το κόστος θεραπείας κ.ά. Για τους πιο πάνω λόγους είναι απαραίτητη η έρευνα για ανεύρεση νέων πιο αποτελεσματικών, ασφαλών αντιλεισματικών θεραπειών, ενθαρρύνοντας την αναζήτηση νέων βιοδραστικών ενώσεων φυσικής προέλευσης. Στη φύση υπάρχει πληθώρα πηγών για τη θεραπεία όχι μόνο της λειψμανίας, αλλά και άλλων ασθενειών. Τα φυτά μέχρι τώρα αποτελούσαν, την καλύτερη εναλλακτική για την σύνθεση νέων φαρμάκων. Η παρούσα εργασία στοχεύει στην ανασκόπηση της τρέχουσας γνώσης που αφορά στην έρευνα για την αντιλεισματική δράση φυσικών πηγών όπως είναι το θαλάσσιο βασίλειο, τα ενδόφυτα και οι μικροοργανισμοί.

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Η λεισμανίαση, παρασιτικό νόσημα που οφείλεται σε είδη του πρωτόζωου του γένους *Leishmania*, απαντάται σε χώρες γύρω και κάτω από τον Ισημερινό αλλά και σε χώρες της νότιας Ευρώπης (Georgiadou et al.,2015) (Ferreira et al.,2022). Αξίζει να σημειωθεί ότι από τα υπάρχοντα γνωστά 54 είδη *Leishmania*, τα 21 είδη προκαλούν λεισμανίαση (Raj et al.,2020).

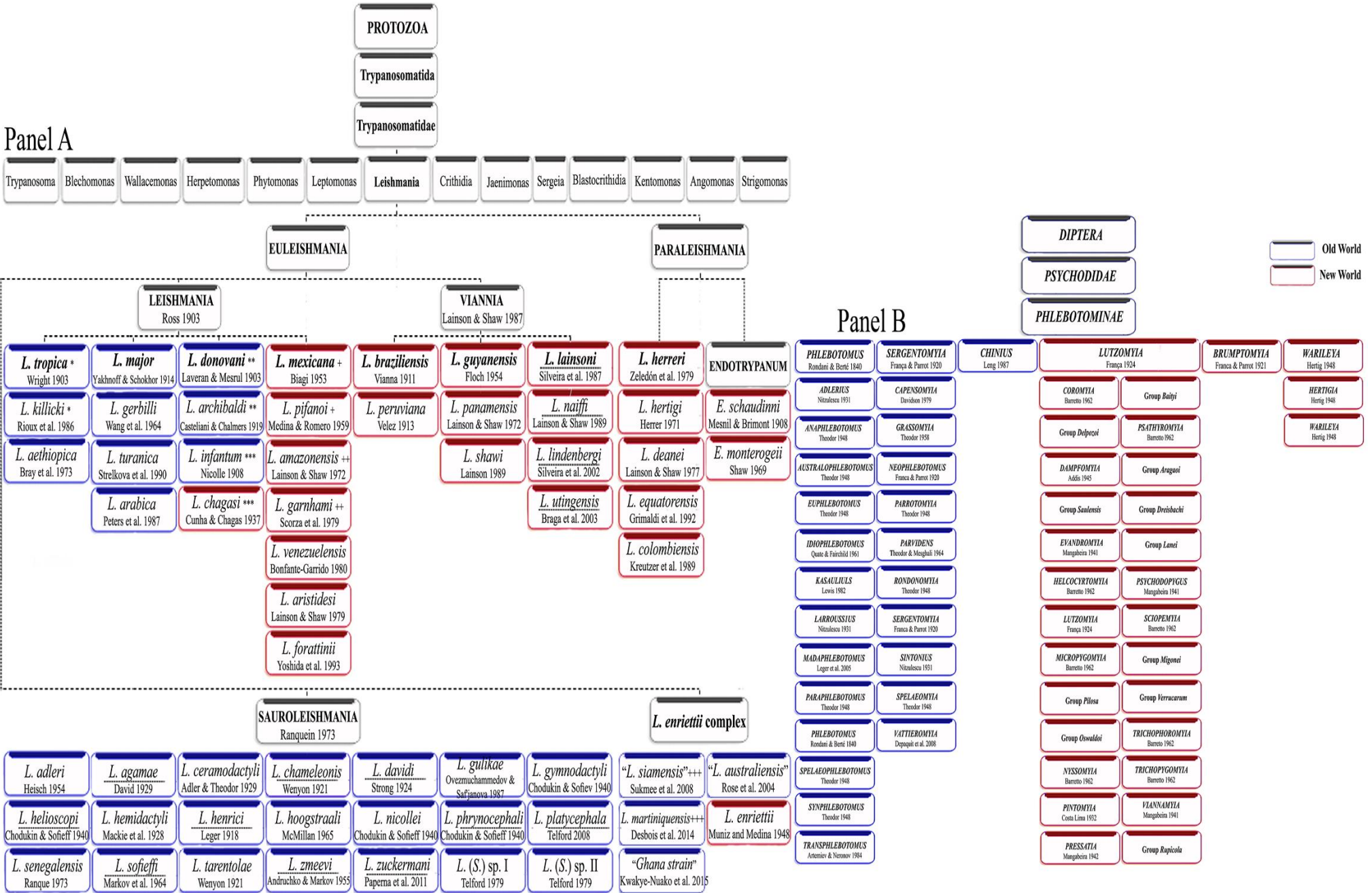
Η λεισμανίαση απειλεί παγκοσμίως πάνω από 1 δισεκατομμύριο ανθρώπους (Alves et al., 2018) και σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα τα νέα κρούσματα κάθε χρόνο κυμαίνονται από 498.000 με 862.000 (Diseases and Injuries Collaborators, GBD 2019). Όσον αφορά τα κρούσματα της λεισμανίασης, αυτά μπορούν να ποικίλλουν ως προς την κλινική εκδήλωση της νόσου. Η μη επαρκής ύπαρξη των απαραίτητων συστημάτων επιδημιολογικής επιτήρησης, ο μικρός αριθμός δηλωμένων κρουσμάτων και η δυσκολία εφαρμογής ευαίσθητων διαγνωστικών δοκιμασιών καθιστά δύσκολη την ακριβή αξιολόγηση της νόσου. Για τη δερματική λεισμανίαση, εκτιμάται ότι τα νέα περιστατικά ετησίως κυμαίνονται από περίπου 700.000 έως 1,2 εκατομμύρια ή περισσότερο. Για τη σπλαχνική λεισμανίαση, ο εκτιμώμενος αριθμός νέων περιπτώσεων ανά έτος κυμαίνεται από 500.000 έως 900.000 (WHO, 2022)

Λαμβάνοντας υπόψιν τη γεωγραφική κατανομή του νοσήματος, η νόσος χωρίζεται σε δύο κύρια σύνδρομα τη λεισμανίαση του Παλαιού Κόσμου και τη λεισμανίαση του Νέου Κόσμου (Εικόνα 1) (Klat et al.,2019). Η λεισμανίαση του Παλαιού Κόσμου περιλαμβάνει: τη δερματική λεισμανίαση, η οποία περιορίζεται στο δέρμα και τη σπλαχνική λεισμανίαση, κατά την οποία το παράσιτο εντοπίζεται στην κυκλοφορία του αίματος και στα σπλάχνα. Η λεισμανίαση του Νέου Κόσμου περιλαμβάνει τη βλεννογονοδερματική λεισμανίαση, όπου το παράσιτο εντοπίζεται στους βλεννογόνους του ρινοφάρυγγα (Πίνακας 1)(Mann et al.,2021).

Τα διαφορετικά είδη του παρασίτου εντοπίζονται γεωγραφικά σε ανατολικό ημισφαίριο (Παλιός Κόσμος) και σε δυτικό ημισφαίριο (Νέος Κόσμος). Τα τελευταία δεδομένα σχετικά με την κατάταξη των ειδών σε Παλιό και Νέο Κόσμο συνοψίζονται στην

εικόνα 1, όπου με κόκκινο χρώμα εμφανίζονται τα είδη που ανευρίσκονται στον Νέο Κόσμο, ενώ με μπλέ χρώμα τα είδη που συναντώνται στον Παλαιό Κόσμο.

Ακολούθως παρουσιάζεται η ταξινόμηση βάσει της φυλογένεσης του γένους *Leishmania* και η σύνοψη των κλινικών συμπτωμάτων για την κάθε μορφή εκδήλωσης της νόσου.



Εικόνα 1 Η ταξινόμηση του πρωτόζωου *Leishmania* (Klat et al., 2019)

Πίνακας 1 Σύνοψη κλινικών συμπτωμάτων της Λεισμανίασης (Mann et al.,2021).

Ασθένεια	Είδη του Παλαιού Κόσμου	Είδη του Νέου Κόσμου	Συμπτώματα, εξετάσεις, εργαστηριακά ευρήματα
Σπλαχνική λεισμανίαση (Visceral leishmaniasis, VL)	<i>Leishmania donovani</i> , <i>Leishmania infantum</i> , <i>Leishmania tropica</i>	<i>Leishmania infantum</i> ή <i>Leishmania chagasi</i> (Νέος Κόσμος), <i>Leishmania amazonensis</i>	Πυρετός, απώλεια βάρους, κόπωση, ηπατοσπληνομεγαλία, πανκυτταροπενία, υπεργαμμασφαιριναιμία
Δερματική Λεισμανίαση μετά καλαζάρ (Post-kala azar dermal leishmaniasis, PKDL)	<i>Leishmania donovani</i> , <i>Leishmania Infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i> ή <i>Leishmania chagasi</i>	Δερματικές βλάβες (αρχίζουν πάντα στο πρόσωπο) 6 μήνες μετά την VL
Βλεννογροδερματική λεισμανίαση (Mucocutaneous leishmaniasis, MCL)	<i>Leishmania tropica</i> , <i>Leishmania major</i> , <i>Leishmania donovani</i> , <i>Leishmania infantum</i>	<i>Leishmania vianna</i> , <i>Leishmania (viannia) braziliensis</i> , <i>Leishmania (viannia) panamensis</i> , <i>Leishmania (viannia) guyanensis</i> , <i>Leishmania (viannia) peruviana</i> , <i>Leishmania amazonensis</i>	Παρατηρούνται αρχικά βλάβες γύρω από την στοματική κοιλότητα και τη μύτη. Υπάρχει πιθανότητα οι εμφανιστούν βλάβες σε φάρυγγα και λάρυγγα.

<p>Δερματική λεισμανίαση (Cutaneous maniasis , CL)</p>	<p>Leish- <i>Leishmania tropica,</i> <i>Leishmania major,</i> <i>Leishmania</i> <i>aethiopica,</i> <i>Leishmania in-</i> <i>fantum,</i> <i>Leishmania donovani</i></p>	<p>Σύμπλεγμα ειδών <i>Leishmania</i> <i>mexi- cana,</i> <i>Leishmania</i> <i>mexicana,</i> <i>Leishma- nia</i> <i>amazonen-</i> <i>sis,</i> <i>Leishmania</i> <i>vene-</i> <i>zuelensis,</i> <i>Leishma- nia</i> <i>Vianna (V),</i> <i>Leishmania</i> (V) <i>braziliensis,</i> <i>Leish- mania</i> <i>(V) pana-</i> <i>mensis,</i> <i>Leishmania</i> <i>(V)</i> <i>guyanesis,</i> <i>Leish- mania</i> <i>(V) peruvi-</i> <i>ana,</i> <i>Leishmania</i> <i>major</i></p>	<p>Δερματικές βλάβες στα άκρα και στο πρόσωπο: Ανώδυνες βλατίδες που εξελίσσονται σε οζίδια και μετά σε έλκη</p>
--	--	--	--

Το παράσιτο *Leishmania*

Πρόκειται για πρωτόζωο με ενδοκυτταρική εντόπιση. Από τα 30 συνολικά είδη που μολύνουν θηλαστικά, λοίμωξη στον άνθρωπο προκαλούν 21 είδη περίπου.

Η ταξινόμηση, ταυτοποίηση και τυποποίηση στελεχών του γένους *Leishmania* βασίστηκε αρχικά σε κριτήρια σχετικά με το είδος του φορέα, τη γεωγραφική κατανομή, το τροπισμός, τις αντιγονικές ιδιότητες, και στη συνέχεια σε νεότερες μεθόδους ανίχνευσης, απομόνωσης και ταυτοποίησης του παρασίτου βασιζόμενες σε βιοχημικά και γενετικά δεδομένα του παρασίτου (πολυμορφισμοί στο κινητοπλαστικό DNA, ισοενζυμική πολυεστιακή ηλεκτροφόρηση, πολυεστιακή τυποποίηση μικροδορυφορικών αλληλουχιών και η αλληλούχιση) (Banuls et al., 2007).

Δύο είναι οι κύριες μορφές του παρασίτου. Η προμαστιγωτή μορφή και αμαστιγωτή μορφή.

Η ανάπτυξη και ο πολλαπλασιασμός της προμαστιγωτής και αμαστιγωτής μορφής γίνεται στο εντερικό επιθήλιο του ασπόνδυλου ενδιάμεσου ξενιστή και αντίστοιχα ενδοκυτταρικά στα φαγολυσοσώματα των μονοπύρηνων / μακροφάγων και άλλων φαγοκυττάρων του τελικού ξενιστή (Βογιατζάκη, 1999).

Τα βασικά χαρακτηριστικά της προμαστιγωτής μορφής είναι τα ακόλουθα :

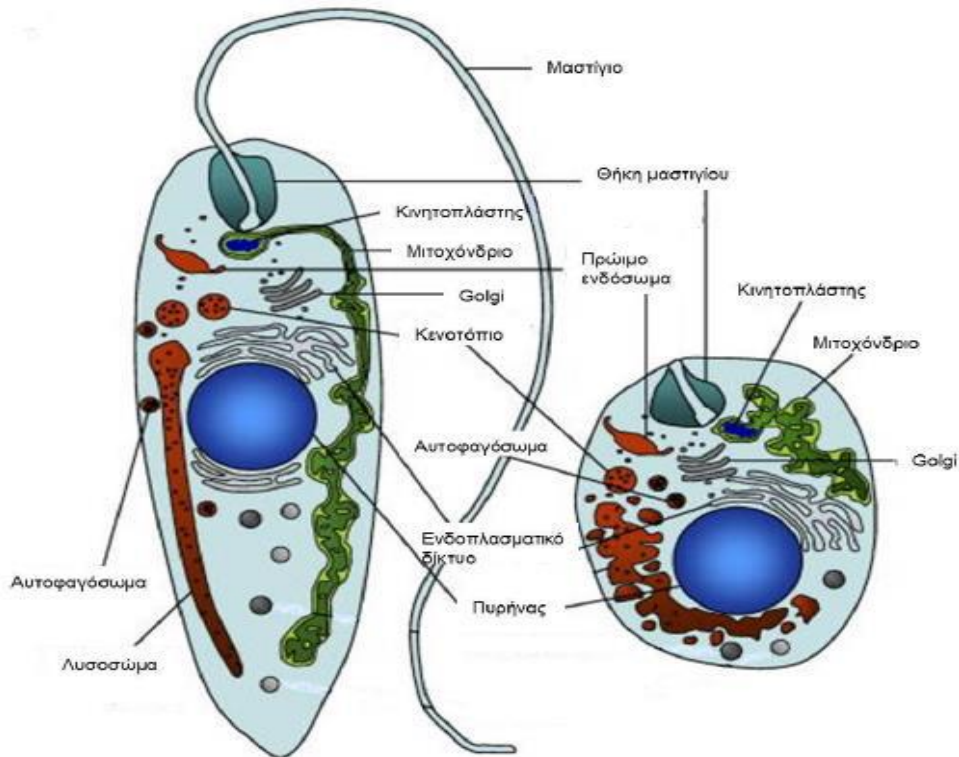
1. Μορφή επιμήκης, μεγέθους 5 – 20 μm x 1 – 4 μm ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο
2. Φέρει μαστίγιο, το οποίο εκφύεται από το πρόσθιο τμήμα του σώματος και έχει ίσο ή μεγαλύτερο μήκος από αυτό του σώματος του παρασίτου. Το μαστίγιο βρίσκεται μέσα σε θήκη, που είναι προέκταση της μεμβράνης του παρασίτου και είναι αξονημάτιο με ένα παραξονικό νημάτιο, προσδίδον δυνατότητα κίνησης του κυττάρου
3. Έχει μεγάλο σφαιρικό έκκεντρο πυρήνα με δύο πυρηνίσκους,
4. Στο κυτταρόπλασμα υπάρχουν ριβοσώματα, αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, συσκευή Golgi, λυσοσώματα, κυστίδια λίπους κ.ά.,
5. Επίσης διαπιστώνεται η ύπαρξη ενός δισκοειδούς κινητοπλάστη, οργανίδιο που εκτελεί τις λειτουργίες μιτοχονδρίου και περιέχει το 15% του συνολικού κυτταρικού DNA. Το DNA του κινητοπλάστη είναι ένα ελικοειδές σπείραμα αποτελούμενο κατά 90% από μινικύκλους (minicircles), 800 – 1200 bp ο καθένας και κατά 10% από μεγάκυκλους (maxicircles) 20 kb ο καθένας (Sunter et al., 2017). Μορφή η οποία παρατηρείται στα τελευταία στάδια ανάπτυξης της προμαστιγωτής μορφής είναι η μικρότερου μεγέθους, περισσότερο μολυσματική μορφή, μετακυκλική μορφή του παρασίτου.

Τα βασικά χαρακτηριστικά της αμαστιγωτής μορφής είναι τα εξής :

1. Μορφή ωοειδής, μεγέθους 2x4 μm
2. Πυρήνας, ο οποίος περιβάλλεται από το αδρό και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, περιέχει στο κέντρο του πυρηνίσκο διαμέτρου 0,6 – 1 μm και περιφερικά τοποθετημένη την χρωματίνη, αποτελούμενη από 16 έως 23 χρωμοσώματα
3. Ακίνητη μορφή του παρασίτου αν και υπάρχει ενδοπλασματικό μαστίγιο μέσα σε

θήκη- εγκόλπωση της κυτταρικής μεμβράνης -

4. Κινητοπλάστης
5. Το σχήμα του κυττάρου και στις δύο μορφές του παρασίτου προσδίδεται από ένα δίκτυο επιμήκων μικροσωληνίσκων κάτω από την κυτταροπλασματική μεμβράνη (Sunter et al., 2017)

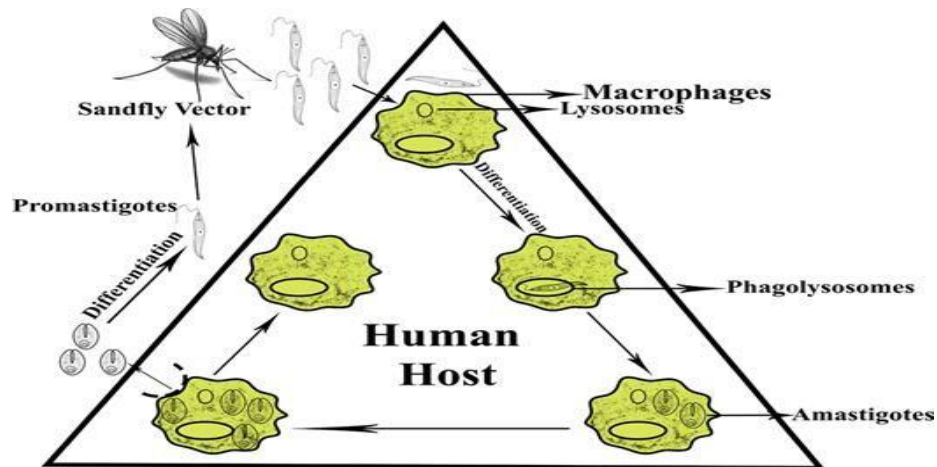


Εικόνα 2 . Σχηματική αναπαράσταση των κύριων οργανιδίων της προμαστιγωτής (αριστερά) και της αμαστιγωτής μορφής (δεξιά) (Besteiro et al, 2007).

Ο κύκλος ζωής για το παράσιτο του γένους *Leishmania* συντελείται σε δύο στάδια:

A) ανάπτυξη της μορφής του παρασίτου, το οποίο φέρει μαστίγιο (προμαστιγωτή μορφή) στο πεπτικό σύστημα των αιματοφάγων διπτερων εντόμων του γένους φλεβοτόμου (*Phlebotomus*, *Lutzomyia*)

B) ανάπτυξη της μη κινητής μορφής (αμαστιγωτή μορφή) στον ενδοκυττάριο χώρο (εσωτερικό των φαγολυσοσωμάτων), των μακροφάγων και άλλων φαγοκυττάρων των τελικών ξενιστών (Van Assche et al., 2011).



Εικόνα 3 . Ο κύκλος ζωής του παρασίτου του γένους *Leishmania* (Raj S., 2020)

Ανάλογα με το είδος του παρασίτου στο οποίο οφείλεται η μόλυνση, η ατομική ευαισθησία και η ανοσολογική απάντηση του ξενιστή, η νόσος εμφανίζει διάφορες κλινικές μορφές που χαρακτηρίζονται από τη συμμετοχή διαφορετικών ιστών, συμπεριλαμβανομένου του δέρματος, των βλεννογόνων και των εσωτερικών οργάνων (Rodrigues et al., 2015), (Claborn, 2010).

Σπλαχνική λεισμανίαση (Visceral Leishmaniasis, VL)

Η σπλαχνική λεισμανίαση, γνωστή ως *Kala-azar*, είναι ευρέως διαδεδομένη καθώς αξιολογείται ως ένα από τα πιο θανατηφόρα πρωτοζωικά νοσήματα στον κόσμο. Προκαλείται από τα είδη *L. donovani* και *L. infantum* η αμαστιγωτή μορφή ανευρίσκεται σε φάση πολλαπλασιασμού μέσα στα μονοκύτταρα/ μακροφάγα κύτταρα του σπλήνα, του ήπατος, των λεμφαδένων και του μυελού των οστών (Βογιατζάκη, 1999). Κατά τη διάρκεια του γεύματος αίματος από την σκνίπα, οι μετακυκλικές προμαστιγωτές μορφές ενοφθαλμίζονται στο σημείο του νήγματος. Προσελκύονται τα τοπικά μακροφάγα, τα οποία φαγοκυτταρώνουν τα παράσιτα προκαλώντας τοπική φλεγμονή. Η αρχική εκδήλωση είναι μια δερματική αλλοίωση στην περιοχή του δήγματος του δίπτερου εντόμου. Ο πολλαπλασιασμός του παρασίτου ξεκινά με την αλλαγή μορφής τους, χάνοντας το μαστίγιό τους (αμαστιγωτή μορφή), που περικλείονται εντός φαγολυσώματος στο εσωτερικό του μακροφάγου. Τα μολυσμένα μακροφάγα ρήγνυνται όταν ο αριθμός των αμαστιγωτών μορφών φθάσει >200, και οι ελευθερωμένες αμαστιγωτές μορφές του παρασίτου μολύνουν υγιή κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ), μονοπύρρηνα του αίματος και σπανιότερα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα. Εντός αυτών των κυττάρων συνεχίζεται ο

πολλαπλασιασμός των παρασίτων ενώ η διασπορά τους στους λεμφαδένες, το σπλήνα, το ήπαρ, το μυελό των οστών, τους πνεύμονες και τέλος στο έντερο πραγματοποιείται μέσω της λέμφου ή της αιματικής κυκλοφορίας.

Οι ασθενείς εμφανίζουν διαλείποντα ή κυματοειδή πυρετό κατά την εγκατάσταση της νόσου, αδυνατίσμα, καχεξία, αναιμία, ηπατο- και σπληνομεγαλία, διάρροια, και ανεστραμμένο λόγο αλβουμίνης/σφαιρινών. Αν ο ασθενής δεν υποβληθεί σε φαρμακευτική αγωγή πεθαίνει σε διάστημα 8 μηνών έως 2 ετών από πολυοργανική ανεπάρκεια, λόγω δευτερογενών επιπλοκών. Το ποσοστό θνησιμότητας είναι υψηλό (90%). Ετησίως το σύνολο των αποθανόντων από τη νόσο ξεπερνά τους 50.000 και ταλαιπωρεί εκατομμύρια ανθρώπους σε όλη τη Λατινική Αμερική, την Ανατολική Αφρική, τη Νότια Ασία και τη περιοχή της Μεσογείου (Kaiming et al.,2018). Κατ' εξαίρεση, έχει παρατηρηθεί στα εσωτερικά όργανα, εντόπιση ειδών, που συνήθως σχετίζονται με δερματική λεισμανίαση, όπως έχουν αναφερθεί στελέχη *L.tropica* στη Μέση Ανατολή και *Leishmania amazonensis* στη Νότια Αμερική (van Griensven,et al., 2012).



Εικόνα 4 Σπλαχνική λεισμανίαση (CDC,2020).

Δερματική λεισμανίαση (Cutaneous Leishmaniasis,CL)

Πρόκειται για μια ενδημική στις τροπικές και νεοτροπικές περιοχές κλινική εκδήλωση. Εμφανίζεται κυρίως στις χώρες της λεκάνης της Μεσογείου, της Άπω και Μέσης Ανατολής, και της Κεντρικής Αμερικής. Το παράσιτο εντοπίζεται και πολλαπλασιάζεται εντός των μονοπύρηνων/μακροφάγων του δέρματος του ασθενή, ο οποίος εμφανίζει δερματικές εξελκώσεις και βλατίδες στο σημείο του νήγματος, με τον ίδιο τρόπο που περιγράφηκε στη σπλαχνική μορφή. Πιο αναλυτικά οι μορφές εκδήλωσης της δερματικής λεισμανίασης μπορεί να παρουσιαστούν σαν δερματικό έλκος με δορυφορική βλάβη στο κάτω μέρος του βραχίονα, σαν μη ελκώδης δερματική αλλοίωση στον αγκώνα, σαν δερματικό έλκος με λεμφαγγειίτιδα στο κάτω άκρο, σαν έλκος που συνήθως προσβάλλει το αυτί με καταστροφή χόνδρου, γνωστό και ως έλκος Chiclero. Αξίζει σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι η εκδήλωση της νόσου ομοιάζει και με άλλες κλινικές εκδηλώσεις άλλων ασθενειών, όπως είναι το έλκος Buruli που προκαλείται από *Mycobacterium ulcerans* στο κάτω άκρο, η άτυπη μυκοβακτηριδιακή λοίμωξη σε άνω άκρα με λεμφαγγειίτιδα που προκαλείται από λοίμωξη από *Mycobacterium marinum*, οι βλάβες που προκαλούνται από εν τω βάθει μυκητίαση της κνήμης με λεμφαγγειίτιδα σε ανοσοκατασταλμένο ασθενή, η ελκώδης βλάβη σε ασθενή με πολυβακτηριακή λέπρα, οι ελκώδεις βλάβες σε ασθενή με λιποειδική νεκροβίωση, το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα στο ραχιαίο τμήμα κάτω άκρων, γάγγραινο έλκος στο κάτω πόδι (de Vries HJC et al., 2022). Παρατηρώντας τα κοινά στοιχεία, όσον αφορά την εκδήλωση της λεισμανίασης με άλλες ασθένειες η διαφοροδιάγνωση της με τις άλλες νόσους καθίσταται απαραίτητη. Αιτιολογικό παράγοντα στον Παλιό Κόσμο αποτελούν τα είδη *L. major*, *L. tropica*, *L. infantum*, ενώ σε Νέο Κόσμο τα είδη *L. mexicana*, *L. brasiliensis* (Βογιατζάκη,1999), *L. amazonensis*, *L. chagasi*, *L. (Viannia) naiffi* (Hodiamont et al.,2014), *L. (Viannia) braziliensis*, and *L. (Viannia) guyanensis* (Marfurt et al., 2003). Παρά την αυξανόμενη συχνότητα παγκοσμίως, φαίνεται να είναι σπάνια θανατηφόρα. Σχετικά με την γεωγραφική εμφάνισή της φαίνεται ότι πλήττονται περιοχές που οι πληθυσμοί δεν έχουν επαρκή πρόσβαση σε πόσιμο νερό, περίθαλψη και ως εκ τούτου δεν υπάρχουν σημαντικές επενδύσεις από φαρμακευτικές εταιρίες για την καλύτερη αντιμετώπισή της. Σε ενδημικές χώρες, η διάγνωση γίνεται συχνά με μικροσκοπική εξέταση υλικού βιοψίας των δερματικών αλλοώσεων(Leishmanin Skin Test) για να επιβεβαιωθεί η

παρουσία των παρασίτων *Leishmania* (Reithinger et al.,2007). Το τεστ αυτό, συγκρίσιμο με το γνωστό τεστ για την φυματίωση γνωστό ως Mantoux, βασίζεται στην ενδοδερμική έγχυση εκχυλισμάτων νεκρών προμαστιγωτών μορφών του γένους *Leishmania* (Montenegro test) ή παρασκευασμάτων που παρασκευάζονται από νεκρές προμαστιγωτές μορφές του γένους *Leishmania*. Αυτή η διαγνωστική μέθοδος θα προκαλέσει αντίδραση υπερευαισθησίας καθυστερημένου τύπου (Delayed-type hypersensitivity) σε άτομα με προηγούμενη έκθεση στη λειϊσμανία και καταλήγει σε δερματική αντίδραση. Εάν η δερματική αντίδραση στο Leishmanin Skin Test (LST) είναι ≥ 5 mm, η εξέταση θεωρείται θετική και εάν < 5 mm, αρνητική. Διαφορετικά διαγνωσμένοι ασθενείς με δερματική λειϊσμανίαση με αρνητικό LST έχουν προγνωστική αξία για υποτροπή ή αποτυχία θεραπείας, πιθανώς λόγω ανεπαρκούς απόκρισης που προκαλείται από T-κύτταρα (Alan et al., 2013).



Εικόνα 5 Δερματική λειϊσμανίαση(CDC,2020).

Βλεννογονοδερματική λειϊσμανίαση (Mucocutaneous Leishmaniasis, MCL)

Αυτή η κλινική εκδήλωση της νόσου οφείλεται στο είδος *L. brasiliensis* και εμφανίζεται μετά θεραπεία της δερματικής λειϊσμανίασης (Ashford et al.,2000). Το παράσιτο εντοπίζεται στο σύστημα μονοπύρηνων/μακροφάγων του στοματικού βλεννογόνου, του ρινοφάρυγγα και

του λάρυγγα, προκαλώντας ελκωτικές αλλοιώσεις με συχνή εμφάνιση παραμορφωτικών βλαβών. Στα αρχικά στάδια εκδήλωσης του νοσήματος οι αλλοιώσεις ανευρίσκονται στο εκτεθειμένο δέρμα και είναι βλατιδώδεις,κατόπιν οζώδεις και αργότερα ελκώδεις. Η νόσος προσβάλλει τα μαλακά μόρια της μύτης, του στόματος και των χειλέων και είναι δυνατόν να ακολουθήσει εκτεταμένη καταστροφή των χόνδρων του λάρυγγα και του φάρυγγα (Βογιατζάκη, 1999). Συναντάται κυρίως στις χώρες της Νότιας Αμερικής.

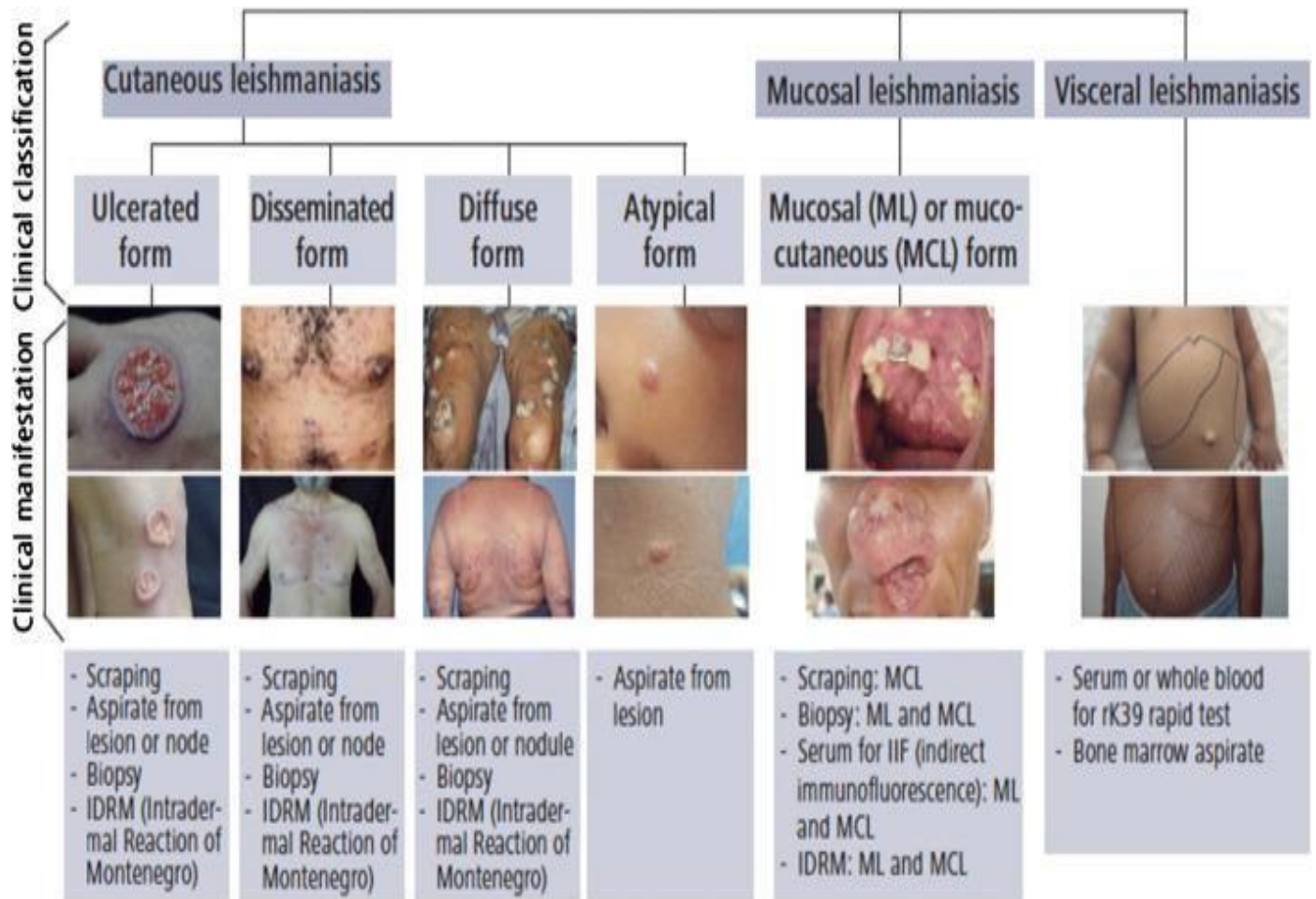
Δερματική λεισμανίαση μετά καλαζαρ (Post-kala azar dermal leishmaniasis, PKDL)

Εκδηλώνεται σαν επιπλοκή της σπλαχνικής λεισμανίασης και οφείλεται στο είδος *L. donovani*. Η εμφάνιση αυτής της επιπλοκής σχετίζεται άμεσα με την ανοσολογική κατάσταση του ασθενούς. Χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης κλινικής εκδήλωσης αποτελεί η εμφάνιση κηλιδοβλατιδώδους και οζώδους εξανθήματος σε ασθενή που έχει αναρρώσει από σπλαχνική λεισμανίαση. Το εξάνθημα συνήθως εντοπίζεται γύρω από την στοματική κοιλότητα και από όπου εξαπλώνεται σε άλλα μέρη του σώματος. Ο γεωγραφικός εντοπισμός αυτής της κλινικής εκδήλωσης είναι το Σουδάν και η Ινδία (Zijlstra et al.,2003) . Η επίπτωση της νόσου σε περιοχές που ενδημεί η σπλαχνική λεισμανία είναι υψηλή.



Εικόνα 6 Τυπική εκδήλωση PKDL (WHO,2012)

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται συνοπτικά οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου.



Εικόνα 7 Κλινικά συμπτώματα της κάθε εκδήλωσης της νόσου (Mann et al, 2021).

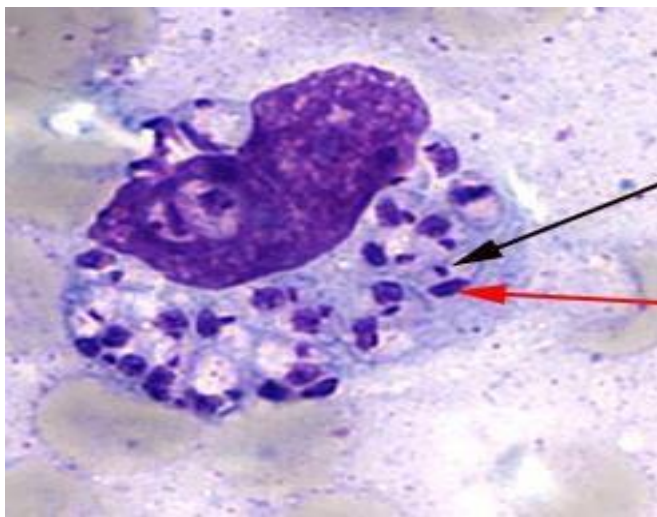
Διάγνωση

Οι εργαστηριακές τεχνικές για τη διάγνωση της λεισμανίασης και την τηνανίχνευση του παρασίτου καθώς και για την αναγνώριση του τύπου της *Leishmania* ποικίλουν.

Οι συνηθέστερες μέθοδοι είναι:

1. Μέθοδοι εντοπισμού του παρασίτου

- ✚ Μικροσκόπηση δειγμάτων λαμβανομένων από παρακέντηση δερματικών αλλοιώσεων (δερματική λεισμανίαση) ή από παρακέντηση μυελού των οστών, ήπατος λεμφαδένων και σπληνός (σπλαχνική λεισμανίαση).



Εικόνα 8 Μικροσκόπηση μολυσμένου από *Leishmania* μυελού των οστών (CDC,2023).

- ✚ Καλλιέργειες
- ✚ Απομόνωση σε πειραματόζωα

2. Μοριακές μέθοδοι

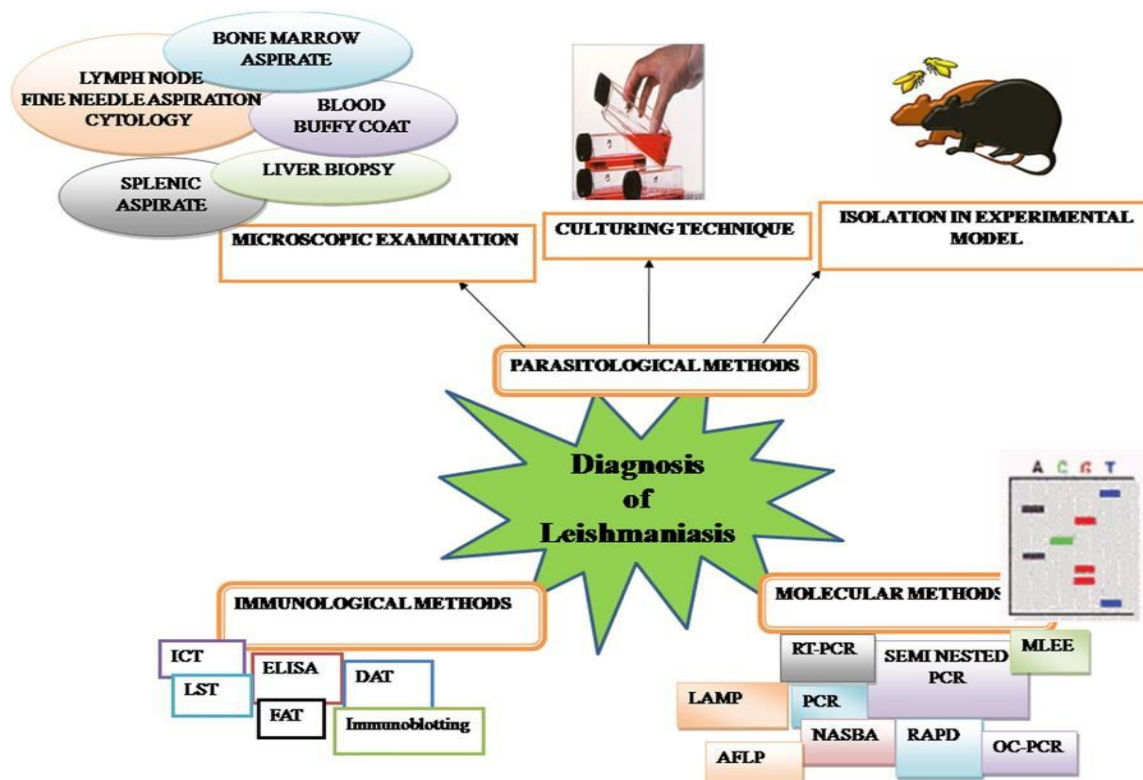
3. Ανοσολογικές μέθοδοι (Thakur et al.,2020).

Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται συνοπτικά οι υπάρχουσες μέθοδοι ανίχνευσης της λεισμανίασης.

Πίνακας 2 Διαγνωστικές μέθοδοι (Mann et al.,2021).

Κλινική μορφή	Άμεση vs έμμεση	Διαγνωστική μέθοδος	Σχόλια
Δερματική λείσμανίαση (Cutaneous Leishmaniasis, CL)	Άμεση	Βιοψία, απόξεση, αναρρόφηση	Η ευαισθησία εξαρτάται από την εμπειρία του ιατρού και την ποιότητα του δείγματος.
		Μικροσκόπηση	Χρώση Giemsa
		Καλλιέργεια	Αμασιγώτη μορφή, τυπικά 2–4 μm σε διάμετρο, στρογγυλό έως ωοειδές σχήμα με πυρήνα και κινητοπλάστη.
	Έμμεση	PCR	Η πιο ευαίσθητη μέθοδος, καθώς προσδιορίζει είδη που είναι χρήσιμα για τον αποκλεισμό ειδών που σχετίζονται με ML. Η PCR είναι επίσης χρήσιμη σε περιπτώσεις με χαμηλό φορτίο παρασίτων.
		ανίχνευση	Ανοσοχρωματογραφική ανάλυση για την ταχεία ανίχνευση αντιγόνου του είδους <i>Leishmania</i> σε ελκώδεις δερματικές βλάβες Ευαισθησία 96%, ειδικότητα 90%
		Ορολογικές εξετάσεις	Δεν συνιστάται για τη διάγνωση δερματικής λείσμανίασης.
Σπλαχνική Λείσμανίαση (Visceral Leishmaniasis, VL)	Άμεση	Παρακέντηση σπλήνός (απομόνωση παρασίτου, καλλιέργεια, ιστολογία και PCR σύμφωνα με τα παραπάνω)	Πιο ευαίσθητη (93-99%) σε σύγκριση με την αναρρόφηση μυελού των οστών και λεμφαδένων για τη διάγνωση σπλαχνικής λείσμανίασης, αλλά υπάρχει ο κίνδυνος σπληνικής αιμορραγίας
		Παρακέντηση μυελού των οστών	Ευαισθησία (52–85%) Ασφαλέστερη εκτέλεση από τη σπληνική αναρρόφηση
		Αναρρόφηση οπού λεμφογαγγλίων	Ευαισθησία (52-58%)
		Περιφερικό αίμα	Αξιολογείται το αίμα για φλεγμονή, καλλιέργεια in vitro και μοριακές αναλύσεις. Βοηθά στη διάγνωση για ανοσοκατεσταλμένους και HIV
		Ορολογικές εξετάσεις	Δεν είναι δυνατή η διάκριση ενεργού μόλυνσης από προηγούμενη μόλυνση. Δεν είναι χρήσιμο για την δερματική λείσμανίαση (Cutaneous Leishmaniasis ή CL). Συχνά δεν αντιδρά σε ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές.

		Γρήγορο Διαγνωστικό Τεστ(rK-39)*	Σύνδεση ειδικού αντισώματος έναντιαντιγόνου που υπάρχει στο <i>L. donovani</i> , <i>chagasi-infantum</i>
			Τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα σε 20–25 λεπτά
			Εύκολη εκτέλεση, γρήγορη και φθηνή.
			Ανάλογα με τον εντοπισμό και το είδος του παρασίτου η ευαισθησία ποικίλλει .
			Μπορεί να αντιδράσει διασταυρούμενα με άλλες λοιμώξεις - για παράδειγμα τη νόσοChagas
	έμμεση	Δοκιμή άμεσης συγκόλλησης (Direct Agglutination Test ή DAT)	Χρησιμοποιεί ολόκληρους οργανισμούς για την αναζήτηση αντισωμάτων.
			ΕΛΙΣΑ, Έμμεσος ανοσοφθορισμός, έμμεση δοκιμή συγκόλλησης,δοκιμή αντιγόνου
			Παρέχει ελαστικά αντισωμάτων πουκυμαίνονται από 1:100 έως 1: 151200.
			Ευαίσθητο (>95%) και ειδικό (>85%) τεστόταν εκτελείται σωστά
			Ανευρίσκεται σε ορό και ούρα
Βλεννογοδερματική λεισμανίαση (Mucocutaneous leishmaniasis, MCL)	Άμεση	Βιοψία,απόξεση,αναρρό-φηση βλεννογονικής βλάβης	Προτιμάται η άμεση διάγνωση.
		Ορολογικές εξετάσεις σύμφωνα με τα παραπάνω	Δεν είναι τόσο χρήσιμο για την λεισμανίαση του βλεννογόνου όσο για την σπλαχνική λεισμανίαση. Προτιμάται η άμεση διάγνωση
	Εμμεση	Τεστ Leishmanin	Απόκριση υπερευαισθησίας καθυστερημένου τύπου
		Γνωστό και ως Montenegro test, λειτουργεί παρόμοια με το δερματικό τεστ φυματίνης	



Εικόνα 9 Διάγνωση της Λεισμανίασης. Στην εικόνα περιγράφονται οι μέθοδοι ανίχνευσης του παρασίτου (Thakur et al., 2020)

Θεραπείες για τη λεισμανίαση

Ανατρέχοντας στην διεθνή βιβλιογραφία, οι υπάρχουσες μορφές θεραπείας παρουσιάζουν αρκετές παρενέργειες, συμπεριλαμβανομένης της τοξικότητας (Rocha et al., 2005), του αυξημένου κόστους και της αναδυόμενης αντοχής στα φάρμακα και αυτό έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί βασικό εμπόδιο για την εκρίζωση της νόσου. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι παράγοντες με αποτελεσματικότητα κατά της λεισμανίασης περιλαμβάνουν την αμφοτερικίνη Β, πεντασθενή αντιμονιούχα φάρμακα, παρομομυκίνη και μιλτεφοσίνη (Georgiadou et al., 2015).

Η θεραπεία της λεισμανίασης θα πρέπει να προσαρμόζεται εξατομικευμένα στον ασθενή και στον τύπο της λεισμανίασης, καθώς και στο υποείδος του παρασίτου. Η δοκιμή PCR για την αναγνώριση των ειδών είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την καθοδήγηση της θεραπείας για ασθενείς με δερματική νόσο, οι οποίοι μπορεί να διατρέχουν κίνδυνο προσβολής των βλεννογόνων (mucosal leishmaniasis) (Mann et al., 2021)

Πιο ειδικά, η θεραπεία της δερματικής λεισμανίασης βασίζεται στην κλινική εικόνα, τον ξενιστή και τον τύπο του είδους. Σε ένα ανοσοεπαρκές άτομο, χωρίς ενδείξεις προσβολής

των βλεννογόνων, η δερματική λειψμανίαση που προκαλείται από *L. mexicana* και *L. major* δεν απαιτεί θεραπεία, καθώς συνήθως υποχωρεί μέσω αυτοϊασης.

Ωστόσο, συνιστάται τοπική θεραπεία για απλές βλάβες που δεν εμφανίζουν τάση αυτοϊασης .

Για να χαρακτηριστεί μια εκδήλωση ως δερματική πρέπει να υπάρχουν:

1. Περισσότερες από πέντε δερματικές αλλοιώσεις με επιφάνεια > 5 cm
2. Δερματικές βλάβες στο πρόσωπο
3. Δερματικές αλλοιώσεις στα δάκτυλα των χεριών, των ποδιών ή στα γεννητικά όργανα
4. Περιφερειακή αδενοπάθεια
5. Διάρκεια μεγαλύτερη από 6 μήνες.

Για να χαρακτηριστεί μια εκδήλωση ως διάχυτη δερματική πρέπει να:

1. αφορά ανοσοκατεσταλμένο ξενιστή,
2. προηγούμενη κλινική αποτυχία ή μόλυνση με ένα είδος που σχετίζεται με νόσο του βλεννογόνου.

Η νοσηρότητα, η υποτροπή και η εξέλιξη σε νόσο του βλεννογόνου σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να αποτραπεί εφαρμόζοντας την κατάλληλη θεραπεία. Πολλαπλές συστηματικές θεραπείες (Πίνακας 3) είναι διαθέσιμες, συμπεριλαμβανομένων πεντασθενών αντιμονιούχων φαρμάκων (αντιμονιακή μεγλουμίνη και στιβογλυκονικό νάτριο), αμφοτερικίνης (σύμπλοκο θειικής χοληστερόλης και σύμπλοκο λιπιδίων με σκοπό τη μειωμένη τοξικότητα του φαρμάκου), πενταμιδίνης και από του στόματος θεραπείες (συμπεριλαμβανομένης της φλουκοναζόλης και της μιλτεφοσίνης). Τα πεντασθενή αντιμονιούχα φάρμακα αποτελούν την τυπική συστηματική θεραπεία της δερματικής λειψμανίασης στη Λατινική Αμερική (Mann et al.,2021) .

Για κλινικά απλές βλάβες που δεν σχετίζονται με τον κίνδυνο επέκτασης στους βλεννογόνους, συνιστάται:

1. φωτοθεραπεία ή θεραπεία με λέιζερ,
2. θερμοθεραπεία, τοπική χορήγηση παρομομυκίνης
3. τοπική έγχυση πεντασθενών αντιμονιούχων φαρμάκων.

Η θερμοθεραπεία χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στη Νότια Αμερική και σχετίζεται με μειωμένο μέγεθος της βλάβης και κλινική ίαση.

Αν και δεν υπάρχει ιδανικό θεραπευτικό σχήμα, οι ειδικοί συνιστούν εξατομικευμένη θεραπεία για τον ασθενή με βάση την έκταση και τη θέση της βλάβης, την ανοσολογική κατάσταση, τις συννοσηρότητες, τις ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων και τις δημοσιευμένες αναφορές για την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με βάση τα είδη και τα γεωγραφικά δεδομένα (Πίνακας 3). Η αλοιφή κολλαγενάσης έχει χρησιμοποιηθεί για τη μείωση των ινωδών ουλών και την προώθηση των τελικών σταδίων επούλωσης (Mann et al.,2021).

Σχετικά με τη σπλαχνική λείσμανίαση, την πιο σοβαρή εκδήλωση της λείσμανίασης, κάθε άτομο με σημεία, συμπτώματα και επιβεβαιωμένη διάγνωση χρήζει άμεσης συστηματικής θεραπείας. Ιστορικά, η χημειοθεραπεία του νοσήματος έχει βασιστεί στη χρησιμοποίηση βαρέων μετάλλων τα οποία εμφανίζουν τοξικότητα, όπως τα παράγωγα του πενταθενούς αντιμονίου (pentavalent antimonials), τα οποία έχει δειχθεί ότι εμφανίζουν επιλεκτική ανασταλτική δράση στα ένζυμα του παρασίτου τα οποία απαιτούνται για την οξείδωση των λιπαρών οξέων. Το στιβογλυκονικό νάτριο και η αντιμονιούχος μεγλουμίνη, τα οποία εντάσσονται σε αυτήν την κατηγορία φαρμάκων, επιδεικνύουν μεν αξιόλογα θεραπευτικά αποτελέσματα αλλά παράλληλα σοβαρές παρενέργειες καθώς και ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών μεταξύ των ειδών *Leishmania*. Η Αμερικάνικη Εταιρεία Λοιμωδών Νοσημάτων (Infectious Diseases Society of America ή IDSA) συνιστά τη λιποσωμική αμφοτερικίνη Β για τη θεραπεία της σπλαχνικής λείσμανίασης σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς με τη συνεκτίμηση της μιλτεφοσίνης σε μη έγκυα άτομα που δεν θηλάζουν. Η λιποσωμική αμφοτερικίνη Β εντάσσεται στα πολυενικά αντιμικροβιακά φάρμακα, τα οποία εμφανίζουν δραστηριότητα οξέος ή βάσεος, συνδέονται με τις στερόλες στην κυταροπλασματική μεμβράνη του κυττάρου, οδηγώντας στην κυτταρική λύση. Αποτελεί το πλέον αποτελεσματικό φάρμακο κατά της λείσμανίασης με ταχεία δράση, υψηλό ποσοστό ίασης και ασφαλείας. Η ενδοφλέβια χορήγηση του φαρμάκου, το υψηλό κόστος της θεραπείας και η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών του παρασίτου αποτελούν ανασταλτικούς παράγοντες για την ευρεία χρησιμοποίηση του φαρμάκου (WHO, 2010).

Ο μηχανισμός δράσης της μιλτεφοσίνης, ανάλογο της αλκυλοφωσφοχολίνης, η χρήση της οποίας αρχικά ήταν ως αντικαρκινικό φάρμακο, δεν είναι επαρκώς κατανοητός. Έχει δειχθεί

οτι επιδρά στην βιοσύνθεση των λιπιδίων μεταβάλλοντας το λιπιδικό προφίλ του παρασίτου, με παράλληλη παρεμπόδιση της κυτταρικής σηματοδότησης. Χορηγείται για τη θεραπεία της σπλαχνικής λειψμανίασης από το στόμα, δεν εμφανίζει τοξικότητα, όμως εμφανίζει τερατογόνο δράση και σε περίπτωση μονοθεραπείας ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών του παρασίτου, λόγω αργής αποδόμησής του (Ponte-Sucre et al., 2017).

Τα πεντασθενή άλατα του αντιμονίου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτική λύση για άτομα με λειψμανίαση που δεν μπορούν να ανεχθούν τη λιποσωμική αμφοτερικίνη Β ή τη μιλτεφοσίνη. Οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς θα πρέπει ιδανικά να λαμβάνουν λιποσωμική αμφοτερικίνη Β. Ωστόσο, η συνδυαστική θεραπεία με μιλτεφοσίνη μπορεί επίσης να εξεταστεί. Οι ασθενείς με HIV θα πρέπει να λαμβάνουν αντιρετροϊκή θεραπεία (ART) και δευτερογενή προφύλαξη με στόχο το συγκεκριμένο παράσιτο, ενώ δεν συνιστώνται για μεταμοσχευμένους ασθενείς (Mann et al.,2021) .

Τέλος, οι ασθενείς που λαμβάνουν επιτυχή θεραπεία για όλες τις κλινικές μορφές λειψμανίασης θα πρέπει να παρακολουθούνται για υποτροπή της νόσου. Σε ασθενείς που παρουσιάζουν υποτροπή, συνιστάται η επανάληψη της θεραπείας (συνήθως με λιποσωμική αμφοτερικίνη Β) και θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη θεραπευτικά σχήματα μεγαλύτερης διάρκειας. Η δοκιμή αντοχής στα φάρμακα, δυστυχώς, δεν είναι διαθέσιμη στο εμπόριο και γενικά δεν συνιστώνται επαναλαμβανόμενες βιοψίες και ορολογικές δοκιμές (Mann et al.,2021).

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά οι συστηματικές θεραπείες που προαναφέρθηκαν.

Πίνακας 3 Σύνοψη συστηματικών θεραπειών (Mann, et al., 2021).

Φάρμακο	Οδός χορήγησης	Εργαστηριακή παρακολούθηση	Δυσμενείς επιδράσεις	Σχόλια
Παρεντερικώς				
Pentavalent Antimonials sodiumstibogluconate , meglumine antimoniate	IV, IM	CBC, CMP, Lipase, amylase, EKG	Μυαλγία, πονοκέφαλοι, κόπωση, ναυτία είναι συχνές επιδράσεις, αυξημένοι δείκτες ηπατικής λειτουργίας, λιπάση, αμυλάση (συνήθως αναστρέψιμη), παράταση QT, αλλαγές κύματος ST-T,κυτταροπενίες	Διακοπή της θεραπείας εάν υπάρξουν αρρυθμίες ή υπάρξει επιδείνωση του ΗΚΓ. Άτομα με AIDS και ανοσοκατασταλμένοι βρίσκονται σε κίνδυνο ανάπτυξης παγκρεατίτιδας και καρδιοτοξικότητας.

Amphotericin- deoxycholate , liposomal amphotericin B	IV	CBC, K, Mg, creatinine	Αντιδράσεις που σχετίζονται με την έγχυση (πυρετός, ρίγη, ναυτία, έμετος, υπόταση), κακουχία, νεφροτοξικότητα, ανωμαλίες ηλεκτρολυτών (K, Mg)	Η λιποσωμική αμφοτερικίνη είναι καλύτερα ανεκτή.
Pentamidine	IV, IM	CBC, CMP, EKG,	Ναυτία, έμετος, δυσγευσία, πονοκέφαλος, υπογλυκαιμία, ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης, παγκρεατίτιδα, υπόταση, παράταση qt, νεφροτοξικότητα, ηπατοτοξικότητα, κυτταροπενίες κατόπιν εκτέλεσης γενικής εξέτασης αίματος, διαταραχές ηλεκτρολυτών, πόνος στην ενδοφλέβια ένεση, ραβδομυόλυση	Αργή έγχυση του φαρμάκου για να μειωθεί ο κίνδυνος υπότασης. Αποφυγή άλλων νεφροτοξικών φαρμάκων.
Miltefosine	Per os	CBC, δοκιμασίες νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας σε περίπτωση VL. Τεστ εγκυμοσύνης πριν την έναρξη της θεραπείας	Ναυτία/έμετος. Σπάνιος κίνδυνος ηπατικής, νεφρικής δυσλειτουργίας. Εάν > 45 kg, πρέπει να αυξηθεί η δόση	Χορήγηση με γεύμα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά για να μειωθεί η ναυτία. Η φαρμακευτική αγωγή είναι δαπανηρή
Azoles-Fluconazole, Ketoconazole	Per os	Τεστ ηπατικής λειτουργίας, EKG, CBC	Παρενέργειες που εντοπίζονται στο γαστρεντερικό σύστημα, ηπατοτοξικότητα, παράταση του διαστήματος QTc, απώλεια μαλλιών, ακοκκιοκυτταραιμία, Μειωμένη έκκριση κορτικοστεροειδών	Δεν συνιστάται για θεραπεία για MCL ή VL

Μελλοντική έρευνα

Πολλοί τομείς στην πρόληψη, στη διάγνωση και στη θεραπεία της λεισμανίασης θα μπορούσαν να έχουν προχωρήσει σημαντικά. Οι τρέχουσες περιορισμένες διαγνωστικές μέθοδοι και η απουσία εξοικείωσης του κλινικού γιατρού με την ενδημική λεισμανίαση αποτελούν και τα δύο σημαντικά εμπόδια για την έγκαιρη και ακριβή ανίχνευση αυτής της νόσου. Δύσκολη καθίσταται η διάγνωση της νόσου. Έτσι, η πρόοδος στις ορολογικές δοκιμασίες θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει σε έγκαιρη ανίχνευση και θεραπεία. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, οι ΗΠΑ αποτελούν ενδημική περιοχή της νόσου, ως εκ τούτου η λεισμανίαση δεν πρέπει να χαρακτηρίζεται ως παραμελημένη τροπική νόσος (WHO, 2023). Αυτός ο εσφαλμένος χαρακτηρισμός οδηγεί πιθανότατα τους κλινικούς γιατρούς να παραβλέπουν τη διάγνωση και να καθυστερούν τον έλεγχο και τη θεραπεία του νοσήματος.

Θεραπευτικά, η τοξικότητα των φαρμάκων, το κόστος και η αναδυόμενη ανοχή στα φάρμακα περιορίζουν την αντιπαρασιτική θεραπεία. Δυστυχώς, δεν υπάρχουν μοριακοί δείκτες ανοχής στα φάρμακα για τη *Leishmania* και οι δοκιμές για ανθεκτικότητα στα φάρμακα είναι περιορισμένες. Το πεντασθενές αντιμόνιο θεωρήθηκε το ιστορικό πρότυπο περίθαλψης, αλλά τα ακατάλληλα δοσολογικά και θεραπευτικά σχήματα πιθανότατα συνέβαλαν στην αύξηση της ανοχής στα φάρμακα με αυτόν τον παράγοντα. Ενώ η μιλτεφοσίνη είναι ένα από τα νεότερα διαθέσιμα φάρμακα, υπάρχουν αυξανόμενα ποσοστά αντίστασης σε αυτόν τον παράγοντα και το κόστος του φαρμάκου μπορεί να είναι απαγορευτικό. Εκτός από τις εκστρατείες ανάπτυξης φαρμάκων, η χρησιμότητα της άμεσα παρατηρούμενη θεραπεία (Directly Observed Therapy, DOT) νεότερων θεραπευτικών σχημάτων μπορεί να λειτουργήσει υποστηρικτικά τόσο για την θεραπεία, όσο για την καταπολέμηση της αντίστασης. Επιπλέον, η δωρεάν θεραπεία της λεισμανίασης μέσω οργανωμένων προγραμμάτων βοήθειας χρηστών εξαρτησιογόνων ουσιών (περιορισμός των φαρμάκων χωρίς ιατρική συνταγή) θα ενθάρρυνε την κατάλληλη συνταγογραφική χρήση και πιθανώς θα αποτρέψει την αναδυόμενη ανοχή στα φάρμακα.

Η χρήση εμβολίων έναντι του παρασίτου δεν αποτελεί ακόμα μέθοδο εκλογής,

διότι ότι εμβόλια με ζώντα, νεκρά ή αδρανοποιημένα παράσιτα παρουσιάζουν περιορισμένη επιτυχία. Εμβόλια που βασίζονται σε πεπτίδια, πρωτεΐνες ή DNA είναι πολλά υποσχόμενα μόνο σε πειραματόζωα (Zutshi et al.,2019), (Parkash et al., 2021).

Εν κατακλείδι, λόγω τόσο της αναδυόμενης αντοχής στις θεραπευτικές αγωγές, και της ραγδαίας αύξησης των κρουσμάτων παγκοσμίως (Çizmeci et al.,2019), (Gianhecchi & Montomoli,2020) (Palma et al.,2021) έχει γίνει αναγκαία η εύρεση νέων εναλλακτικών φαρμακευτικών πηγών μέσω τροποποιήσεων φυτικών ενώσεων και δομών. (Raj et al.,2020). Η υψηλή φαρμακευτική αξία των φυτών στις θεραπείες διάφορων νοσημάτων συμπεριλαμβανομένων των παρασιτικών είναι αποδεδειγμένη. Φυσικά προϊόντα και παράγωγα προερχόμενα από φυτά έχουν αναγνωρισθεί ως βιοδραστικοί παράγοντες με διάφορες ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων των αντιπρωτοζωικών και αντιφλεγμονωδών δράσεων (Raj et al.,2020).

Κεφάλαιο 2.

Φυτικές πηγές

Δευτερογενείς μεταβολίτες φυτών

Μεταβολίτης: Πρόκειται για ένα μικρομοριακό ενδιάμεσο ή τελικό προϊόν του μεταβολισμού ενός οργανισμού. Ανάλογα με τον οργανισμό, οι μεταβολίτες έχουν ποικίλες λειτουργίες, οι οποίες αφορούν άμεσα ή έμμεσα την φυσιολογική ανάπτυξη και αναπαραγωγή του οργανισμού.

Οι μεταβολίτες χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- a) στους πρωτογενείς και
- b) στους δευτερογενείς.

Ένας πρωτογενής μεταβολίτης εμπλέκεται άμεσα στην φυσιολογική ανάπτυξη και αναπαραγωγή του οργανισμού.

Ένας δευτερογενής μεταβολίτης αποτελεί προϊόν του δευτερογενούς μεταβολισμού του οργανισμού. Σε ένα φυτό πρόκειται για πολυάριθμα οργανικά μόρια τα οποία συμμετέχουν στις αλληλεπιδράσεις των φυτών με το εξωτερικό και εσωτερικό περιβάλλον τους. Πρόκειται για βιοχημικά «πολυεργαλεία» των φυτικών κυττάρων, που συμμετέχουν σε μηχανισμούς άμυνας έναντι παθογόνων, φυτοφάγων και παρασιτικών φυτών. Παίζουν επίσης σημαντικούς ρόλους στην αναπαραγωγή και στην εγκαθίδρυση συμβιωτικών σχέσεων, προστατεύουν τα κύτταρα από τη ζημιογόνο επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και από την οξειδωτική καταπόνηση και συμμετέχουν, μέσω της αλληλοπάθειας, στον ανταγωνισμό μεταξύ των φυτικών ειδών. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες διαχωρίζονται σε τρεις μεγάλες ομάδες σύμφωνα με την βιοσυνθετική οδό προέλευσής τους και με βάση την μοριακή δομή τους.

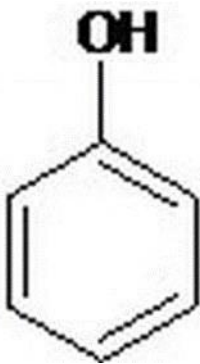
Είναι οι εξής:

- ✚ τις φαινολικές ενώσεις,
- ✚ τα τερπένια και
- ✚ τις αζωτούχες ενώσεις (Gutermann et al, 2002)

Η κατηγοριοποίηση των δευτερογενών μεταβολιτών βάση δομής είναι η εξής:

1. Φαινόλες

Οι φαινόλες αποτελούν πιθανώς τη μεγαλύτερη ομάδα φυτικών δευτερογενών μεταβολιτών. Κοινό στοιχείο είναι η παρουσία μιας ή περισσότερων ομάδων φαινόλης (εικόνα 10) από απλές δομές με έναν αρωματικό δακτύλιο έως πολύπλοκες πολυμερείς ουσίες. Είναι ευρέως διαδεδομένα στα φυτά όπου συμβάλλουν σημαντικά στο χρώμα, τη γεύση και τη γεύση. Τέτοιες ουσίες είναι η κερσετίνη και η σιλυβίνη. Άλλα ασκούν φυτοοιστρογονική δράση όπως η γενιστεΐνη και δαϊδζεΐνη, ενώ άλλα είναι εντομοκτόνα όπως η ναριγγενίνη. Πολλά από τα φαινολικά μόρια είναι επίσης αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά και δεσμευτές ελεύθερων ριζών, ειδικά τα φλαβονοειδή (Hoffman, 2003). Τέλος οι πολυφαινόλες κατηγοριοποιούνται αναλόγως τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή (Manach et al., 2004)

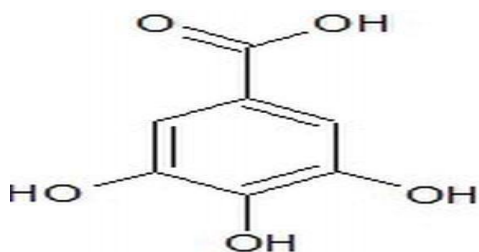


Εικόνα 10 Φαινόλη (Hussein & El-Anssary, 2019).

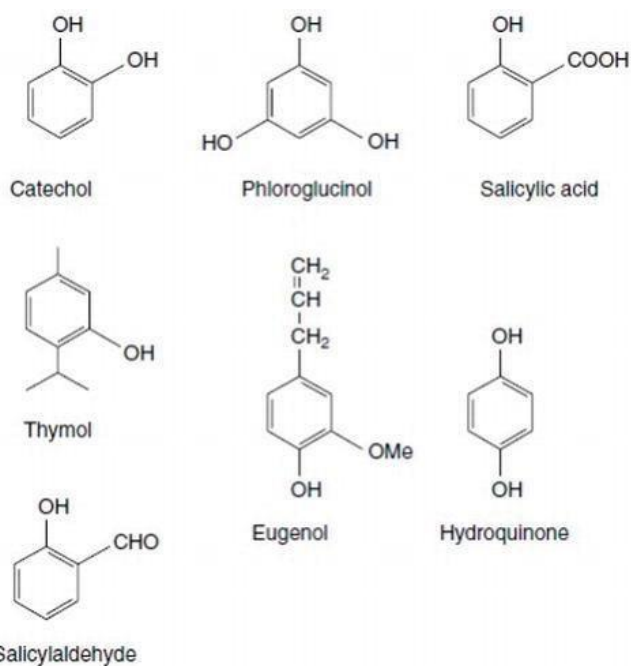
Τα φαινολικά μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη δομή ή τη βιοσυνθετική τους προέλευση. Σύμφωνα με τη δομή τους, τα φαινολικά μπορούν να ταξινομηθούν σε:

Ι. απλές φαινολικές ουσίες

Τα φαινολικά οξέα είναι πανταχού παρόντα μεταξύ των φυτών. Αν και οι ελεύθερες φαινόλες είναι σπάνιες, το γαλλικό οξύ είναι σχετικά διαδεδομένο και είναι η μητρική ένωση των γαλλοταννινών (Zbigniew et al., 2014).



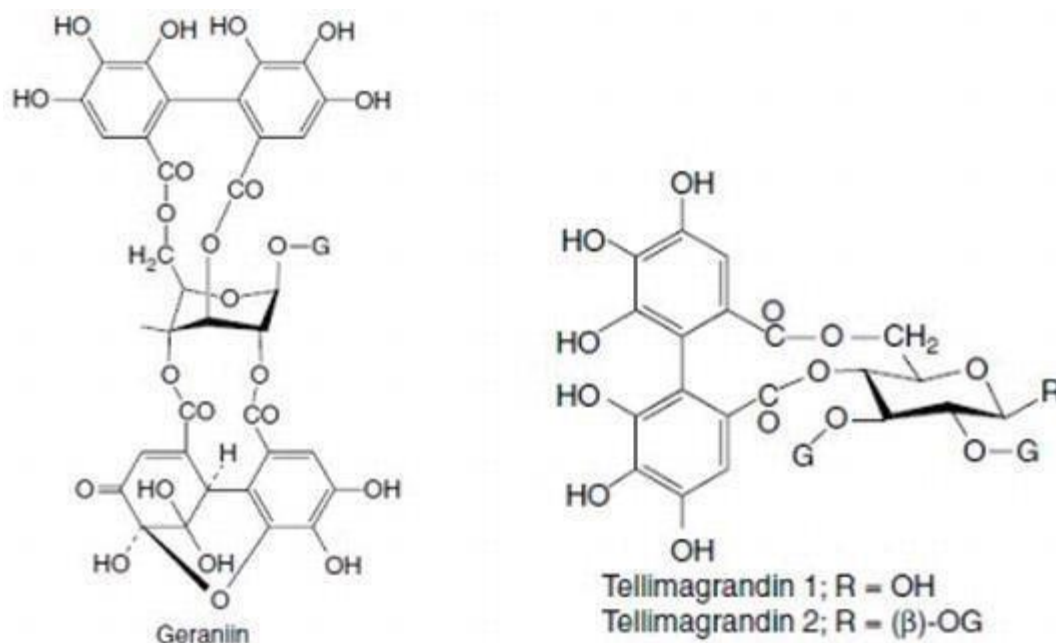
Εικόνα 11 Γαλλικό οξύ (Hussein & El-Anssary, 2019).



Εικόνα 12 Παραδείγματα απλών φαινολικών ενώσεων (Hussein & El-Anssary, 2019).

II. Τανίνες

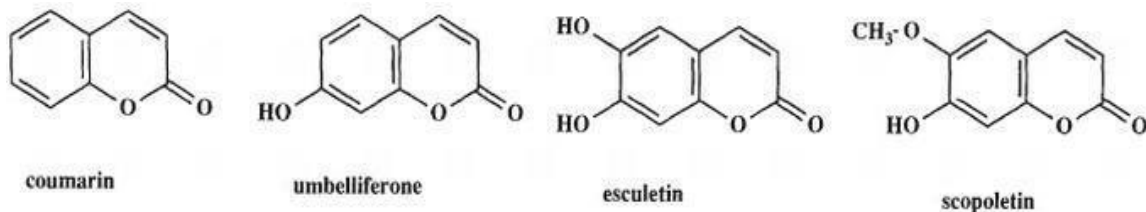
Οι τανίνες είναι πολυφαινόλες που έχουν την ικανότητα να καθιζάνουν πρωτεΐνη. Αυτές οι ενώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για δεκαετίες για τη μετατροπή ακατέργαστων δερμάτων ζώων σε δέρμα. Σε αυτή τη διαδικασία, τα μόρια τανίνης διασυνδέουν την πρωτεΐνη και την κάνουν πιο ανθεκτική σε βακτηριακή και μυκητιακή επίθεση. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι τανινών: οι υδρολυόμενες τανίνες και οι συμπυκνωμένες τανίνες (Hoffman, 2003).



Εικόνα 13 Παραδείγματα υδρολυόμενων τανίνων (Hussein & El-Anssary, 2019).

III. Κουμαρίνες

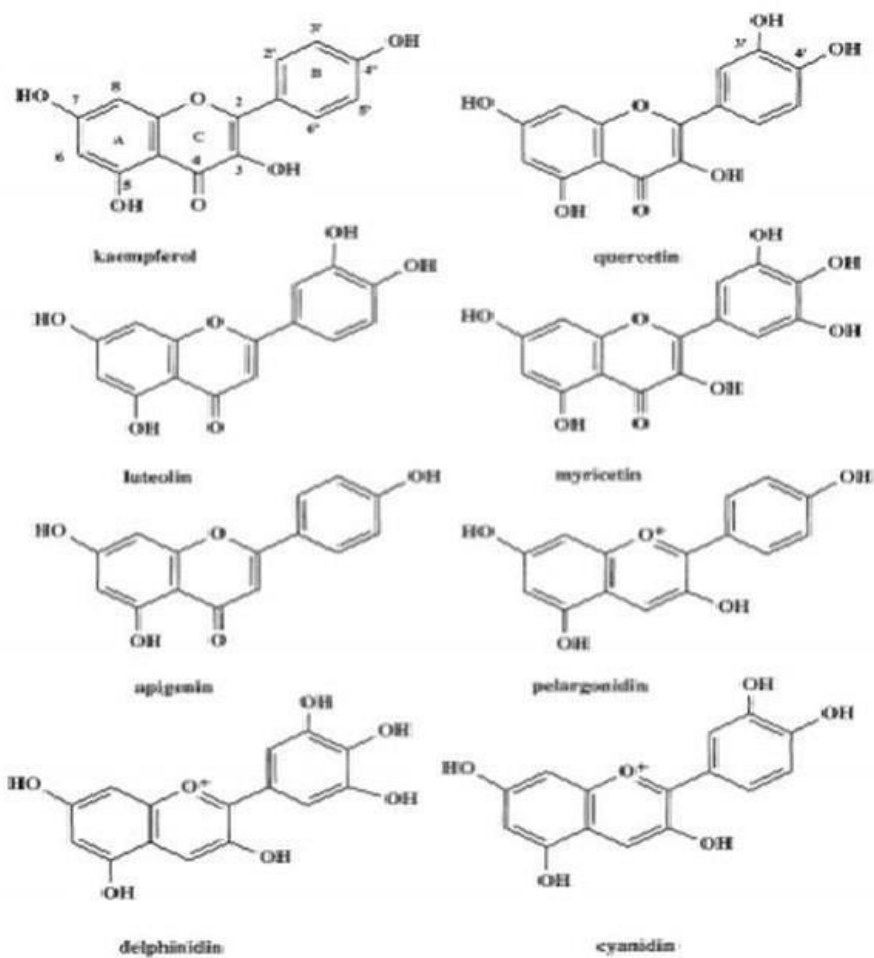
Οι κουμαρίνες είναι παράγωγα μίας βενζο-α-πυρόνης, της λακτόνης δηλαδή του Ο-υδροξυκιναμωμικού οξέος. Περίπου 1000 φυσικά παράγωγα κουμαρίνης έχουν απομονωθεί. Η ίδια η κουμαρίνη έχει βρεθεί σε περίπου 150 είδη φυτών που ανήκουν σε περισσότερες από 30 διαφορετικές οικογένειες. Οι πλουσιότερες πηγές κουμαρίνης είναι το γλυκό τριφύλλι ή melilot (*Melilotus* spp.), το *Dipteryx odorata* (σπόρος τόνκα) και το *Galium odoratum* (γλυκό ξυλόφυτο) (Hoffman, 2003).



Εικόνα 14 Παραδείγματα κουμαρίνων (Hussein & El-Anssary, 2019).

IV. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι η μεγαλύτερη ομάδα φυσικών φαινολών. Περισσότερες από 2000 από αυτές τις ενώσεις είναι πλέον γνωστές, με σχεδόν 500 να εμφανίζονται σε ελεύθερη κατάσταση. Ο δομικός σκελετός των φλαβονοειδών περιλαμβάνει έναν δακτύλιο χρωμάνης που φέρει έναν αρωματικό δακτύλιο στη θέση 2, 3 ή 4. Τα φλαβονοειδή μπορούν να διακριθούν σε κατηγορίες ανάλογα με το επίπεδο οξείδωσης του κεντρικού δακτυλίου (δακτύλιος C). Οι πιο κοινές από αυτές είναι οι ανθοκυανίνες, οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες. Είναι ευρέως διαδεδομένες στη φύση, αλλά είναι πιο κοινές στα ανώτερα φυτά, όπου εμφανίζονται στον κυτταρικό χυμό (Hoffman, 2003).



Εικόνα 15 Παραδείγματα Φλαβονοειδών (Hussein & El-Anssary, 2019).

V. Χρωμόνες και ξανθόνες

Αυτές οι ενώσεις είναι δομικά παράγωγα της βενζο-γ-πυρόνης, και αν και δεν έχουν μεγάλη φαρμακευτική σημασία, μερικές ενώσεις αξίζει να αναφερθούν. Η ευγενίνη βρίσκεται στο φυτό γαρύφαλλο και η χελίνη προέρχεται από τους σπόρους μουστάρδας (Hussein & El-Anssary, 2019) (Hoffman, 2003).

VI. Στιλμπένες (ή σιβλένες)

Τα στιλβένια είναι μια σχετικά μικρή ομάδα φυτικών δευτερογενών μεταβολιτών που απαντώνται κυρίως ως συστατικά του εγκάρδιου σε μια ετερογενή ομάδα φυτικών ειδών. Είναι ιδιαίτερα σημαντικά στο εγκάρδιο δέντρων των γενών *Pinus* (*Pinaceae*), *Eucalyptus* (*Myrtaceae*) και *Madura* (*Moraceae*) (DS.,1995) (Hussein & El-Anssary, 2019).

VII. Λιγνάνες

Οι λιγνάνες είναι διμερείς ενώσεις που σχηματίζονται ουσιαστικά από την ένωση δύο μορίων ενός παραγώγου φαινυλοπροπενίου από τα μέλη των *Asteraceae* (π.χ. *Achillea lingulata*), *Pinaceae* (π.χ. *Cedrus deodara*) (Saeidnia et al., 2011).

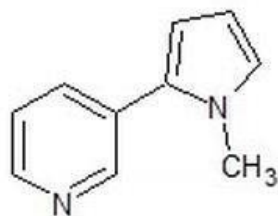
Εμφανίζονται τέσσερις κύριοι υποτύποι: παράγωγα διβενζυλβουτανίου, διβενζυλβουτρυλαλακτόνες (λιγνανολίδια ή παράγωγα βουτανολιδίου) , μονοεποξυ λιγνάνες ή παράγωγα τετραϋδροφουρανίου και δισεποξυλιγνάνες ή παράγωγα του 3 , 7-διοξαδικυκλο (3.3.0.0). Πολλές από αυτές τις ενώσεις εμφάνισαν αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση, ενώ άλλες εμφάνισαν κυτταροτοξικές δράσεις όπως είναι η βικιστρομάλη, η ματαιρεσινόλη και η διβενζυλοβουτυρολακτόλη από το *Cedrus deodara* (Hussein & El-Anssary, 2019) .

2. Αλκαλοειδή

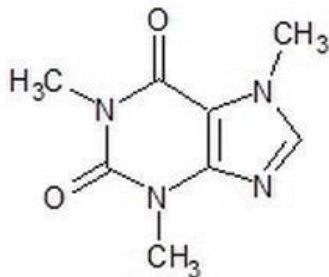
Πρόκειται για οργανικές ενώσεις που εμπεριέχουν τουλάχιστον ένα άτομο αζώτου σε έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο. Δεν αντιπροσωπεύουν μια ομοιογενή ομάδα ενώσεων από οποιαδήποτε άποψη, είτε χημική είτε βιοχημική. Βασικό χαρακτηριστικό των αλκαλοειδών είναι ότι όλες ενώσεις περιέχουν άζωτο, κανένας γενικός ορισμός δεν ταιριάζει σε όλα τα αλκαλοειδή. Τα αλκαλοειδή μπορούν να χωριστούν ανάλογα με τη βασική χημική τους δομή σε διαφορετικούς τύπους. Οι παρακάτω είναι βασικοί τύποι αλκαλοειδών: ακριδόνες, αρωματικές ουσίες, καρβολίνες, εφέδρας, ερυσίδια,

ιμιδαζόλες, ινδόλες, δισινδόλες, ινδολιζιδίνες, μανζαμίνες, οξινδόλες, κινολίνες, κινοζολίνες, φαινυλισκοκινολίνες, φαινυλαιθυλαμίνες, πιπερροπυλιδινίνες, απλές τετραϋδροϊσοκινολίνες (Tadeusz,2015) (Hussein & El- Anssary, 2019) .

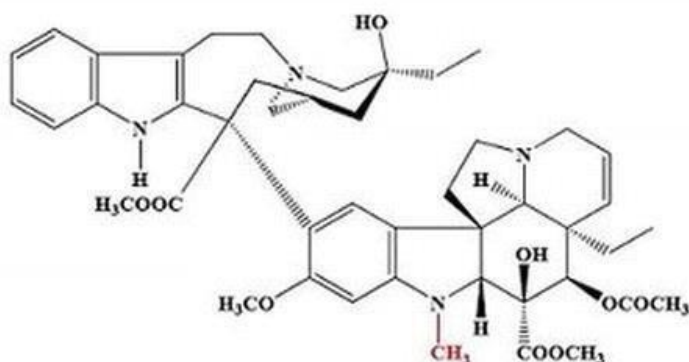
Αν και τα φυτά που περιέχουν αλκαλοειδή έχουν χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο για τουλάχιστον 3000 χρόνια ως φάρμακα, ως τσάι και ως δηλητήρια, οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για τις δραστηριότητες αυτές δεν απομονώθηκαν μέχρι τον δέκατο ένατο αιώνα. Τα αλκαλοειδή δεν είναι κοινά στα κατώτερα φυτά. Αυτά επιδεικνύουν μια ποικιλία φαρμακολογικών δράσεων, όπως αναλγησία, τοπική αναισθησία, καρδιακή διέγερση, αναπνευστική διέγερση και χαλάρωση, αγγειοσυστολή, μυϊκή χαλάρωση και τοξικότητα, καθώς και αντινεοπλασματικές, υπερτασικές και υποτασικές ιδιότητες. Η δράση των αλκαλοειδών έναντι των φυτοφάγων, η τοξικότητα στα σπονδυλωτά, η κυτταροτοξική δράση, οι μοριακοί στόχοι των αλκαλοειδών, η μεταλλαξιγόνοσ ή καρκινογόνοσ δράση, οι αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντιικές και αλληλοπαθητικές ιδιότητες έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Πολλά αλκαλοειδή είναι αρκετά τοξικά για τα ζώα ώστε καθώς μπορούν να προκαλέσουν θάνατο εάν καταναλωθούν. Αρκετά (π.χ. νικοτίνη και αναβασίνη) χρησιμοποιούνται ως εντομοκτόνα (Tadeusz , 2015).



Nicotine



Caffeine



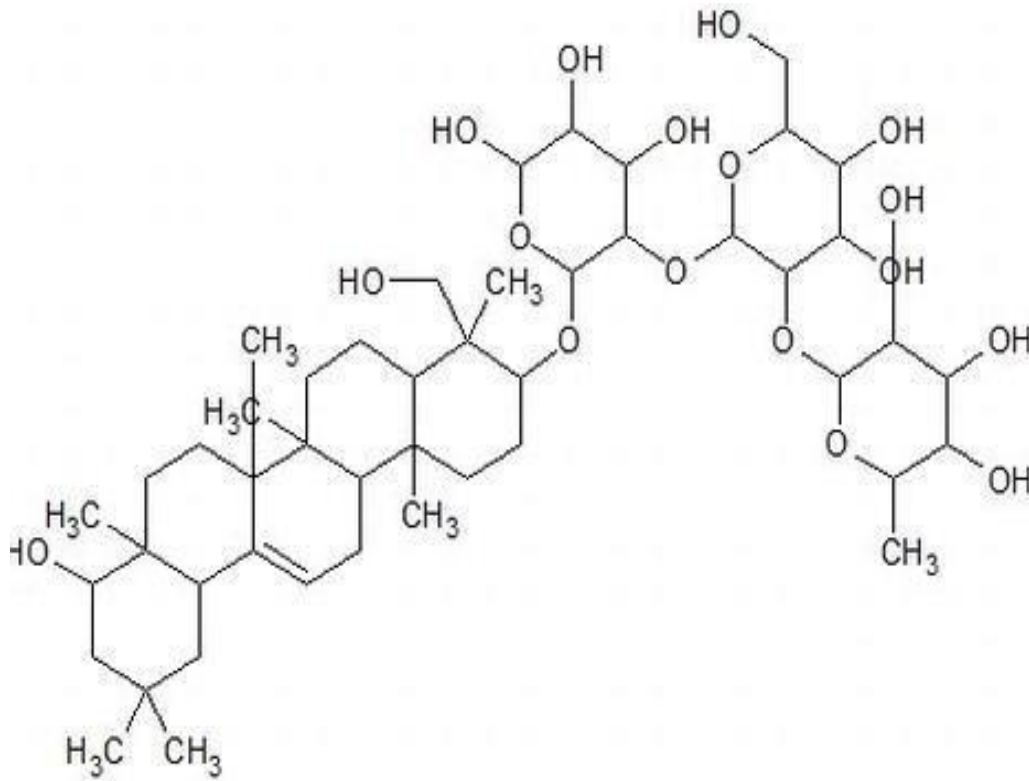
Vinblastine

Εικόνα 16 Παραδείγματα αλκαλοειδών (Hussein & El-Anssary, 2019).

3. Σαπωνοειδή

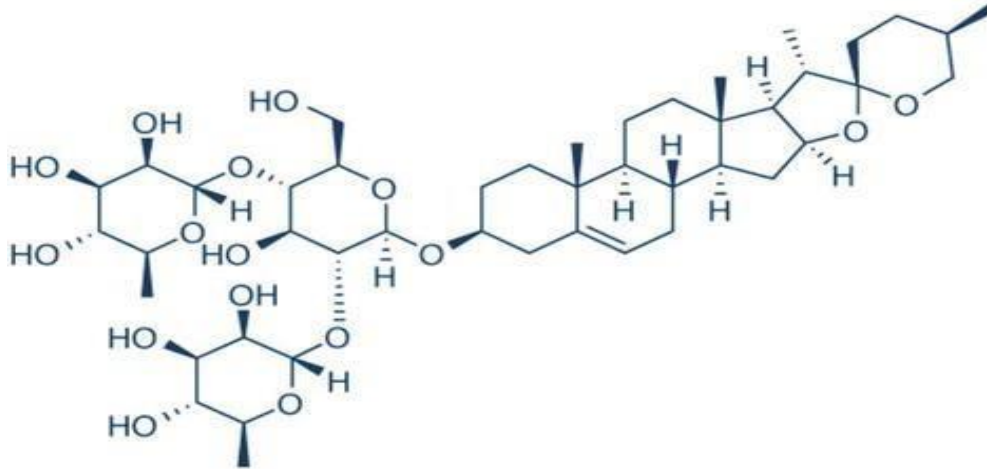
Οι σαπωνίνες είναι ενώσεις που διαθέτουν ένα τμήμα πολυκυκλικής αγλυκόνης με είτε ένα στεροειδές (στεροειδή σαπωνίνες) είτε με τριτερπενοειδή συνδεδεμένα σε μια μονάδα υδατάνθρακα (αλυσίδα μονοσακχαρίτη ή ολιγοσακχαρίτη) (εικόνα 15). Αυτές οι μονάδες σακχάρου αποτελούνται ποικιλοτρόπως από πεντόζες, εξόζες ή ουρονικά οξέα. Αυτή η υδρόφοβη-υδρόφιλη ασυμμετρία υποδηλώνει ότι έχουν την ικανότητα να μειώνουν την επιφανειακή τάση και δρουν ως σαπούνια. Σχηματίζουν αφρό σε υδατικά διαλύματα και προκαλούν *in vitro* αιμόλυση των ερυθροκυττάρων του αίματος. Το τμήμα αγλυκόνης του μορίου της σαπωνίνης ονομάζεται γενίνη ή σαπωνίνη. Οι σαπωνίνες είναι ευρέως διαδεδομένες μεταξύ των φυτών, καθώς έχουν αναφερθεί σε περισσότερα από 500 φυτά από τουλάχιστον 90 διαφορετικές οικογένειες. Αυτές οι ουσίες έχουν απομονωθεί από όλα τα μέρη των φυτών: φύλλα, μίσχοι, ρίζες βολβοί, λουλούδια και

καρποί, αν και τείνουν να συγκεντρώνονται στις ρίζες πολλών ειδών όπως *Digitalis purpurea* (αλεπούδο), *Dioscorea villosa* (άγριο γιαμ), *Eleutherococcus senticosus* (σιβηρικό ginseng), *Gentiana lutea* (γεντιανό), *Glycyrrhiza spp.* (γλυκόρριζα) και *Panax ginseng* (κορεατικό ginseng) (Assa et al.,1973).



Soyasaponin I

Εικόνα 17 Παράδειγμα τριτερπενοειδούς σαπωνίνης (Hussein & El-Anssary, 2019).



Dioscin

Εικόνα 18 Παράδειγμα στεροειδούς σαπωνίνης (Hussein & El-Ansary, 2019).

4. Τερπένες

Οι τερπένες είναι η μεγαλύτερη και πιο ποικιλόμορφη ομάδα φυτικών δευτερογενών ενώσεων. Όλα προέρχονται χημικά από μονάδες ισοπρενίου 5 άνθρακα που προκύπτουν με διαφορετικούς τρόπους. Ένα πρόθεμα στο όνομα υποδεικνύει τον αριθμό των μονάδων τερπενίου ως εξής: Ημιτερπένες, μονοτερπένες, σεσκιτερπένες, διτερπένες, σεστερτερπένες, τριτερπένες (Hoffman, 2003).

5. Λιπίδια

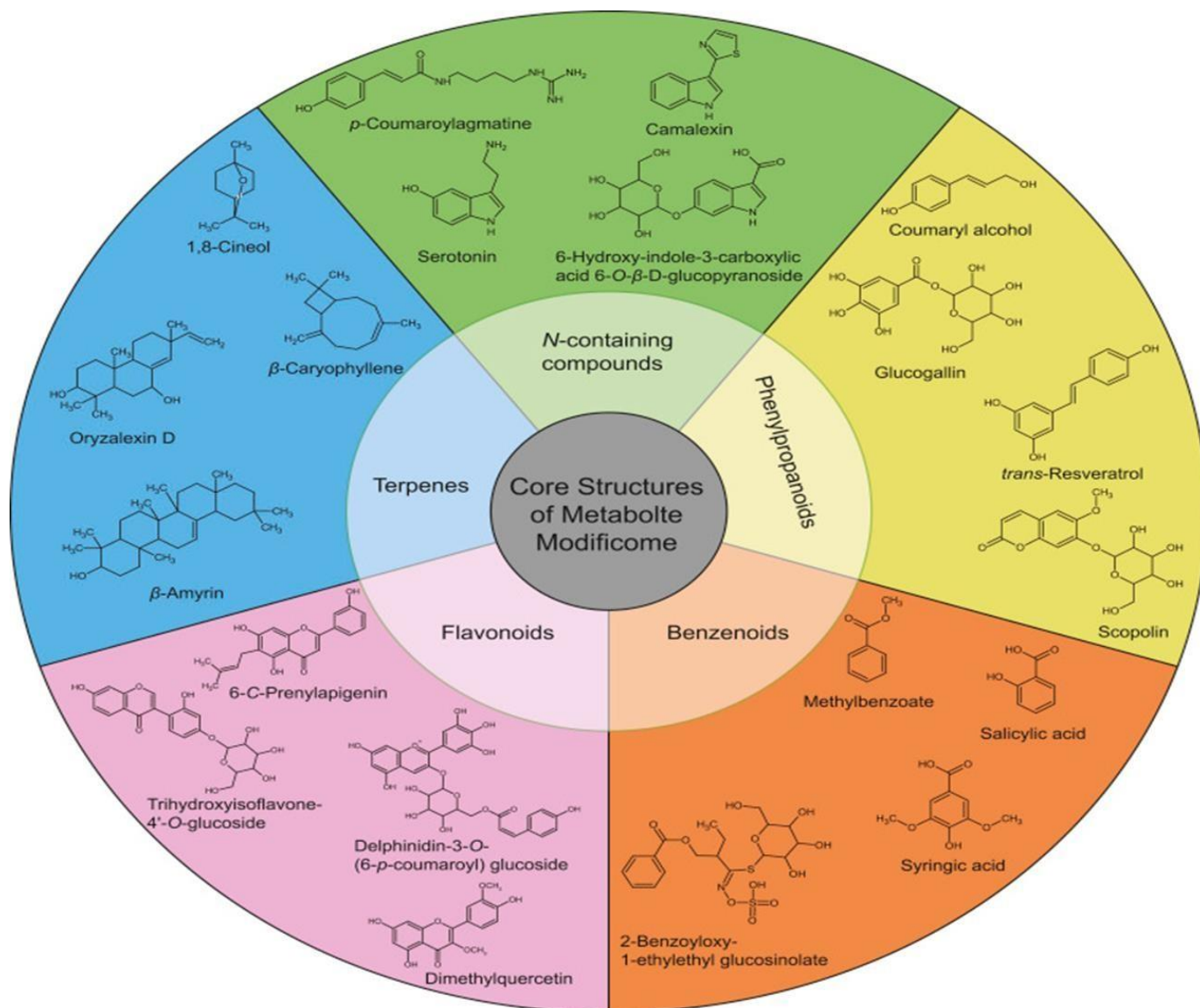
Τα λιπίδια αποτελούν μια ομάδα φυσικών μορίων που περιλαμβάνουν σταθερά έλαια, κεριά, αιθέρια έλαια, στερόλες, λιποδιαλυτές βιταμίνες (όπως βιταμίνες A, D, E και K), φωσφολιπίδια και άλλα. Τα λιπίδια εξυπηρετούν διάφορες βιολογικές δράσεις ως κύρια δομικά συστατικά όλων των βιολογικών μεμβρανών και ως ενεργειακές δεξαμενές για κυτταρικές δραστηριότητες εκτός από τις βιταμίνες και τις ορμόνες. Αν και τα λιπίδια

θεωρούνται πρωταρχικοί μεταβολίτες των φυτών, πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν φαρμακολογικές δραστηριότητες σε μέλη αυτής της κατηγορίας φυτοχημικών (Subramaniam et al.,2011).

6. Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες είναι παγκοσμίως παρόντες στα ζωντανά όντα στον πλανήτη μας. Ως το πρώτο προϊόν της φωτοσύνθεσης, οι υδατάνθρακες είναι το σημείο εκκίνησης για όλα τις φυτοχημικές αντιδράσεις και επίσης, κατ' επέκταση, για όλα τις ζωικές βιοχημικές αντιδράσεις. Περισσότεροι υδατάνθρακες υπάρχουν στη φύση από οποιοδήποτε άλλο είδος φυσικής ένωσης. Η πιο άφθονη μεμονωμένη οργανική ουσία στη Γη είναι η κυτταρίνη, ένα πολυμερές γλυκόζης, το οποίο είναι το κύριο δομικό υλικό των φυτών. Αν και οι υδατάνθρακες είναι πρωτογενείς μεταβολίτες, ενσωματώνονται σε πολλούς δευτερογενείς μεταβολίτες μέσω δεσμών γλυκοζίωσης. Τα πολυμερή των απλών σακχάρων και των ουρονικών οξέων παράγουν βλεννώδεις ουσίες και κόμμεα (Hussein & El-Anssary, 2019) (Yang et al.,2018) .

Στην παρακάτω φωτογραφία απεικονίζονται συνοπτικά οι δομές των δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών που ενώσεις που περιέχουν άζωτο, φαινυλοπροπανοειδή, βενζενοειδή, φλαβονοειδή και τερπένια.



Εικόνα 19 Παραδείγματα Δευτερογενών Μεταβολιτών Φυτών και οι Κύριες Τάξεις(Wanget al. ,2019)

Εισαγωγή σε φαρμακευτικά φυτά

Φυσικά προϊόντα από φυτά είναι γνωστά από την αρχαιότητα για την ίαση μιας μεγάλης ποικιλίας νοσημάτων παγκοσμίως (Llurba-Montesino & J. Schmidt ,2018). Στη χρήση των φαρμακευτικών αυτών φυτών εστίαζε η παραδοσιακή ιατρική και φαίνεται ότι έχει προσφέρει στην σύγχρονη ιατρική αποτελεσματικά ιατρικά προϊόντα για τη θεραπεία ασθενειών που προκαλούνται από παράσιτα. Μερικοί από τους μεταβολίτες των φυτών χρησιμοποιούνται στη θεραπεία παρασιτικών ασθενειών. Στα παρακάτω υποκεφάλαια θα αναλυθούν φυτά και οι μεταβολίτες αυτών με εν δυνάμει αντιπαρασιτική δράση.

Φυσικά αντιλεϊσμανιακά εκχυλίσματα, έλαια και απομονώσεις από φυτά

- Οι τρέχουσες θεραπείες των ασθενών με λεισμανίαση περιλαμβάνουν τα πρώτης γραμμής φάρμακα που είναι η αμφοτερικίνη Β τα πεντασθενή αντιμονικά: αντιμονική μεγλουμίνη και στιβογλουκονικό νάτριο.

Τα φάρμακα δεύτερης γραμμής περιλαμβάνουν τα εξής:

- πενταμιδίνη,
- μιλτεφοσίνη και
- παρομομυκίνη (Macêdo et al.,2021)

Ωστόσο η συστηματική τοξικότητα που παρουσιάζεται από την ευρεία χρήση των πεντασθενών αντιμονικών όπως επίσης και η εμφάνιση της αντίστασης στα φάρμακα οδηγούν στην αναζήτηση νέων ισχυρών φαρμάκων κατά της λεισμανίασης. Τα παράσιτα *Leishmania* εμφανίζονται ως εξωκυτταρικοί κινητικοί προματιγώτες και ενδοκυτταρικοί/ενδομακροφάγοι αμαστιγώτες. Και οι δυο μορφές ερευνώνται γενικά για αντιλεϊσμανιακή έρευνα, παρ'όλα αυτά, υπάρχουν διαφορές, που επηρεάζουν την εγκυρότητα των πειραμάτων δοκιμών φαρμάκων (Koko et al., 2022) .

Η ήδη περιγραφόμενη σημαντικότητα της χρήσης των φυτών και των παραγώγων τους οδήγησε την επιστημονική κοινότητα να αναζητήσει και να ερευνήσει την χλωρίδα σε διάφορες περιοχές με σκοπό να αναζητήσουν φυτά με εν δυνάμει αντιλεϊσμανιακή δράση. Περιοχές πλούσια σε φαρμακευτικά φυτά είναι ο Αμαζόνιος (Da Silva et al.,2018), το Ιράν (Soosaraei et al.,2017), η δασική έκταση στον Ατλαντικό

(Santos,2019) και το βορειοδυτικό Μαρόκο (επαρχία Ouezzane) , όπου πρέπει να αναφερθεί ότι μερικά από αυτά τα φυτά αυτά είναι ενδημικά. (Bouyahya et al.,2017).

Αναφορικά με την περιοχή του Αμαζονίου, θεωρείτο και θεωρείται όπως αναφέρθηκε σαν μια περιοχή με πλούσια χλωρίδα και πληθώρα φυσικών φαρμακευτικών πηγών. Αυτά τα φυσικά προϊόντα χρησιμοποιούνται ως βάμματα, σιρόπια, τσάγια, αφεψήματα, υγρά εκχυλίσματα ή σκόνες. Εκχυλίσματα τα οποία είναι πλούσια σε ενεργούς μεταβολίτες που λαμβάνονται από διάφορα μέρη του φυτού, χρησιμοποιούνται ευρέως στην επιστημονική έρευνα.Για χρήση σε in vitro και in vivo μελέτες, τα διάφορα συστατικά του φυτού (βλαστοί, ρίζες, φύλλα και σπόροι) υποβάλλονται σε διαδικασίες διαβροχής, διαχωρισμού, καθαρισμού και κλασματοποίησης και επωάζονται παρουσία ενός πτητικού διαλύτη (εξάνιο, διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο, ακετόνη, μεθανόλη ή αιθανόλη) που βοηθά στην απομόνωση των βιοδραστικών ενώσεων. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι τα εκχυλίσματα περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις βιοδραστικών ενώσεων, συγκεντρώσεις που είναι παρόμοιες με αυτές των αφεψημάτων και των τσαγιών, καθιστώντας τα ελκυστικά για χρήση στην επιστημονική έρευνα. Ένας αυξανόμενος αριθμός μελετών που διεξάγεται με χρήση φυτικών εκχυλισμάτων με εκλεκτική in vitro και in vivo δράση κατά των πρωτόζωων *Leishmania* (Da Silva et al.,2018) .

Στον ακόλουθο πίνακα παρουσιάζονται φυτά και απομονωμένα συστατικά αυτών με αντιλεϊσμμανιακή δράση, φυσικά αντιλεϊσμμανιακά φυτικής προέλευσης με ανοσοτροποποιητικές δραστηριότητες και λεϊσμμανιοκτόνα φυτά.

Πίνακας 4. Φυτικά προϊόντα και φυτά με αντιλεϊσμμανιακή δράση (A.A.) και λεϊσμμανιοκτόνα φυτά (L.A.).

Δραστικότητα	Οικογένεια και είδος	Προετοιμασία	Οργανισμός (στέλεχος) που δοκιμάστηκε	Αποτέλεσμα	Αναφορές	Θέση
A.A.	<i>Mimosa tenuiflora</i>	Methanolic	<i>L. tropica</i>	Η συγκέντρωση 1000 και 500 $\mu\text{g/mL}$ κατέστειλε τον πολλαπλασιασμό των προμαστιγωτών μορφών αλλά σε συγκέντρωση 100 $\mu\text{g/mL}$ επιτάχυνε την ανάπτυξη των Προμαστιγωτών μορφών .	(Shamsedini S.R.A.M. et al., 2006)	Iran
A.A.	<i>Perovskia abrotanoides Karel</i>	Methanolic	<i>L. major</i>	$\text{IC}_{50} = 926, 723$ και $550 \mu\text{g/mL}$ μετά από 2, 4 και 6 μέρες επώασης	(Jaafari M.R. et al., 2007)	Iran
A.A.	<i>P. abrotanoides Karel</i>	Ethanolic	<i>L. major (MRHO/IR/75/ER)</i>	$\text{IC}_{50} = 213, 652$ και $343 \mu\text{g/mL}$ μετά από 2, 4 και 6 μέρες επώασης	(Jaafari M.R. et al., 2007)	Iran
A.A.	<i>Peganum harmala</i>	Unknown	<i>L. major (MRHO/SU/59/P)</i>	$\text{IC}_{50} = 1832.65 \pm 89.72 \mu\text{g/mL}$	(Mirzaie M. et al., 2007)	Iran
A.A.	<i>Ferula szowitsiana</i>	Unknown	<i>L. major</i>	$\text{IC}_{50} = 4.9 \mu\text{g/mL}$	(Iranshaki M. et al., 2007)	Iran
A.A.	<i>Peganum harmala</i>	Aqueous	<i>L. major (MRHO/IR/75/ER)</i>	$\text{IC}_{50} \text{ P. Harmala}$ μετά από 60 h = 0.7 $\mu\text{g/mL}$	(Yousefi R. et al., 2009)	Iran
A.A.	<i>Alkanna tinctoria</i>	Chloroformic	<i>L. major (MRHO/IR/75/ER)</i>	$\text{IC}_{50} \text{ A. tinctoria}$ μετά από 60 h = 0.7 $\mu\text{g/mL}$	(Barati M. et al., 2010)	Iran

A.A.	<i>A. aucheri</i>	Methanolic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 76/ER)	IC50 = 7.5 µg/mL	(Barati M. et al.,2010)	Iran
A.A.	<i>F. asafoetid</i>	Methanolic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 76/ER)	IC50 = 5.9 µg/mL	(Barati M. et al.,2010)	Iran
A.A.	<i>Gossypium hirsutum</i>	Methanolic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 76/ER)	IC50 = 3.6 µg/mL (καλύτερη επίδραση)	(Barati M. et al.,2010)	Iran
A.A.	<i>Echinacea purpurea</i>	Ethanollic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 75/ER)	Η LD50 για τις προμαστιγωτές μορφές προσδιορίστηκε ως 22.300, 16.700, 36.600, 19.800 και 1230 µg/mL στις 8, 16, 24, 48 και 72 ώρες αντίστοιχα. 125, 000 και 50.000 µg/mL συγκεντρώσεις αυτού του εκχυλίσματος μπόρεσαν να σκοτώσουν το 100% του παρασίτου μετά από 48 ώρες	(Soudi S. et al., 2010)	Iran
A.A.	<i>Calendula officinalis</i>	Aqueous	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 75/ER)	Το IC50 υπολογίστηκε για αιθανολικό & υδατικό <i>C. officinalis</i> ; 170 µg/mL, 215 µg/mL μετά από 24 ώρες αντίστοιχα. Το εκχύλισμα σε συγκέντρωση 500 µg/ml βρέθηκε ότι σκοτώνει όλα τα παράσιτα.	(Maspi N. et al., 2010)	Iran
A.A.	<i>C. officinalis</i>	Ethanollic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 75/ER)		(Khadenvatan S. et al.,2011)	Iran
A.A.	<i>A. sativum</i>	Aqueous	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 75/ER)	Κυτταροτοξική δράση στο <i>L. major</i> με σχεδόν 100% θάνατο σε συγκέντρωση 93 µg/mL	(Khadenvatan S. et al.,2011)	Iran
A.A.	<i>Satureja khuzestanica</i>	Ethanollic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 75/ER)	Ethanollic extract IC100 = 2400 µg/mL IC50 = 300 µg/mL.	(Sadeghi-Nejad B. et al., 2011)	Iran
A.A.	<i>Verbascum thapsus</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/ 76/ER)	IC50 = 452 ± 4.47 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran

A.A.	<i>Caparis spinosa</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 375 ± 2.96 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Amarusthus rutroflena</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 275 ± 7.45 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Sesamum indium</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 245 ± 3.78 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>A. absintin</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 280 ± 5.96 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Tribulus terrestitis</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 ≥ 625 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Ficus bengalensis</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 200 ± 23.14 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Prosopis juliflorea</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 312 ± 14.625 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>A. dracunculus</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 ≥ 625 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Paliurus spina Christi</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 ≥ 625 µg/mL,	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Rhamnus persica boiss</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 75 ± 13.44 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Caesalpinia gilliesii</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 9.76 ± 1.27 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Acacia faesiana</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 625 ± 12.75 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Satureia hortensis</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 15.625 ± 3.76 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Carum copticum heirm</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 15.625 ± 3.76 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Thymus migricus</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = 31.25 ± 15.44 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>A. vulgari</i>	Hydro alcoholic	<i>L. major</i> (MRHO/IR/76/ER)	IC50 = >625 µg/mL	(Manjili H.K. et al., 2012)	Iran
A.A.	<i>Artemisia annua</i>	Ethanolic	<i>L. major</i>	IC50 = 400 ± 0.8 µg/mL	(Emami S.A. et al., 2012)	Iran

A.A.	<i>A. annua</i>	Ethyl acetate	<i>L. major</i>	IC50 = 425 ± 1.5 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. annua</i>	Dichloromethane	<i>L. major</i>	IC50 = 850 ± 0.9 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. annua</i>	Hexane	<i>L. major</i>	IC50 = 1900 ± 2.4 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. biennis</i>	Ethanollic	<i>L. major</i>	IC50 = 100 ± 0.9 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. biennis</i>	Ethyl acetate	<i>L. major</i>	IC50 = 425 ± 0.5 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. biennis</i>	Dichloromethane	<i>L. major</i>	IC50 = 525 ± 1.1 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. biennis</i>	Hexane	<i>L. major</i>	IC50 = 1050 ± 2.0 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. ciniformis</i>	Ethanollic	<i>L. major</i>	IC50 = 25 ± 0.4 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. ciniformis</i>	Ethanollic	<i>L. major</i>	Τα αιθανολικά εκχυλίσματα του <i>A. ciniformis</i> έχουν μια από τις πιο ισχυρές λεισμανοκτόνο δράση.	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
		Ethyl acetate	<i>L. major</i>	IC50 = 340 ± 1.2 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran

A.A.	<i>A. kopedag hensis</i>	Ethyl acetate	<i>L. major</i>	IC50 = 255 ± 0.8 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. kopedag hensis</i>	Dichloromethane	<i>L. major</i>	IC50 = 445 ± 0.5 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
A.A.	<i>A. kopedag hensis</i>	Hexane	<i>L. major</i>	IC50 = 925 ± 1.6 µg/mL	(Emami S.A. et al.,2012)	Iran
L.A.	<i>E. uniflora (Myrtaceae)</i>	EtOH	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες:47.0 ± 8.5 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 22.1 ± 5.8	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
L.A.		n-hexane	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες:14.0 ± 3.3 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 9.2 ± 1.2	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
L.A.	<i>S. terebinthifolia (Anacardiaceae)</i>	EtOH	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες:64.6 ± 10.2 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 30.6 ± 9.6	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
L.A.		n-hexane	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες:13.9 ± 4.3 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 43.1 ± 10.3	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
L.A.	<i>S. terebinthifolia (Anacardiaceae)</i>	EtOH	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες:30.5 ± 6.3 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 32.6 ± 5.1	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
L.A.		n-hexane	<i>L. amazonensis</i>	EC50 (g/mL) για τουςπρομαστιγώτες : 14.7 ± 3.0 και για τις αμαστιγωτές μορφές: 17.4 ± 1.0	(Santos et al.,2019)	Atlantic forest
A.A.	<i>Stellaria media (L.) Vill.</i>	Methanol extract of whole plant followed by fractionation in hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol και water extracts	(<i>L. tropica</i> προμαστιγώτες)	IC50=185.9 (MeOH), 170.4 (hex-ane), 155.5 (CHCl3), 36.4 (Ac-OEt), 49.5 (BuOH) και 184.8 µg/mL (H2O)	(Koko et al.,2022)	Amazonian region
A.A.	<i>Melancium campestre Naudin</i>	Ethanol leaf extracts; hexane stem bark extract, και ; ethanol root extract,	<i>L. amazonensis</i>	IC50=120 µg/mL, IC50=161 µg/mL, IC50=93 µg/mL	(Koko et al.,2022)	Amazonian region

A.A.	<i>Pedilanthus tithymaloides</i> (L.) Poit.	Methanol stem extract	<i>L. infantum</i> αμαστιγώτες	IC50=11.8 µg/mL,	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Acacia nilotica</i> L.	Isolated (5S, 7R, 8R, 9R, 10S)-(-)-7, 8-seco-7, 8-oxacassa-13, 15-dien-7-ol-17-al (14)	<i>L. mexicana</i>	IC50=0.88 µM	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Dipteryx alata</i> Vog.	Ethanol και hexane leaf extracts; <i>in vitro</i>	<i>L. amazonensis</i>	IC50=51 µg/mL(EtOH), IC50=0.08 µg/mL (hexane)	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Ethanol και Hexane leaf extracts;	(<i>L. amazonensis</i>)	IC50=44 µg/mL (EtOH), IC50=35 µg/mL (hexane)	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Hymenaea stignocarpa</i> Mart.	Ethanol και Hexane leaf extracts;	(<i>L. amazonensis</i>)	IC50=4.7 µg/mL (EtOH), IC50=199 µg/mL (hexane)	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Tetradenia riparia</i> (Hochst.) Codd	Essential plant oil, isolated 6, 7-dehydro-royleanone (11)	<i>L. amazonensis</i> προμαστιγώτες	IC50=0.8 και 3 µg/mL	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region
A.A.	<i>Teucrium oliverianum</i> Ging. ex Benth.	Methanol extract (whole plant)	(<i>L. major</i> αμαστιγώτες και προμαστιγώτες)	IC50=7.8 και 26.6 µg/mL	(Koko al.,2022)	et	Amazonian region

Ολικό φαινολικό κλάσμα από παρθένο ελαιόλαδο

Πλούσιο σε φαινόλες που έχουν αντικαρκινική δράση, αντιμολυσματική και αντιμικροβιακή δράση.

Δοκιμάστηκε η ικανότητα του ολικού φαινολικού κλάσματος (Total Phenolic Fraction ή TPF) να προκαλεί προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο παρόμοιο με αποπτωτικό θάνατο σε προμαστιγώτες των *L. infantum* και *L. major*. Η αξιολόγηση έγινε βάσει αρκετών αποπτωτικών δεικτών, όπως π.χ. μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού, διακοπή του κυτταρικού κύκλου φάσης υπο-G0/G1, εξωτερίκευση

φωσφατιδυλοσερίνης, διαταραχή του δυναμικού της μιτοχονδριακής διαμεμβράνης και αυξημένη παραγωγή ROS, με τη χρήση τεχνικών κυτταρομετρίας ροής και μικροσκοπίας. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η θεραπευτική επίδραση του ολικού φαινολικού κλάσματος (Total Phenolic Fraction ή TPF) σε ποντίκια BALB/c μολυσμένα με *L. major* με προσδιορισμό δερματικών βλαβών, με επιβάρυνση παρασίτωνσε ιγνυακούς λεμφαδένες, ειδικά για τη αντισώματα έναντι της λείσμάνιας και βιοδείκτες της κυτταρικής ανοσοαπόκρισης της θέσης ιστού, πέντε εβδομάδες μετά τη λήξη της θεραπείας. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι το ολικό φαινολικό κλάσμα (Total Phenolic Fraction ή TPF) πυροδοτεί τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και τις αποπτωτικές αλλαγές στους προμαστιγώτες της *Leishmania spp.* (Karampetsou et al.,2021).

Olea ferruginea

Η *Olea ferruginea* ανήκει στο γένος *olea* και στην οικογένεια Oleaceae, η οποία αποτελείται από 40 είδη. Είναι ένα αειθαλές δέντρο, που απαντάται κυρίως σε λοφώδεις περιοχές του Πακιστάν, του Αφγανιστάν και του Κασμίρ. Άνθρωποι από αγροτικές περιοχές χρησιμοποιούν το φλοιό του στελέχους του για τη θεραπεία του πυρετού, των οδοντικών και σκελετικών προβλημάτων και για τη θεραπεία δερματικών παθήσεων. Το έλαιο των καρπών του δέντρου αυτού του χρησιμοποιείται για τον διαλείποντα πόνο στις αρθρώσεις και ως μασάζ για εξάρθρωση των οστών. Έχει βρεθεί ότι διαφορετικά μέρη του *O. ferruginea* διαθέτουν αρκετές in vitro δυνατότητες. Το φυτό αναφέρεται ότι έχει δράση κατά της ελονοσίας, κατά της λέπρας, αντισηπτική δράση και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της αιμορραγίας των ούλων, του άσθματος, του στοματικού έλκους και του πονόλαιμου. (Zafar et al.,2008).

Το γένος *olea* είναι μια καλή πηγή σεκοϊριδοειδών γλυκοσιδών, σεκοϊριδοειδών, λιγνανών, флаβονοειδών και άλλων φαινολικών ενώσεων. Το (+)-Cycloolivil απομονώνεται ως καθαρή ένωση που απομονώνεται από *Stereospermum personatum* και έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (21, 74 μg/ml) σε σύγκριση με ιατρικά σημαντικά φάρμακα, π.χ. προμπουκόλη και DL α-τοκοφερόλη, που έχουν αντιοξειδωτική δράση στα 28, 71 μg/ml και 47, 80 μg/ml, αντίστοιχα. Στην τρέχουσα

μελέτη, πραγματοποιήθηκε η απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών, η οποία οδήγησε σε ένα νέο παράγωγο λιγνάνης, τη φερουγκινάνη (1) και μια γνωστή ένωση κυκλολιβίλη (2). (Zafar et al.,2008).

Ελέγχθηκε η λεισμανοκτόνος δράση των κλασμάτων που λαμβάνονται από το ακατέργαστο εκχύλισμα του στελέχους *Olea ferruginea*. Το κλάσμα οξικού αιθυλεστέρα κατά της λεισμανίας υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό, οδηγώντας στην απομόνωση μιας νέας ένωσης ονόματι *ferruginan* (1) και μιας γνωστής ένωσης ονόματι κυκλοελαβίλη (2). Οι δομές των 1 και 2 προσδιορίστηκαν με διάφορες φασματοσκοπικές τεχνικές και προσδιορίστηκαν για την *in vitro* αντιβακτηριακή και λεισμανοκτονική τους δυνατότητα. Η ένωση 1 έδειξε 75% αναστολή μετά από 24 ώρες επώασης και 98% αναστολή μετά από 48 ώρες επώασης έναντι των προμαστιγωτών *L. tropica* KWH23 σε συγκέντρωση 100 μg/mL, ενώ η ένωση 2 εμφάνισε 73% και 96% αναστολή στην ίδια συγκέντρωση και χρονικά διαστήματα. Η ένωση 1 έδειξε επίσης καλή δράση έναντι διαφόρων βακτηριακών παθογόνων (Zafar et al.,2008).

Συμπερασματικά, το δυναμικό της λεισμανοκτόνου δράσης των ακατέργαστων κλασμάτων και των καθαρών ενώσεων 1 και 2 δοκιμάστηκε έναντι της *L. tropica*. Τα κλάσματα οξικού αιθυλεστέρα και χλωροφορμίου έδειξαν πολύ καλά αποτελέσματα (Zafar et al.,2008).

Αιθέρια έλαια (Essential Oils ή EO)

Λαμβάνοντας υπόψη τον αυξανόμενο αριθμό νέων περιπτώσεων, η ανάπτυξη νέων φαρμάκων είναι κρίσιμη. Τα αιθέρια έλαια φυτικής προέλευσης είναι φυσικά έλαια που εκκρίνονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες από διαφορετικά μέρη των αρωματικών φυτών. Τα EOs αποτελούνται από μείγμα υδρόφιλων και υδρόφοβων μορίων. Διαθέτουν διάφορες βιολογικές δραστηριότητες, όπως προνυμφοκτόνο δράση, αντιβακτηριακές ιδιότητες και αντιμυκητιακή δράση (Ghadimi et al.,2020).

Πρόσφατα, η λεισμανιοκτόνος δράση (Leishmaniocidal Activity ή LCA) των αιθέριων ελαίων έχουν λάβει μεγάλη προσοχή. Επιπλέον, οι επιδράσεις τους σε προμαστιγωτές μορφές διαφορετικών ειδών *Leishmania* έχουν αναφερθεί συχνά. Σε αυτήν την έρευνα, η αντιπαρασιτική δράση των αιθέριων ελαίων για διαφορετικούς

τύπους προμαστιγωτών έχει αναθεωρηθεί συστηματικά, από την 1η Ιανουαρίου 2000 έως τις 30 Ιουνίου 2019 (Ghadimi et al.,2020).

Πίνακας 5. Λείσμανιοκτόνος δράση των ΕOs σε προμαστιγώτες της *L. amazonensis*.

Λείσμανιοκτόνες δράσεις από αιθέρια έλαια (Essential Oils ή EO) σε προμαστιγώτες της <i>Leishmania amazonensis</i>		
Όνομα φυτού	Μέρος/Μέρη	IC50 (μg.mL-1)
Chenopodium ambrosioides (After O treatment)	Στέλεχος	5.55
Chenopodium ambrosioides (wild type)	Στέλεχος	3.74
Chenopodium ambrosioides	N/A	3.70
Cinnamodendron dinisii	Φύλλα/ μίσχος	54.00
Cinnamomum camphora	Φύλλα/ μίσχος	NSV
Cinnamomum zeylanicum	Φύλλα	NSV
Cordia verbenaceae	Φύλλα/ μίσχος	64.70
Coriandrum sativum	Σπόροι	19.10
Cryptocarya aschersoniana	Φύλλα	4.46
Curcuma longa	Στέλεχος	405.50
Cymbopogon citratus	Φύλλα	1.70
Elettaria cardamomum	Φύλλα/ μίσχος	NSV
Eugenia uniflora	Φύλλα	3.04
Eugenia uniflora	Φύλλα	1.75
Ferula galbaniflua	Φύλλα/ μίσχος	95.70
Foeniculum officinalis	Φύλλα/ μίσχος	328.20
Gualtheria fragrantissima	Φύλλα	22.20
Lavandula officinalis	Φύλλα/ μίσχος	NSV
Lippia sidoides	Στέλεχος	44.38
Litsea cubeba	Φύλλα/ μίσχος	NSV
Matricaria chamomilla	Φύλλα/ μίσχος	60.10

Piper aduncum	Φύλλα	19.30
Piper aduncum.	Φύλλα	25.90
Piper arboretum	Φύλλα	15.20
Piper cernuum	Φύλλα	27.10
Piper claussonianum	Φύλλα	30.40

Λεϊσμανικοκτόνες δράσεις από αιθέρια έλαια (Essential Oils ή ΕΟ) σε προμαστιγώτες της <i>Leishmania amazonensis</i>		
Όνομα φυτού	Μέρος/Μέρη	IC50 (μg.mL-1)
Piper cubeba	Καρποί	326.50
Piper demeraranum	Φύλλα	86.00
Piper diospyrifolium	Φύλλα	13.50
Piper duckei	Φύλλα	46.00
Piper gaudichaudianum	Φύλλα	93.50
Piper mikanianum	Φύλλα	NSV
Piper mosenii	Φύλλα	17.40
Piper ossanum	Φύλλα	NSV
Piper rivinoides	Φύλλα	10.90
Piper xylosteoides	Φύλλα	NSV
Pluchea carolinensis	Φύλλα	24.70
Protium ovatum	Φύλλα	2.280
Salvia sclarea	Φύλλα/ μίσχος	325.90
Siparuna guianensis	Φύλλα/ μίσχος	48.50
Syzygium cumini	Φύλλα	36.00
Syzygium cumini	Φύλλα	60.00
Syzygium cumini	Φύλλα	115.00
Tetradenia riparia	Φύλλα	0.53
Tetradenia riparia	Φύλλα	0.03
Tetradenia riparia	Φύλλα	0.01
Tunisian chamomile	Άνθος	10.80
*No specified value; IC50 >X.		

Ωστόσο, δεδομένων των επιλεκτικών ιδιοτήτων των ΕΟ, ο συνδυασμός τους μπορεί να οδηγήσει σε καλά αποτελέσματα. Με άλλα λόγια, ανάλογα με την ενδημική λεϊσμανίαση, τα ΕΟ μπορούν να συνδυαστούν και να διαμορφωθούν ως πολυλειτουργικά φάρμακα (Ghadimi et al.,2020).

Αντιλειψμανιακή δράση του γένους Piper

Το γένος Piper είναι το μεγαλύτερο γένους της οικογένειας Piperaceae που απαντάται στην περιοχή του Αμαζονίου, με σχεδόν 2000 είδη βοτάνων, θάμνων ή μικρών δέντρων που διανέμονται στα τροπικά και υποτροπικά δάση, κυρίως στην Κεντρική και Νότια Αμερική, την Καραϊβική, την Αφρική, την Ασία και τα νησιά του Ειρηνικού. Στην πραγματικότητα, αυτά τα φυτά έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην παραδοσιακή ιατρική και αποτελούν σημαντική πηγή θεραπευτικών παραγόντων, καθώς παρουσιάζουν μεγάλη χημική ποικιλία δευτερογενούς μεταβολισμού, συμπεριλαμβανομένων αλκαλοειδών, φλαβονοειδών, τερπενοειδών, φαινυλοπροπανοειδών, φαινολικών οξέων και λιγνάνες. Αυτά τα συστατικά έχουν αναφερθεί ότι έχουν αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και αντιπαρασιτικές ιδιότητες.

Παρ' όλα αυτά για να γίνει εφικτή η ανάπτυξη φαρμάκων με βάση τα αιθέρια έλαια, τα εκχυλίσματα και τα χημικά συστατικά αυτού του γένους οι μηχανισμοί δράσης αυτών των ενώσεων θα πρέπει να διευκρινιστούν περαιτέρω έτσι ώστε να στραφούμε στην ανακάλυψη νέων βιοδραστικών ενώσεων για την θεραπεία της λειψμανίας (Macêdo et al.,2021).

A. coriacea

Το πτητικό έλαιο των φύλλων *A. coriacea* έδειξε ικανοποιητική αντιλειψμανιακή δράση και αντιτρυπανοσωμική δράση, αν και η πιο ισχυρή δράση παρατηρήθηκε έναντι της *L. chagasi* (IC50 39, 93 µg/mL). Μεταξύ των κυριότερων ενώσεων που συναντώνται σε αυτό το λάδι ήταν τα σεσκιτερπένια δ-καδινένιο και (E)-καρυοφυλλένιο. Τα σεσκιτερπένια εμφανίζουν σημαντική δράση έναντι των προμαστιγωτών της *L. donovani* με IC50 19 και 4 µg/mL, αντίστοιχα, επιτρέποντας να συσχετίσει η συμβολή αυτών των ενώσεων στη λειψμανοκτόνο δραστηριότητα που καταδεικνύεται από το έλαιο *A. coriacea* (Rocha et al.,2021).

Τα τρέχοντα κλινικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της λειψμανίας βασίζονται, όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε πεντασθενή αντιμόνια. Η

Amphoterin B και η πενταμιδίνη χρησιμοποιούνται επίσης συνήθως, δυστυχώς όμως είναι πολύ τοξικά και έχουν πολλές σοβαρές παρενέργειες (Croft & Olliaro,2011).

Πολλά προϊόντα φυτικής προέλευσης από το A. coriacea, όπως χαλκόνες, τερπενοειδή, ναφθοκινόνες, νεολιγνάνες, λιγνάνες, αλκαλοειδή, κινόνες, οξυλιπίνη, флаβονοειδή, σαπωνίνες και τερπένια έχουν δείξει πολλά υποσχόμενη αντιλεϊσμανική δράση (Fouce et al.,1998).

Φυσικά προϊόντα που στοχεύουν στην Αργινάση της Leishmania

1. Κερσετίνη

Η κερσετίνη είναι ένα πολυφαινολικό флаβονοειδές που βρίσκεται σε μια μεγάλη ποικιλία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των εσπεριδοειδών, πράσινων φυλλώδων λαχανικών και πράσινου τσαγιού (Carter et al.,2021).

2. Φισετίνη

Η φισετίνη είναι ένα флаβονοειδές που βρίσκεται στα φρούτα όπως οι φράουλες και τα σταφύλια, στα λαχανικά όπως οι ντομάτες και τα αγγούρια. Είναι αντιοξειδωτικός και αντιφλεγμονώδης παράγοντας και έχει αντιδιαβητικά, νευροπροστατευτικά και καρδιοπροστατευτικά αποτελέσματα in vivo και in vitro (Carter et al.,2021).

3. Πολυφαινολικές Ενώσεις στο Πράσινο Τσάι

Το πράσινο τσάι, με καταγωγή από την Κίνα, έχει μακρά ιστορία στην παραδοσιακή ιατρική και είναι ένα από τα πιο καταναλωτικά ποτά παγκοσμίως (Carter et al.,2021).

4. Ρεσβερατρόλη

Η ρεσβερατρόλη, μια πολυφαινόλη που βρίσκεται στα μούρα, τα σταφύλια και τα φιστίκια, έχει αναφερθεί να έχει αντιλεϊσμανιακή δράση κατά των προμαστιγωτών και των ενδοκυτταρικών μαστιγωτών in vitro. Δεν είναι γνωστό εάν η ρεσβερατρόλη αναστέλλει την αργινάση της Leishmania, ωστόσο, φαίνεται ότι αναστέλλει την αργινάση των θηλαστικών. Είναι ενδιαφέρον ότι η ρεσβερατρόλη μπορεί παρουσιάσει συνεργιστική δράση με την αμφοτερικίνη B έναντι των προμαστιγωτών της Leishmania (Carter et al.,2021).

5. Παράγωγα κινναμικού οξέος

Το κινναμωμικό οξύ και τα παράγωγά του είναι πολυφαινόλες, που υπάρχουν σε αφθονία στα φυτά και τρόφιμα. Έχουν δείξει ότι παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντικαρκινική,

νευροπροστατευτική, αντιφλεγμονώδης, αντιδιαβητική και αντιμικροβιακή ιδιότητα (Carter et al.,2021).

6. Εκχυλίσματα και ενώσεις *Senna Spectabilis*

Το *Senna spectabilis* είναι ένα είδος δέντρου που προέρχεται από τροπικές περιοχές της Αμερικής, του οποίου το κοινό όνομα είναι whitebark senna. Τα αλκαλοειδή πιπεριδίνης κασίνη, spectaline, η 3-Ο-ακετυλοκασίνη και η 3-Ο-ακετυλοσπεκταλίνη που μπορούν να απομονωθούν από το *S. spectabilis* έχουν τη δυνατότητα να είναι χρήσιμα έναντι των λοιμώξεων από *Leishmania* λόγω της ικανότητάς τους να αναστέλλουν την λεισμανιακή αργινάση (Carter et al.,2021).

7. Κλάσματα από *Sambucus Ebulus* και *Urtica Dioica*

Το *Sambucus ebulus*, κοινώς γνωστό ως νάνος γέροντας ή πρεσβύτερος, έχει χρησιμοποιηθεί από καιρό στην παραδοσιακή βοτανοθεραπεία για τη θεραπεία λοιμώξεων, πληγών, πόνων στις αρθρώσεις και μπορεί να έχει δυνατότητα για τη θεραπεία μεταβολικών διαταραχών και καρκίνου. Το βότανο περιέχει διάφορα φυτοχημικά όπως φλαβονοειδή, φαινόλες και λεκτίνες, που έχουν αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση (Carter et al.,2021).

Κινόνες (Quinones)

Ναφθοκινόνες

Η διοσπυρίνη είναι ένα φυσικό αντιλεισμανιακό παράγωγο διοσπυροκινόνης που απομονώνεται από το φλοιό του *Diospyros montana Roxb (Ebenaceae)*. Η δομική τροποποίηση της διοσπυρίνης αναφέρθηκε ότι είναι δραστική έναντι των προμαστιγωτών *L. major* και *L. donovani* (Ghodsian et al.,2020).

Η Plumbagin, η οποία είναι μια φαρμακευτική ναφθοκινόνη απομονώνεται από τις ρίζες του *Plumbago zeylanica L (Chitrak)*, έχει αντιλεισμανιακή δράση κατά της *L. donovani*. Ο μηχανισμός δράσης της Plumbagin είναι εντελώς διαφορετικός από αυτόν της διοσπυρίνης. Η Plumbagin επάγει τη διάσπαση του DNA των θηλαστικών με τη μεσολάβηση της τοποϊσομεράσης II in vitro και καθυστερεί την επέκταση της λοίμωξης από *L. venezuelensis* και *L. amazonensis* σε πειραματόζωα.

Επιπλέον η λαπαχόλη, η οποία είναι μια ναφθοκινόνη που απαντάται φυσικά στα είδη *Handroanthus* της Νότιας Αμερικής (*Tabebuia*, *Bignoaceae*), έχει επιδείξει

λειψμανοκτόνο δράση έναντι των μετακυκλικών προμαστιγωτών της *L. amazonensis* και του *L. braziliensis* (Ghodsian et al.,2020).

Ανθρακινόνες και ανθρωποιδία (Anthraquinones and anthropoids)

Η Aloe-emodin, η ανθρακινόνη που λαμβάνεται από τα εναέρια μέρη του αφρικανικού θάμνου *Stephania dinklagei*, έχει επιδείξει αντιλειψμανιακή δράση έναντι των προμαστιγωτών και των αμαστιγωτών της *L. donovani*.

Η Vismione D η bianthrone A1 και η emodin που λαμβάνονται από το αιθανολικό εκχύλισμα του φλοιού του φυτού της Τατζανίας *Vismia orientalis* (Clusiaceae ή Guttiferae), εμφανίζουν ένα ευρύ φάσμα αντιπρωτοζωικών δράσεων έναντι του στελέχους *Plasmodium falciparum* K1, *Trypanosoma cruzi*, *Thodryenseosona*, *Rhodryenseos*.

Επίσης, η 4-υδροξυ-1-τετραλόνη που απομονώθηκε από το φλοιό του *Ampelocera edentula* (Ulmaceae) είναι ένα ενεργό φυσικό προϊόν κατά των προμαστιγωτών των *L. donovani*, *L. braziliensis*, *L. venezuelensis* και *L. amazonensis* (Salem & Werbovetz, 2006) Ωστόσο η χρήση αυτού του μεταβολίτη είναι περιορισμένη λόγω των κυτταροτοξικών, μεταλλαξιόγόνων και καρκινογόνων επιδράσεων του σε πειραματόζωα (Ghodsian et al.,2020).

Φαινολικά παράγωγα (Phenolic derivatives ή PD)

Χαλκόνες

Η χαλκόνη είναι μια κοινή δομή που βρίσκεται σε πολλές φυσικές ενώσεις και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την ανακάλυψη φαρμάκων. Οι χαλκόνες έχουν επιδείξει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών και φαρμακολογικών δραστηριοτήτων με κλινικές δυνατότητες έναντι πολλών ασθενειών και έχουν μελετηθεί σε αρκετά είδη *Leishmania* (Ghodsian et al.,2020).

Η Licochalcone είναι μια οξυγονωμένη χαλκόνη, ένας τύπος φυσικής φαινόλης. Μπορεί να απομονωθεί από τη ρίζα του κινεζικού φυτού γλυκόριζας *Glycyrrhiza glabra* και *Glycyrrhiza inflata* και μπορεί να προκαλέσει την αναστολή των μιτοχονδριακών αφυδρογονασών επιπλέον της αναστολής της αναπνευστικής αλυσίδας

των παρασίτων. Αυτό το εκχύλισμα εμποδίζει την ανάπτυξη των *L. major* και των προμαστιγωτών της *L. donovani* (Ghodsian et al.,2020).

Φλαβονοειδή (Flavonoids)

Τα φλαβονοειδή είναι μια μεγάλη ομάδα πολυφαινολικών ενώσεων που είναι ευρέως διαδεδομένες στο φυτικό βασίλειο και η αναζήτηση για την αντιπαρασιτική τους δράση έχει δώσει ενώσεις όπως η λουτεολίνη, η φλαβόνη Α, η κερκετίνη (Mitra, et al., 2000), fisetin. Η λουτεολίνη (3', 4', 5, 7-τετραϋδροξυφλαβόνη) που απομονώθηκε από *Vitex negundo*, η κερσετίνη (3, 3', 4', 5, 7-πενταϋδροξυφλαβανόνη) που προέρχεται από το *Fagopyrum esculentum* και η fisetin (3, 7, 3', 4' - tetrahydroxyflavone) που απομονώθηκε από το *Cotinus coggygia* (δέντρο καπνού), είναι τα κύρια μέλη της οικογένειας των φλαβονοειδών και υπάρχουν σε αβθονία στα φρούτα, τα λαχανικά, το τσάι, το ελαιόλαδο και την πρόπολη (Mitra et al.,2000).

Η κερκετίνη και η λουτεολίνη αναστέλλουν τη σύνθεση του DNA των παρασίτων και προάγουν την απόπτωση που προκαλείται από τη μεσολάβηση της τοποϊσομεράσης II γραμμικοποίησης της σύνθεσης μικρικών κDNA στο *L. donovani* (Mitra, et al., 2000). Η κερκετίνη αναστέλλει την αργινάση (ARG-L) και την ριβονουκλεοτιδική αναγωγή (RNR), επάγει τον κυτταρικό θάνατο και τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στο *L. amazonensis*. Επίσης, η ισοκερκιτρίνη και η κερτικίνη αναστέλλουν το ARG-L του *L. amazonensis* με έναν μη ανταγωνιστικό μηχανισμό (Mitra et al.,2000).

Η επιγαλλοκατεχίνη 3-O-γαλλική (EGCG) που είναι το πιο άφθονο φλαβονοειδές συστατικό του πράσινου τσαγιού και έχει αποδείξει *in vivo* και *in vitro* λειτουργίες κατά του *L. infantum*. Το EGCG έχει αναφερθεί ως νέος παράγοντας για τη θεραπεία της σπλαχνικής λεισμνίασης (Mitra et al.,2000).

Αλκαλοειδή (Alkaloids)

Τα αλκαλοειδή είναι οι πιο σημαντικές φυσικές ενώσεις με την υψηλότερη αντιλεϊσμνιακή δράση (Ghodsian et al.,2020).

Ανάλογα κινολίνης και ισοκινολίνης (Quinoline and isoquinoline analogs)

Η βερβερίνη, ένα τεταρτογενές ισοκινολινικό αλκαλοειδές που βρίσκεται σε φυτά όπως το *Berberis* και συνιστά ένα αλκαλοειδές με την υψηλότερη αντιλεϊσμμανιακή δράση. Το χλωριούχο της βερβερίνη που απομονώνεται από το *Berberis aristata* αναστέλλει την κυτταρική αναπνοή του αμαστιγώτη στοχεύοντας τα μιτοχονδριακά ένζυμα και πυροδοτεί έναν θάνατο που προκαλείται από ελεύθερες ρίζες, ανεξάρτητος από κασπάση, που μοιάζει με αποπτωτικό θάνατο (Ghodsian et al., 2020).

Στεροειδή αλκαλοειδή (Steroidal alkaloids)

Η σαραχίνη (3-Ρ-αμινο-22, 26-επιμινοχολεστ-5-ένιο), ένα αμινοστεροειδές που απομονώνεται από τα φύλλα των φυτών της Βολιβίας *Saracha punctata* (Solanaceae), αναστέλλει πλήρως την ανάπτυξη των προμαστιγωτών διαφορετικών στελεχών *Leishmania*. Οκτώ στεροειδή αλκαλοειδή, συμπεριλαμβανομένης της holacurtine, της holamine, της N-demethylholacurtine, και της 15-ahydroxyholamine, που λαμβάνονται από το αιθανολικό εκχύλισμα των φύλλων του *Holarrhena curtisii* (Apocynaceae) έχουν δείξει λεϊσμμανοκτόνο δράση κατά των προμαστιγωτών των *L. donovani*.

Η Ν-δεμεθυλκονοδουρίνη (γαμπουνίνη) και το αλκαλοειδές δισινδόλης που λαμβάνονται από τον φλοιό του μίσχου του *Peschiera van heurkii* (Apocynaceae) επιδεικνύουν in vitro δράση έναντι των *L. braziliensis* και *L. amazonensis* προμαστιγώτες (Kam et al., 1998).

Ανάλογα ινδόλης (Indole analogs)

Το Harmaline είναι ένα φθορίζον ψυχοδραστικό αλκαλοειδές ινδόλης από την ομάδα των αλκαλοειδών harmala και των βήτα-καρβολινών.

Για την θεραπεία της λεϊσμμανίασης στην παραδοσιακή ιατρική χρησιμοποιήθηκαν μια σειρά από βότανα με κύριο συστατικό την Harmaline συμπεριλαμβανομένων των *Passiflora incarnata* και *Peganum harmala* (Syrian rue). Ο μηχανισμός δράσης τους στην προμαστιγωτική μορφή του παρασίτου περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις με παρεμβαλλόμενο DNA ή παρεμβολή στο μεταβολισμό των αρωματικών αμινοξέων του παρασίτου. Η Harmaline, λόγω της δραστηριότητάς της ως

αναστρέψιμου αναστολέα του μονοαμινοξειδάση A, προκαλεί σοβαρές ψυχοπαθητικές επιδράσεις που εμποδίζουν την εφαρμογή του ως θεραπευτικού παράγοντα (Chan-Bacab & Pena-Rodriguez,2001).

Λιγνάνες (Lignans)

Διφυλλίνη, απομονωμένη από *Harporhylum bucharicum* (Rutaceae), προερχόμενη από ένα ενδημικό φυτό του Ουζμπεκιστάν, επέδειξε αντιπολλαπλασιαστική δράση στους προμαστιγώτες του *L. infantum* αλληλεπιδρώντας με μακρομόρια. Το αποτέλεσμα ήταν να διακοπεί ο κυτταρικός κύκλος στην S και να προκληθεί πτώση της περιεκτικότητας σε ενδοκυτταρική πρωτεΐνη (Ghodsian et al.,2020) .

Τανίνες (Tannins)

Οι τανίνες αντιπροσωπεύουν μια μοναδική ομάδα φαινολικών μεταβολιτών με πολυάριθμα ξυλώδη και μερικά ποώδη ανώτερα είδη φυτών.Μια σειρά από τανίνες και δομικά ανάλογά τους έχουν δείξει αντιλεϊσμμανιακή δράση, καθώς κατά τη χρήση τους αυξήθηκε η απελευθέρωση NO, ενισχύθηκε η έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών TNFα και IFNγ στα κύτταρα ξενιστές, και ήταν ρυθμισμένη προς τα πάνω έκφραση mRNA του TNFα σε μολυσμένα με *Leishmania* μακροφάγα (Ghodsian et al.,2020)

Τερπένια (Terpenes)

Μονοτερπένια (Monoterpenes)

Μονοτερπένια, το πλούσιο σε λιναλοόλη αιθέριο έλαιο (3, 7-διμεθυλοκτα-1, 6-διεν-3-όλη) που απομονώθηκε από φύλλα του Κρότωνα cajucara (Euphorbiaceae), αύξησε αποτελεσματικά την παραγωγή NO σε μολυσμένα με *L. amazonensis* μακροφάγα. Αυτά

στοχεύουν άμεσα το παράσιτο μέσω της διόγκωσης των μιτοχονδρίων και μέσω αλλοιώσεων στην οργάνωση του πυρηνικού και του kinetoplast χρωματίνης (Ghodsian et al.,2020) .

Ιριδοειδείς (Iridoids)

Τα ιριδοειδή είναι μονοτερπενοειδή γλυκοσίδια κυκλοπενταν [c]πυρανίου γνωστοί ως βιοσυνθετικοί πρόδρομοι αλκαλοειδών ινδόλης (Ghodsian et al.,2020).

Η αμαρογεντίνη είναι ένας σεκοιριδοειδής γλυκοσίδης που απομονώνεται από τοινδικό φυτό *Swertia chirata* (Gentianaceae) και αναστέλλει ισχυρά τη δραστηριότητα χαλάρωσης του DNA της τοποϊσομεράσης Ι της *Leishmania donovani*.

Σεσκιτερπένια (Sesquiterpenes)

Η αρτεμισινίνη (ονομάζεται επίσης qinghaosu) είναι μια σεσκιτερπενική λακτόνη που λαμβάνεται από το αιθανολικό εκχύλισμα φύλλων *Artemisia indica*. Αυτή η ένωση αυξάνει την έκφραση του mRNA του iNOS σε μη μολυσμένα μακροφάγα και ενισχύει την απελευθέρωση της IFN γ , υποδηλώνοντας ότι η αρτεμισινίνη έχει άμεση παρασιτοκτόνο δράση και έμμεση ανοσοτροποποιητική δράση . Η αρτεμισινίνη έχει επιδείξει αντιλεϊσμаниκή δράση δραστηριότητα έναντι πολλών ειδών *Leishmania*, συμπεριλαμβανομένων στελεχών υπεύθυνα για CL, MCL και VL.

Διτερπένια (Diterpenes)

Διτερπενοειδείς εστέρες φορβόλης της οικογένειας Euphorbiaceae, γνωστοί ως ογκογόνοι, είναι ιδιαίτερα κυτταροτοξικοί.

Η 12-O-τετραδεκανούλοφορβόλη-13-οξική (Tissue Polypeptide Antigen ή TPA) είναι μία από τους εστέρες της φορβόλης που μπορούν να προκαλέσουν αρκετές δομικές αλλαγές σε *L. amazonens* (Mittal et al.,1998).

Τριτερπένια (Triterpenes)

Το διυδροβητουλινικό οξύ, ένα τριτερπένιο, εμφανίζει αντιλεϊσμανιακές επιδράσεις μέσω της στόχευσης τόσο των τοποϊσομερασών του DNA όσο και αποτρέποντας τη διάσπαση του DNA, ως εκ τούτου, προκαλώντας απόπτωση σε *L. donovani* (Ghodsian et al.,2020) .

Επίσης, 18 βήτα-γλυκυρρητινικό οξύ (18-β- Glycyrrhetic Acid ή 18-β-GRA), ένα πεντακυκλικό τριτερπένιο που λαμβάνεται από τη ρίζα του *Glycyrrhiza glabra*, έχει παρουσιάσει αντιλεϊσμανιακές επιδράσεις μέσω της ενεργοποίησης της κυτοκίνης Th1 ταυτόχρονη απόκριση με την αυξημένη παραγωγή iNOS σε σπλαχνική λεϊσμανίαση (Ghodsian et al.,2020).

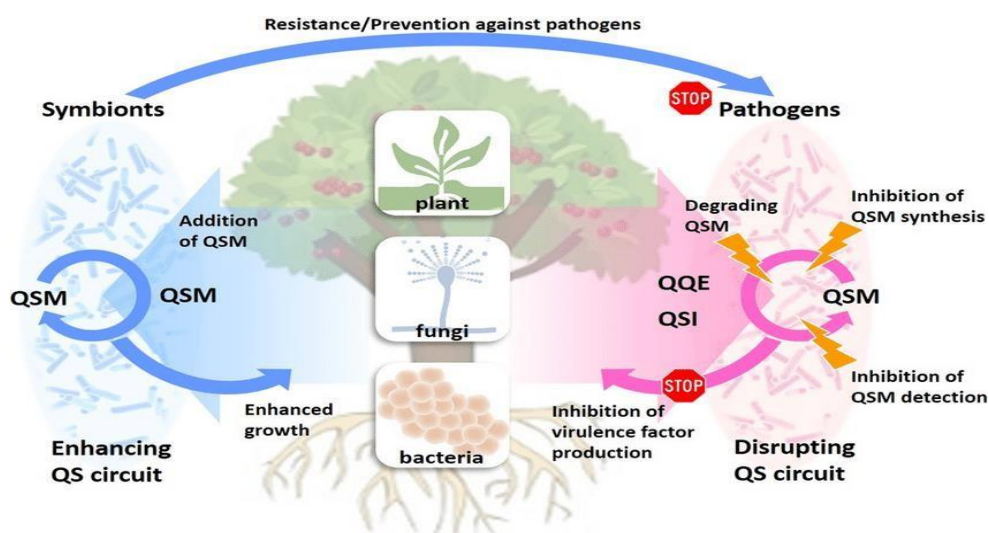
Ιντιρουμπίνες

Οι ιντιρουμπίνες είναι αλκαλοειδή της κατηγορίας των bis-ινδολών και αποτελούν το βασικό ενεργό συστατικό του σκευάσματος Danggui Longhui Wan, το οποίο στην παραδοσιακή Κινεζική ιατρική χρησιμοποιείται ως θεραπευτική προσέγγιση για την Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία (ΧΜΛ) και ως αγωγή για διάφορες χρόνιες παθήσεις. Έχει δειχθεί ότι συγκεκριμένες ιντιρουμπίνες αναστέλλουν ισχυρά προμαστιγωτές και αμαστιγωτες μορφές παρασίτου *L. donovani* (IC50= 1μM) έχοντας μεγάλο δείκτη επιλεκτικότητας έναντι μακροφάγων. Οι ιντιρουμπίνες αυτές ανέστειλαν τις πρωτεϊνικές κινάσες του παρασίτου GSK3short και CRK3 (παρασιτικό ομόλογο της CDK1) (Efstathiou et al.,2014) (Xingi et al.,2009)

Κεφάλαιο 3. Ενδόφυτα

Ως ενδόφυτα ορίζονται μικροοργανισμοί που ζουν συμβιωτικά στους φυτικούς ιστούς χωρίς να προκαλούν προφανείς αρνητικές επιπτώσεις στο φυτό ξενιστή. Μάλιστα, θεωρείται ότι αυτά βοηθούν τόσο στην επιβίωση, όσο και στην ανάπτυξη των φυτών ξενιστών τους μέσω της παραγωγής δευτερογενών μεταβολίτων. Δεδομένου λοιπόν ότι παράγουν μια σειρά από χημικά ποικίλους βιοδραστικούς δευτερογενείς μεταβολίτες έχουν θεωρηθεί πλούσιες πηγές για φυσικά προϊόντα. Πολλές ενώσεις που προέρχονται από ενδόφυτα παρουσιάζουν ισχυρή αντιμικροβιακή και αντιπαρασιτική δράση. Ενδιαφέρον είναι ότι ορισμένα ενδόφυτα παράγουν τους ίδιους μεταβολίτες με τα φυτά ξενιστές (Joo, Deyrup, et al., 2020). Παρ' όλο που οι μικροοργανισμοί αυτοί ποικίλουν στο φυτικό βασίλειο δεν έχει ακόμα γίνει πλήρως κατανοητή η σχέση μεταξύ αυτών και των ξενιστών τους (Ryan et al., 2007) .

Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψη την ποικιλομορφία του φυτικού βασιλείου γίνεται εύκολα αντιληπτό το συμπέρασμα ότι οι ποικιλομορφία αυτή συνάδει με τα ποικίλα είδη μικροβίων που αποικίζουν στα φυτά. Οι κατηγορίες είναι δύο, τα ενδοφυτικά βακτήρια και οι ενδοφυτικοί μύκητες. Ακολουθεί μια επεξηγηματική αναπαράσταση του τρόπου όπου τα φυτά συμβιώνουν με τα ενδοφυτικά μικρόβια αναπτύσσοντας αντίσταση σε αυτά.



Εικόνα 18. Αντίσταση/ πρόληψη έναντι παθογόνων (Ryan et al 2007).

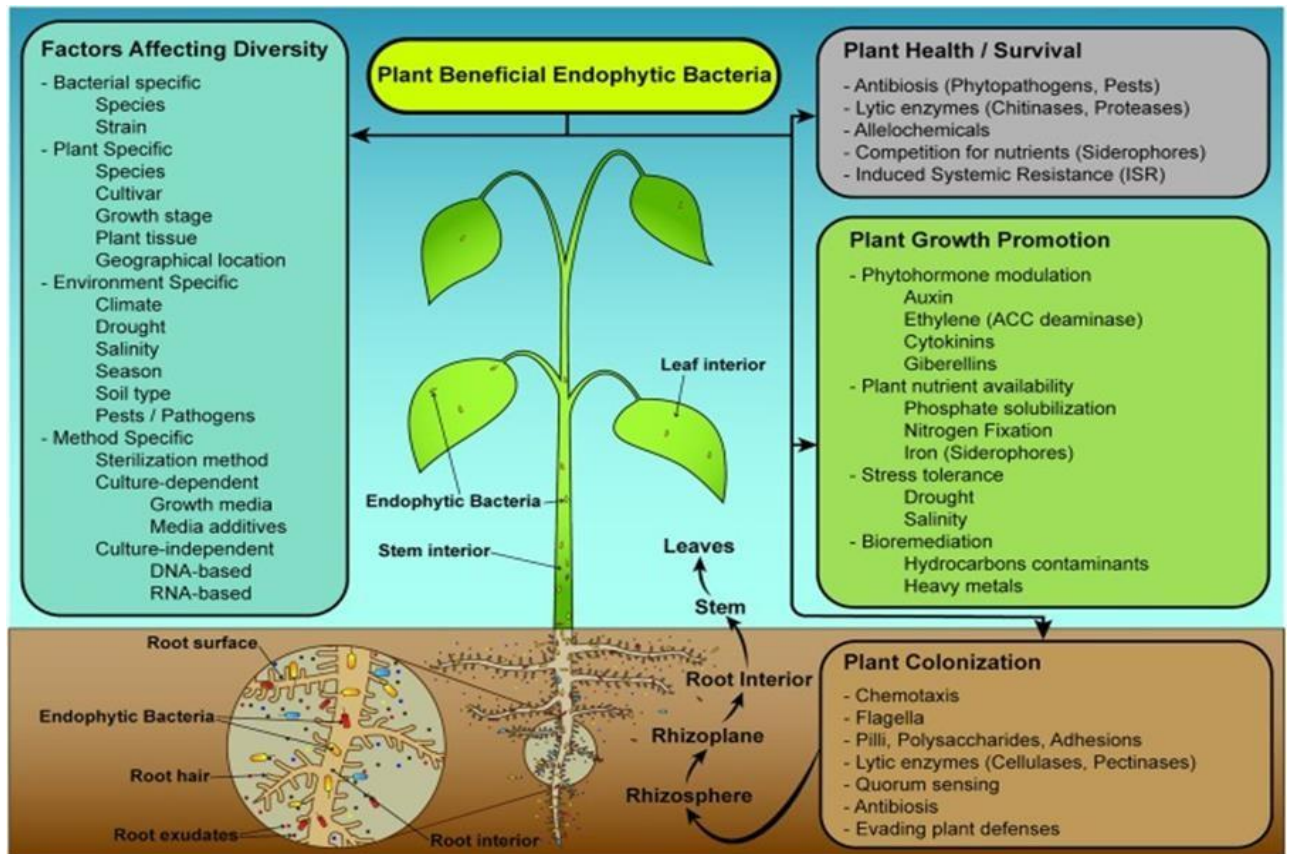
Στα ακόλουθα υποκεφάλαια θα αναλυθούν τόσο τα είδη των μικροβίων αυτών γενικά στα φυτά, ο εντοπισμός αυτών, όσο και αντι- λεισμανιακή τους δράση.

Ενδοφυτικά βακτήρια

Μία από τις πιο συναρπαστικές επιστημονικές εξελίξεις των τελευταίων δεκαετιών ήταν η συνειδητοποίηση ότι οι ποικίλες και εξαιρετικά ενεργές μικροβιακές κοινότητες δεν είναι μόνο «επιβάτες» στα φυτά, αντιθέτως παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, την ανάπτυξη και αντοχή σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις. Οι ρίζες των φυτών ενεργούν ως «φύλακες» για να ελέγξουν τα βακτήρια του εδάφους από τη ριζόσφαιρα και το ριζόπεδο (Liu et al.,2017). Αυτό συνήθως έχει ως αποτέλεσμα το ενδοφυτικό μικροβίωμα της ρίζας που κυριαρχείται από πρωτεοβακτήρια, Actinobacteria και σε μικρότερο βαθμό Bacteroidetes και Firmicutes. Διαφορετικά φυτικά όργανα συνδέονται με διαφορετικές ενδοφυτικές βακτηριακές κοινότητες όσον αφορά την ποικιλότητα και τη σύνθεση. Το μικροβίωμα στην ενδοσφαιρία της ρίζας είναι σημαντικά μικρότερο και ποικίλλει από τα μικροβιώματα στη ριζόσφαιρα και του εδάφους. Οι ρίζες κυριαρχούνται τυπικά από ενδοφυτικές βακτηριακές από *Proteobacteria* (~50% σε σχετική αφθονία), *Actinobacteria* (~10%), *Firmicutes* (~10%) και *Bacteroidetes* (~10%). Άλλα βακτηριακά είδη, συμπεριλαμβανομένων των *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Armatimonadetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Armatimonadetes*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, και *Nitrospirae* έχουν εντοπισμό στην ενδόσφαιρα των ριζών των φυτών αλλά αντιπροσωπεύουν ένα μικρότερο κλάσμα. Archaea, Acidobacteria και οι Gemmatimonadetes φαίνεται να είναι είτε απόντα είτε σπάνια (<1%) στην ενδοσφαιρία της ρίζας παρόλο που είναι σημαντικοί εκπρόσωποι των χύδην μικροβιακών κοινοτήτων του εδάφους (Liu et al.,2017).

Στην ακόλουθη εικόνα παρουσιάζεται συνοπτικά η άποψη που αναπτύχθηκε στην προηγούμενη παράγραφο. Δηλαδή ότι τα ενδοφυτικά βακτήρια μπορούν να ωφελήσουν τον ξενιστή τους τόσο άμεσα, βελτιώνοντας την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και ρυθμίζοντας τις φυτοορμόνες που σχετίζονται με την ανάπτυξη/το στρες

(πράσινο κουτί) και έμμεσα, στοχεύοντας παράσιτα/παθογόνα και ανταγωνίζοντας άλλα φυτά (γκρι κουτί), . Για να προσφέρουν οφέλη, αυτά τα βακτήρια πρέπει να αποικίσουν ανταγωνιστικά το εσωτερικό του φυτού, κάτι που επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας μια «μπαταρια αποικισμού» (Καφέ κουτί). Ο αποικισμός είναι μια διαδοχική διαδικασία, που ξεκινά από τη φυτική ριζόσφαιρα (τα βακτήρια ανταποκρίνονται στα εκκρίματα των φυτικών ριζών), ακολουθούμενα από ριζοπλάνο (επιφάνειες ριζών) και αποικισμό στο εσωτερικό των ριζών. Μόλις εισέλθουν, τα αρμόδια ενδοφυτικά μικρόβια μπορούν να μετακινηθούν στα εναέρια μέρη του φυτού (μίσχος και φύλλα). Η ποικιλομορφία των ενδοφυτικών αποικιστών επηρεάζεται από διάφορα βακτήρια, παράγοντες που σχετίζονται με τα φυτά και το περιβάλλον (Μπλε κουτί). Το είδος της μεθόδου που χρησιμοποιείται μπορεί επίσης να επηρεάσει την ανάλυση βακτηριακής ποικιλότητας (Afzal et al.,2019).

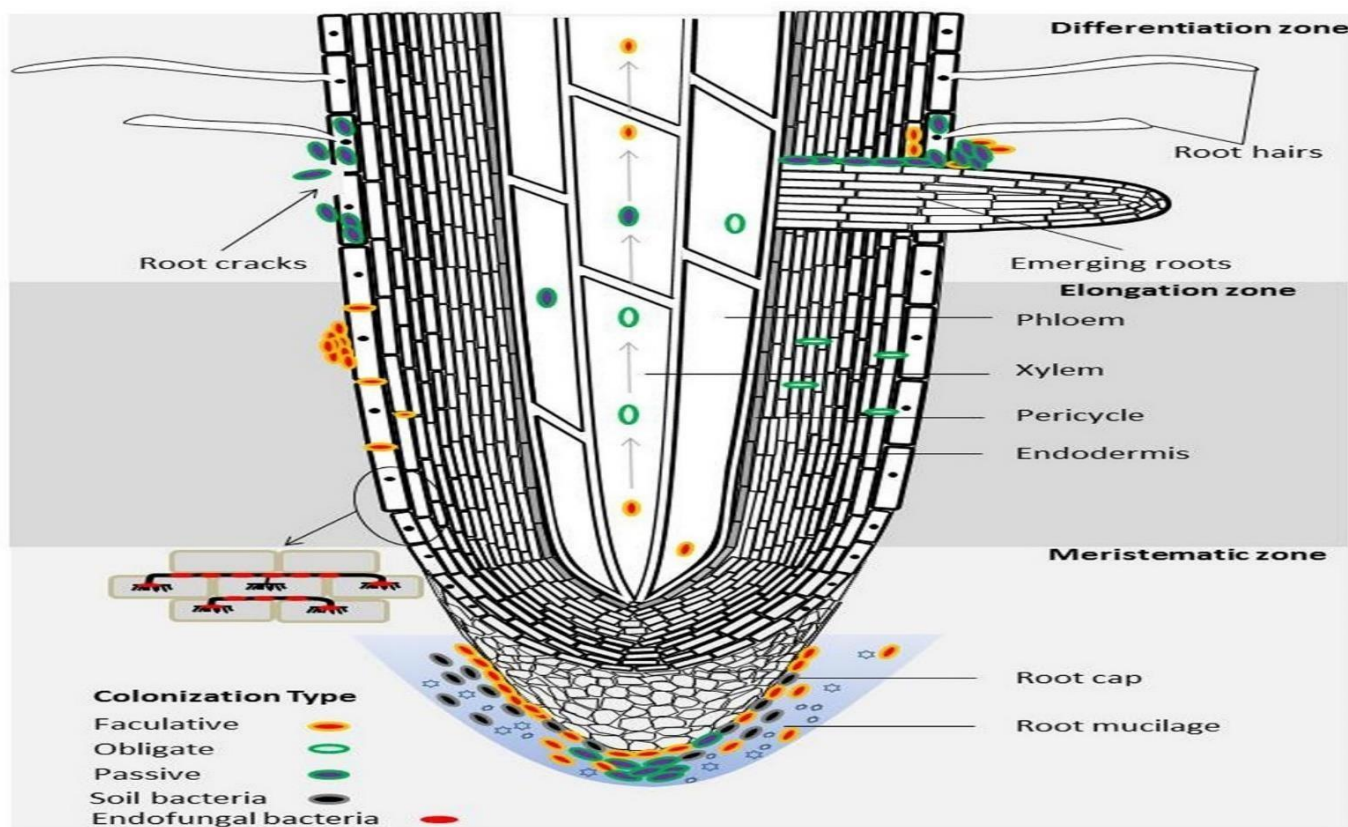


Εικόνα 20 Μηχανισμοί προαγωγής της ανάπτυξης των φυτών, αποικισμός και παράγοντες που επηρεάζουν την ποικιλομορφία των ενδοφυτικών βακτηρίων στο φυτό ξενιστή (Afzal et al , 2019).

Χρήσιμη πληροφορία αποτελεί το γεγονός ότι μερικές από τις πιο δημοφιλείς προσεγγίσεις απαρίθμησης και οπτικοποίησης αποικισμού βακτηρίων σε φυτικούς ιστούς περιλαμβάνει φθορισμό *in-situ* υβριδισμός (FISH) και χρήση γονιδίου αναφοράς (π.χ. *gfp* ή *gus*), τροποποιημένα βακτηριακά στελέχη σε συνδυασμό με μικροσκοπία.

Στα φυτά, οι αναδυόμενες πλευρικές ρίζες διαπερνούν την επιδερμίδα, τον φλοιό, ενδοδερμίδα, την κασπριανή λωρίδα (ζώνη γύρω από το ενδοδερμίδα) και τον περίκυκλο, σχηματίζοντας έτσι φυσικά μια «λεωφόρο» για τα βακτήρια για να εισέλθουν

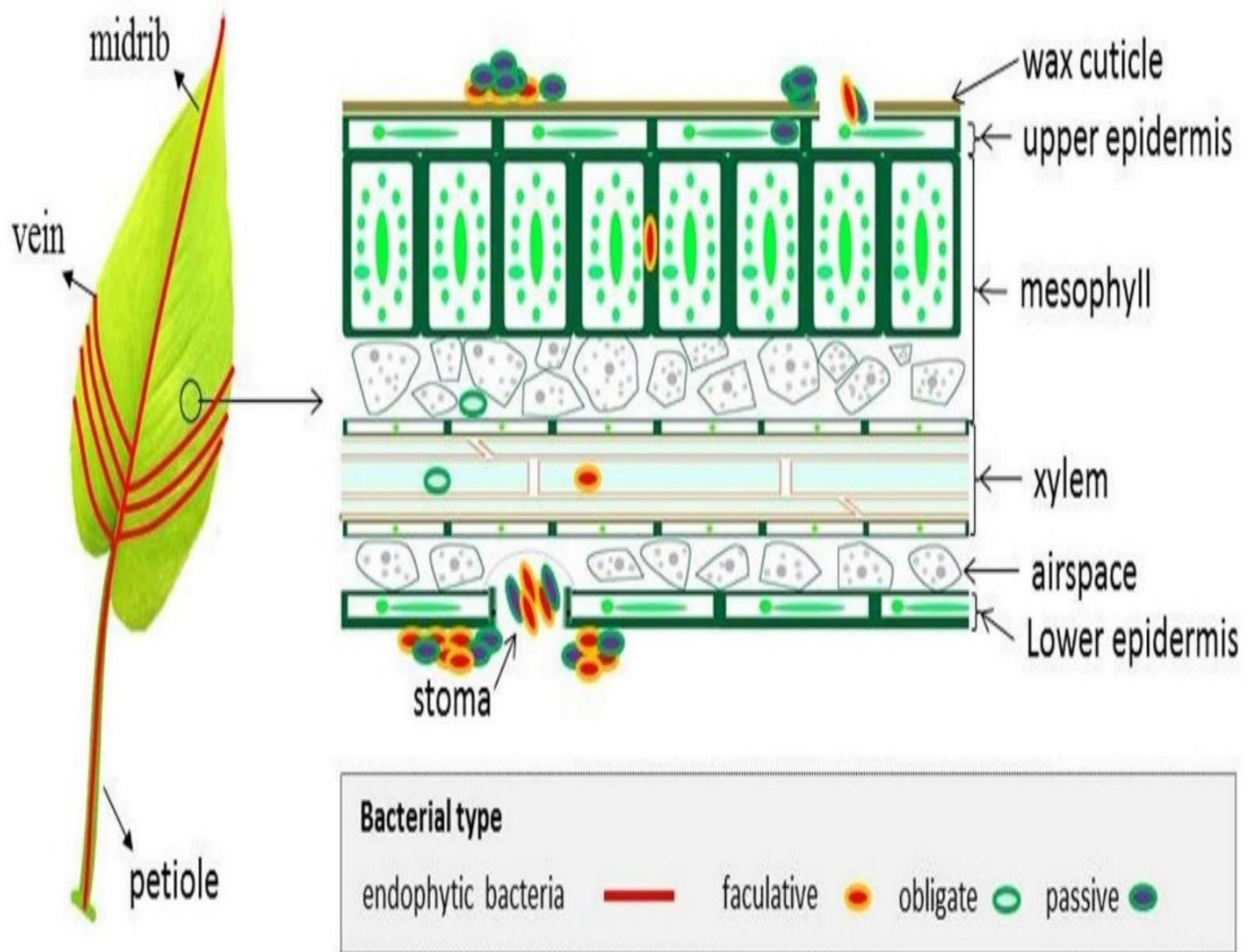
σε αυτούς τους ιστότοπους. Από εκεί, τα βακτήρια μπορούν να εισέλθουν περαιτέρω στα αγγεία φλοιώματος και ξυλώματος που μεταφέρουν φωτοσυνθετικά (phloem), θρεπτικά συστατικά και νερό (ξύλεμα).



Εικόνα 21 Σχηματική αναπαράσταση της βακτηριακής κατανομής και των μοτίβων αποικισμού στην ενδοσφαιρία μιας ρίζας φυτού. Οι αναδυόμενες θέσεις των πλευρικών ριζών είναι μεταξύ των εστιών βακτηριακού αποικισμού (Afzal et al , 2019).

Όσον αφορά τα βακτήρια στη φυλλόσφαιρα, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα βακτηριακά ενδόφυτα προέρχονται από το έδαφος με έλεγχο μέσω της ριζόσφαιρας και των ριζικών συστημάτων. Εναλλακτικά, αυτά τα βακτήρια μπορεί να προέρχονται από επίφυτα φυλλόσφαιρας μέσω φυσικών ανοιγμάτων (π.χ. στομάτων, υδαθόδων), πληγών και ρωγμών που δημιουργούνται από τον άνεμο, επιθέσεις εντόμων και παθογόνων. Συγκεκριμένα, σε ένα φύλλο, τα βακτήρια μπορούν να αποικιστούν στα άνω επιδερμικά κύτταρα, στα παλιζοειδή μεσόφυλλα κύτταρα, στα αγγεία ξυλώματος

όπως καθώς και στα κενά μεταξύ των σπογγωδών κυττάρων του στρώματος της μεσόφυλλης (Εικόνα 14). Βακτήρια έχουν επίσης ανιχνευθεί στα αναπαραγωγικά όργανα των φυτών όπως άνθη, φρούτα και σπόροι (Liu et al.,2017) .



Εικόνα 22 Σχηματική αναπαράσταση μοτίβων βακτηριακού αποικισμού σε ένα φύλλο. Η εικόνα που φαίνεται στα αριστερά δείχνει ότι η παρουσία βακτηρίων έχει ανιχνευθεί στον μίσχο του φύλλου, τη μέση και τις φλέβες (Liu et al, 2017).

Fagonia indica

Το *Fagonia indica* είναι ένας μικρός αγκαθωτός θάμνος που ανήκει στην οικογένεια *Zygophyllaceae*. Υπάρχει σε θερμές και άνυδρες περιοχές του κόσμου, ιδιαίτερα την Ασία και την Αφρική και έχει μεγάλη εθνοφαρμακολογική σημασία με πολλαπλές θεραπευτικές δραστηριότητες όπως αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές, αντισηπτικές, αντικαρκινικές, αντιδιαβητικές και αντιφλεγμονώδεις. Το φυτό χρησιμοποιείται επίσης για τη θεραπεία πυρετού, δίψας, εμετού, άσθματος, εντερικής δυσλειτουργίας, ηπατικής και στομαχικής διαταραχής, πονόδοντου, τύφου και δερματικών ασθενειών (Rahman et al.,2017).

Η αντιλείσμανιακή δράση των εκχυλισμάτων του φυτού αξιολογήθηκε έναντι του παρασίτου της *Leishmania tropica* χρησιμοποιώντας MTT3 και συγκρίθηκε με την αμφοτερικίνη Β ως δείκτης βιωσιμότητας των κυττάρων (Rahman et al.,2017).

Τα δείγματα βακτηριακών εκχυλισμάτων δοκιμάστηκαν σε χαμηλότερη συγκέντρωση με τριπλάσιες σειριακές αραιώσεις και σχετική οπτική πυκνότητα (OD) λήφθηκε στα 540 nm μέσω μικροπλάκας αναγνώστη (ELx800BioTek). Οι τιμές IC50 ελήφθησαν από καμπύλες δόσης-απόκρισης που δημιουργούνται από το ποσοστό γραφικής παράστασης ανάπτυξη έναντι της συγκέντρωσης του φαρμάκου. Ποσοστό βιώσιμων κυττάρων υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$\% \text{ viable cells} = (\text{Absorbance of sample} - \text{Absorbance of empty well})$$

$$/(\text{Absorbance of costant} - \text{Absorbance of empty well}) \times 100$$

Πίνακας 8. Αντιλείσμανιακή δράση ακατέργαστου βακτηριακού εκχυλίσματος κατά των προμαστιγωτών της *Leishmania*.

Αντιλείσμανιακή δράση ακατέργαστου βακτηριακού εκχυλίσματος κατά των προμαστιγωτών της <i>Leishmania</i>					
Βακτηριακά μεθανολικά εκχυλίσματα					
E. hormaechei	521 μg/mL	160 μg/mL	130 μg/mL	65 μg/mL	IC50 value
S. maltophilia	31.61	32.46	37.20	37.83	2.0
B. tequilensis	33.02	34.32	35.80	42.51	6.6
Erwinia sp.	34.20	37.23	38.21	40.51	1.6
P. dispersa	37.22	39.23	41.32	43.42	5.1
P. cypripedii	36.83	38.23	40.21	42.34	2.7
E. cloacae	35.52	38.41	40.32	40.32	1.5

B. subtilis	35.21	36.01	39.32	40.40	1.4
	35.02	36.51	38.23	41.36	2.3

Φαίνεται λοιπόν ότι τα περισσότερα από τα απομονωμένα ακατέργαστα εκχυλίσματα ενδοφυτικών βακτηρίων έδειξαν αντιλεϊσμνιακές δραστηριότητες κατά της *Leishmania tropica* με τιμές IC50 που κυμαίνονται από 1, 4 έως 6, 6 μg/mL (Rahman et al.,2017).

Polygala paniculata

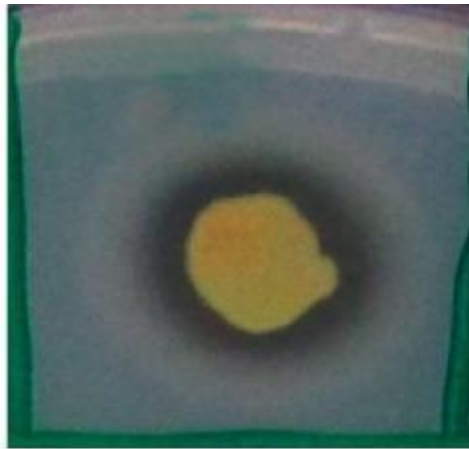
Το φυτό *Polygala paniculata* είναι ένα φαρμακευτικό φυτό που αναπτύσσεται συχνά στην ακτή της Βραζιλίας και χρησιμοποιείται στην παραδοσιακή ιατρική λόγω των αναλγητικών του ιδιοτήτων και της θεραπεία των φλεγμονωδών ασθενειών όπως το άσθμα, η βρογχίτιδα, η αρθρίτιδα και οι διαταραχές του νεφρού. Ωστόσο, τα φυτά αυτού του γένους είναι γνωστοί παραγωγοί μιας ποικιλίας φυτοχημικών ενώσεων, όπως ο σαλικυλικός μεθυλεστέρας, τα αλκαλοειδή, οι xanthones, οι σαπωνίνες, οι κουμαρίνες και στυρυλπυρόνες. Φυσικά προϊόντα που εξάγονται από τα είδη του φυτού αυτού μελετώνται ευρέως και πολλές αναφορές περιγράφουν φαρμακολογικές επιδράσεις για τα ακατέργαστα εκχυλίσματά τους, όπως ότι είναι αντιφλεγμονώδες, αγχολυτικές, αντικαταθλιπτικές, τρυπανοκτόνες, νευροπροστατευτικές, αντιαθηροσκληρωτικές, αντικαρκινικές και αντιμυκητιακές (Cruz et al.,2021) .

Τα φυτά *Polygala* είναι πλούσιες πηγές πολλά υποσχόμενων μικροβιωμάτων, από τα οποία η βιβλιογραφία αναφέρει αρκετές φαρμακολογικές επιδράσεις, όπως τρυπανοκτόνο, αντιερεθιστική, αναισθητική, αγχολυτική και αντισπασμωδική δράση. Το *Burkholderia ceracia* (στέλεχος COPS) που σχετίζεται με ρίζες *Polygala paniculata* ανήκει σε έναν νέο τύπο αλληλουχίας (ST 1870) και φιλοξενεί ένα γονιδίωμα που υπολογίζεται σε 8, 3 Mbp το οποίο εμφανίζει τις αμινογλυκοσίδες' και γονίδια αντοχής στις β-λακτάμες arh(3')-IIa και blaTEM-116, αντίστοιχα.

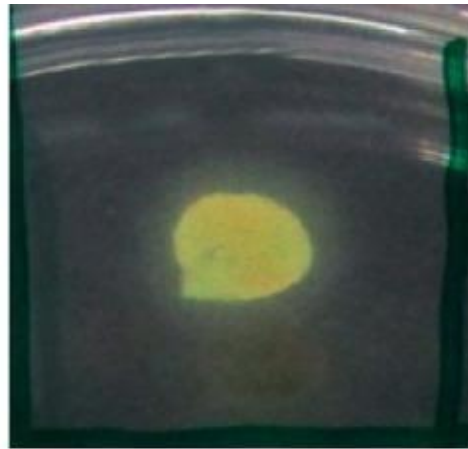
Δοκιμάστηκε η δραστηριότητα του *B. ceracia* COPS (Colonizing opportunistic pathogens ή Αποικισμός ευκαιριών παθογόνων NPE (αιθοξυλικά εννεύλοφαινόλης ή

nonylphenol-ethoxylates) *in vitro* κατά της *Leishmania infantum* και *Leishmania major*. Μια 24ωρη θεραπεία με NPE συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 200 έως 1 μg/mL δυνητικά ανέστειλε τους προμαστιγώτες της *L. infantum* με κυτταρική βιωσιμότητα που κυμαίνονται από 27% έως 78, 25%, αντίστοιχα, με IC50 86, 6 μg/mL. Επιπλέον, το NPE στην υψηλότερη συγκέντρωση που δοκιμάστηκε ήταν πιο αποτελεσματική από την αμφοτερικίνη Β στα 100 μΜ (28, 6% κυτταρική βιωσιμότητα). Από την άλλη πλευρά, η επίδραση του COPS NPE κατά της *Leishmania major* δεν ήταν τόσο ισχυρή σε σύγκριση με την *L. infantum* (Cruz et al., 2021).

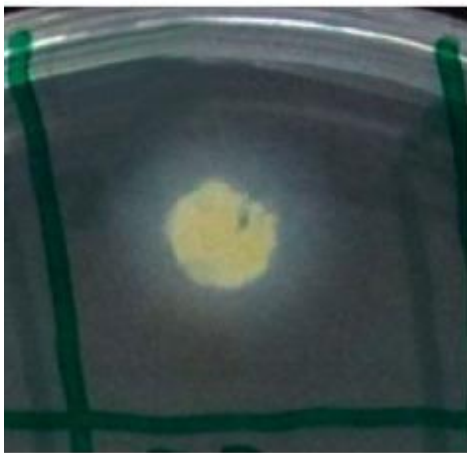
Στην παρακάτω εικόνα αξιολογείται η ενζυμική παραγωγή του Burkholderia ceracia COPS σε στερεά μέσα: (α) πρωτεάση. (β) εστεράση. (γ) λιπάση. Όπως επίσης και η δραστηριότητα του B. ceracia COPS NPE σε διαφορετικές συγκεντρώσεις έναντι των προμαστιγωτών του *L. infantum* (d) και του *L. major* (e) μετά από 24 ώρες έκθεσης.



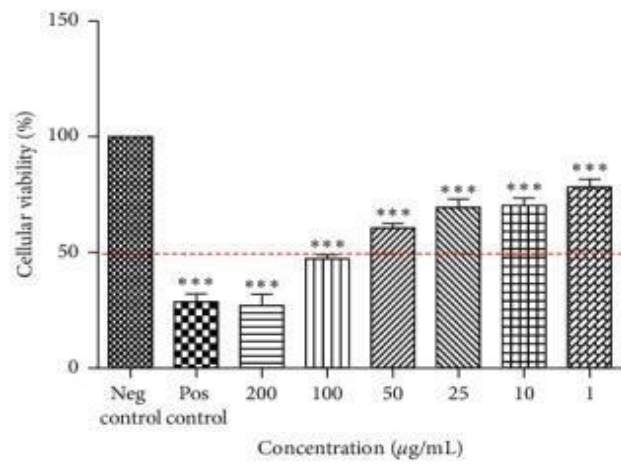
(a)



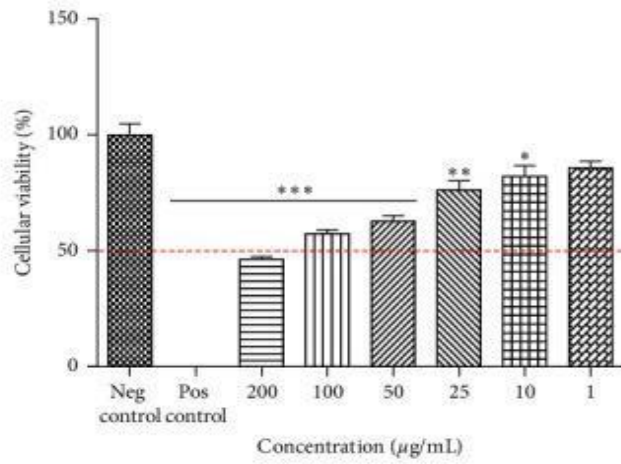
(b)



(c)



(d)



(e)

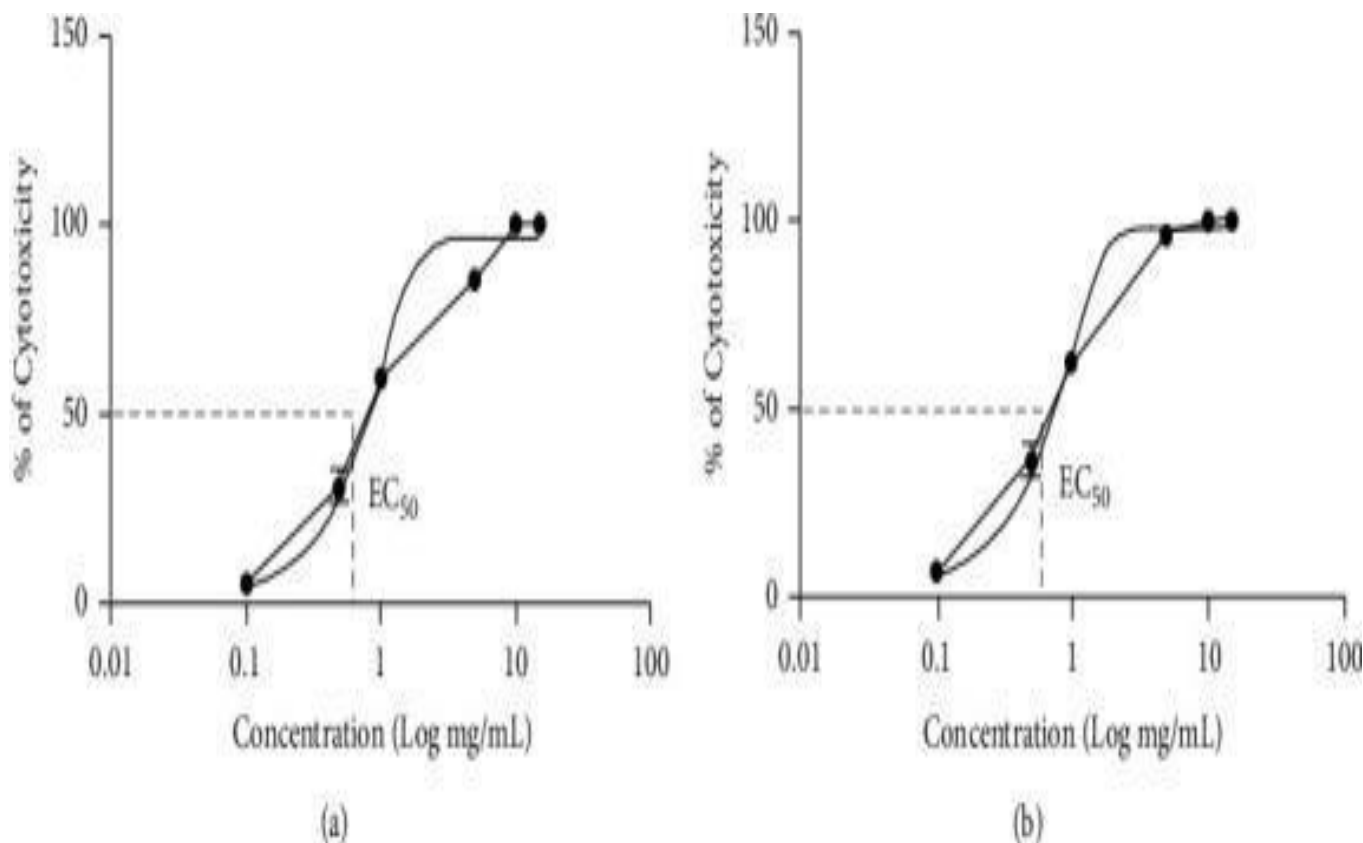
Εικόνα 23 Η εικόνα αυτά συνοψίζει το ενζυματική και αντιλειτουργική δράση του *B. caracina* COPS (Cruz et al., 2021).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *Polygala paniculata* είναι μια πολλά υποσχόμενη πηγή μικροοργανισμών για την καταπολέμηση της *Leishmania spp.* (Cruz et al.,2021) .

P. polytycha

Απομονώθηκε ένα βακτήριο από *Prunus spp.* και ταυτοποιήθηκε ως *P. polytycha*. Το ενδοφυτικό μικρόβιο ταυτοποιήθηκε γονοτυπικά, Το *P. polytycha* έχει μεγάλο βιοτεχνολογικό δυναμικό: για παράδειγμα, η παραγωγή βρινολυτικών ενζύμων, υδρολασών, αμυλάσης και βιοδραστικότητα έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων. Το εκχύλισμα είναι ένα δείγμα που αποτελείται από ένα σύνολο ουσιών, που μπορεί να έχουν συγκεκριμένη βιολογική δραστηριότητα.

Η τοξικότητα του εκχυλίσματος ελέγχθηκε σε μορφές προμαστιγωτών *Leishmania amazonensis* σε σταθερά χρονικά διαστήματα για 24 και 48 ώρες σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0, 1, 0, 5, 1, 5, 10 και 15 mg/mL) (Εικόνα 23).



Εικόνα 24 Γραφήματα συγκέντρωσης-απόκρισης λειψιμανοκτόνου δράσης (%) προμαστιγωτών *Leishmania amazonensis* που εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος *Raepibacillus polytycha* RNC-D (0, 1, 0, 5, 1, 5, 10 και 15 mg/mL) στις 24 και 48 ώρες.

Πίνακας 7. Τιμές EC50 για περιόδους 24 και 48 ωρών σε προμαστιγώτες *Leishmania amazonensis*.

Τιμές EC50 για περιόδους 24 και 48 ωρών σε προμαστιγώτες <i>Leishmania amazonensis</i> .		
Έκθεση (h)	EC50 (mg/mL)	95% confidence intervals
24	0.624	0.503–0.745
48	0.547	0.431–0.664

Το εκχύλισμα του *P. polytycha* RNC-D προήγαγε λειψιμανοκτόνο αποτέλεσμα σε συγκεντρώσεις 0, 5 και 1 mg/MI.

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το αναλυόμενο εκχύλισμα μπορεί να είναι πιθανός υποψήφιος για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά της λειψιμανίασης, καθώς

ρυθμίζει την ανοσολογική απόκριση, συμβάλλοντας σε μια αποτελεσματική απόκριση στον έλεγχο της δερματικής λεϊσμανίασης (Neris et al.,2020).

Ενδοφυτικοί μύκητες

Όπως έχει ήδη αναλυθεί στο προηγούμενο κεφάλαιο η αλληλεπίδραση ενδοφύτου- ξενιστή μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη των φυτών, ανάπτυξη και αντοχή σε ασθένειες έναντι παρασίτων και παθογόνων. Όπως τα ενδοφυτικά βακτήρια έτσι και οι ενδοφυτικοί μύκητες αποτελούν μέρος του μικροσυστήματος των φυτών. Οι ενδοφυτικοί μύκητες συντελούν στην παραγωγή βιοενεργών μορίων, ενζύμων και μέσω της διατροφής του φυτού επωφελούνται. Επιπλέον αξίζει να αναφερθεί ότι οι ενδοφυτικοί μύκητες παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανθρώπινη υγεία (Devi et al., 2023).

Ωστόσο, οι ενδοφυτικές κοινότητες που αναπτύσσονται μέσα στα φυτά ξενιστές είναι επηρεάζονται από διάφορες παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων των περιβαλλοντικών συνθηκών, του τύπου ξενιστή (Aamir et al., 2020).

Fusarium sp.

Το γένος *Caesalpinia* (Leguminosae, *Caesalpinioideae*) περιλαμβάνει περίπου 130 είδη που απαντώνται στις τροπικές περιοχές. *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae) είναι είδος υπό εξαφάνιση που εμφανίζεται σε ένα εξαιρετικά απειλούμενο οικοσύστημα. Η *C. echinata* είναι ένα εγγενές δέντρο από τη Βραζιλία που ήταν η κύρια κόκκινη χρωστική πηγή στον XVI αιώνα κατά τον αποικισμό από την Πορτογαλία και το δημοφιλές της όνομα δόθηκε στη νέα γη ανακαλύφθηκε όταν οι Πορτογάλοι θαλασσοπόροι έφτασαν στη Νότια Αμερική (Campos et al., 2014).

Λαμβάνοντας υπόψη ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό των υπάρχοντων ενδοφυτικών μυκήτων έχει μελετηθεί, ιδιαίτερα εκείνοι που αναπτύσσονται σε τροπικά φυτά από τη Βραζιλία, διερευνήθηκε η δραστικότητα των ενδοφυτικών μυκήτων που ζουν στους ιστούς του *C. echinata* ως πηγές βιοδραστικών φυσικών προϊόντων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν έναντι ορισμένων παραμελημένων ασθενειών. Ο ενδοφυτικός μύκητας *Fusarium sp.* Μελετήθηκε σαν εκχύλισμα του φυτού *C. echinata* προκειμένου να μελετηθεί η αντιεϊσματική του δράση. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης, όπου τέσσερα εκχυλίσματα του φυτού

αποδεικνύουν την αντιλεϊσμνιακή δράση έναντι της *L.amazonensis* (Campos et al., 2014).

Πίνακας 8. *In vitro* αντιπρωτοζώϊκες, κυτταροτοξϊκές και αντιπολλαπλασιαστικες δράσεις εκχυλισμάτων του φυτού *C. echinata*. ALL: αλλοπουρινόλη που δοκιμάστηκε στα 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, AMB: αμφοτερικίνη Β που δοκιμάστηκε σε 0,02 $\mu\text{g}/\text{mL}$,BNZ: βενζινιδαζόλη που δοκιμάστηκε σε 1,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ = 3,8 μM , DEX: δεξαμεθαζόνη που δοκιμάστηκε στα 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$,ETO: η ετοποσίδη δοκιμάστηκε σε 1,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ σε κυτταρικές γενεές όγκου και σε 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ στο ανθρώπινο περιφερικό αίμα σε μονοκύρηνα κύτταρα (PBMC), LA:αμαστιγωτές μορφές μορφές *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*,MCF-7: ανθρώπινος καρκίνος μαστού, NT: δεν έχει δοκιμαστεί,TC: μαστιγώτης και τρυπομαστιγώτης μορφές *Trypanosoma cruzi*, TK-10: ανθρώπινος καρκίνος νεφρού ,UACC-62: άνθρωπος (Campos et al.,2014).

Απομόνωση μυκήτων(WC)	Γενεαλογίες καρκινικών κυττάρων (%)			PBMC(%)		Protozoan(%)
	UACC-62	TK-10	MCF-7			
Aspergillus sp. (25)	-	103 ± 9	-	-	-	-
Epicoocum sorghi (45)	75 ± 7	47 ± 10	67 ± 9	-	-	-
E. sorghi (46)	-	97 ± 5	60 ± 17	-	15 ± 7	-
Fusarium sp. (9)	-	98 ± 5	88 ± 4	-	15 ± 8	45 ± 0
Fusarium sp. (58)	-	-	48 ± 10	49 ± 26	-	45 ± 4
Nectria pseudotrichia (2)	-	54 ± 14	68 ± 4	NT	NT	-
N. pseudotrichia (6)	-	95 ± 7	93 ± 0	NT	NT	-
N. pseudotrichia (33)	102 ± 7	96 ± 15	60 ± 11	-	37 ± 15	77 ± 3
Talaromyces sp. (24)	-	95 ± 9	60 ± 7	-	20 ± 13	-
Xylaria arbuscula (1)	-	60 ± 1	57 ± 9	-	-	-
Xylaria sp. (11)	-	113 ± 3	47 ± 8	NT	NT	51 ± 1
Xylaria berteri (41)	-	43 ± 6	-	-	20 ± 15	-
Xylaria sp. (55)	-	92 ± 4	58 ± 0	-	-	-
Xylaria sp. (84)	-	51 ± 9	48 ± 8	NT	NT	-
Controls						
AMB	NT	NT	NT	NT	NT	82 ± 3
BNZ	NT	NT	NT	NT	NT	NT
ETO	176 ± 9	185 ± 9	100 ± 5	33 ± 14	NT	NT
DEX	NT	NT	NT	18 ± 13	-	NT
ALL	NT	NT	NT	-	21 ± 14	NT

Όλα τα εκχυλίσματα της μελέτης δοκιμάστηκαν στα 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ποσοστό της αναστολής.

Bipolaris sp.

Τα υδρόβια μακρόφυτα *E. azurea* και *E. Crassipes* φαίνεται να έχουν έναν ενεργό ρόλο για την αντιμετώπιση της λεισμανίασης. Κατά την επεξεργασία στελεχών του ενδοφυτικού μύκητα που ανήκει στο γένος *Bipolaris* του φυτού προέκυψαν δύο

ακατέργαστα εκχυλίσματα, Curvulin και spirostaphylotrichins R και U, τα οποία και μελετήθηκαν προκειμένου να μελετηθεί η αντιλεϊσμμανιακή τους δράση.

Τρεις κύριες ενώσεις ταυτοποιήθηκαν από δύο στελέχη *Bipolaris* που υπάρχουν σε ακατέργαστα εκχυλίσματα δύο ειδών *Eichhornia macrophytes* (curvulin και spirostaphylotrichin R και U). Αυτές οι ενώσεις αποδείχθηκε ότι παρουσιάζουν αντιλεϊσμμανιακή δράση. Επομένως, η curvulin και η spirostaphylotrichin R και U μπορούν να αξιοποιηθούν περαιτέρω ως αντιλεϊσμμανιακοί παράγοντες (Almeida et al., 2017).

Πίνακας 9. Αντιπλλασιαστική δράση των μεταβολιτών που παράγονται από ενδοφυτικούς μύκητες που απομονώνονται από μακρόφυτα *Eichhornia* έναντι της *L. amazonensis*.

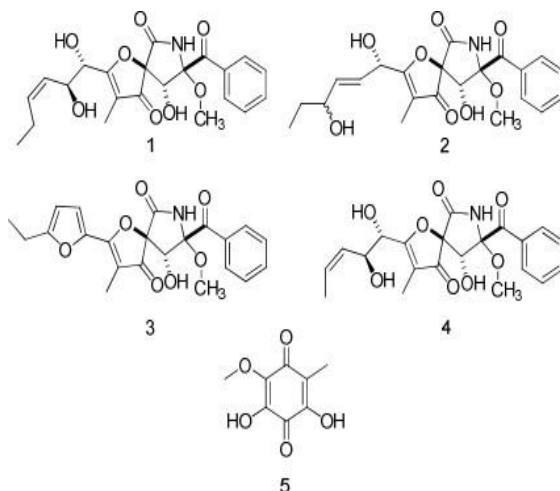
Ενδοφυτικές πηγές μεταβολικού εκχυλίσματος	IC50 (μg/mL±standard deviation)
<i>Bipolaris</i> sp. C36	70.0 ± 0.0
<i>Bipolaris</i> sp. AZ26	84.2 ± 12.0
Amphotericin B	0.9 ± 0.2

Trichosporum sp

Ο μύκητας *Trichosporum sp.* είναι ένας ενδοφυτικός μύκητας που απομονώνεται από τους σπόρους του *Trigonella foenum-graecum* (Fabaceae). Η χημική και η βιολογική έρευνα που έχει διενεργηθεί από την επιστημονική κοινότητα για τον ενδοφυτικό μύκητα *Trichosporum sp.* οδήγησε στην απομόνωση δύο νέων ισομερών αλκαλοειδών δικετοπιπεραζίνης που ταυτοποιήθηκαν χημικά ως (6-S)-3-(1, 3-διυδροξυπροπυλ)-6-(2-μεθυλοπροπυλ)πιπεραζινο-2, 5-διόνη και (6-R)-3-(1, 3-διυδροξυπροπυλ)-6-(2-μεθυλοπροπυλο)πιπεραζινο-2, 5-διόνη (1 και 2). Τρία χειρόμορφα κέντρα τόσο στο 1 όσο και στο 2 δεν εντοπίστηκαν λόγω έλλειψης των μεμονωμένων ποσοτήτων. Οι απομονωμένες ενώσεις ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας διαφορετικά 1D και 2D NMR καθώς και IR και τεχνικές HR-MS. Οι ενώσεις 1 και 2 έδειξαν αντιλεϊσμμανιακές δραστηριότητες έναντι της *L. donovani* με τιμές IC50 96, 3 και 82, 5 μg/ml, αντίστοιχα.

Aspergillus sp. strain F1544

Το γένος *Aspergillus*, αποτελεί μια κατηγορία από τους πιο διαδεδομένους ενδοφυτικούς μύκητες, είναι παραγωγός διαφορετικών τύπων σημαντικών μεταβολιτών. Αυτό το γένος είναι κύριος παραγωγός μεταβολιτών όπως κιτρικό, γλυκονικό, ιτακονικό και κοτζικό οξύ, τα οποία είναι πολύ σημαντικά από βιομηχανική άποψη.



Εικόνα 25 . Συστατικά από *Aspergillus sp.* στέλεχος F1544 (Martínez-Luis et al., 2011).

Ένας δεύτερος τύπος ενώσεων αυτού του γένους είναι εκείνα που έχουν ορισμένες φαρμακολογικές ιδιότητες. Ίσως τα πιο σημαντικά είναι αυτά που ανήκουν στο οικογένεια στατινών (ενώσεις που μειώνουν τη χοληστερόλη). Επιπλέον, βρίσκουμε και άλλες ενώσεις όπως ασπερλικίνη, ένας ανταγωνιστής χολοκυστοκίνης [1c], το αλκαλοειδές (+)-WIN 64821, ένας ισχυρός ανταγωνιστής ανταγωνιστικής ουσίας P έναντι του υποδοχέα της ανθρώπινης νευροκίνης 1 και χολοκυστοκίνης τύπου B [1δ], οι ασπερπαραλίνες, που είναι συνδέτες διαύλων ιόντων, μεταξύ άλλων. Μια Τρίτη ομάδα ενώσεων που παράγονται από τον *Aspergillus* είναι οι λεγόμενες μυκοτοξίνες, μεταβολίτες που θεωρούνται σοβαρό πρόβλημα σε μεγάλο μέρος λόγω της επικράτησης τους στη βιολογική φθορά των αποθηκευμένων καλλιεργειών και ως ευκαιριακό

παθογόνο των καλλιεργειών του αγρού. Αναμεταξύ αυτών οι μεταβολίτες είναι αφλατοξίνες, ωχρατοξίνη Α, πατουλίνη και φουμιγιλίνη (Martínez-Luis et al.,2011) .

Ο ενδοφυτικός μύκητας *Aspergillus sp.* F1544 απομονώθηκε από φύλλο *Guariga standleyana* (Nyctaginaceae), που συλλέγεται από το Εθνικό Πάρκο Coiba στον Παναμά.

Πίνακας 10. Εκχύλισμα του *Aspergillus sp.* με βιολογική δράση έναντι τροπικών παρασίτων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την αναστολή ανάπτυξης των παρασίτων (Martínez-Luis et al.,2011) .

Εκχύλισμα	<i>L. donovani</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>T. cruzi</i>
ME	67.1	49.3	13.5
PD	64.4	48.7	14.5
CD	70.4	6.8	31.7
8V	50.9	46.0	12.0

Δείγματα για διαλογή δοκιμάστηκαν αρχικά ε εις διπλούν σε μία μόνο συγκέντρωση 10 μg/mL. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ποσοστό ανάπτυξης παρασίτων (% G) σε σύγκριση με τον έλεγχο. Τα δείγματα που έδειξαν 50% G ή λιγότερο θεωρήθηκαν ενεργά και στη συνέχεια προσδιορίστηκαν σε έξι συγκεντρώσεις (0, 00032, 0, 0016, 0, 08, 0, 4, 2 και 10 μg/mL) για τον προσδιορισμό της IC50. Η αμφοτερικίνη Β χρησιμοποιήθηκε ως θετικός έλεγχος με την τυπική απόκριση IC50 του *L. donovani* σε αυτό το φάρμακο είναι μεταξύ 70 και 120 ng/μL (Martínez-Luis et al.,2011).

Κεφάλαιο 4. Θαλάσσιες πηγές

Όπως έχει ήδη αναλυθεί σε προηγούμενα κεφάλαια τα φυσικά προϊόντα δημιουργούν ελπίδα για να ανακαλυφθούν νέα αντιεϊσμάνικά φάρμακα. Ωστόσο, η αναζήτηση νέων χημικοθεραπευτικών σχημάτων για την καταπολέμηση της αντοχής στα φάρμακα είχε αρχικά επικεντρωθεί στο επίγειο περιβάλλον. Σαν αποτέλεσμα, το θαλάσσιο περιβάλλον συχνά αγνοούνταν. Για παράδειγμα, οι ακτινομόκητες αποτελούν μια εξαιρετικά σημαντική ομάδα βακτηρίων για την παραγωγή αντιβιοτικών. Ωστόσο, αυτά τα βακτήρια έχουν απομονωθεί κυρίως από επίγειες πηγές. Κατά συνέπεια, έχουν αναβιώσει οι προσπάθειες για την ανακάλυψη νέων ενώσεων από αχαρτογράφητα ή ασυνήθιστα περιβάλλοντα όπως το θαλάσσιο οικοσύστημα.. Ως αποτέλεσμα, θαλάσσια φυσικά προϊόντα από ακτινομόκητες που έχουν πιθανή αντιεϊσμάνιακή δράση δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Σε αυτό το κεφάλαιο θα παρουσιαστούν κάποιες από τις πηγές αυτές (Davies-Bolorunduro et al.,2021) .

Θαλάσσιο μικροβίωμα και θαλάσσια προϊόντα και οργανισμοί

Τις τελευταίες δεκαετίες τα θαλάσσια μικρόβια είναι γνωστά ως παραγωγικοί παραγωγοί μιας σειράς βιοδραστικών δευτερογενών μεταβολιτών ως χημειοθεραπευτικοί παράγοντες για την καταπολέμηση μολυσματικών ασθενειών. Κατά συνέπεια, πολλοί επιστήμονες έχουν διοχετεύσει προσπάθειες ανακάλυψης φαρμάκων με άξονα αυτά τα φυσικά μικροβιακά προϊόντα, τα οποία διαθέτουν διάφορες βιοδραστηριότητες όπως π.χ αντιβακτηριακή, αντική, αντιμυκητιακή, αντιπαρασιτική, αντικαρκινική δράση, μεταξύ άλλων βιοδραστηριοτήτων. Επιπλέον, αυτές οι διάφορες βιοδραστηριότητες που παρουσιάζονται από θαλάσσιους ακτινομόκητες έχουν αποδοθεί στην παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι χρησιμεύουν ως μηχανισμοί επιβίωσης για αυτά τα στελέχη σε ένα ασυνήθιστο και ακραίο θαλάσσιο περιβάλλον. Ο ωκεανός κατέχει περισσότερο από το 70% της επιφάνειας της Γης και φιλοξενεί μια εξαιρετική βιολογική ποικιλία, που αντιπροσωπεύει πάνω από το 95 % ολόκληρης της βιόσφαιρας (Davies-Bolorunduro et al.,2021) .

Οι ακτινομύκητες είναι νηματώδεις Gram-θετικοί μικροοργανισμοί και ανήκουν στο γένος Actinobacteria. Αυτοί αποτελούν επιπλέον μια από τις μεγαλύτερες ταξινομικές μονάδες μεταξύ των 18 σημαντικών γενεών που είναι γνωστές σε βακτήρια. Ο πληθυσμός των ακτινοβακτηρίων είναι τεράστιος στη γη και στα υδάτινα βιολογικά συστήματα. Περισσότεροι από 23.000 βιοδραστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που συντέθηκαν από ακτινομύκητες, έχουν λογιστεί ότι αποτελούν το 45 % όλων των βιοδραστικών μικροβιακών μεταβολιτών που ανακαλύφθηκαν σε αυτήν την ομάδα. Μεταξύ αυτών, οι Streptomyces παρέχουν περίπου 7.600 ενώσεις. Αρκετές από αυτές τις βιοσυνθετικές ενώσεις είναι αντιβιοτικά με υψηλή βιοδραστηριότητα κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι στρεπτομύκητες είναι οργανισμός με υψηλής αξία στην φαρμακοβιομηχανία (Davies-Bolorunduro et al.,2021) .

Δεδομένης λοιπόν της αξίας αυτών θα παρατεθούν συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα θαλάσσιοι μικροοργανισμοί, φυσικά θαλάσσια προϊόντα και μεταβολίτες με αντιλεϊσμμανιακή δράση.

Πίνακας 11. Συνοπτικός πίνακας με αντιλεϊσμνιακά φάρμακα προερχόμενα από το θαλάσσιο περιβάλλον που ανακαλύφθηκαν από το 2010 (Davies-Bolorunduro et al.,2021).

Marine Sponges/ Θαλάσσιοι σπόγγοι			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50
<i>Pandoras acanthifolium</i>	Στεροειδη	Pandaroside	0.051 μM
<i>Agelas mauritiana</i>	Αλκαλοειδή	Ageloxime D	29.28 $\mu\text{g mL}^{-1}$
		Ageloxime B	28.55 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Agelas conifera</i>	Αλκαλοειδή	Hymenidin	29.87 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Axinella verrucosa</i>	Αλκαλοειδή	Bromoaldisin	>90 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Ircinia spiculosa</i>	Αλκαλοειδή	Tryptophol	9.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Plakortis simplex</i>	Πολυκετίδια	Simplexolide B	13.82 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Spongia</i> sp. και <i>Ircinia</i> sp.	Τερπένες	Furospinulosin-1	14.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$
		Furospingon-1	4.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$
		Heptaprenyl- <i>p</i> -quinol	18.9 $\mu\text{g mL}^{-1}$
<i>Tedania braziliensis</i>	Αλκαλοειδή	Pseudoceratidine	NA
<i>Dysidea avara</i>	Κινόνες	Sesquiterpene avarone και avarol	<i>L. infantum</i> αμαστιγωτές (7.64 και 3.19 $\mu\text{mol/L}$) καιπρομαστιγωτές μορφές(28.1 και 7.42 $\mu\text{mol/L}$), και <i>L. tropica</i> προμαστιγωτές μορφές (20.28 και 7.08 $\mu\text{mol/L}$)
Marine Bacteria/ Θαλάσσια βακτήρια			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50
<i>Raenibacillus polymyxa</i>	Αλκαλοειδή	Paenidigyamycin A	<i>L. major</i> (0.75 $\mu\text{mol/L}$) και <i>L. donovani</i> (7.02 $\mu\text{mol/L}$)
<i>Streptomyces sanyensis</i>	Αλκαλοειδή	<i>Indolocarbazole staurosporine</i>	<i>L. amazonensis</i> προμαστιγωτές και αμαστιγωτές μορφές(0.06–10.65 $\mu\text{mol/L}$), <i>L. donovani</i> προμαστιγωτές μορφές (0.50 – > 40 $\mu\text{mol/L}$)
<i>Streptomyces</i> sp. strain 11 (GU214750)	Αλκαλοειδή	<i>Indolocarbazole staurosporin</i>	<i>L. major</i> προμαστιγωτές μορφές EC50 5.30 μM
<i>Streptomyces</i> sp. VITBVK2	Άγνωστη	ακατέργαστο εκχύλισμα	100 $\mu\text{g/ml}$ έναντι αμαστιγωτών μορφών σε μολυνσμένα J774A.1 μακροφάγα
<i>Streptomyces</i> sp. E11B strain	Κουμαρίνες	ακατέργαστο εκχύλισμα	15 000 $\mu\text{g/mL}$ για <i>Leishmania</i> (<i>Viannia</i>) <i>peruviana</i> και <i>Leishmania</i> (<i>V.</i>) <i>braziliensis</i> .
Marine Cyanobacterial/ Θαλάσσια Κυανοβακτηρίδια			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50
<i>Lyngbya majuscula</i>	Πεπτίδια	Dragonamide E	5.1 μM

<i>Lyngbya majuscula</i>	Πεπτίδια	Dragonamide A	4.25 µg ml ⁻¹
<i>Lyngbya majuscula</i>	Πεπτίδια	Almiramides A–C	2.4 µM
<i>Schizothrix</i>	Πεπτίδια	Gallinamide A	9.3 µM
<i>Oscillatoria nigro-viridis</i>	Πεπτίδια	Viridamides A, B	1.5 µM
<i>Oscillatoria</i> sp.	Πολυκετίδια	Coibacin A –D	0.68–4.99 µg ml ⁻¹
Marine Algae/ Θαλάσσια Φύκια			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50
<i>Bifurcaria bifurcate</i> (Brown alga)	Τερπένες	Bifurcatriol	<i>L. donovani</i> αμαστιγωτές μορφές (18.8 µg/ml)
<i>Dictyota spirali</i>	Τερπένες	Spiralyde A	<i>L. amazonensis</i> προμαστιγωτές μορφές (15.47 ± 0.26 και 36.81 ± 5.20 µmol/L)
<i>Cystoseira baccata</i>	Τερπένες	tetraprenyltoluquinol και tetraprenyl	<i>L. infantum</i> προμαστιγώτες και αμαστιγωτές μορφές (44.9 ± 4.3 και 94.4 ± 10.1 µmol/L)
<i>Styropodium zonale</i>	Τερπένες	Atomaric acid και its methyl ester derivative	<i>L. amazonensis</i> αμαστιγωτές μορφές (20.2 και 22.9 µmol/L)
<i>Laurencia viridis</i> (red algae)	Τερπένες	Oxasqualenoid metabolites	Προμαστιγωτές μορφές <i>L. amazonensis</i> και <i>L. donovani</i> (5.40–46.45 µmol/L)
Marine Fungi/ Θαλάσσιοι μύκητες			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50
<i>Eurotium repens</i>	Πολυκετίδια	Tetrahydroauroglaucin	22 µg ml ⁻¹
		Auroglaucin	7.5µg ml ⁻¹
		Flavoglaucin	23 µg ml ⁻¹
<i>Raecilomyces</i> sp. 7A22	Λακτόνες	Harzialactone A	<i>L. amazonensis</i> προμαστιγωτές (5.25 µg/ml) και αμαστιγωτές μορφές (18.18 µg/ml)
Marine seaweed			
Πηγή	Τάξη	Βιοδραστική ένωση	IC50

<i>Laurencia dendroidea</i> (Red seaweed)	Τερπένες	Obtusol	6.20 µg mL ⁻¹
<i>Canistrocarpus cervicornis</i> (Brown seaweed)	Τερπένες	(4R, 9S, 14S)-4α-Acetoxy-9β, 14α-dihydroxydolast-1(15), 7-diene	2 µg mL ⁻¹
<i>Dictyota paffii</i> (seaweed)	Τερπένες	Dolabelladienetriol	14.16 µg mL ⁻¹

Πίνακας 12. Γενική περίληψη των άρθρων για τα θαλάσσια φυσικά προϊόντα και τη δραστηριότητά τους *in vitro* (Nweze et al.,2021).

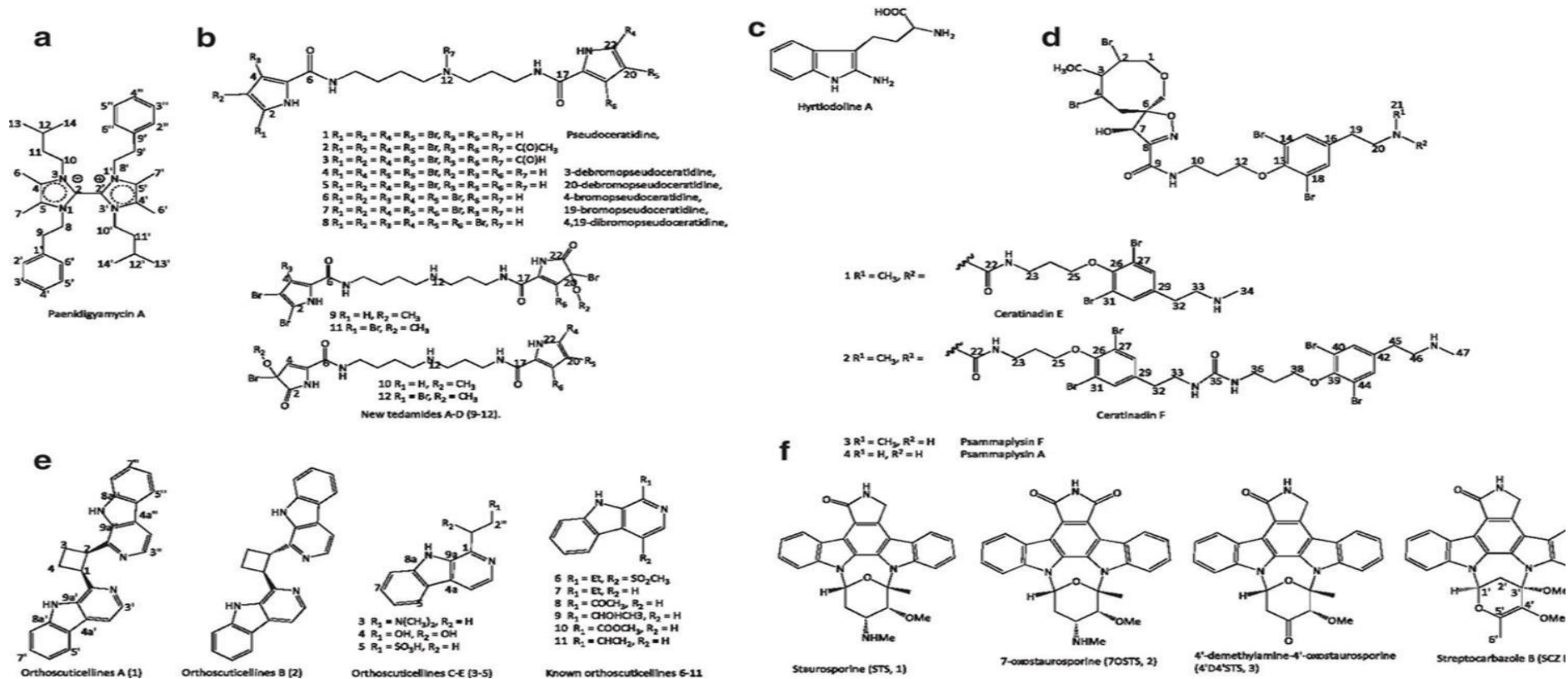
Marine-derived alkaloids						
Μορφή παρασίτου (IC50 or EC50)	Κυτταροτοξικότητα	Ενώσεις	Κατηγορίες	Πηγές	Οργανισμοί	Χώρα
<i>Leishmania major</i> (0.75 µmol/L) και <i>L. donovani</i> (7.02 µmol/L) Προμαστιγώτες μορφές	NT	Paenidigyamyc in A (1)	Αλκαλοειδή	Mangrove rhizosphere soil bacterium	<i>Paenibacillus polymyxa</i> strain De2sh	Ghana
<i>L. donovani</i> (115.41 µmol/L) Προμαστιγώτες μορφές	Μακροφάγα ποντικού RAW 264.7 cells (selectivity index 8.70)	Paenidigyamyc in G (2)				

Μορφή παρασίτου (IC50 or EC50)	Κυτταροτοξικότητα	Ενώσεις	Κατηγορίες	Πηγές	Οργανισμοί	Χώρα
<i>L. infantum</i> , <i>L. amazonensis</i> (προμαστιγωτές μορφές),	HepG2 (16 ± 1 μmol/L)	Pseudoceratidine (1) και its derivatives (2–12)	Αλκαλοειδή	Marine sponge	<i>Tedania braziliensis</i>	Brazil
<i>L. amazonensis</i> προμαστιγωτές μορφές Και αμαστιγωτές μορφές (0.06–10.65 μmol/L), <i>L. donovani</i> προμαστιγωτές μορφές (0.50–> 40 μmol/L)	J774A.1 (8.74 ± 0.72, 5.20 ± 1.75; > 40, > 40 μmol/L)	Indolocarbazole staurosporine (STS, 1–4)	Αλκαλοειδή	Sediment bacterium	<i>Streptomyces sanjensis</i>	Ecuador
Marine-derived terpenes και terpenoids						

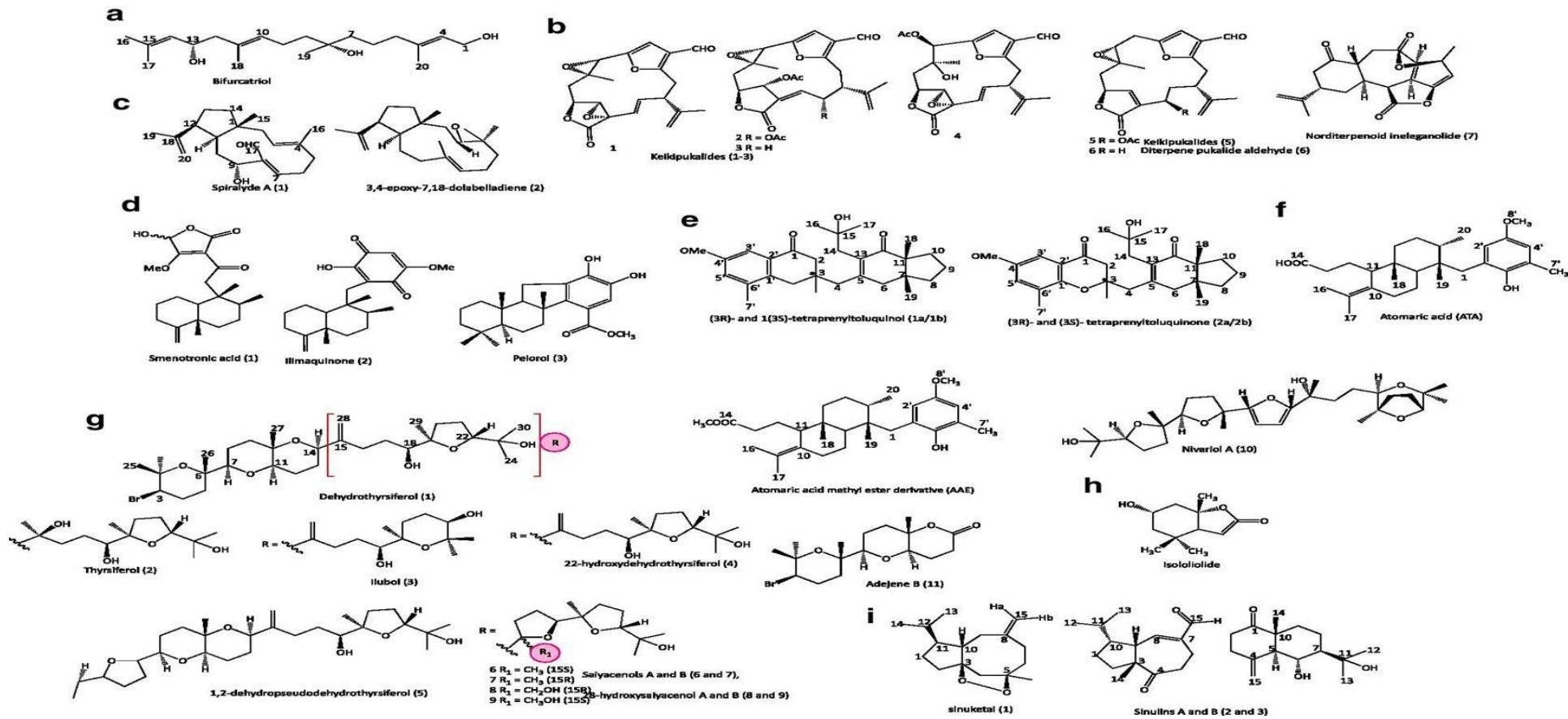
Μορφή παρασίτου (IC50 or EC50)	Κυτταροτοξικότητα	Ενώσεις	Κατηγορίες	Πηγές	Οργανισμοί	Χώρα
<i>L. donovani</i> αμαστιγωτές μορφές (18.8 µg/ml), <i>T. brucei rhodesiense</i> trypomastigotes (11.8 µg/ml), <i>T. cruzi</i> trypomastigotes (47.8 µg/ml); και drug-resistant <i>P. falciparum</i> K1 late trophozoites και schizonts (0.65 µg/ml)	RSM L6 (56.6 µg/ml)	Bifurcatriol (1)	Διτερπένες	Shore of Killee brown alga	<i>Bifurcaria bifurcate</i>	Ireland
<i>L. donovani</i> αμαστιγωτές μορφές	A549 (> 50 µmol/L)	Keikipukalides (1),	διτερπένες	Antarctic deep-sea octocoral —Cnidaria	<i>Plumarella delicatissima</i>	Falkland Island (Islas Malvinas)
<i>L. donovani</i> αμαστιγωτές μορφές (1.9–12 µmol/L)		Keikipukalides (2–5), pukalide aldehyde (6), και norditerpenoid inele-ganolide (7)				

<i>L. amazonensis</i> προμαστιγώτες (15.47 ± 0.26 και 36.81 ± 5.20 μmol/L)	J774.A1 (23.4 ± 5.62 μmol/L και 69.98 ± 0.14 μmol/L)	Spiralyde A (1) και 3, 4-epoxy-7, 18-dolabel-ladiene (2)	Διτερπένες	Off the coast (1.5 m) brown alga	<i>Dictyota spiralis</i>	Tunisia
<i>L. amazonensis</i> και <i>T. cruzi</i> (> 100.00 μmol/L)	NT	Compounds 3–6				
<i>L. infantum</i> προμαστιγώτες και αμαστιγώτες μορφές (44.9 ± 4.3 και 94.4 ± 10.1 μmol/L)	Murine macrophages (126.6 ± 21.1 και 84.5 ± 12.5 μmol/L)	(3R)- και 1(3S)-tetraprenyl-toluquinol (1a/1b) και (3R)- και (3S)-tetraprenyl	Τερπενοειδή	Marine macroalgae	<i>Cystoseira baccata</i>	Portugal
		Toluquinone (2a/2b)				
Μορφή παρασίτου (IC50 or EC50)	Κυτταροτοξικότητα	Ενώσεις	Κατηγορίες	Πηγές	Οργανισμοί	Χώρα
<i>L. amazonensis</i> αμαστιγώτες μορφές (20.2 και 22.9 μmol/L)	Περιτοναϊκά μακροφάγα ποντικού (300 και 200 μmol/L)	Ατομικό οξύ και το παράγωγο μεθυλεστέρα του	Διτερπένες	Brown alga snorkeling at a depth of 2–3 m	<i>Styropodium zonale</i>	Brazil

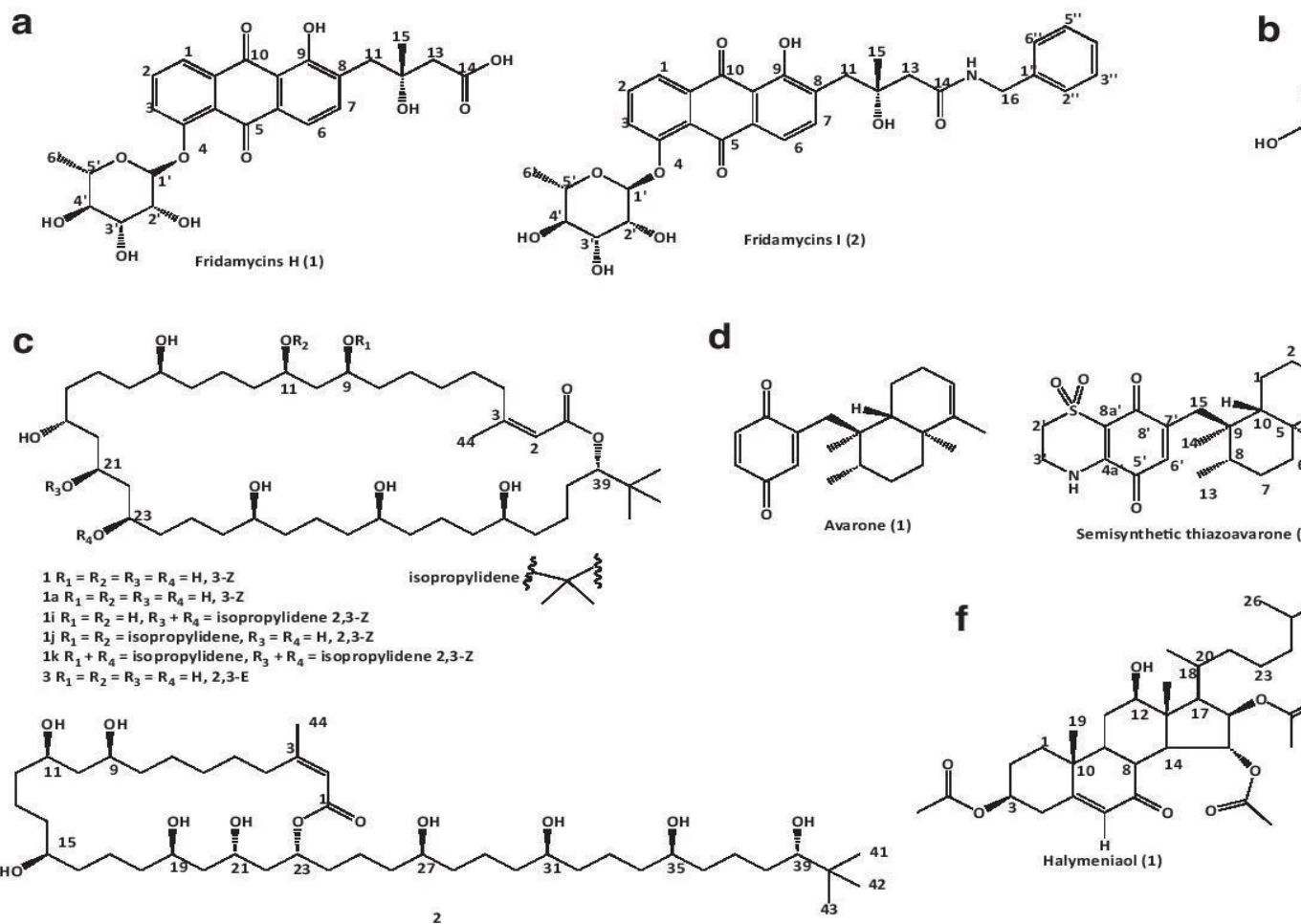
Προμαστιγωτές μορφές <i>L. amazonensis</i> , <i>L. donovani</i> και επιμαστιγωτές μορφές <i>T. cruzi</i> (5.40–46.45 μmol/L)	J774A.1 (> 100 μmol/L)	Oxasqualenoid metabolites (1–11)	Πολυαιθερικά τριτερπεν οειδή	Marine red alga	<i>Laurencia viridis</i>	Spain
Marine-derived quinones, macrolide, lactones, και sterol						
Ενεργό έναντι του <i>P. falciparum</i> ; <i>L. infantum</i> αμαστιγωτή (7.64 και 3.19 μmol/L) και προμαστιγωτή μορφή (28.1 και 7.42 μmol/L), και <i>L. tropica</i> προμαστιγωτές μορφές (20.28 και 7.08 μmol/L)	HMEC-1 (62.19 ± 1.98 και 36.85 ± 5.79 μmol/L); THP-1 (> 100 και 31.75 μmol/L)	Sesquiterpene anarone (1) και anarol (3) (Fig. 5d)	Κινόνες	Coast area sponge	<i>Dysidea avara</i>	Turkey
Μορφή παρασίτου (IC50 or EC50)	Κυτταροτοξικότητα	Ενώσεις	Κατηγορίες	Πηγές	Οργανισμοί	Χώρα
<i>L. amazonensis</i> προμαστιγωτές forms (5.25 μg/ml) και ενδοκυτταρική μορφή (18.18 μg/ml)	NT	Harzialactone A (Fig. 5e)	Λακτόνες	Marine fungus	<i>Raecilomyces</i> sp. 7A22	Brazil



Εικόνα 26 Μερικές δομές θαλάσσιων αλκαλοειδών με αντιεϊσμμανιακή δράση(Nwez et al, 2021).



Εικόνα 27 Δομές από μερικές τερπένες και τερπενοειδή (Nweze et al, 2021).



Εικόνα 28 Δομές από απομονωμένες quinones, macrolide, lactones, και στερόλες(Nwezw et al, 2021).

Paecilomyces sp

Κλασματοποίηση εκχυλισμάτων από τον ζυμό καλλιέργειας του θαλάσσιου μύκητα, *Paecilomyces*^s sp. 7A22, είχε ως αποτέλεσμα την απομόνωση της χαρζιαλακτόνης A (HA), μια γνωστή ένωση που είχε απομονωθεί προηγουμένως από μύκητες θαλάσσιου περιβάλλοντος. Η χημική δομή της HA προσδιορίστηκε με φασματοσκοπικές αναλύσεις. Κατόπιν αξιολόγησης της HA σε αντιλεϊσμανιακές δοκιμασίες έναντι *Leishmania amazonensis*, η HA παρουσίασε σημαντική δράση έναντι των μορφών προμαστιγωτών με IC50 5, 25 mg mL⁻¹ και μέτρια δραστηριότητα έναντι ενδοκυτταρικών αμαστιγωτών με IC50 18, 18 mg mL⁻¹ (Braun et al.,2019) .

Πίνακας 13. Λείσμανοκτόνος δράση και δείκτης επιλεκτικότητας της χαρζιαλακτόνης A.

Ενώσεις	Προμαστιγώτες IC50 a	Αμαστιγωτές μορφές IC50 b	Περιτοναϊκά μακροφάγα	
			CC50 c	SI
harzialactone A	5.25 ± 0.2	18.18 ± 1.31	35.21 ± 1.3	1.93
amphotericin B	0.119 ± 0.9	0.095 ± 1.2	22.41 ± 0.40	235.89

Συνοψίζοντας, οι επιδράσεις της harzialactone A έναντι της *Leishmania amazonensis* που παρουσιάστηκαν παραπάνω υποδηλώνουν ότι αυτή η κατηγορία ενώσεων είναι ακατάλληλες για μελλοντικές βιολογικές *in vitro* και *in vivo* μελέτες για την αναζήτηση φυσικών προϊόντων με δράση κατά του *Leishmania spp.* Επιπλέον, τα παρόντα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι οι μύκητες που προέρχονται από τη θάλασσα είναι πολλά υποσχόμενοι ως πηγή φυσικών προϊόντων με αντιπαρασιτική δράση (Braun et al.,2019) .

Marine Cyanobacteria

Τα θαλάσσια κυανοβακτήρια είναι μια αρχαία ομάδα οργανισμών και παραγωγοί βιοδραστικών δευτερογενών μεταβολιτών. Αυτές οι ενώσεις πιθανώς βελτιστοποιηθήκαν από την εξέλιξη σε δισεκατομμύρια χρόνια για να ασκήσουν υψηλή συγγένεια για τον επιδιωκόμενο βιολογικό στόχο στο οικολογικά σχετικό οργανισμό αλλά πιθανότατα διαθέτουν επίσης δραστηριότητα σε διαφορετικά βιολογικά πλαίσια όπως τα ανθρώπινα κύτταρα. Ο έλεγχος των εκχυλισμάτων θαλάσσιων κυανοβακτηρίων

για βιοενεργά φυσικά προϊόντα έχει επικεντρωθεί σε μεγάλο βαθμό στην αντικαρκινική τους δράση. Ωστόσο, η διαφοροποίηση της πλατφόρμας προβολής οδήγησε στον χαρακτηρισμό πολλών νέων βιοδραστικών ενώσεων.

Τα κυανοβακτήρια, ή αλλιώς τα γαλαζοπράσινα φύκια, αντιπροσωπεύουν μια μοναδική πηγή μικρών μορίων.

Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας υπάρχουν πολλά φυσικά προϊόντα τα οποία φαίνεται να έχουν ή να μπορούν να έχουν λεισμανιοκτόνο δράση. Αξιοσημείωτο είναι ότι εκτός των φυτών με τέτοιου είδους δράση, για τα οποία η επιστημονική κοινότητα είχε ασχοληθεί αρκετά χρόνια, ελπιδοφόρα αποτελέσματα φέρουν και τα παράγωγα των φυτών.

Χαρακτηριστική αναφορά πρέπει να γίνει στους πρωτογενείς αλλά και στους δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών όπως είναι οι φαινόλες, τα τερπένια, οι σαπωνίνες, τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες και οι αζωτούχες βάσεις. Επιπλέον των ήδη προαναφερθέντων φυτικών παραγώγων είναι και το παρθένο ελαιόλαδο. Εκτός όμως από τα φυτικά παράγωγα φαίνεται ότι και οι ενδοφυτικοί μύκητες και βακτήρια μπορούν να συντελέσουν στην δημιουργία σύγχρονων θεραπειών για την λεισμανίαση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα ενδοφυτικά βακτήρια από τα φυτά *Fagonia indica* και *Polygala paniculata*, δρουν έναντι *Leishmania infantum*, *Leishmania major* και της *Leishmania tropica*. Η έρευνα γύρω από τους ενδοφυτικούς μύκητες είναι περιορισμένη και δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα εκτός από την δράση των ενδοφυτικών μυκήτων *Fusarium sp*, *Trichosporum sp* και *Aspergillus sp. strain F1544*. Τέλος, θα μπορούσε το επιστημονικό ενδιαφέρον γύρω από την αντιμετώπιση της λεισμανίασης να στραφεί όχι μόνο στο μικροβίωμα των των φωτών στεριάς και θάλασσας, αλλά και γενικά σε θαλάσσιες πηγές όπως είναι οι θαλάσσιοι σπόγγοι, θαλάσσια βακτήρια, μύκητες, κυανοβακτήρια και τα θαλάσσια φύκια.

Πίνακες

Πίνακας 1. Σύνοψη κλινικών συμπτωμάτων της Λείσμανιάσης (Mann, et al., 2021).....	9
Πίνακας 2. Διαγνωστικές μέθοδοι (Mann, et al., 2021).....	11
Πίνακας 3. Σύνοψη συστημικών θεραπειών (Mann, et al., 2021).....	17
Πίνακας 4. Φυτικά προϊόντα και φυτά με αντιλεϊσμανιακή δράση (A.A.) και λεϊσμανιοκτόνα φυτά (L.A.)	35
Πίνακας 5. Λείσμανιοκτόνος δράση των EOs σε προμαστιγώτες της <i>L. amazonensis</i>	56
Πίνακας 6. Μερικά κοινά ενδοφυτικά βακτηριακά γένη που απομονώθηκαν από αγρονομικά φυτά	74
Πίνακας 7. Ποικιλομορφία ενδοφυτικών βακτηρίων που απομονώθηκαν από άγρια φυτά	75
Πίνακας 8. Αντιλεϊσμανιακή δράση ακατέργαστου βακτηριακού εκχυλίσματος κατά των προμαστιγωτών της <i>Leishmania</i>	80
Πίνακας 9. Τιμές EC50 για περιόδους 24 και 48 ωρών σε προμαστιγώτες <i>Leishmania</i> <i>amazonensis</i>	85
Πίνακας 10. In vitro αντιπρωτοζωϊκες, κυτταροτοξικές και αντιπολλαπλασιαστικές δράσεις εκχυλισμάτων του φυτού <i>C. echinata</i> . ALL: αλλοπουρινόλη που δοκιμάστηκε στα 20 µg/mL, AMB: αμφοτερικίνη B που δοκιμάστηκε σε 0,02 µg/mL, BNZ: βενζνιδαζόλη που δοκιμάστηκε σε 1,0 µg/mL = 3,8 µM, DEX: δεξαμεθαζόνη που δοκιμάστηκε στα 20 µg/mL, ETO: η ετοποσίδη δοκιμάστηκε σε 1,6 µg/mL σε κυτταρικές γενεές όγκου και σε 20 µg/mL στο ανθρώπινο περιφερικό αίμα σε μονοκύτταρα κύτταρα (PBMC), LA: αμαστιγωτές μορφές <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i> , MCF- 7: ανθρώπινος καρκίνος μαστού, NT: δεν έχει δοκιμαστεί, TC: μαστιγώτης και τρυπομαστιγώτης μορφές <i>Trypanosoma cruzi</i> , TK-10: ανθρώπινος καρκίνος νεφρού , UACC-62: άνθρωπος (Campos, et al., 2014).	89
Πίνακας 11. Αντιπολλαπλασιαστική δράση των μεταβολιτών που παράγονται από ενδοφυτικούς μύκητες που απομονώνονται από μακρόφυτα <i>Eichhornia</i> έναντι της <i>L. amazonensis</i>	91
Πίνακας 12. Εκχυλίσματα του <i>Aspergillus</i> sp. με βιολογική δράση έναντι τροπικών παρασίτων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν την αναστολή ανάπτυξης των παρασίτων (Martínez-Luis, et al., 2011).....	93
Πίνακας 13. Βιολογική δράση (IC50) των 1-5 έναντι τροπικών παρασίτων (Martínez- Luis, et al., 2011).....	93
Πίνακας 14. Συνοπτικός πίνακας με αντιλεϊσμανιακά φάρμακα προερχόμενα από το θαλάσσιο περιβάλλον που ανακαλύφθηκαν από το 2010 (Davies-Bolorunduro, Osuolale, Saibu, Adeleye, & Aminah, 2021).....	95
Πίνακας 15. Γενική περίληψη των άρθρων για τα θαλάσσια φυσικά προϊόντα και τη δραστηριότητά τους in vitro (Nweze, et al., 2021)	98
Πίνακας 16. Λείσμανοκτόνος δράση και δείκτης επιλεκτικότητας της χαρζιαλακτόνης A.	

Πίνακας εικόνων

Εικόνα 1 Η ταξινόμηση του πρωτόζωου <i>Leishmania</i> (Klat et al.,2019)	21
Εικόνα 3 . Σχηματική αναπαράσταση των κύριων οργανιδίων της προμαστιγωτής (αριστερά) και της αμαστιγωτής μορφής (δεξιά) (Besteiro et al, 2007).....	26
Εικόνα 4 . Ο κύκλος ζωής του παρασίτου του γένους <i>Leishmania</i> (Raj S., 2020).....	27
Εικόνα 5 Σπλαχνική λεισμανίαση (CDC,2020).	28
Εικόνα 6 Δερματική λεισμανίαση(CDC,2020).....	30
Εικόνα 7 Τυπική εκδήλωση PKDL (WHO,2012)	31
Εικόνα 8 Κλινικά συμπτώματα της κάθε εκδήλωσης της νόσου (Mann et al,2021).	32
Εικόνα 9 Μικροσκόπηση μολυσμένου από <i>Leishmania</i> μυελού των οστών (CDC,2023).	33
Εικόνα 10 Διάγνωση της Λεισμανίασης. Στην εικόνα περιγράφονται οι μέθοδοι ανίχνευσης του παρασίτου (Thakur et al., 2020)	36
Εικόνα 11 Φαινόλη (Hussein & El-Anssary, 2019).	44
Εικόνα 12 Γαλλικό οξύ (Hussein & El-Anssary, 2019).	45
Εικόνα 13 Παραδείγματα απλών φαινολικών ενώσεων (Hussein & El-Anssary, 2019).....	45
Εικόνα 14 Παραδείγματα υδρολυόμενων τανίνων (Hussein & El-Anssary, 2019).....	46
Εικόνα 15 Παραδείγματα κουμαρίνων (Hussein & El-Anssary, 2019).	46
Εικόνα 16 Παραδείγματα Φλαβονοειδών (Hussein & El-Anssary, 2019).....	47
Εικόνα 17 Παραδείγματα αλκαλοειδών (Hussein & El-Anssary, 2019).....	50
Εικόνα 18 Παράδειγμα τριτερπενοειδούς σαπωνίνης (Hussein & El-Anssary, 2019).....	51
Εικόνα 19 Παράδειγμα στεροειδούς σαπωνίνης (Hussein & El-Anssary, 2019).	52
Εικόνα 20 Παραδείγματα Δευτερογενών Μεταβολιτών Φυτών και οι Κύριες Τάξεις(Wang et al. ,2019).....	54
Εικόνα 21 Μηχανισμοί προαγωγής της ανάπτυξης των φυτών, αποικισμός και παράγοντες που επηρεάζουν την ποικιλομορφία των ενδοφυτικών βακτηρίων στο φυτό ξενιστή (Afzal et al , 2019).	80
Εικόνα 22 Σχηματική αναπαράσταση της βακτηριακής κατανομής και των μοτίβων αποικισμού στην ενδοσφαιρία μιας ρίζας φυτού. Οι αναδυόμενες θέσεις των πλευρικών ριζών είναι μεταξύ των εστιών βακτηριακού αποικισμού (Afzal et al , 2019).81	81
Εικόνα 23 Σχηματική αναπαράσταση μοτίβων βακτηριακού αποικισμού σε ένα φύλλο. Η εικόνα που φαίνεται στα αριστερά δείχνει ότι η παρουσία βακτηρίων έχει ανιχνευθεί στον μίσχο του φύλλου, τη μέση και τις φλέβες (Liu et al, 2017).	82
Εικόνα 24 Η εικόνα αυτά συνοψίζει το ενζυματική και αντιλεισμανική δράση του <i>B. caracica</i> COPS (Cruz et al.,2021).	86
Εικόνα 25 Γραφήματα συγκέντρωσης-απόκρισης λεισμανοκτόνου δράσης (%) προμαστιγωτών <i>Leishmania amazonensis</i> που εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις εκχυλίσματος <i>Paenibacillus polymyxa</i> RNC-D (0, 1, 0, 5, 1, 5, 10 και 15 mg/mL) στις 24 και 48 ώρες.	88
Εικόνα 26 . Συστατικά από <i>Aspergillus</i> sp. στέλεχος F1544 (Martínez-Luis et al.,2011).	94
Εικόνα 27 Μερικές δομές θαλάσσιων αλκαλοειδών με αντιλεισμανιακή δράση(Nwezw et al, 2021).	105
Εικόνα 28Δομές από μερικές τερπένες και τερπενοειδή(Nweze et al, 2021).....	106
Εικόνα 29 Δομές από απομονωμένες quinones, macrolide, lactones, και στερόλες(Nwezw et al, 2021).	107

Βιβλιογραφία

- Aamir M., Rai K., Zehra A., Kumar S., Yadav M., Shukla V., & Upadhyay R. S. Fungal endophytes: Classification, diversity, ecological role, and their relevance in sustainable agriculture. *Microbial Endophytes*. **2020**, 291–323.
- Afzal I., Iqar I., Shinwari Z. K., & Yasmin A. Plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from roots of wild *Dodonaea viscosa* L. *Plant Growth Regulation*, **2016**,81(3): 399–408.
- Afzal I., Zabta K., & Irum I. Selective isolation and characterization of agriculturally beneficial endophytic bacteria from wild hemp using canola. *Pakistan Journal of Botany*, **2015**, 47(5):1999-2008.
- Alan J Magill. ,David R Hill, Tom Solomon, Edward T Ryan. *Leishmaniasis*, Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease (Ninth Edition), Volume 99 **2013**,739-760.
- Almeida TT, Ribeiro MADS, Polonio JC, Garcia FP, Nakamura, CV, Meurer EC, Sarragiotto MH, Baldoqui DC, Azevedo JL, Pamphile JA. Curvulin and spirostaphylotrichins R and U from extracts produced by two endophytic *Bipolaris* sp. associated to aquatic macrophytes with antileishmanial activity. *Nat Prod Res*. **2018**, 32(23):2783-2790.
- Alves F, Bilbe G, Blesson S, et al. Recent Development of Visceral Leishmaniasis Treatments: successes, Pitfalls, and Perspectives. *Clin Microbiol Rev*. **2018**;31(4).
- Arora S., Patel P., Vanza M., & Rao G. Isolation and characterization of endophytic bacteria colonizing halophyte and other salt tolerant plant species from coastal Gujarat. *African Journal of Microbiology Research*, **2014**, 8(17): 1779–1788.
- Ashford RW. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol*. **2000**,30(12-13):1269-81.
- Assa Y., Shany S., Gestetner B., Tencer Y., Birk Y., & Bondi A. Interaction of alfalfa saponins with components of the erythrocyte membrane in hemolysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1973**,307(1): 83–91.
- Babu A., Kim J., & Oh B. Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *Journal of Hazardous*

- Materials*, **2013**,250-251, 477–483
- Bañuls AL, Hide M, Prugnolle F. Leishmania and the leishmaniases: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Adv Parasitol.***2007**, 64:1-109.
- Bal A., Anand R., Berge O., & Chanway C. Isolation and identification of diazotrophic bacteria from internal tissues of Pinus contorta and Thuja plicata. *Canadian Journal of Forest Research*,**2012**, 42(4): 807-813.
- Barati M., Sharifi I., Sharififar F. Antileishmanial activity of Artemisia aucheri, Ferula asa-foetid and Gossypium hirsutum extracts on Leishmania major promastigotes in vitro. *Ann. Mil. Health Sci. Res.* **2010**;8(3):166–172.
- Barzanti R., Ozino F., Bazzicalupo M., Gabbrielli R., Galardi F., Gonnelli C., & Mengoni A. Isolation and characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant Alyssum bertolonii. *Microbial Ecology.* **2007**,53(2): 306-316.
- Besteiro S., Williams Roderick A M, Coombs Graham H, Mottram Jeremy C. Protein turnover and differentiation in Leishmania. *International Journal of Parasitology.* **2007**, 37(10): 1063-75.
- Bouyahya A., Et-Touys A., Dakka N., Fellah H., Abrini J., & Bakri Y. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, **2017**, 50-54.
- Braun GH, Ramos HP, Candido ACBB, Pedroso RCN, Siqueira KA, Soares MA, Dias GM, Magalhães LG, Ambrósio SR, Januário AH, Pietro RCLR. Evaluation of antileishmanial activity of harzialactone a isolated from the marine-derived fungus Paecilomyces sp. *.Nat Prod Res.* **2021**,35(10):1644-1647
- Campos F., Sales Junior P., Romanha A., Araújo M., Siqueira E., Resende J., Cota B. Bioactive endophytic fungi isolated from Caesalpinia echinata Lam. (Brazilwood) and identification of beauvericin as a trypanocidal metabolite from Fusarium sp. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz.* **2015**, 10(1):65-74
- Carter NS, Stamper BD, Elbarbry F, Nguyen V, Lopez S, Kawasaki Y, Poormohamadian R, Roberts SC..Natural Products That Target the Arginase in Leishmania Parasites Hold Therapeutic Promise. *Microorganisms.* **2021**, 9(2):267.
- CDC. Parasites – Leishmaniasis. Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria.**2020**.
- CDC. Parasites – Leishmaniasis. Resources for Health Professionals: Diagnosis.**2023**.
- Chan-Bacab MJ, Peña-Rodríguez LM. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat Prod Rep.* **2001**,18(6):674-88.

- Çizmecci, Z., Karakuş, M., Karabela, Ş., Erdoğan, B., & Güleç, N. Leishmaniasis in Istanbul; A new epidemiological data about refugueleishmaniasis. *Acta Tropica*. 2019, 195:23-27.
- Claborn, D. The Biology and Control of Leishmaniasis Vectors. *Journal of Global Infectious Diseases*, **2010**, 2(2):127-34 .
- Croft, S., & Olliaro, P. Leishmaniasis chemotherapy challenges and opportunities. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2011**, 17(10): 1478–1483.
- Croft, S., Sundar, S., & Fairlamb, A. Drug Resistance in Leishmaniasis. *American Society for Microbiology*. **2006**, 19(1):111-126.
- Cruz F, de Paula Nogueira, Ferreira de Paula A, Nogueira CT, Marques de Andrade PH, Borges LM, Lacava PT, Baratella da Cunha Camargo IL, Aníbal FF, Paiva de Sousa C. Discovery of a Novel Lineage Burkholderia cepacia ST 1870 Endophytically Isolated from Medicinal Polygala paniculata Which Shows Potent In Vitro Antileishmanial and Antimicrobial Effects. *Int J Microbiol*. **2021**
- Davies-Bolorunduro, O., Osulale, O., Saibu, S., Adeleye, I., & Aminah, N. Bioprospecting marine actinomycetes for antileishmanial drugs: current perspectives and future prospects. *Heliyon*. **2021**,7(8).
- Da Silva BJM, Hage AAP, Silva EO, Rodrigues APD. Medicinal plants from the Brazilian Amazonian region and their antileishmanial activity: a review. *J Integr Med*. **2018**, 16(4):211-222.
- Devi R, Verma R, Dhalaria R, Kumar A, Kumar D, Puri S, Thakur M, Chauhan S, Chauhan PP, Nepovimova E, Kuca K. A systematic review on endophytic fungi and its role in the commercial applications. *Planta*. **2023**,257(4).
- de Vries HJC, Schallig HD. Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. *Am J Clin Dermatol*. **2022** Nov;23(6):823-840
- Diseases GBD, Injuries C.. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. **2020**;396(10258):1204–1222.
- Efstathiou A, Gaboriaud-Kolar N, Smirlis D, Myrianthopoulos V, Vougiotiannopoulou K, Alexandratos A, Kritsanida M, Mikros E, Soteriadou K, Skaltsounis AL. An inhibitor-driven study for enhancing the selectivity of indirubin derivatives towards leishmanial Glycogen Synthase Kinase-3 over leishmanial cdc2-related protein kinase 3. *Parasit Vectors*. **2014**,7:234.
- Emami S.A., Rabe S.Z.T., Ahi A., Mahmoudi M. Inhibitory activity of eleven *Artemisia* species from Iran against *Leishmania major* parasites. *Iran. J. basic Med. Sci*. **2012**;15:807.

- Ferreira JRS, Silva KM, de Almeida MSG, Gomes DCS, Cavalcanti MGS, Ferreira-Júnior GC, Alves LC, Brayner FA, Matos-Rocha TJ. American visceral leishmaniasis in a state of northeastern Brazil: clinical, epidemiological and laboratory aspects. *Braz J Biol.* **2022**, 4;82.
- Fidalgo C, Henriques I, Rocha J, Tacão M, Alves A. Culturable endophytic bacteria from the salt marsh plant *Halimione portulacoides*: phylogenetic diversity, functional characterization, and influence of metal(loid) contamination. *Environ Sci Pollut Res Int.* **2016**,23(10):10200-14.
- Fouce R, Reguera RM, Cubría JC, Ordóñez D. The pharmacology of leishmaniasis. *Gen Pharmacol.* **1998**, 30(4):435-43
- Georgiadou SP, Makaritsis KP, Dalekos GN. Leishmaniasis revisited: Current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. *J Transl Int Med.* **2015**,3(2):43-50
- Ghadimi, S., Osanloo, M., & Sharifi, N. The leishmanicidal activity of essential oils: A systematic review. *Journal of Herbmед Pharmacology.* **2020**, 9(4):300-308
- Ghodsian S, Taghipour N, Deravi N, Behniafar H, Lasjerdi Z. Recent researches in effective antileishmanial herbal compounds: narrative review. *Parasitol Res.* **2020**,119(12):3929-3946.
- Giancetti E, Montomoli E. The enemy at home: leishmaniasis in the Mediterranean basin, Italy on the focus. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **2020**,18(6):563-577.
- Guterman I, Moshe S, Naama M, Dafny-Yelin M. An integrated genomic approach to discovering fragrance-related genes in rose petals. *Flowering Newsl.* **2002**,32:31–37.
- Hodiamont CJ, Kager PA, Bart A, de Vries HJ, van Thiel PP, Leenstra T, de Vries PJ, van Vugt M, Grobusch MP, van Gool T. Species-directed therapy for leishmaniasis in returning travellers: a comprehensive guide. *PLoS Negl Trop Dis.* **2014** May 1;8(5)
- Hoffman, D. Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine. *Healing Arts Press One Park Street, Rochester, Vermont.* **2003**,400-427.
- Hussein R. & El-Anssary A. Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. *HerbalMedicine.* **2019**, 20-32.
- Iranshahi M., Arfa P., Ramezani M., Jaafari M.R., Sadeghian H., Bassarello C., Piacente S., Pizza C. Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. *Phytochem.* **2007**;68:554–561.

- Jaafari M.R., Hooshmand S., Samiei A., Hossainzadeh H. Evaluation of-leishmanicidal effect of *Perovskia abrotanoides* Karel.root extract by in vitro leishmanicidal assay using promastigotes of *Leishmania major*. *Pharmacol.* **2007**;1:299–303.
- Joo H.-S., Deyrup S., & Shim S. Endophyte-produced antimicrobials: a review of potential lead compounds with a focus on quorum-sensing disruptors. *Phytochem Rev.* **2020**.
- Kaiming Bi, Yuyang Chen, Songnian Zhao, Yan Kuang, Chih-Hang John Wu. Current Visceral Leishmaniasis Research: A Research Review to Inspire Future Study, *BioMed Research International*, vol. 2018, **2018**.
- Kam TS, Sim KM, Koyano T, Toyoshima M, Hayashi M, Komiyama K. Cytotoxic and leishmanicidal aminoglyco steroids and aminosteroids from *Holarrhena curtisii*. *J Nat Prod.* **1998**, 61(11):1332-6.
- Karampetsou K, Koutsoni OS, Gogou G, Angelis A, Skaltsounis LA, Dotsika E. Total Phenolic Fraction (TPF) from Extra Virgin Olive Oil: Induction of apoptotic-like cell death in *Leishmania* spp. promastigotes and in vivo potential of therapeutic immunomodulation. *PLoS Negl Trop Dis.* **2021**,15(1).
- Khademvatan S., Saki J., Gharavi M.J., Rahim F. *Allium sativum* extract induces apoptosis in *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) promastigotes. *J. Med. Plant Res.* **2011**;5:3725–3732
- Klatt, Stephan & simpson, Larry & Maslov, Dmitri & Konthur, Zoltán. *Leishmania tarentolae*: Taxonomic classification and its application as a promising biotechnological expression host. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 13. **2019**.
- Koko W., Al Nasr I., Khan T., Schobert R., & Biersack B. An Update on Natural Antileishmanial Treatment Options from Plants, Fungi and Algae. *Chemistry & Biodiversity*. 2022, 19(1).
- Liu H, Carvalhais LC, Crawford M, Singh E, Dennis PG, Pieterse CMJ, Schenk PM. Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. *Front Microbiol.* **2017**, 8:2552.
- Llurba-Montesino N, Schmidt TJ. *Salvia* Species as Sources of Natural Products with Antiprotozoal Activity. *Int J Mol Sci.* **2018**, 19(1):264
- Lopez BR, Bashan Y, Bacilio M. Endophytic bacteria of *Mammillaria fraileana*, an endemic rock-colonizing cactus of the southern Sonoran Desert. *Arch*

- Microbiol. **2011**,193(7):527-41.
- Macêdo C., Castro K., & Oliveira da Silva E. Antileishmanial Activity of the Genus Piper: A Systematic Review. *European Journal of Medicinal Plants*. **2021**, 32(5):21-44.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Jimenez L, Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, **2004**,79; 727–747.
- Manjili H.K., Jafari H.R., Ramazani A., Davoudi N. Anti-leishmanial and toxicity activities of some selected Iranian medicinal plants. *Parasitol. Res.* **2012**;111(5):2115–2121.
- Mann S, Frasca K, Scherrer S, Henao-Martínez AF, Newman S, Ramanan P, Suarez JA. A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Curr Trop Med Rep*. **2021**, 8(2):121-132.
- Marfurt J, Nasereddin A, Niederwieser I, Jaffe CL, Beck HP, Felger I. Identification and differentiation of Leishmania species in clinical samples by PCR amplification of the miniexon sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol*. **2003** Jul;41(7):3147-53
- Martínez-Luis S, Cherigo L, Arnold E, Spadafora C, Gerwick WH, Cubilla-Rios L. Antiparasitic and anticancer constituents of the endophytic fungus *Aspergillus* sp. strain F1544. *Nat Prod Commun*. **2012**, 7(2):165-8.
- Maspi N., Ghafarifar F., Bahrami A., Bastaminejad S., Shamsi M. Evaluation of leishmanicidal effect of watery & ethanolic flowers *Calendula officinalis* extract on promastigotes of *leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. *J. Ilam. Univ. Med. Sci.* **2010**;18:28–33.
- 20 Mirzaie M., Nosratabadi S.J., Derakhshanfar A., Sharif I. Antileishmanial activity of *Peganum harmala* extract on the in vitro growth of *Leishmania major* promastigotes in comparison to a trivalent antimony drug. *Veter. Arh.* **2007**;77(4):365–375.
- Mittal N, Gupta N, Saksena S, Goyal N, Roy U, Rastogi AK. Protective effect of Picroliv from *Picrorhiza kurroa* against *Leishmania donovani* infections in *Mesocricetus auratus*. *Life Sci*. **1998**, 63(20):1823-34.
- Mitra B, Saha A, Chowdhury AR, Pal C, Mandal S, Mukhopadhyay S, Bandyopadhyay S, Majumder HK. Luteolin, an abundant dietary component is a potent anti-leishmanial agent that acts by inducing topoisomerase II-mediated kinetoplast DNA cleavage leading to apoptosis. *Mol Med*. **2000**, 6(6):527-41.
- Neris DM, Ortolani LG, de Castro CA, Correia RO, Rodolpho JMA, Camillo L, Nogueira CT, de Sousa CP, Anibal FF. n Vitro Modulator Effect of Total Extract from the

- Endophytic *Paenibacillus polymyxa* RNC-D in *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* and Macrophages. *International Journal of Microbiology*. **2020**, 1-11.
- Nweze JA, Mbaaji FN, Li YM, Yang LY, Huang SS, Chigor VN, Eze EA, Pan LX, Zhang T, Yang DF. Potentials of marine natural products against malaria, leishmaniasis, and trypanosomiasis parasites: a review of recent articles. *Infect Dis Poverty*. **2021**, 10(1):9.
- Palma D, Mercuriali L, Figuerola J, Montalvo T, Bueno-Marí R, Millet JP, Simón P, Masdeu E, Rius C. Trends in the Epidemiology of Leishmaniasis in the City of Barcelona (1996-2019). *Front Vet Sci*. **2021**, 8:653999
- Park MS, Jung SR, Lee MS, Kim KO, Do JO, Lee KH, Kim SB, Bae KS. Isolation and characterization of bacteria associated with two sand dune plant species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*. *J Microbiol*. **2005**, 43(3):219-27.
- Parkash V, Kaye PM, Layton AM, Lacey CJ. Vaccines against leishmaniasis: using controlled human infection models to accelerate development. *Expert Rev Vaccines*. **2021**, 20(11):1407-1418.
- Ponte-Sucre A, Gamarro F, Dujardin JC, Barrett MP, López-Vélez R, García-Hernández R, Pountain AW, Mwenechanya R, Papadopoulou B. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. *PLoS Negl Trop Dis*. **2017**, 11(12):e0006052.
- Rahman L, Shinwari ZK, Iqar I, Rahman L, Tanveer F. An assessment on the role of endophytic microbes in the therapeutic potential of *Fagonia indica*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. **2017**, 16(1):53.
- Raj S., Sasidharan S., Balaji S., Dubey V., & Saudagar P. Review on natural products as an alternative to contemporary anti-leishmanial therapeutics. *Journal of Proteins and Proteomics*. **2020**, 11(2):135-158.
- Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis*. **2007**, 7(9):581-96.
- Rocha GNDSAO, Dutra LM, Lorenzo VP, Almeida JRGDS. Phytochemicals and biological properties of *Annona coriacea* Mart. (Annonaceae): A systematic review from 1971 to 2020. *Chem Biol Interact*. **2021**, 336:109390.
- Rocha LG, Almeida JR, Macêdo RO, Barbosa-Filho JM. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*. **2005**, 12(6-7):514-35.
- Rodrigues IA, Mazotto AM, Cardoso V, Alves RL, Amaral AC, Silva JR, Pinheiro AS, Vermelho AB. Natural Products: Insights into Leishmaniasis Inflammatory Response. *Mediators Inflamm*. **2015**, 2015:835910.

- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett.* **2008**, 278(1):1-9.
- Sadeghi-Nejad B., Saki J., Khademvatan S., Nanaei S. In vitro antileishmanial activity of the medicinal plant *Satureja khuzestanica* Jamzad. *J. Med. Plant Res.* **2011**;5(24):5912–5915.
- Salem MM, Werbovets KA. Natural products from plants as drug candidates and lead compounds against leishmaniasis and trypanosomiasis. *Curr Med Chem.* **2006**, 13(21):2571-98.
- Santos BM, Bezerra-Souza A, Aragaki S, Rodrigues E, Umehara E, Ghilardi Lago JH, Laurenti MD, Ribeiro SP, Passero LFD. Ethnopharmacology Study of Plants from Atlantic Forest with Leishmanicidal Activity. *Evid Based Complement Alternat Med.* **2019** ,2019:8780914.
- Seigler DS. Plant secondary metabolism. Kluwer Academic Publishers. **1998**, 193-7
- Sharif M., Ziaei H., Azadbakht M., Daryani A., Ebadattalab A., Rostami M. Effect of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (in vitro) *Turk. J. Med. Sci.* **2006**;36(6):365–369
- Shin MN, Shim J, You Y, Myung H, Bang KS, Cho M, Kamala-Kannan S, Oh BT. Characterization of lead resistant endophytic *Bacillus* sp. MN3-4 and its potential for promoting lead accumulation in metal hyperaccumulator *Alnus firma*. *J Hazard Mater.* **2012**, 199-200:314-20.
- Sirak B, Asres K, Hailu A, Dube M, Arnold N, Häberli C, Keiser J, Imming P. In Vitro Antileishmanial and Antischistosomal Activities of Anemonin Isolated from the Fresh Leaves of *Ranunculus multifidus* Forsk. *Molecules.* **2021**, 26(24):7473.
- Soosaraei M, Fakhar M, Hosseini Teshnizi S, Ziaei Hezarjaribi H, Banimostafavi ES. Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Ann Med Surg (Lond).* **2017**, 21:63-80.
- Soudi S., Hashemi S.M., Zavarani Hosseini A., Ghaemi A., Asghari Jafarabadi M. Antileishmanial effect of *Echinacea purpurea* root extract cultivated in Iran. *Iran. J. Pharm. Res.* **2010**;6(2):147–149.
- Strazzulla A, Cocuzza S, Pinzone MR, Postorino MC, Cosentino S, Serra A, Cacopardo B, Nunnari G. Mucosal leishmaniasis: an underestimated presentation of a neglected disease. *Biomed Res Int.* **2013**,2013:805108
- Subramaniam S, Fahy E, Gupta S, Sud M, Byrnes RW, Cotter D, Dinasarapu AR, Maurya MR. Bioinformatics and systems biology of the lipidome. *Chem Rev.*

- 2011**, 111(10):6452-90.
- Sun LN, Zhang YF, He LY, Chen ZJ, Wang QY, Qian M, Sheng XF. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland. *Bioresour Technol.* **2010**, 101(2):501-9.
- Sunter J, Gull K. Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open Biol.* **2017**, 7(9):170165.
- Saeidnia S, Gohari A, Mokhber-Dezfuli N, Kiuchi F. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. *Daru.* **2011**, 19(3):173-86.
- Zbigniew S, Beata Ż, Kamil J, Roman F, Barbara K, Andrzej D. Antimicrobial and antiradical activity of extracts obtained from leaves of three species of the genus *pyrus*. *Microb Drug Resist.* **2014**, 20(4):337-43.
- Zijlstra EE, Musa AM, Khalil EA, el-Hassan IM, el-Hassan AM. Post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Lancet Infect Dis.* **2003**, 3(2):87-98.
- Tadeusz A. Alkaloids: Chemistry, Biology, Ecology, and Applications. *Second edition. Elsevier.* **2015**
- Thakur S, Joshi J, Kaur S. Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of parasitological, immunological and molecular methods. *J Parasit Dis.* **2020**, 44(2):253-272.
- Van Assche T, Deschacht M, da Luz RA, Maes L, Cos P. *Leishmania*-macrophage interactions: insights into the redox biology. *Free Radic Biol Med.* **2011**, 51(2):337-51.
- van Griensven J, Diro E. Visceral leishmaniasis. *Infect Dis Clin North Am.* **2012**, 26(2):309-22.
- Visioli G, D'Egidio S, Vamerali T, Mattarozzi M, Sanangelantoni AM. Culturable endophytic bacteria enhance Ni translocation in the hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *Chemosphere.* **2014**, 117:538-44.
- Wang S, Alseekh S, Fernie AR, Luo J. The Structure and Function of Major Plant Metabolite Modifications. *Mol Plant.* **2019**, 12(7):899-919.
- WHO. Control of the leishmaniasis : report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. *Technical report series.* **2010**, 949:54-73.
- WHO. WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2019. *Division of Data, Analytics and Delivery for Impact.* **2020**, 4-17.
- WHO. The Post Kala-azar Dermal Leishmaniasis (PKDL) Atlas: A Manual for Health

- Workers. ISBN 978 92 4 150410 2 (NLM classification: WC 715). **2012**,36.
- WHO. *Leishmaniasis Factsheet*. World Health Organization; Geneva, Switzerland: **2022**.
- Xingi E, Smirlis D, Myriantopoulos V, Magiatis P, Grant KM, Meijer L, Mikros E, Skaltsounis AL, Soteriadou K. 6-Br-5methylindirubin-3'oxime (5-Me-6-BIO) targeting the leishmanial glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) short form affects cell-cycle progression and induces apoptosis-like death: exploitation of GSK-3 for treating leishmaniasis. *Int J Parasitol*. **2009**, 39(12):1289-303.
- Yang L, Wen KS, Ruan X, Zhao YX, Wei F, Wang Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules*. **2018**, 23(4):762.
- Yousefi R., Ghaffarifar F., Asl A.D. The effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) in vitro. *Iran. J. Parasitol*. **2009**;4:40–47
- Zafar S, -Ur-Rehman F, Shah ZA, Rauf A, Khan A, Humayun Khan M, Ur Rahman K, Khan S, Ullah A, Shaheen F. Potent leishmanicidal and antibacterial metabolites from *Olea ferruginea*. *J Asian Nat Prod Res*. **2019**, 21(7):679-687.
- Zhang X, Lin L, Zhu Z, Yang X, Wang Y, An Q. Colonization and modulation of host growth and metal uptake by endophytic bacteria of *Sedum alfredii*. *Int J Phytoremediation*. **2013**,15(1):51-64.
- Zutshi S, Kumar S, Chauhan P, Bansode Y, Nair A, Roy S, Sarkar A, Saha B. Anti-Leishmanial Vaccines: Assumptions, Approaches, and Annulments. *Vaccines*. **2019**, 7(4):156.
- Βογιατζάκη Χ. Μελέτη της παθογόνου δράσης των αντιγόνων μεμβράνης του πρωτοζώου *L. donovani*. Εθνικό Αρχείο Διδακτορικών Διατριβών. **1999**, 14-20,30-35.