



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ & ΧΗΜΕΙΑΣ
ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ

Asplenium ceterach L.- Aspleniaceae



ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΑ- ΜΙΧΑΕΛΑ ΤΟΜΟΥ

ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ

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

ΑΘΗΝΑ 2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A.1. Βοτανική περιγραφή	2
A.2.Βοτανική κατάταξη	3
A.3.Δρογοετυμολογία - Δρογοϊστορία – Δρογοφαρμακολογία	4
A.4.Δρογοχημεία	8

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1.1.Χρωματογραφικές τεχνικές.....	20
B.1.2.Φασματοσκοπικές μέθοδοι.....	22
B.1.3. Διαλύτες	23
B.2.Εκχύλιση της δρόγης.....	23
B.3. Χρωματογραφικός διαχωρισμός εκχυλισμάτων	23
B.3.1. Εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα [ASPEt].....	23
B.3.2. Βουτανολικό εκχύλισμα [ASPB]	27
B.3.3. Κυκλοεξανικό εκχύλισμα [ASP-Cyhex]	35

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.Ι. Φλαβονοειδή

Ουσία 1: καμπφερολο-3-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-(1→6)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης (καμπφερολο-3-O-γεντιοβιοσίδης)	41
Ουσία 2: κερκετινο-3-O-β-D-γλυκουρονίδιο (μικελιανίνη ή κερκιτουρόνη)	45
Ουσία 3: κερκετινο-3-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-(1→6)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης (κερκετινο-3-O-γεντιοβιοσίδης)	49

Γ.ΙΙ. Φαινολοξέα

Ουσία 4: Ε-καφεϊκό οξύ	55
Ουσία 5: Χλωρογενικό οξύ (3-Ο-καφεϋλοκινικό οξύ).....	57
Ουσία 6: π-κουμαροϋλο-4-Ο-β-D-γλυκοσίδης	63

Γ.ΙΙΙ. Απλά φαινόλες

Ουσία 7: 4-βινυλο-φαινυλο-1-Ο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης	68
Ουσία 8: 3-(1-Ο-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-4-υδροξυφαινυλο)-προπιονικό οξύ	72
Ουσία 9: 4-β-O-D-γλυκοσυλο-3,4-διυδροξυβενζυλο-αλκοόλη	77

Γ.ΙV. Λιπαρά οξέα

Ουσία 10: μίγμα αιθυλεστέρα του παλμιτικού οξέος (C16), αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος (C18:2) και αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος (C18:3)	83
---	----

Γ. V. Κατεργάσματα με βάση τη λαϊκή θεραπευτική	86
---	----

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	92
------------------------------	-----------

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	96
------------------------------	-----------

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμώς την επιβλέπουσα καθηγήτριακ. Ελένη Σκαλτσά για την επιλογή του θέματος και για τη συνεχή επιμέλεια και τηναδιάλειπτη καθοδήγηση, που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Ευχαριστώ την τριμελή εξεταστική επιτροπή Καθ. κ. Ελένη Σκαλτσά, Καθ. κ. Ιωάννα Χήνου, Καθ. κ. Όλγα Τζάκου.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή, Δρ. Θεοφάνη Κωνσταντινίδη (Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ) για την ταυτοποίηση του φυτικού υλικού.

Επίσης, ευχαριστώ και όλους τους συναδέλφους, που εργάστηκαν μαζί μου στο εργαστήριο για το ευχάριστο & φιλικό περιβάλλον.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την στήριξή τους.

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απομόνωση και ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων είναι μία από τις κύριες κατευθύνσεις του Εργαστηρίου Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Στα πλαίσια αυτής της έρευνας επιλέχτηκε προς μελέτη το είδος *Asplenium ceterach* L. της οικ. Aspleniaceae, λαμβάνοντας επίσης υπ' όψιν ότι τα είδη του γένους *Asplenium* L. και κυρίως το *A. ceterach* χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική από την αρχαιότητα.

A. 1. BOTANΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το *Asplenium ceterach* L. (*Ceterach officinarum* Willd., κν.σκορπίδι) ανήκει στην οικογένεια Aspleniaceae, η οποία αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες οικογένειες των λεπτοσποριαγγειακώνφτερών (Umicolson et al., 1994). Ένας από τους μεγαλύτερους εκπροσώπους της οικογένειας αυτής είναι το γένος *Asplenium* L., το οποίο περιλαμβάνει περίπου 700 είδη και φύεται σε εύκρατες και τροπικές περιοχές (Umicolson et al., 1994; Schneider et al., 2004; Irudayaraj&Johnson, 2011). Κατά το δεύτερο ήμισυ του 20ου αιώνα, οι συστηματικοί βοτανικοίέτειναν να αποδεχθούν μόνο ένα μεγάλο γένος στησυγκεκριμένη οικογένεια, το *Asplenium* με πολλά υπογένη, στο οποίο ανήκουν περίπου το 90% των ειδών της οικογένειας (Schneider et al., 2004). Μερικά από αυτά τα taxaπου έχουν μελετηθεί είναι τα εξής: *Ceterach*, *Diellia* και *Hymenasplenium* (Schneider et al., 2004).

Τα φυτά του γένους *Asplenium* είναι πολυετείς φτέρες με φύλλα απλά ή δις-τρεις πτερωτά και βραχύ ρίζωμα (Καββάδας, 1956). Στην ελληνική χλωρίδα συναντώνται 7 είδη, διακρινόμενα με βάση τα μακροσκοπικά τους χαρακτηριστικά (Καββάδας, 1956). Μερικά από αυτά είναι το *A. trichomanes* L., *A. viridum* Huds., *A. septentrionale* Hoffm. και το *A. ruta-muraria* L. (Καββάδας, 1956).

Το φυτό *A. ceterach* L. (*C. Officinarum* Willd.) είναι πολυετής φτέρη, με στενόμακρα φύλλα 3-25cm και με βραχύ μίσχο (Viane et al., 1993). Τα φύλλα έχουν στην άνω επιφάνειά τους φαιό έως πράσινο σκοτεινό χρώμα, ενώ στην κάτω επιφάνειά τους εμφανίζονται λεπιοειδή χρώματος ανοιχτού καστανού (ως εκ τούτου προκύπτει η κοινή ονομασία «rustyback», που σημαίνει σκουριασμένη πλάτη) (Viane et al., 1993). Τα τμήματα των φύλλων εναλλάσσονται από ωοειδή σε επιμήκη, 9-12 σε κάθε μεριά, ολόκληρα ή οδοντωτά, στρογγυλεμένα στην κορυφή (Viane et al., 1993). Φύεται πάνω σε πέτρες και τοίχους, σε παραθαλάσσιες και υποαλπικέςπεριοχές σε όλη την Ελλάδα (Καββάδας, 1956). Απαντάται σε όλη την Ευρώπη, στη Β. Αφρική, στην εγγύς Ανατολή,

καθώς και σε διάφορες περιοχές της Ανατολής όσο και της Δ. Κίνας (Trewick et al., 2002).

Μία αξιοσημείωτη ιδιότητα των περιδόφυτων και του συγκεκριμένου φυτού που μελετάται (*A. ceterach* L.) είναι η αντοχή στην αποξήρανση (Fernández-Marín et al., 2009; Žincović et al., 2010). Αναφέρεται ότι το *A. ceterach* έχει την ικανότητα να αντέχει την αποξήρανση και στη συνέχεια να ανακάμπτει κατά την επαναδιαβροχή του. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι αυτή η ιδιότητα του μπορεί να οφείλεται:

- ❖ στον λειτουργικό κύκλο της ξανθοφύλλης (vaz cycle)
- ❖ στις υψηλές συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων, όπως χλωρογενικό και καφεϊκό οξύ
- ❖ στη συμβολή των ενζύμων, όπως η οξειδάση της πολυφαινόλης (PPO) και υπεροξειδάση (POD), που οξειδώνουν τα φαινολικά παράγωγα.

A. 2. BOTANIKH KATATAΞH

Βασίλειο	Plantae
Διαίρεση	Pteridophyta
Κλάση	Polypodiopsida
Τάξη	Polypodiales
Οικογένεια	Aspleniaceae
Γένος	<i>Asplenium</i> L.
Είδος	<i>A. ceterach</i> L.



Α. 3. ΔΡΟΓΟΕΤΥΜΟΛΟΓΙΑ-ΔΡΟΓΟΪΣΤΟΡΙΑ-ΔΡΟΓΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ

Κεφ. ρμά. (ρνα΄.) [Περὶ Ἀσπλήνου.] Ἀσπληνον, οἱ δὲ σκολοπένδριον, οἱ δὲ σπλήνιον, οἱ δὲ ἡμιόνιον, οἱ δὲ πτέρυξ, οἱ δὲ λογχίτις, οἱ δὲ ἀτούριος, οἱ δὲ φρυγία, οἱ δὲ φρυγίτος, οἱ δὲ φιλτροδότης, προφηται αἷμα γαλῆς· φύλλα ἔχει σκολοπένδρα τῶ θηρίῳ ὅμοια, πλείονα ἀπὸ μιᾶς ῥίζης περιεχόμενα. Φύεται ἐν πέτραις καὶ τοίχοις τοῖς ἀπὸ κοχλάκων⁷⁵ παλισκίοις· ἄκαυλα, ἄκαρπα, ἀνανθῆ· ἐντετμημένα ὡς τὰ τοῦ πολυποδίου, κάτωθεν ὑπόξανθα καὶ δασέα, ἄνωθεν δὲ χλωρά. Δύναμιν δὲ ἔχει τὰ φύλλα ἀποξυσθέντα σὺν ὄξει καὶ πινόμενα ἐπὶ ἡμέρας μί, σπλήνα τήκειν· δεῖ δὲ καταπλάσσειν καὶ τὸν σπλήνα τοῖς φύλλοις λείοις σὺν οἶνῳ· βοηθεῖ καὶ στραγγουρία καὶ λυγμῶ καὶ ἰκτέρω· καὶ λίθους τοὺς ἐν κύστει θρύπτει. Δοκιεῖ δὲ ἀτόκιος εἶναι καθ' ἑαυτήν, καὶ μετὰ ἡμιόνου σπληνὸς περιεπτομένη· ἀσέλῃνου δὲ νυκτός φασι δεῖν αὐτὴν ὀρύσσειν εἰς ἀτόκιον.

Διοσκουρίδης. *Περὶ Ιατρικῆς Ὑλης*. Βιβλίο Γ

Το ὄνομα του γένους Ἀσπληνον (λατ. *Asplenium*) αποδίδεται στο γεγονός ότι το φυτό χρησιμοποιεῖτο στην αρχαιότητα για την θεραπεία παθήσεων του σπληνός (André, 1956; Carnoy, 1959). Στην Ελλάδα, διάφορες κοινές ονομασίες για το εἶδος *A.ceterach* L. (*C.officinarum* Willd.) ποικίλουν ανάλογα με την περιοχή. Μερικές από αυτές είναι: σκορπίδι, σκορπιδόχορτο, χρυσόχορτο, σκροπίδι, ασπλήνιο και «σπάκα πέτρα».

Οι θεραπευτικές ιδιότητες των πτεριδόφυτων ἔχουν αναφερθεῖ ἀπὸ το Θεόφραστο (Puri, 1970, Wimmer, 1866). Ο Θεόφραστος (4ος αἰώνας π.Χ) στο βιβλίο του «Περὶ Φυτῶν Ιστορία» αποκαλεῖ το *A.ceterach* L. ὡς ‘ἡμιόνιον’ (Καββάδας, 1956, Wimmer, 1866).

Ο Διοσκουρίδης (1ος αἰώνας μ.Χ) το αναφέρει με ποικίλα ονόματα, ὅπως σκολοπένδριον, σπλήνιον και ἡμιόνιον κ.ά. και του αποδίδει αποκαθαρτική και διουρητική δράση με ικανότητα να απομακρύνει τις πέτρες ἀπὸ την ουροδόχο κύστη (Max Wellmann, 1958).

Επίσης, αναφέρεται με τα ονόματα σκολοπένδριον και ἀσπληνον στο Στοιχείο Α΄ «Περὶ Αντιδότων» στο ἔργο *Δυναμερόν* του Νικόλαου Μυρεψοῦ (13ος αἰώνας μ.Χ) σε 3 συνταγές (ῥί΄, υμγ΄, υμδ΄), σε μίγματα και με ἄλλες δρόγες (Valiakos et al., 2015). Ο τίτλος και στις τρεις συνταγές εἶναι *περὶ μελαγχολίας* και η αναμενόμενη δράση της τελικῆς συνταγῆς εἶναι καθαρτική, διουρητική και αποκαθαρτική (codex grec. 2243).

Τα είδη του γένους *Asplenium* L. έχουν χρησιμοποιηθεί στη λαϊκή θεραπευτική εδώ και χιλιάδες χρόνια. Στην Ελλάδα, οι βικογιατροί στο Ζαγόρι χρησιμοποιούσαν το σκορπίδι ως μαλακτικό, αποχρεμπτικό, ανθελμινθικό, σπασμολυτικό, για αιμορροΐδες και για προβλήματα στη σπλήνα και στο νεφρό (Malamas&Marselos, 1992; Vokou, 1993). Σύμφωνα με τους Malamas&Marselos (1992), στο Ζαγόρι, έβραζαν τα φύλλα του φυτού σε κρασί, το άφηναν να κρυώσει και στη συνέχεια το έπιναν. Στο Πήλιο αναφέρεται η παρασκευή αφεψήματος από τα φύλλα του φυτού για την αντιμετώπιση παθήσεων των νεφρών (Brussell, 2004). Άλλες χρήσεις του φυτού *A. ceterach* L. στη λαϊκή θεραπευτική σε διάφορες χώρες είναι κατά των ασθενειών της ουροδόχου κύστεως, της σπλήνας, των νεφρικών νοσημάτων και για την απομάκρυνση λίθων από τα νεφρά και τη χολή. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των στηθικών νοσημάτων, του βήχα και του κοινού κρυολογήματος. Τοπικά το χρησιμοποιούσαν ως στυπτικό, αντιφλεγμονώδες, αναλγητικό και για την επούλωση πληγών. Έχει χρησιμοποιηθεί ακόμα και για τους πόνους της εμμήνου ρύσεως και ως μέτρο αντισύλληψης.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται αναλυτικά οι χρήσεις ορισμένων ειδών του γένους *Asplenium* L.

Βοτανικό όνομα	Μέρος φυτού	Παραδοσιακή χρήση	Βιβλιογραφία
<i>A. adiantum-nigrum</i> L.	Φύλλα/ ρίζωμα	Βήχα, φλεγμονή, παθήσεις σπλήνας, ίκτερο	Mannanetal., 2008
<i>A. falcatum</i> Lam.	Όλο το φυτό	Θεραπεία για τη σπληνομεγαλία, λιθίαση, ίκτερο, ελονοσία	Mannanetal., 2008
<i>A. ceterach</i> L.	Υπέργεια τμήματα / ρίζωμα	Διουρητικό, στυπτικό, σε σπληνομεγαλία, ακράτεια ούρων, ραχίτις, ίκτερο	Mannanetal., 2008
	Κονιοποιημένα φρέσκα φύλλα σε μορφή καταπλάσματος	Τοπικά ως στυπτικό και ως αντιφλεγμονώδες σε κοκκίνισμα δέρματος και σε φλύκταινες	Forgione et al., 2008
	Υπέργεια τμήματα	Πέτρες στη χολή, γαστρεντερικές διαταραχές, νευραλγία, πέτρες στα νεφρά, προστάτη	Hanlidou et al., 2004
	Φύλλα	Για τους πόνους της εμμήνου ρύσεως, υπέρταση	Passalacqua et al., 2007

	Όλο το φυτό	Εξωτερικές πληγές και εκδορές	Dafni et al., 1984
	-	Μαλακτικό και αποχρεμπτικό, για αιμορροΐδες, για προβλήματα στη σπλήνα και στο νεφρό, ανθελμινθικό	Vokou et al., 1993
	Φύλλα	Κολικούς νεφρών, πέτρες στα νεφρά, ελονοσία	Guarrera et al., 2005
	Υπέργεια τμήματα	Αποκαθαρτικό	Pieroni, 2000
	Φύλλα	Παθήσεις νεφρών	Brussell, 2004
	Φύλλα	Αναλγητικό	Agelet&Vallés, 2003
	-	Απομάκρυνση νεφρικών λίθων	Lentini, 2000
	-	Κρυολόγημα, βρογχικός κατάρρους	De Feo et al., 1992
	-	Μέθοδος αντισύλληψης	Garza et al., 2015
	Υπέργεια τμήματα	Καταρροή	Rigat et al., 2013
	Όλο το φυτό	Προβλήματα αρθρώσεων, πληγές	Said et al., 2002
	Υπέργεια τμήματα	Πέτρες στα νεφρά, σπασμολυτικό	Malamas & Marselos, 1992
<i>A. nidus</i> L.	Όλο το φυτό	Αποκαθαρτικό, ηρεμιστικό	Mannanetal., 2008
	Φύλλα	Αντισυλληπτικό, για να αντιστρέψουν τη στειρότητα	Bourdyetal., 1996
<i>A. ruta-muraria</i> L.	Όλο το φυτό	Κρυολόγημα, ραχίτις, οίδημα	Mannanetal., 2008
	-	Εμποδίζει την πτώση των μαλλιών, βοηθάει στην ενδυνάμωση τους	Puri, 1970
<i>A. scolopendrium</i> L.	Φύλλα	σπληνομεγαλία	Malamas&Marselos, 1992
<i>A. trichomanes</i> L.	Όλο το φυτό	Κρυολόγημα, απόστημα της μήτρας	Mannanetal., 2008
	Φύλλα / Μίσχος	Προβλήματα στα νεφρά	Brussell, 2004
	Υπέργεια τμήματα	Αντιβηχικό	Rigatetal., 2013

Ακολουθεί η αναφορά των φαρμακολογικών δράσεων του *A.ceterach* L.σε *invitro* πειράματα:

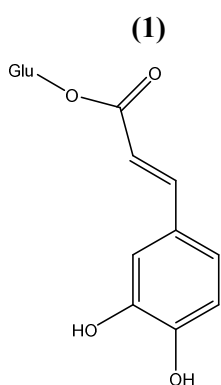
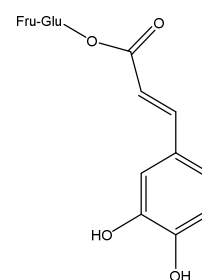
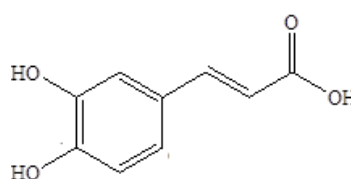
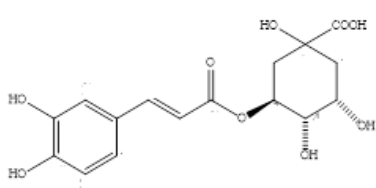
1. Αντιμικροβιακή δράση (Berk et al., 2011)
2. Αντιοξειδωτική δράση (Berk et al.,2011; Karadeniz et al., 2015)
3. Πιθανή προστατευτική δράση κατά της βλάβης του DNA (Berk et al., 2011)

A.4. ΔΡΟΓΟΧΗΜΕΙΑ

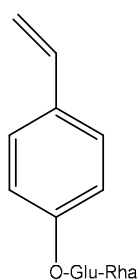
Δευτερογενείς μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί από το γένος *Asplenium* L.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Φαινόλες και υδροξυκινναμικά οξέα στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. ceterach</i> L.	(1) 3-O-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid) (2) caffeic acid	Živcović et al., 2010
<i>A. obovatum</i> H. Crist	(1) 3-O-caffeoylquinic acid	Veit et al., 1992
<i>A. ruta-muraria</i> L.	(3) 2-O-caffeoyl-β-D-fructofuranosyl-(2→1)- α-D-glucopyranoside (4) 1-O-caffeoyl-glucoside	Fan et al., 2012
<i>A. trichomanes</i> L.	(5a) 4-vinyl-phenol-1-O-[α-L-rhamnopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranose] (5b) 4-vinylphenol (6) 4-(1-methoxy-ethyl)-phenol	Dall'Acqua et al., 2009

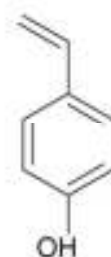


(4)



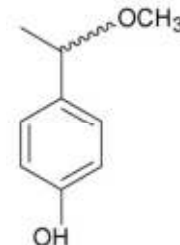
(5a)

(2)



(5b)

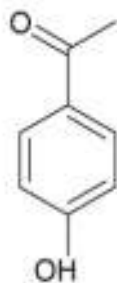
(3)



(6)

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Παράγωγα ακετοφαινονών στο γένος *Asplenium* L.

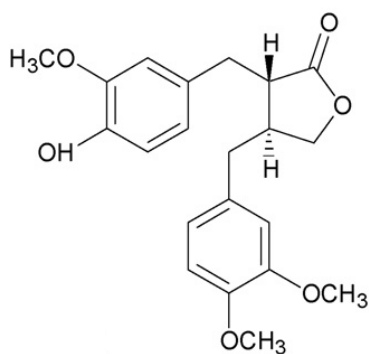
<i>A. trichomanes</i> L.	(7)p-hydroxyacetophenone	Dall'Acqua et al., 2009
--------------------------	--------------------------	-------------------------



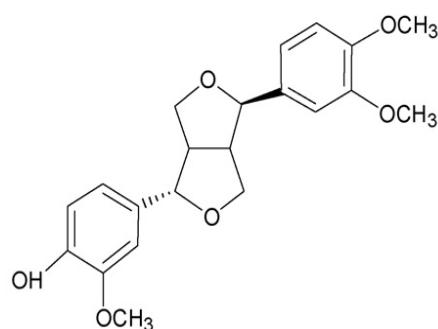
(7)

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Παράγωγα λιγνανίων στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. trichomanes</i> L.	(8)phylligenin (9)arctigenin	Dall'Acqua et al., 2009
--------------------------	---------------------------------	-------------------------



(8)



(9)

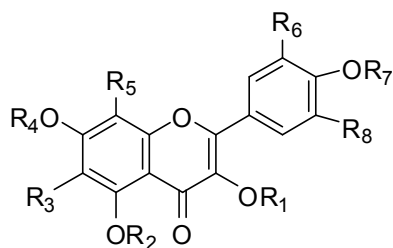
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Φλαβονοειδή στο γένος *Asplenium* L.

ι) Φλαβονόλες

<i>A. antiquum</i> Makino	(10)mearnsetin 3,7-dirhamnoside	Mizuno et al., 1991
<i>A. bulbiferum</i> G. Forst	(11)kaempferide 3-arabinoside-7-glucoside (12)kaempferide 3,7-dirhamnoside (13)kaempferide 3-rhamnoside-7-(6"-succinylglucoside) (14)kaempferide 3,7-diglucoside (15)kaempferide 3-rhamnoside-7-glucoside (16)kaempferide 3-glucoside-7-rhamnoside (17)kaempferol 3,7-diglucoside (18)kaempferol 3-rhamnoside-7-glucoside (19)kaempferol 3-glucoside-7-galactoside	Imperato, 1984b; Imperato, 1984c; Imperato, 1987a; Imperato, 1987b; Imperato, 1987c

<i>A. ceterach</i> L.	(20) kaempferol 3-glucuronide (21)kaempferol 3-digalactoside (22)quercetin 3-glucuronide (23) quercetin 3-digalactoside (24)kaempferol 3-(6"-malonylglucoside) (25)quercetin 3-glucoside (26)quercetin 3-gentiobioside (27)quercetin 3-(6"-malonylgalactoside)	Imperato, 1981; Iwashinaetal, 1993 (in Iwashina &Matsumoto, 2011) Iwashina &Matsumoto, 2011
<i>A. contiguum</i> Kaulf.	(28)kaempferol 3-sophoroside (29)kaempferol 3-caffeoylsophoroside	Iwashina &Matsumoto, 2011
<i>A. dalhousiae</i> Hook.	(20)kaempferol 3-glucuronide (22)quercetin 3-glucuronide	Iwashina et al, 1993;Iwashina &Matsumoto, 2011
<i>A. filix-foemina</i> Bernh.	(30)kaempferol 3-glucoside (31)kaempferol 3-(6"-sulphate-glucoside)	Imperato, 1979b
<i>A. fontanum</i> (L.) Bernh.	(32)kaempferol 3-(6"-sulphate-gentiobioside)	Imperato, 1980a
<i>A. fontanum</i> subsp. <i>fontanum</i> (L.) P. Fourn.	(33)kaempferol 3-gentiobioside, (34)kaempferol 3-polyglucoside (35)kaempferol 3,7-glucoside	Iwashina et al., 2000
<i>A. fontanum</i> subsp. <i>Pseudofontanum</i> (L.) P. Fourn.	(33)kaempferol 3-gentiobioside, (35)kaempferol 3,7-glucoside	Iwashina et al., 2000
<i>A. foresiense</i> Legrand	(33)kaempferol 3-gentiobioside, (34)kaempferol 3-polyglucoside, (35) kaempferol 3,7-glucoside	Iwashina et al., 2000
<i>A. incisum</i> Thunb.	(33)kaempferol 3-gentiobioside (36)kaempferol 3-gentiobioside-4'- glucoside (30)kaempferol 3-glucoside	Iwashina et al., 2000;
<i>A. insititium</i> Brack.	(18)kaempferol 3-rhamnoside-7-glucoside (37)kaempferol 3-glucoside-7-rhamnoside (38) kaempferol 3-galactoside-7-rhamnoside	Iwashina &Matsumoto, 2011
<i>A. kaulfussii</i> Schltdl.	(39)kaempferol 3-sophoroside-7- rhamnoside (18)kaempferol 3-rhamnoside-7-glucoside (37)kaempferol 3-glucoside-7-rhamnoside	Imperato, 1989a
<i>A. laserpitifolium</i> Lam.	(40)kaempferol 3,7-pentaglycoside (41)kaempferol 3,7,4'-hexaglycoside <i>Δεν προσδιορίζονται τα σάκχαρα</i>	Iwashina &Matsumoto, 2011
<i>A. marinum</i> L.	(42)kaempferol 3-methyl ether 7-glucoside (43)kaempferol 3,4'-dimethyl ether 7-glucoside	Umikalsom et al.,1994
<i>A. nidus</i> L.	(44)kaempferol 3-gentiobioside-7,4'- diglucoside (45)kaempferol 3-vicianoside	Imperato, 1986 Imperato, 1987
<i>A. montanum</i> Willd.	(46)kaempferol-glucosides <i>Δεν προσδιορίζονται τα σάκχαρα</i>	Harborneetal, 1973
<i>A. obovatum</i> Viv.	(33)kaempferol 3-gentiobioside (34)kaempferol 3-polyglucoside (35)kaempferol 3,7-glucoside	Iwashina et al., 2000
<i>A. platyneuron</i> (L.) Britton, Sterns &Poggenb.	(43)kaempferol 3,4'-dimethyl ether 7- glucoside (35)kaempferol 3,7-diglucoside	Harborne et al, 1973

<i>A. prolongatum</i> Hook.	(47)kaempferol 3-rhamnoside-7-[6"-feruloylglucosyl-(1→3)-rhamnoside]	Mizuno et al., 1990b
<i>A. punjabense</i> Bir., Fraser-Jenk. & Lovis	(20)kaempferol 3-glucuronide (21)kaempferol 3-digalactoside (22)quercetin 3-glucuronide (23)quercetin 3-digalactoside	Iwashina et al., 1993; Iwashina & Matsumoto, 2011
<i>A. rhizophyllum</i> L.	(48)kaempferol 7-glucoside (35)kaempferol 3,7-diglucoside (49)kaempferol 3-sophoroside-7-glucoside (50)kaempferol 3,4'-diglucoside	Harborne et al, 1973
<i>A. ruta-muraria</i> L.	(51)kaempferol-3-O-β-D-[6-E-caffeoyl-β-D-glucopyranosyl-(1→2)glucopyranoside]-7-O-β-D-glucopyranoside	Fanetal., 2010
<i>A. scolopendrium</i> L.	(52)kaempferol 3-[glucosyl-(1→3)-(2"-caffeoylglucoside)]-7-rhamnoside (53)kaempferol 3-[glucoside-(1→3)-glucoside]-7-rhamnoside (54)kaempferol 3-[(2"-caffeoylglucoside)]-7-rhamnoside (37)kaempferol 3-glucoside-7-rhamnoside (55)kaempferol 7-rhamnoside	Mizuno et al., 1990a
<i>A. septentrionale</i> (L.) Hoffm.	(56)kaempferol 3-sophorotrioside-7-glucoside (57)kaempferol 3-sophoroside-4'-glucoside (58)kaempferol 3-(sulphate-glucoside) (25)quercetin 3-glucoside (59)quercetin 3-(3"-sulphate-glucoside)	Imperato, 1983; Imperato, 1984a; Imperato, 1990a
<i>A. subflexuosum</i> Rosenst.	(60)kaempferol 3,7-tetraglycoside (61)kaempferol 3,7-triglycoside <i>Δενπροσδιορίζονταιπασάχαρα</i>	Imperato, 1979a (in Iwashina and Matsumoto, 2011)
<i>A. trichomanes</i> L.	(62)kaempferol-3-O-α-arabinofuranosyl-7-O-α-L-rhamnopyranoside (63)kaempferol-3-O-α-arabino-(2"acetyl)-furanosyl-7-O-α-L-rhamnopyranoside (64)kaempferol 3,7-dirhamnoside (65)kaempferol 3-rhamnoside-7-arabinoside (62)kaempferol 3-arabinoside-7-rhamnoside (66)quercetin 3-rutinoside	Imperato, 1979a; Bhardwaj et al, 1982; Dall'Acqua et al., 2009
<i>A. viride</i> Huds.	(62)kaempferol 3-arabinoside-7-rhamnoside (37)kaempferol 3-glucoside-7-rhamnoside (64)kaempferol 3,7-dirhamnoside (30)kaempferol 3-glucoside (67)kaempferol 3-arabinoside (68)quercetin 3-methyl ether 5-glucoside (69) quercetin 3-rhamnoside-7-arabinoside (70)quercetin 3-glucoside-7-rhamnoside (25)quercetin 3-glucoside (71)quercetin 3-arabinoside (72) quercetin 3-methyl ether	Imperato, 1981; Iwashina et al., 1995

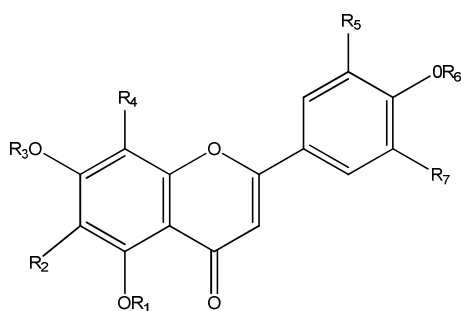


	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆	R₇	R₈
10	Rha	H	H	Rha	H	OH	Me	OH
11	Ara	H	H	Glu	H	H	Me	H
12	Rha	H	H	Rha	H	H	Me	H
13	Rha	H	H	6''-succinyl-glu	H	H	Me	H
14	Glu	H	H	Glu	H	H	Me	H
15	Rha	H	H	Glu	H	H	Me	H
16	Glu	H	H	Rha	H	H	Me	H
17	Glu	H	H	Glu	H	H	H	H
18	Rha	H	H	Glu	H	H	H	H
19	Glu	H	H	Gal	H	H	H	H
20	Glucuronide	H	H	H	H	H	H	H
21	Digalactoside	H	H	H	H	H	H	H
22	Glucuronide	H	H	H	H	OH	H	H
23	Digalactoside	H	H	H	H	OH	H	H
24	6''-malonylglucoside	H	H	H	H	H	H	H
25	Glu	H	H	H	H	OH	H	H
26	Gentiobioside	H	H	H	H	OH	H	H
27	6''-malonylglucoside	H	H	H	H	OH	H	H
28	Sophoroside	H	H	H	H	H	H	H
29	Caffeoylsophoroside	H	H	H	H	H	H	H
30	Glu	H	H	H	H	H	H	H
31	6''-sulphate-glucoside	H	H	H	H	H	H	H
32	6''-sulphate-gentiobioside	H	H	H	H	H	H	H
33	Gentiobioside	H	H	H	H	H	H	H
34	Polyglucoside	H	H	H	H	H	H	H
35	Glu	H	H	Glu	H	H	H	H
36	Gentiobioside	H	H	H	H	H	glu	H
37	Glu	H	H	Rha	H	H	H	H
38	Gal	H	H	Rha	H	H	H	H
39	Sophoroside	H	H	Rha	H	H	H	H
42	Methyl ether	H	H	Glu	H	H	H	H
43	Methyl ether	H	H	Glu	H	H	Methyl ether	H
44	Gentiobioside	H	H	Glu	H	H	Glu	H

45	Vicianoside [=glu (1→6) ara]	H	H	H	H	H	H	H
47	Rha	H	H	[6"-feruloyl- glucosyl- (1→3)- rhamnoside]	H	H	H	H
48	H	H	H	Glu	H	H	H	H
49	Sophoroside	H	H	Glu	H	H	H	H
50	Glu	H	H	H	H	H	Glu	H
51	[6-E-caffeoyl-β-D- glucopyranosyl- (1→2)glucopyranoside]	H	H	Glu	H	H	H	H
52	[glucosyl-(1→3)- (2"-caffeoylglucoside)]	H	H	Rha	H	H	H	H
53	[glucoside-(1→3)- glucoside]	H	H	Rha	H	H	H	H
54	[(2"-caffeoylglucoside)]	H	H	Rha	H	H	H	H
55	H	H	H	Rha	H	H	H	H
56	Sophorotrioside	H	H	Glu	H	H	H	H
57	Sophoroside	H	H	H	H	H	Glu	H
58	Sulphate-glucoside	H	H	H	H	H	H	H
59	3"-sulphate-glucoside	H	H	H	H	OH	H	H
62	Ara	H	H	Rha	H	H	H	H
63	Arabino-(2"acetyl)- furanosyl	H	H	Rha	H	H	H	H
64	Rha	H	H	Rha	H	H	H	H
65	Rha	H	H	Ara	H	H	H	H
66	Rutinoside	H	H	H	H	OH	H	H
67	Ara	H	H	H	H	H	H	H
68	Methyl ether	Gl u	H	H	H	OH	H	H
69	Rha	H	H	Ara	H	OH	H	H
70	Glu	H	H	Rha	H	OH	H	H
71	Ara	H	H	H	H	OH	H	H
72	Methyl ether	H	H	H	H	OH	H	H

ii) Φλαβόνες

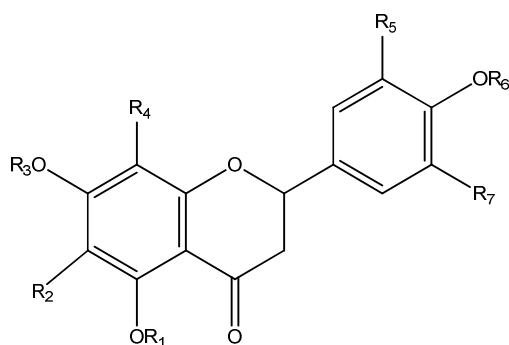
<i>A. belangeri</i> Bory	(73)scutellarein 6-glucoside	Richardson & Lorenz-Liburnau, 1982
<i>A. boreale</i> Nakaike	(74)apigenin 7,4'-O-dirhamnoside (75)apigenin-6,8-di-C-glucoside (vicenin-2)	Iwashina et al., 1990; Iwashina & Matsumoto, 1994
<i>A. carruthersii</i> Baker	(76)6-C-β-D-Glucosyl-8-C-α-L-arabinosylapigenin (schaftoside) (75)vicenin-2 (76)apigenin 6- C-pentoside-8-C-hexoside (77)apigenin-6-C-hexoside-8-C-pentoside <i>Δεν προσδιορίζονται τα σάκχαρα</i>	Iwashina & Matsumoto, 2011
<i>A. normale</i> D.Don.	(78)apigenin 7-rhamnosyl-(1→3)-rhamnoside (79)apigenin 7-rhamnosyl-(1→4)-rhamnoside (80)apigenin 7-rhamnoside-4'-glucosyl-(1→3)- rhamnoside (81)apigenin 7-rhamnosyl-(1→4)-rhamnoside-4'-rhamnoside (82)luteolin 7- rhamnosyl-(1→3)-rhamnoside (83)genkwanin 4'-glucosyl-(1→3)-rhamnoside (84)acacetin 7-glucosyl-rhamnoside (75)vicenin-2 (85)luteolin 6,8-di-C-glucoside (lucenin-2)	Iwashina et al, 1990; Iwashina et al, 1993; Umikalsom et al, 1994 Iwashina & Matsumoto, 1994; Matsumoto et al., 2003; Iwashina et al, 2010;
<i>A. viviparum</i> (L.f.) C. Presl.	(86)luteolin 6,8-di-C-rhamnoside	Imperato, 1992; Imperato, 1993
<i>A. oligophlebium</i> Baker	(83)genkwanin 4'-glucosyl-(1→3)-rhamnoside (75)vicenin-2	Iwashina et al., 1990; Iwashina and Matsumoto, 1994
<i>A. shimurae</i> Nakaike	(87)apigenin7-glucosyl-rhamnoside (88)luteolin 7- glucosylrhamnoside (75)vicenin-2	Iwashina et al., 1990; Iwashina & Matsumoto, 1994



	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆	R₇
73	H	Glu	H	H	H	H	H
74	H	H	Rha	H	H	Rha	H
75	H	Glu	H	Glu	H	H	H
78	H	Rha	rhamnosyl (1→3)- rhamnoside	H	H	H	H
79	H	H	rhamnosyl (1→4)- rhamnoside	H	H	H	H
80	H	H	Rha	H	H	glucosyl-(1→3)- rhamnoside	H
81	H	H	rhamnosyl-(1→4)- rhamnoside	H	H	Rha	H
82	H	H	rhamnosyl-(1→3)- rhamnoside	H	OH	H	H
83	H	H	CH ₃	H	H	glucosyl-(1→3)- rhamnoside	H
84	H	H	Glucosyl- rhamnoside	H	H	CH ₃	H
85	H	Glu	H	Glu	OH	H	H
86	H	Rha	H	Rha	OH	H	H
87	H	H	Glucosyl- rhamnoside	H	H	H	H
88	H	H	Glucosyl- rhamnoside	H	OH	H	H

iii) Φλαβανόνες

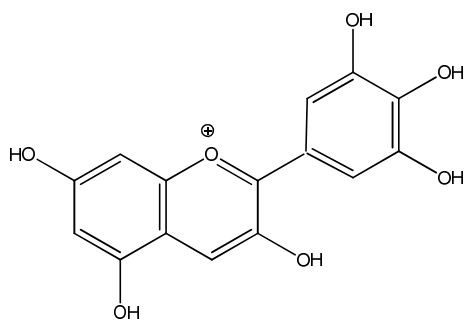
<i>A. ceterach</i> L.	(89) naringenin 7-neohesperidoside (90) naringenin 7-arabinosyl-(1→6)- glucoside	Imperato, 1981; Imperato, 1983b
-----------------------	--	------------------------------------



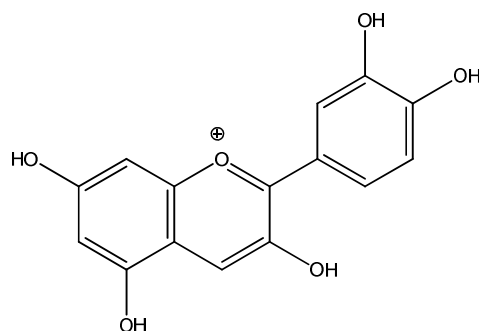
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
89	H	H	neohesperidoside	H	H	H	H
90	H	H	arabinosyl-(1→6)-glucoside	H	H	H	H

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Παράγωγα ανθοκυανιδινών στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. amboinense</i> Willd.	(91)delphinidin (92)cyanidin	Voirin, 1970
<i>A. adiantum-nigrum</i> L.	(91)delphinidin (92)cyanidin	Voirin, 1970



(91)

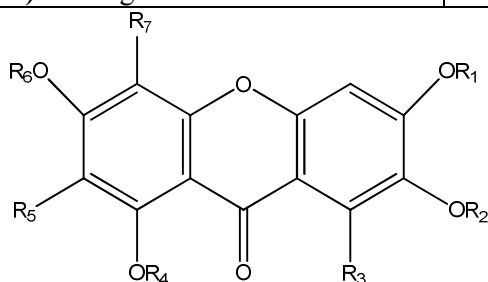


(92)

ΠΙΝΑΚΑΣ6: Παράγωγα ξανθονών στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. adiantum-nigrum</i> L.	(93)mangiferin (94)isomangiferin (95)mangiferin X''-glucoside (96)mangiferin X''-rhamnoside Δεν προσδιορίζεται η θέση του υδροξυλίου πρόσδεσης του σακχάρου	Imperato,1980b; Imperato, 1980c; Liburnau, 1982; Imperato,1991; Richardson & Lorenz-Umikalsom et al., 1994
------------------------------	---	--

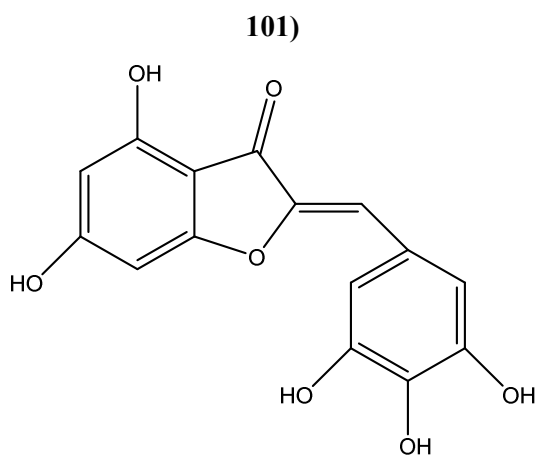
	(θέσεις R_1 ή R_2) (97)1,3,7,8-tetrahydroxyxanthone 1-O-cellobioside (98)1,3,7,8- tetrahydroxy-xanthone 1-O-laminaribioside (99)1-hydroxy-3,6,7-trimethoxyxanthone 2,4-di-C-glucoside	
<i>A. balearicum</i> Shivas	(93)mangiferin (94) isomangiferin	Richardson & Lorenz-Liburnau, 1982;
<i>A. bradley</i> D.C.Eaton	(93)mangiferin (94)isomangiferin	Smith & Harborne, 1971
<i>A. contiguum</i> Kaulf.	(93)mangiferin (94)isomangiferin (95)mangiferin X''-glucoside (100)mangiferin X''-acetate <i>Δεν προσδιορίζεται η θέση του υδροξυλίου πρόσδεσης του σακχάρου (θέσεις R_1 ή R_2)</i>	Iwashina & Matsumoto, 2011
<i>A. montanum</i> Willd.	(93)mangiferin (94)isomangiferin	Smith & Harborne, 1971
<i>A. pinnatifidum</i> Nutt.	(93)mangiferin (94)isomangiferin	Smith & Harborne, 1971
<i>A. stotleri</i> Wherry	(93)mangiferin (94)isomangiferin	Smith & Harborne, 1971



	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7
93	H	H	H	H	Glu	H	H
94	H	H	H	H	H	H	Glu
97	Cellobiose[β -glu(1 $\rightarrow$ 4) β -glu]	H	OH	H	H	H	H
98	Laminariobiose[β -glu(1 $\rightarrow$ 3) β -glu]	H	OH	H	H	H	H
99	Me	Me	H	H	Glu	Me	Glu

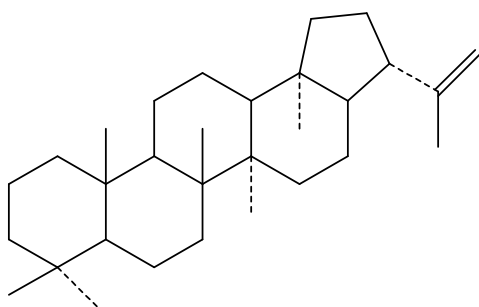
ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Αουρόνες στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. kaulfussii</i> Schltdl.	(101) bracteatin	Imperato, 1989a
-------------------------------	------------------	-----------------

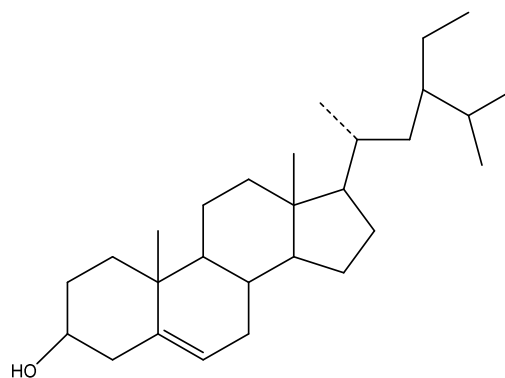


ΠΙΝΑΚΑΣ 8: Τερπένια στο γένος *Asplenium* L.

<i>A. ruta-muraria</i> L.	(102) diploptene (103) β-sitosterol	Fan et al., 2012
---------------------------	--	------------------



(102)



(103)

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1.1.ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

α. Χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας

- Γέλη οξειδίου του πυριτίου με δείκτη φθορισμού σε φύλλα αλουμινίου 20 x 20 cm. (Kieselgel F₂₅₄, Merck, Art. 5554) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως με δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 5 x 10 cm (Kieselgel F₂₅₄, Merck, Art. 15685) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Μικροκρυσταλλική κυτταρίνη χωρίς δείκτη φθορισμού σε φύλλα αλουμινίου 20 x 20 cm. (Merck, Art. 5552) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Μικροκρυσταλλική κυτταρίνη χωρίς δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 20 x 20 cm. (Merck, Art.5716) (παρασκευαστική χρωματογραφία).
- Γέλη οξειδίου του πυριτίου χωρίς δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 20 x 20 cm. (Merck, Art.5721) (παρασκευαστική χρωματογραφία).

β. Χρωματογραφία στήλης

- Γέλη οξειδίου του πυριτίου 60, 230-400 mesh ASTM, για χρωματογραφία στήλης (SDS 2050044).
- Sephadex LH-20, γέλη υδροξυπροπυλιωμένης δεξτράνης (Pharmacia Fine Chemicals). Μέγεθος κόκκων: 25-100 μ. Πριν από τη χρήση αφήνεται να διογκωθεί με MeOH επί 24 ώρες. Ακολούθως, φέρεται στη στήλη και εκπλύνεται με τον ίδιο διαλύτη πέντε φορές (αντενδείκνυται η μηχανική και κυρίως η μαγνητική ανάδευση, διότι καταστρέφονται οι κόκκοι).
- Κυτταρίνη, Avicel (Merck, Art. 2330).

γ. Υγρή Χρωματογραφία Μέσης Απόδοσης (MPLC)

Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας μέσης απόδοσης (Medium Performance Liquid Chromatography) σε σύστημα Büchi C-615&αντλία Büchi 688.

- Στήλη γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (Büchi Borosilikat 3.3, CodeNo. 17981) (41.0cm x 4.0 cm). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν μίγματα H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας και MeOH:EtOAc, με ταχύτητα ροής: 10.0 ml/min.

δ. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) (Hostettmann et al., 1998). Χρωματογράφος με ανιχνευτή διαθλασιμέτρου: RID Shimadzu 10A. Στήλη αντιστροφής φάσης (reversed phase): Kromasil C18 Semi-prep (250 x 10 mm). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν τα ενδεικνυόμενα μίγματα διαλυτών ανάλογα με την πολυπλοκότητα και την πολικότητα εκάστου δείγματος, όπως περιγράφονται κατωτέρω στην πορεία απομόνωσης. Ταχύτητα ροής: 1.0 ml/min. Περιεκτικότητα των προς μελέτη κλασμάτων: 3.5-7.0 mg/ml.

ε. Αέριος χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματογραφία μάζας (GC-MS):

Χρησιμοποιήθηκε σύστημα Hewlett Packard 5973-6890 και η μέθοδος παραγωγής ιόντων ήταν ιονισμός με ηλεκτρόνια (70 eV). Τα δείγματα αναλύθηκαν σε άπολη στήλη HP-5MS (30 m x 0.25 mm (i.d.), film thickness: 0.25 μm). Θερμικό πρόγραμμα: από τους 60°C (5 min) μέχρι τους 280°C, με ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας 4°C/min. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το αδρανές αέριο ήλιο (1.0 ml/min).

Χρωματογραφικά αντιδραστήρια

Τα χρωματογραφήματα παρατηρούνται κατ' αρχήν στο υπεριώδες φως (254nm, 366nm). Για την εμφάνισή τους χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

- για τα φλαβονοειδή:

β-αμινοαιθυλεστέρας του διφαινυλοβορικού οξέος: διάλυμα 1% σε μεθανόλη (αντιδραστήριο Neu) (Neu, 1957).

Τα παράγωγα της καιμπερόλης εμφανίζουν κιτρινοπράσινο φθορισμό και της κερκετίνης έντονο πορτοκαλοκίτρινο.

- για τις υπόλοιπες κατηγορίες συστατικών χρησιμοποιήθηκε το αντιδραστήριο βανιλίνης (Stahl, 1969):

Διάλυμα Α: βανιλίνη (Merck, Art. No. S26047 841) 5% σε μεθανόλη

Διάλυμα Β: π. H₂SO₄ 5% σε μεθανόλη

Ίσοι όγκοι αναμιγνύονται αμέσως πριν τον ψεκασμό και το χρωματογράφημα θερμαίνεται για 5 min στους 105⁰ C.

B.1.2. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

α. Φασματοσκοπία Υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) (Mabry et al., 1970, Markham, 1981). Τα φάσματα υπεριώδους-ορατού ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-160 A.

β. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Για την λήψη των φασμάτων Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι φασματογράφοι:

- Φασματογράφος Bruker AC 200 (200.13 MHz για ^1H -NMR και 50.3 MHz για ^{13}C -NMR)
- Φασματογράφος Bruker DRX 400 (399.95 MHz για ^1H -NMR).

Τα φάσματα ελήφθησαν με τους ακόλουθους διαλύτες: CDCl_3 δίχως εσωτερικό πρότυπο, λαμβάνοντας το σήμα του διαλύτη ως αναφορά (7.24 ppm για ^1H -NMR και 77.0 ppm για ^{13}C -NMR) και CD_3OD (3.31 ppm για ^1H -NMR και 49.0 ppm για ^{13}C -NMR).

Οι χημικές μετατοπίσεις εκφράζονται σε δ (ppm) και οι σταθερές σύζευξης (J) σε Hertz (Hz). Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες τεχνικές:

DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfer) για τον προσδιορισμό της πολυπλοκότητας των σημάτων στα φάσματα ^{13}C -NMR.

COSY (COrrrelation SpectroscopY).

HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation).

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY).

ROESY (Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY).

γ. Ειδική γωνία στροφής $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$

Πολωσίμετρο Perkin-Elmer Polarimeter 341. Κυψελίδα μήκους 10 cm. Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των ουσιών σε CH_3OH (g/100 ml) (Lab-Scan Code no. A3505E).

B.1.3.ΔΙΑΛΥΤΕΣ

Η χρήση των διαλυτών έγινε κατόπιν αποστάξεως με εξαίρεση τη μεθανόλη (Lab-Scan, ref. A3509E). Για την HPLC χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι διαλύτες: μεθανόλη, οξικό οξύ, νερό. Πριν χρησιμοποιηθούν οι διαλύτες στην HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν.

B.2. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΟΓΗΣ

Το φυτό συλλέχθηκε τον Ιούνιο του 2013 στο χωριό Μηλιές (Πήλιο), σε υψόμετρο περίπου 230 μέτρων.

Η δρόγη (850 g) εκχυλίσθηκε διαδοχικά με κυκλοεξάνιο, διχλωρομεθάνιο, μεθανόλη. Το μεθανολικό υπόλειμμα υποβλήθηκε στη μέθοδο Charaux-Paris (Paris & Nothis, 1970). Στο υπόλειμμα προστέθηκε ζέον νερό 250 ml και αμέσως έγινε διήθηση από βύσμα βάμβακα. Το υδατικό διάλυμα μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη, όπου εκχυλίστηκε διαδοχικά με οξικό αιθυλεστέρα και βουτανόλη (κεκορεσμένα ήδη με H₂O).

Παραλήφθηκαν τα εξής υπολείμματα:

ASPEt: υπόλειμμα 12.1g από την εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα

ASPB: υπόλειμμα 33.8 g από την εκχύλιση με βουτανόλη

ASPW: υδατικό υπόλειμμα, 152.9 g

B.3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ

B.3.1. ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΟΞΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ [ASPEt]

Μέρος από το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα (1.5 g) υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0cm) με βαθμιδωτή έκλουση με μίγμα διαλυτών EtOAc:MeOH, αυξανόμενης πολικότητας.

Κλάσματα	H ₂ O	MeOH	EtOAc
1→14	-	60	40
15→26	-	80	20
27→32	-	100	-
33→35	30	70	-
36→38	50	50	-
39→40	-	100	-

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου (Merck, Art. 5554), με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O (7:3:0.3), και με αναλυτική

χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης (Merck, Art. 5552), με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης CH_3COOH 30% ($\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O}$ 30:70) πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις:

ASPEt-A (1→6), ASPEt-B (7&8), ASPEt-C(9→11), ASPEt-D (12→14), ASPEt-E (15→18), ASPEt-F (19→40). Τα κλάσματα ASPEt-A&ASPEt-B συνενώθηκαν στο ASPEt-A'.

I. ΚΛΑΣΜΑ ASPEt-C (108.2 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (10.0 cm x 3.0 cm) με υλικό πληρώσεως κυτταρίνη, και ισοκρατική έκλουση με οξικό οξύ 15% ($\text{CH}_3\text{COOH}:\text{H}_2\text{O}$ 15:85). Ελήφθησαν συνολικά 89 κλάσματα μέσου όγκου 20ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης και με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης οξικό οξύ 15% ($\text{CH}_3\text{COOH}:\text{H}_2\text{O}$ 15:85), τα κλάσματα της χρωματογραφίας συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδες	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→2	ASPEt-CA	4.8
3→4	ASPEt-CB	3.2
5→8	ASPEt-CC	11.3
9→10	ASPEt-CD	5.9
11→12	ASPEt-CE	4.5
13→15	ASPEt-CF	8.3
16→22	ASPEt-CG	14.5
23→24	ASPEt-CH	3.7
25→26	ASPEt-CI	2.5
27→29	ASPEt-CJ	3.0
30→39	ASPEt-CK	3.9
40→49	ASPEt-CL	6.1
50→54	ASPEt-CM	6.2
55→56	ASPEt-CN	1.9
57→67	ASPEt-CO	6.7
68→70	ASPEt-CP	3.7
71→72	ASPEt-CQ	2.2
73→74	ASPEt-CR	2.1
75→79	ASPEt-CS	5.8
80→89	ASPEt-CT	9.9

❖ ΟΜΑΔΑ **ASPEt-CG** (14.5 mg)

Υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC), με διαλύτη έκλουσης το ισοκρατικό μίγμα MeOH:CH₃COOH 5% σε αναλογία 6:4. Διάλυμα συγκέντρωσης 5mg/ml. Ροή 1ml/min. Προέκυψαν τα ακόλουθα κλάσματα: ASPEt-CG1 (0.5 mg), ASPEt-CG2 (0.5 mg), ASPEt-CG3 (0.4 mg), ASPEt-CG4 (0.1 mg), ASPEt-CG5 (0.2 mg), ASPEt-CG6 (0.4 mg), **ASPEt-CG7**(1.1 mg), **ASPEt-CG8**(1.7 mg), ASPEt-CG9 (0.3 mg), ASPEt-CG10 (0.8 mg), ASPEt-CG11 (0.6 mg), ASPEt-CG12 (0.1 mg), ASPEt-CG13 (1.5 mg), ASPEt-CG14 (0.9mg), ASPEt-CG15 (1.5mg).

✓ Τα κλάσματα **ASPEt-CG7** και **ASPEt-CG8** ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο, ταυτοποιήθηκαν ως **E-καφεϊκόξύ** (ουσία 4).

II. ΚΛΑΣΜΑ **ASPEt-A'** (300.0 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (10.0 cm x 3.0cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγμα διαλυτών DM:EtOH:MeOH, αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν συνολικά 50 κλάσματα μέσου όγκου 10ml.

Κλάσματα	DM	EtOAc	MeOH
1	100	-	-
2→6	95	5	-
7	90	10	-
8	80	20	-
9→11	70	30	-
12→14	60	40	-
15	50	50	-
16	40	60	-
17	30	70	-
18	20	80	-
19	10	90	-
20	-	100	-
21	-	90	10
22→24	-	80	20
25→27	-	70	30
28→32	-	60	40
33→35	-	50	50
36→38	-	40	60
39→41	-	30	70
42→44	-	20	80
45→46	-	10	90

47→50	-	-	100
-------	---	---	-----

Κατόπιν ελέγχουμε αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O (7:3:0.3) πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις:

Ομάδες	Κωδικός
1	ASPB E t-A'Α
2→6	ASPB E t-A'Β
7	ASPB E t-A'Γ
8	ASPB E t-A'Δ
9→11	ASPB E t-A'Ε
12→14	ASPB E t-A'Φ
15	ASPB E t-A'Γ
16	ASPB E t-A'Η
17	ASPB E t-A'Ι
18	ASPB E t-A'Ι
19	ASPB E t-A'Κ
20	ASPB E t-A'Λ
21	ASPB E t-A'Μ
22→24	ASPB E t-A'Ν
25→27	ASPB E t-A'Ο
28→32	ASPB E t-A'Ρ
33→35	ASPB E t-A'Q
36→38	ASPB E t-A'Ρ
39→41	ASPBEt-A'S
42→44	ASPB E t-A'T
45→46	ASPB E t-A'Υ
47→50	ASPB E t-A'V

- ✓ Η ομάδα **ASPB~~E~~t-A'S** ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο ταυτοποιήθηκε ως **χλωρογενικό οξύ (ουσία 5)**.

B.3. 2. ΒΟΥΤΑΝΟΛΙΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ [ASPΒ]

Μέρος από το βουτανολικό εκχύλισμα (20 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης απόδοσης σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 x 4.0 cm) με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας και EtOAc με ροή 10ml/min. Συλλέχθηκαν συνολικά 7 κλάσματα μέσου όγκου 500 ml.

Κλάσματα	H ₂ O	MeOH	EtOAc
1	100	-	-
2	90	10	-
3	50	50	-
4	20	80	-
5	-	100	-
6	-	100	-
7	-	-	100

Κατόπιν συμπύκνωσης και ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας προέκυψαν τα εξής κλάσματα:

ASPΒ-A (1, 8.44 g), **ASPΒ-B** (2, 3.28g), **ASPΒ-C** (3, 5.07g), **ASPΒ-D** (4, 1.7 g),
ASPΒ-E (5, 369.2 mg), ASPΒ-F (6, 77.9 mg), ASPΒ-G (7, 311.2 mg).

I. ΚΛΑΣΜΑ **ASPΒ-C** (5.0g)

Το κλάσμα ASPΒ-C υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης απόδοσης σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 cm x 4.0 cm) με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας και με ροή 10.0 ml/min.

Συλλέχθηκαν συνολικά 6 κλάσματα μέσου όγκου 500ml.

Κλάσματα	H ₂ O	MeOH
1	100	-
2	90	10
3	80	20
4	70	30
5	50	50
6	-	100

Κατόπιν συμπύκνωσης και ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας προέκυψαν τα εξής κλάσματα: ASPB-CA (1, 67.7 mg), ASPB-CB (2, 256.7 mg), **ASPB-CC** (3, 620.6 mg), **ASPB-CD** (4, 1.51 g), **ASPB-CE** (5, 1.64 g), ASPB-CF (6, 166.6 mg).

❖ **ΚΛΑΣΜΑ ASPB-CD (1.51 g)**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (7.5 cm x 4.5 cm) επί γέλης πυριτίου. Κατόπιν συμπύκνωσης και ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας προέκυψαν τα εξής κλάσματα:

ASPB-CDA (1, 7.6 mg), ASPB-CDB (2, 11.1 mg), **ASPB-CDC** (3, 40.0 mg),
ASPB-CDD (4, 154.4 mg), **ASPB-CDE** (5, 526.9 mg), **ASPB-CDF** (6, 227.2 mg),
ASPB-CDG (7, 116.0 mg).

Ακολούθησε χρωματογραφικός έλεγχος με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης οξειδίου του πυριτίου και μίγμα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O 7:3:0.3. Επιλέγησαν προς μελέτη οι ακόλουθες ομάδες:

ΟΜΑΔΑ ASPB-CDE (526.9 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0cm) με ισοκρατική έκλουση με το μίγμα διαλυτών MeOH:EtOAc 80:20. Ελήφθησαν 75 κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γελής πυριτίου (Merck, Art. 5554) συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

ASPB-CDEA(1→13), ASPB-CDEB (14→16), ASPB-CDEC (17→21), ASPB-CDEE' (22→34), ASPB-CDEH (35→36), **ASPB-CDEI** (37→40), **ASPB-CDEJ** (41→43), ASPB-CDEK (44→45), ASPB-CDEL (46→48), **ASPB-CDEM** (49), ASPB-CDEM' (50→54), ASPB-CDEN (55→59), ASPB-CDEO (60→63), ASPB-CDEP (64→68), ASPB-CDEQ (69→75).

Ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο ταυτοποιήθηκαν τα ακόλουθα:

- ✓ το κλάσμα **ASPB-CDEJ** ως **3-(1-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-4-υδροξυφαινυλο)-προπιονικό οξύ** (ουσία **8**).
- ✓ το κλάσμα **ASPB-CDEM** ως **κερκετινο-3-O-β-γλυκουρονίδιο** (ουσία **2**).
- ✓ το κλάσμα **ASPB-CDEI** ως **π-κουμαροϋλο 4-O-β-D-γλυκοσίδης** (ουσία **6**).

ΟΜΑΔΑ ASPB-CDF (227.2mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x3.0 cm) με ισοκρατική έκλουση με μίγμα διαλυτών MeOH:EtOAc 80:20. Ελήφθησαν 149 κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδες	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→11	ASPB-CDFA	22.4
12→30	ASPB-CDFB	13.5
31→32	ASPB-CDFC	10.4
33→35	ASPB-CDFD	23.0
36→59	ASPB-CDFE	18.4
60→63	ASPB-CDFF	12.7
64→70	ASPB-CDFG	7.5
71→77	ASPB-CDFH	9.8
78→84	ASPB-CDFI	2.8
85→91	ASPB-CDFJ	9.0
92→108	ASPB-CDFK	2.4
109→114	ASPB-CDFL	52.0
115→120	ASPB-CDFM	1.0
121→140	ASPB-CDFN	25.3
141→149	ASPB-CDFO	14.1

- ✓ Το κλάσμα **ASPB-CDFD**, ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο, ταυτοποιήθηκε ως **κερκετινο-3-O-γεντιοβιοσίδης** (ουσία **3**).

ΟΜΑΔΑ ASPB-CDC (40.0 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0cm) με ισοκρατική έκλουση με μίγμα διαλυτών MeOH:EtOAc 80:20. Ελήφθησαν 31κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδες	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→8	ASPB-CDCA	15.0
9→12	ASPB-CDCB	4.9
13→15	ASPB-CDCC	10.0
16→22	ASPB-CDCD	2.3
23→24	ASPB-CDCE	5.0
25→28	ASPB-CDCF	1.9
29→31	ASPB-CDCG	0.6

Το κλάσμα **ASPB-CDCA** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας γέλης οξειδίου του πυριτίου με σύστημα ανάπτυξης το εξής μίγμα διαλυτών DM:MeOH8:2. Προέκυψαν οι παρακάτω 3 ζώνες:

ASPB-CDCA₁ (R_f 0.4), **ASPB-CDCA₂** (R_f 0.6), **ASPB-CDCA₃** (R_f 0.9).

Έγινε απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης και εκχύλιση με μεθανόλη και συμπύκνωση.

✓ Η ζώνη **ASPB-CDCA₁** ταυτοποιήθηκε μέσω φασματοσκοπικού ελέγχου ως **4-βινυλο-φαινυλο-1-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης** (ουσία 7).

❖ ΚΛΑΣΜΑ **ASPB-CE** (1.64g)

Υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης απόδοσης σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 x 4.0 cm) με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας και ροή 10 ml/min. Συλλέχθηκαν συνολικά 5 κλάσματα μέσου όγκου 500ml.

Κλάσματα	H ₂ O	MeOH
1	100	-
2	90	10
3	50	50
4	20	80
5	-	100

Κατόπιν συμπύκνωσης και ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας προέκυψαν τα εξής κλάσματα: **ASPB-CEA** (36.9mg), **ASPB-CEB** (8.6 mg), **ASPB-CEC**(710.2 mg),**ASPB-CED** (66.1 mg), **ASPB-CEE** (210.4 mg).

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CEC** (710.2 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (7.5 cm x 4.5 cm) επί γέλης πυριτίου. Κατόπιν συμπύκνωσης και ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας προέκυψαν τα εξή ζκλάσματα: **ASPB-CECA** (1, 20.1mg), **ASPB-CECB** (2, 30.6mg), **ASPB-CECC** (3, 10.3mg), **ASPB-CECD** (4, 364.7mg), **ASPB-CECE** (5, 69.1mg), **ASPB-CECF** (6, 50.5 mg), **ASPB-CECG**(7, 142.1mg).

Ακολούθησε χρωματογραφικός έλεγχος, με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης οξειδίου του πυριτίου και μίγμα διαλυτών ανάπτυξης DM:MEOH:H₂O (7:3:0.3). Μελετήθηκαν οι ακόλουθες ομάδες:

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CECD** (364.7mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0cm) με ισοκρατική έκλουση με μίγμα διαλυτών MeOH:EtOAc 80:20. Ελήφθησαν 107κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης οξειδίου του πυριτίου συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

ASPB-CECDA (1→21), **ASPB-CECDB** (22→25), **ASPB-CECDC** (26→36), **ASPB-CECDD** (37→43), **ASPB-CECDE** (44→53), **ASPB-CECDF** (54→57), **ASPB-CECDG** (58→60), **ASPB-CECDH** (61→64), **ASPB-CECDI** (65→69), **ASPB-CECDJ** (70→76), **ASPB-CECDK** (77→83), **ASPB-CECDL** (84→93), **ASPB-CECDM** (94→107).

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CECDC** (115.0mg)

Η ομάδα αυτή, σε διάλυμα συγκέντρωσης 5 mg/ml, υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με ανιχνευτή διαθλασίμετρο, με διαλύτη έκλουσης το ισοκρατικό μίγμα μεθανόλης:οξικού οξέος 5% (MeOH:CH₃COOH 5%) σε αναλογία 4:6. Ροή 1 ml/min. Προέκυψαν τα ακόλουθα εκλούσματα:

ASPB-CECDC₁, **ASPB-CECDC₂**, **ASPB-CECDC₃**, **ASPB-CECDC₄**, **ASPB-CECDC₅**, **ASPB-CECDC₆**, **ASPB-CECDC₇**, **ASPB-CECDC₈**.

✓ Το κλάσμα **ASPB-CECDC₇** ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο ταυτοποιήθηκε ως **καιμπφερολο-3-O-γεντιοβιοσίδης** (ουσία 1).

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CECDI'** (241.6 mg)

Τα κλάσματα **ASPB-CECDD** έως **ASPB-CECDI** συνενώθηκαν στην ομάδα **ASPB-CECDI'** και υποβλήθηκαν σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0 cm) με MeOH:H₂O 70:30 (ισοκρατική έκλουση). Ελήφθησαν 29 κλάσματα, μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδες	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→9	ASPB-CECDI' A	15.0
10→15	ASPB-CECDI' B	47.0
16→20	ASPB-CECDI' C	75.6
21→25	ASPB-CECDI' D	48.2
26→29	ASPB-CECDI' E	42.8

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CECDI' E** (42.8 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (6.0 cm x 2.2 cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών DM:MeOH:H₂O. Ελήφθησαν συνολικά 20 κλάσματα μέσου όγκου 10ml.

Κλάσματα	DM	MeOH	H ₂ O
1→3	90	10	1
4→5	80	20	2
6→7	75	25	2.5
8→9	70	30	3
10→11	65	35	3.5
12→13	60	40	4
14→15	50	50	5
16→17	40	60	6
17→20	-	100	-

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας γέλης πυριτίου, με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O 7:3:0.3, πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις: **ASPB-CECDI' EA** (1→4, 6.0 mg), **ASPB-CECDI' EB** (5→11, 20.5 mg), **ASPB-CECDI' EC** (12→20, 11.2 mg).

ΟΜΑΔΑ **ASPB-CECDI'EB** (20.5 mg)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξης το εξής μίγμα διαλυτών: CH₃COOH:H₂O 15:85, οπότε προέκυψαν 4 ζώνες. Ύστερα από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα εξής:

ASPB-CECDI'EB₁ (2.8 mg, R_f0.18), ASPB-CECDI'EB₂ (1.9 mg, R_f0.30), ASPB-CECDI'EB₃ (2.4mg, R_f0.41), **ASPB-CECDI'EB₄** (1.4 mg, R_f0.62).

✓ Η ζώνη **ASPB-CECDI'EB₄** ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο ταυτοποιήθηκε ως **καϊμπερολο-3-O- γεντιοβιοσίδης** (ουσία **1**).

❖ ΚΛΑΣΜΑ **ASPB-CC** (620mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x3.0 cm) με μίγμα διαλυτών MeOH: EtOAc 70:30 (ισοκρατική έκλυση). Ελήφθησαν 17 κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

ASPB-CCA (1→3), ASPB- CCB (4→6), ASPB- CCC (7→8), ASPB- CCD (9→11), ASPB- CCE (12→15), ASPB- CCF (16→17).

Από την χρωματογραφία αυτή, δεν απομονώθηκε κάποια καθαρή ουσία.

II. ΚΛΑΣΜΑ **ASPB-B** (3.28g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x 3.0cm) με ισοκρατική έκλυση με 100% MeOH. Ελήφθησαν 54 κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

ASPB-BA (1→5, 14.8 mg), ASPB- BB (6→7, 52.0 mg), ASPB-BC (8→11, 371.6 mg), ASPB- BD (12→13, 847.1 mg), **ASPB- BE**(14→17, 751.8 mg),

ASPB- BF (18→21, 48.2 mg), ASPB- BG (22→26, 31.7 mg),

ASPB- BH (27→32, 104.4 mg), ASPB-BI (33→35, 67.5 mg), ASPB- BJ (36→37, 64.7 mg), **ASPB- BK**(38→41, 15.5 mg), ASPB- BL (42→45, 8.9 mg),

ASPB- BM (46→49, 10.1 mg), ASPB-BN (50→54, 7.2 mg).

Ύστερα από φασματοσκοπικό έλεγχο τα ακόλουθα κλάσματα ταυτοποιήθηκαν ως εξής:

✓ το κλάσμα **ASPB_BE** ως **4-β-O-D-γλυκοσυλο-3,4-δωδροξυβενζυλο-αλκοόλη** (ουσία **9**)

✓ το κλάσμα **ASPB_BK** ως **χλωρογενικό οξύ** (ουσία **5**)

III. ASPB-D (1.7g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.0 cm x3.0 cm) με ισοκρατική έκλουση με 100 % MeOH. Ελήφθησαν 71 κλάσματα μέσου όγκου 10.0 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Ομάδες	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→19	ASPB-DA	540
20→27	ASPB- DB	26.6
28→31	ASPB- DC	49.7
32→40	ASPB-DD	42.7
41→43	ASPB-DE	25.3
44→45	ASPB-DF	10.1
46→49	ASPB-DG	12.4
50→51	ASPB-DH	16.5
52→62	ASPB-DI	15.4
63→67	ASPB-DJ	10.8
68→71	ASPB-DK	26.4

ΟΜΑΔΑ ASPB-DE' (142.8 mg)

Τα κλάσματα ASPB-DB έως ASPB-DE συνενώθηκαν στην ομάδα ASPB-DE' και υποβλήθηκαν σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26 cm x 3 cm) με ισοκρατική έκλουση με μίγμα διαλυτών EtOAc :MeOH 20:80.

Προέκυψαν οι ακόλουθες ομάδες:

ASPB-DE'A (1→12, 13.5 mg), ASPB-DE'B (13→18, 14.8 mg),

ASPB-DE'C (19→26, 42.7 mg), ASPB-DE'D (27→30, 36.2 mg).

ΟΜΑΔΑ ASPB-DE'C' (56.6 mg)

Τα κλάσματα ASPB-DE'B έως ASPB-DE'C συνενώθηκαν στην ομάδα ASPB-DE'C' και υποβλήθηκαν σε χρωματογραφία στήλης (6.0 cm x 2.2 cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγμα διαλυτών DM:MeOH:H₂O. Ελήφθησαν συνολικά 13 κλάσματα, μέσου όγκου 10ml.

Κλάσματα	DM	MeOH	H ₂ O
1→2	90	10	1
3	85	15	1.5
4	80	20	2
5	70	30	3
6	65	35	3.5
7	60	40	4
8→9	50	50	5
10	40	60	6
11	30	70	7
12	20	80	8
13	-	100	-

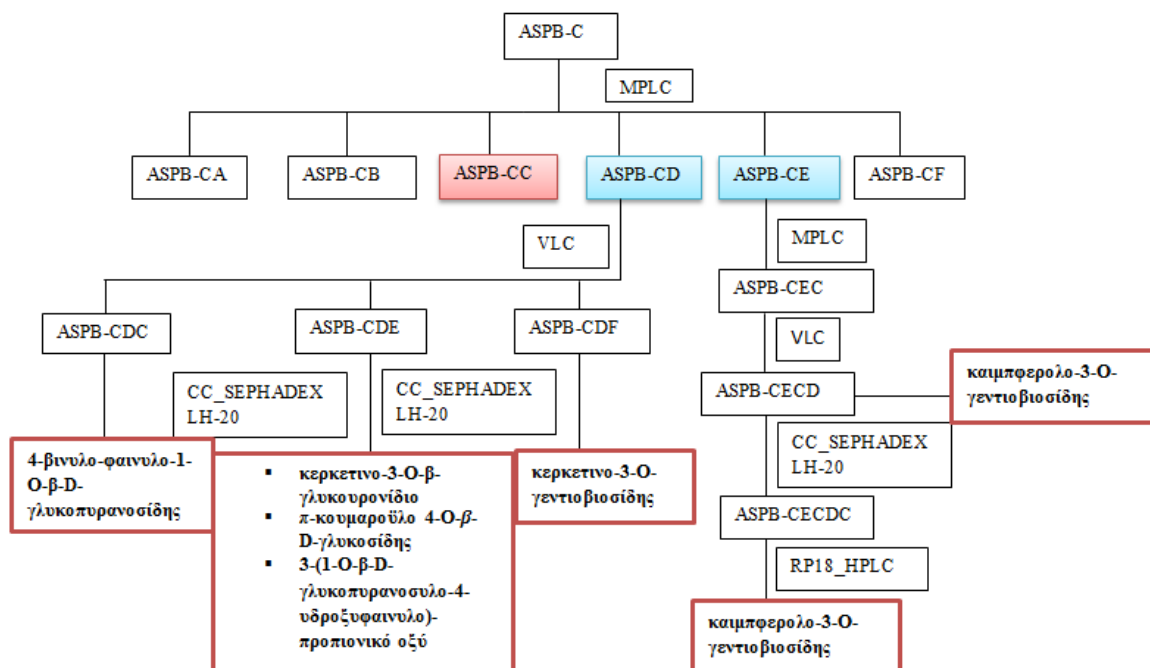
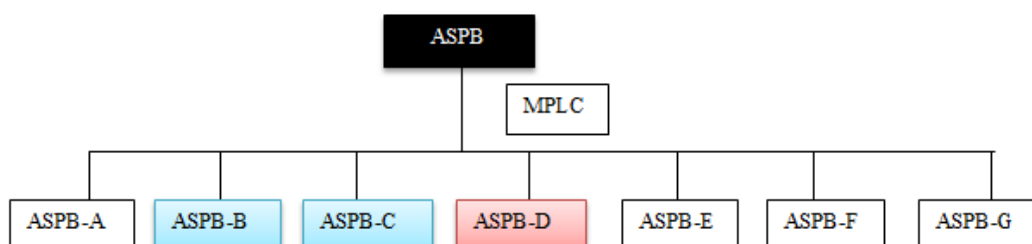
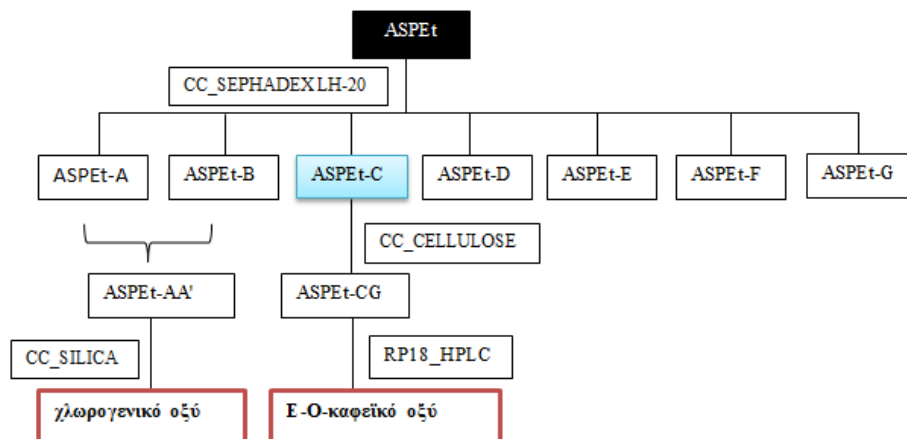
Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O (7:3:0.3), πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις: ASPB-DE'C'A (1→3), ASPB-DE'C'B (4), ASPB-DE'C'C (5→6), ASPB-DE'C'D (7→13). Από την χρωματογραφία αυτή, δεν απομονώθηκε κάποια καθαρή ουσία.

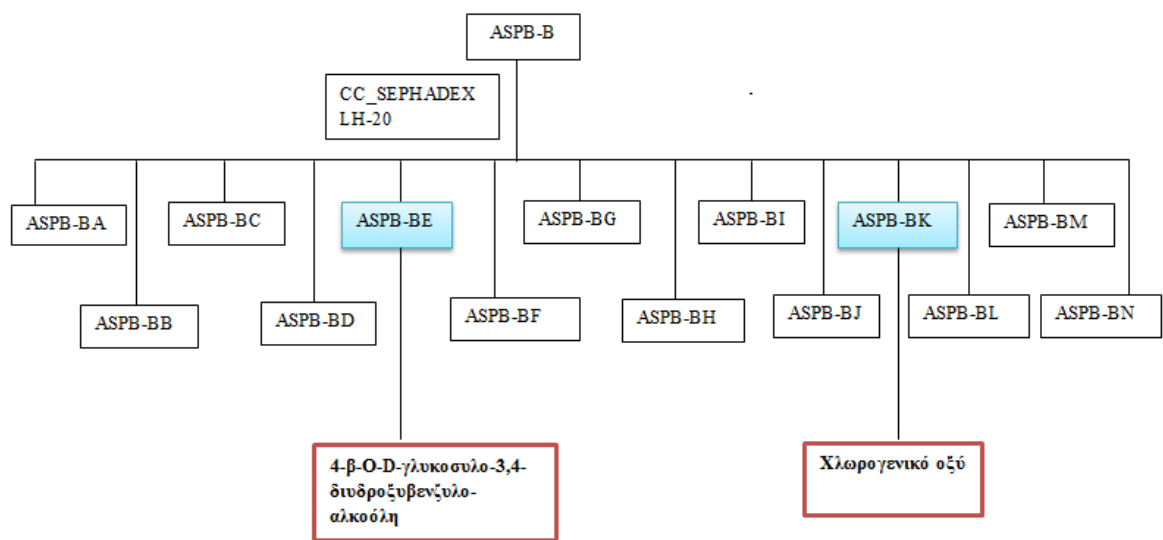
B.3.3. ΚΥΚΛΟΕΞΑΝΙΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ [ASP-Cyhex]

Μικρή ποσότητα από το κυκλοεξανικό εκχύλισμα της δρόγης (βλ. σελ. 26) ίση με 10 mg διαλύθηκε επαρκώς σε πεντάνιο (GC grade) και υποβλήθηκε σε αέριο υγρο-χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GC-MS).

Μετά την πλήρη απομάκρυνση του πεντανίου το υπόλειμμα υποβλήθηκε σε φασματοσκοπική εξέταση (¹H-NMR).

ΣΧΗΜΑΤΙΚΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ

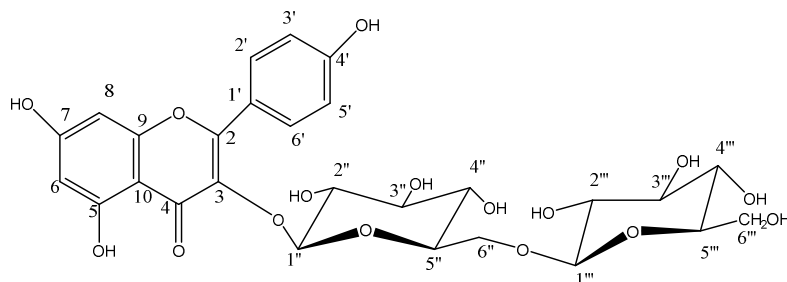




Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.Ι. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

**Γ.Ι.1. Ουσία 1:Καιμπφερολο-3-O-β-D-γλυκοκυρανοσυλο-(1→6)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης
(καιμπφερολο-3-O-γεντιοβιοσίδης)**



Η ουσία ανήκει στην κατηγορία των φλαβονοειδών, πιο συγκεκριμένα στις φλαβονόλες.

Απομονώθηκε ως υποκίτρινο υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Moroyama et al., 2001; Tanaka et al., 2001; Varghese et al., 2013; Kurkin&Shmygareva, 2014).

Έχει απομονωθεί από σχετικά λίγα φυτά, όπως *Cassia alata* (Apiaceae) και *Meconopsis grandis* (Papaveraceae) (Tanaka et al., 2001; Moriyama et al., 2003; Varghese et al., 2013) κ.ά.

Αναφέρεται ως χημειοταξονομικός δείκτης του γένους *Asplenium* L. (Iwashina et al., 2000), όμως σύμφωνα με τη βιβλιογραφία δεν έχει βρεθεί σε προγενέστερες μελέτες στο είδος *A. ceterach* (βλ.δρογοχημεία).Ορισμένες από τις βιολογικές δράσεις της ουσίας αυτής που έχουν αναφερθεί είναι η αντιφλεγμονώδης (Moriyama et al., 2003)και η αντιδιαβητική δράση (Varghese et al., 2013).

Στο υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία μετά την εμφάνιση με το αντιδραστήριο Neu παρουσιάζει στο υπεριώδες φως (λ 254 nm) κιτρινο-πράσινο φθορισμό.

$UV_{\lambda_{max}}$ (MeOH) nm: 266, 259 (sh), 295(sh), 352.

Από το φάσμα 1H -NMR παίρνουμε τις εξής πληροφορίες:

- Εντοπίζεται ένα AA'BB' σύστημα του δακτυλίου B του φλαβονοειδούς: τα πρωτόνια H-2' και H-6' συμπίπτουν σε δ_H 8.13 (d , $J=9.0\text{Hz}$) και τα πρωτόνια H-3' και H-5' συμπίπτουν σε δ_H 6.88 (d , $J=9.0\text{Hz}$). Σε δ_H 6.41(d , $J=2.1\text{Hz}$) και 6.20(d , $J=2.1\text{Hz}$) εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές με μικρές σταθερές σύζευξης, οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-6 του φλαβονοειδούς.

- Οι πολλαπλές κορυφές σε δ_H 3.85-3.02 υποδηλώνουν την παρουσία σακχάρου. Μάλιστα, οι δύο κορυφές σε δ_H 5.11(*d*, $J = 7.8\text{Hz}$) και δ_H 4.14(*d*, $J = 7.6\text{Hz}$) παραπέμπουν στην ύπαρξη δύο ανωμερικών πρωτονίων και επομένως σε κάποιο δισακχαρίτη, λαμβάνοντας υπ' όψιν τη θωράκιση του δεύτερου ανωμερικού πρωτονίου.
- Η απουσία σήματος υπό μορφή απλής κορυφής στην αρωματική περιοχή επιβεβαιώνει την απουσία H-3. Επιπλέον από τις τιμές δ_H των πρωτονίων του δακτυλίου A υπάρχει η ένδειξη ότι ο δισακχαρίτης είναι συνδεδεμένος στη θέση 3 του φλαβονοειδούς. Αν ήταν συνδεδεμένος στη θέση 7, τα σήματα των γειτονικών πρωτονίων H-6 και H-8 θα είχαν μετατοπιστεί προς χαμηλότερες τιμές πεδίου.

Στο φάσμα COSY της ουσίας παρατηρούνται τα εξής spin συστήματα:

- Τα πρωτόνια H-2' και H-6' (δ_H 8.13) με τα πρωτόνια H-3' και H-5' (δ_H 6.88)
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' (δ_H 5.11) του ενός σακχάρου με το γειτονικό H-2'' (δ_H 3.79) του ίδιου σακχάρου.
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1''' (δ_H 4.14) του άλλου σακχάρου με το γειτονικό H-2''' (δ_H 3.02) του ίδιου σακχάρου.

Στο φάσμα HSQC της ουσίας εμφανίζονται τα εξής σήματα ανθράκων:

- Το πρωτόνιο H-6 δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 100.2 (C-6)
- Το πρωτόνιο H-8 δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 94.5 (C-8)
- Τα πρωτόνια H-2', 6' σε δ_H 8.13 δίνουν ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 132.0 (C-2', 6')
- Τα πρωτόνια H-3', 5' σε δ_H 6.88 δίνουν ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 115.7 (C-3', 5')
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' (δ_H 5.11) του ενός σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 104.5 (C-1'')
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1''' (δ_H 4.14) του άλλου σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 103.9 (C-1''')
- Το πρωτόνιο H-2'' (δ_H 3.79) του ενός σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 70.2 (C-2'')
- Το πρωτόνιο H-2''' (δ_H 3.02) του ενός σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 74.6 (C-2''')
- Τα πρωτόνια H-6''a/ b (δ_H 3.85/3.79) του ενός σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 68.7 (C-6'')
- Τα πρωτόνια H-6'''a/ b (δ_H 3.76/3.67) του ενός σακχάρου δίνει ένα σήμα άνθρακα σε δ_C 62.5 (C-6''')

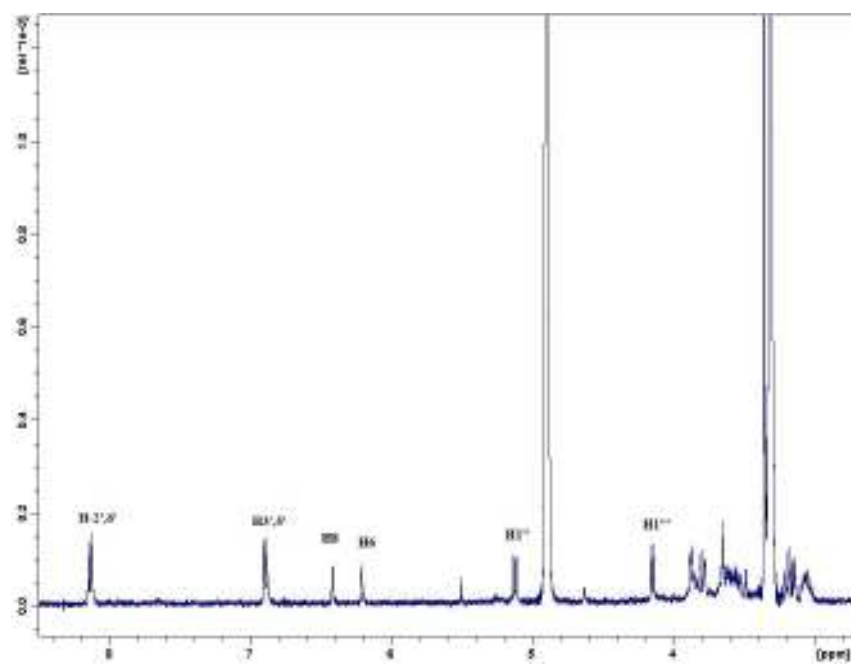
Από τα φάσματα HSQC και ^{13}C -NMR/DEPT εντοπίστηκαν τα σήματα δύο μεθυλενικών ανθράκων σε δ_{C} 68.7 (C-6'') και σε δ_{C} 62.5 (C-6'''). Η αποθωράκιση του άνθρακα C-6'' (δ_{C} 68.7) υποδηλώνει ότι η σύνδεση μεταξύ των δύο σακχάρων είναι 1→6.

Πίνακας 1: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας 1 (CD₃OD, 400 MHz)

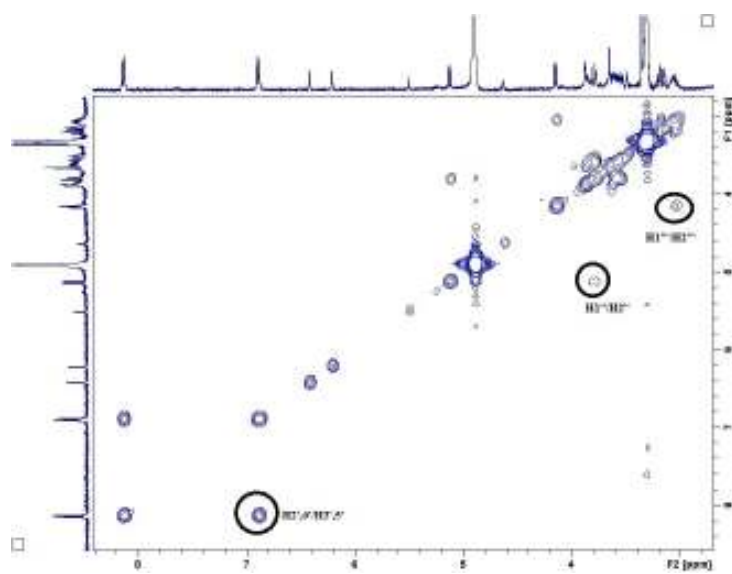
Θέση	δH (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)	Δc (ppm) [#]
6	6.20	d (2.1)	100.2
8	6.41	d (2.1)	94.5
2', 6'	8.13	d (9.0)	132.0
3', 5'	6.88	d (9.0)	115.7
γλυκόση			
1''	5.11	d (7.8)	104.5
2''	3.79	*	70.2
3''	*	*	*
4''	*	*	*
5''	*	*	*
6''a	3.85	*	68.7
6''b	3.79	*	
γλυκόση			
1'''	4.14	d (7.6)	103.9
2'''	3.02	*	74.6
3'''	*	*	*
4'''	*	*	*
5'''	*	*	*
6'''a	3.76	*	62.5
6'''b	3.67	*	

[#]Οι τιμές υπολογίστηκαν μέσω φασμάτων ^{13}C -NMR/DEPT, HSQC.

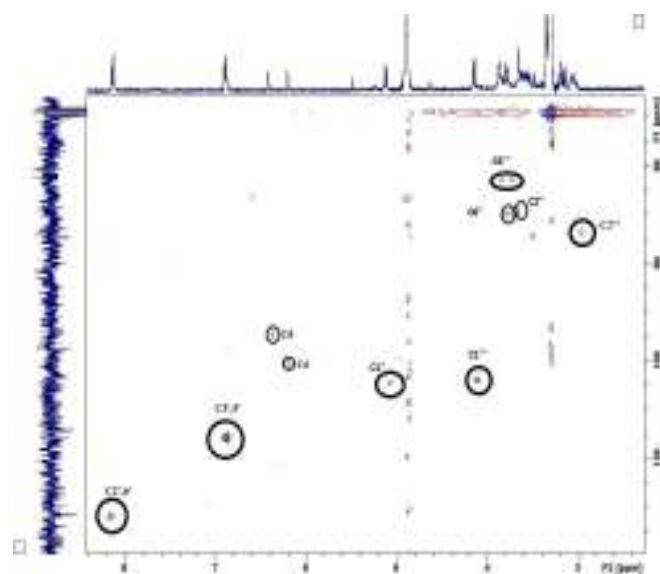
* επικαλυπτόμενα σήματα



Φάσμα ^1H -NMR της ουσίας **1**

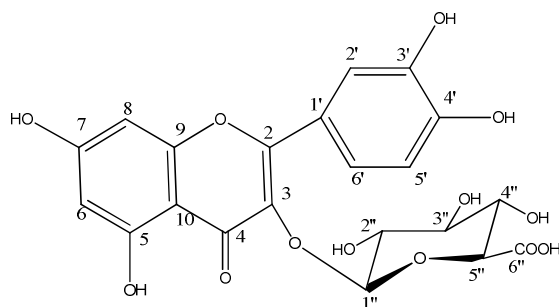


Φάσμα COSY της ουσίας **1**



Φάσμα HSQC της ουσίας **1**

Γ.Ι.2. Ουσία 2:Κερκετινο-3-O-β-γλυκουρονίδιο (μικελιανίνη ή κερκितουρόνη)



Η ουσία απομονώθηκε ως υποκίτρινο υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Mohle et al., 1984; Moon et al., 2001; Kim et al., 2009) ως κερκετινο-3-O-β-γλυκουρονίδιο, γνωστό και ως μικελιανίνη (miquelianin) ή κερκितουρόνη (querciturone).

Έχει απομονωθεί από πληθώρα φυτών, όπως *Aprocynum venetum* (Aprocynaceae) (Zhang et al., 2010), *Hypericum perforatum* (Hypericaceae) (Wei et al., 2009), αλλά και σε κατώτερα φυτά (φτέρες) όπως στα διάφορα είδη του γένους *Adiantum* (Adiantaceae) (Pan et al., 2011). Στα είδη του γένους *Asplenium* έχει απομονωθεί στα εξής: *A.ceterach* και *A.dalhousiae* (βλ.δρογοχημεία). Επιπλέον, έχουν αναφερθεί ποικίλες βιολογικές δράσεις της ουσίας αυτής, όπως αντιοξειδωτική (Shirai et al., 2001; Terao et al., 2001), αντιφλεγμονώδης (Fan et al., 2011) και αντιαλζχίμια δράση (Fan et al., 2011). Επίσης, έχει αναφερθεί ότι συμβάλλει αποτελεσματικά ενάντια στη νόσο Alzheimer μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως ότι προάγει τη πλαστικότητα των εγκεφαλικών νεύρων (Ho et al., 2012).

Στο υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία μετά την εμφάνιση με το αντιδραστήριο Neu παρουσιάζει στο υπεριώδες φως (λ 254 nm) κιτρινο-πορτοκαλόχροο φθορισμό.

UV_{λmax} (MeOH) nm: 255, 266 (sh), 286 (sh), 348

Από το φάσμα ¹H-NMR παίρνουμε τις εξής πληροφορίες:

- στην αρωματική περιοχή εντοπίζεται ένα σύστημα υποκατάστασης ABX, που υποδηλώνει την ύπαρξη υποκαταστατών στις θέσεις 3' και 4' του Β δακτυλίου: σε δ_H 7.98 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με μικρή σταθερά σύζευξης ($J = 2.1\text{Hz}$, μετα-σύζευξη), σε

δ_H 7.48 μία διπλώς διπλή κορυφή ($J = 8.4, 2.1\text{Hz}$, *ορθο- & μετα-σύζευξη*) και σε δ_H 6.86 μία διπλή κορυφή με μεγάλη σταθερά σύζευξης ($J = 8.4\text{Hz}$). Τα πρωτόνια του δακτυλίου Α εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές με μικρές σταθερές σύζευξης σε δ_H 6.35 ($J = 2.0\text{Hz}$) και 6.17 ($J = 2.0\text{Hz}$, *μετα-σύζευξη*).

- Σε χαμηλότερα πεδία παρατηρούνται τα σήματα του β-γλυκουρονιδίου: σε δ_H 5.39 (d , $J = 8.1\text{Hz}$) εντοπίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο και σε δ_H από 3.60 έως 3.47 οι υπόλοιπες κορυφές του γλυκουρονιδίου. Επισημαίνεται η απουσία των κορυφών, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια της θέσης 6 στην περίπτωση, που το σάκχαρο ήταν γλυκόση.

- Η απουσία σήματος υπό μορφή απλής κορυφής στην αρωματική περιοχή επιβεβαιώνει την απουσία H-3. Επιπλέον από τις τιμές δ_H των πρωτονίων του δακτυλίου Α υπάρχει η ένδειξη ότι το γλυκουρονίδιο είναι συνδεδεμένο στη θέση 3 του φλαβονοειδούς. Αν ήταν συνδεδεμένο στη θέση 7, τα σήματα των γειτονικών πρωτονίων H-6 και H-8 θα είχαν μετατοπιστεί προς χαμηλότερες τιμές πεδίου.

Από το φάσμα COSY της ουσίας παρατηρούνται τα εξής συστήματα spin:

- Το πρωτόνιο σε δ_H 7.48 (H-6') συζεύγνυται αφενός με το πρωτόνιο σε δ_H 6.86 (*ορθο-σύζευξη*, H-5') και αφετέρου με το πρωτόνιο σε δ_H 7.98 (*μετα-σύζευξη*, H-2').
- Μεταξύ του ανωμερικού πρωτονίου H1'' του γλυκουρονιδίου με το γειτονικό του πρωτόνιο H2''.

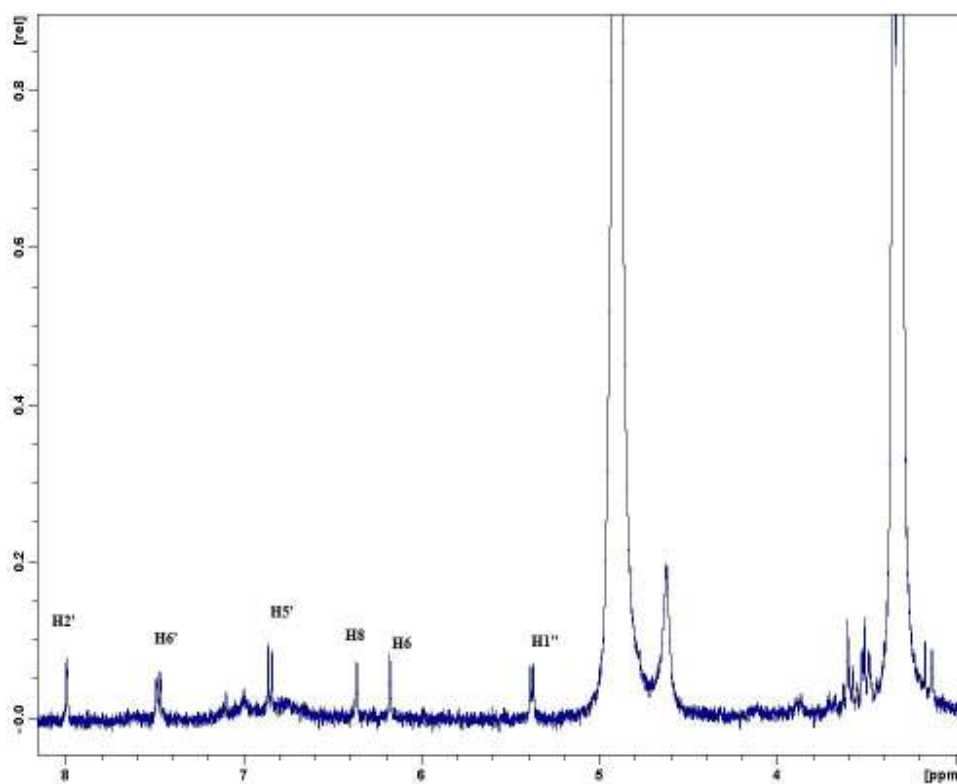
Από το φάσμα HSQC της ουσίας προσδιορίστηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονιωμένων ανθράκων (βλ. πίνακα).

Από το φάσμα HSQC επιβεβαιώνεται η απουσία των κορυφών, που αντιστοιχούν στον άνθρακα της θέσης 6 στην περίπτωση που το σάκχαρο ήταν γλυκόση.

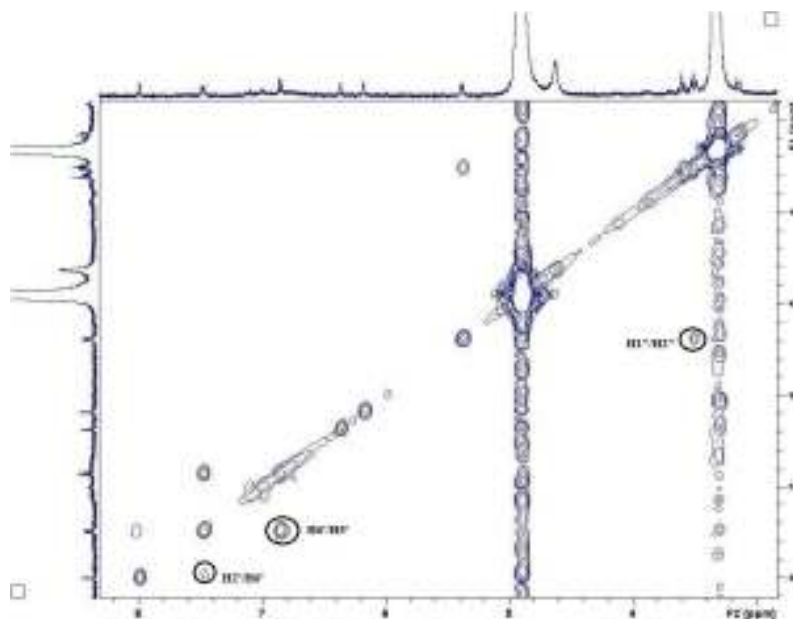
ΠΙΝΑΚΑΣ 2:Φασματοσκοπικά δεδομένα ουσίας **2** (CD₃OD, 400 MHz)

Θέση	δH (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)	Δc (ppm)
6	6.17	d (2.0)	99.7
8	6.35	d (2.0)	94.9
2'	7.98	d (2.1)	117.9
5'	6.86	d (8.4)	116.2
6'	7.48	dd (2.1, 8.4)	123.3
γλυκουρονίδιο			
1''	5.39	d (8.1)	103.4
2''	3.50	*	75.8
3''	3.47-3.60	*	77.7
4''		*	71.6
5''		*	78.0

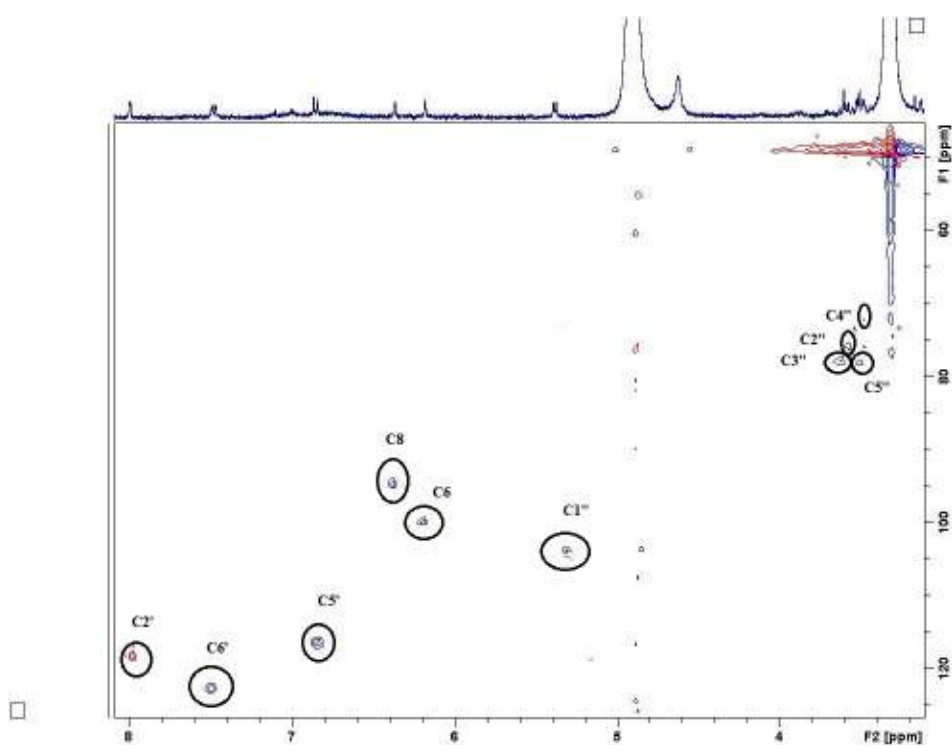
*επικαλυπτόμενα σήματα



Φάσμα ¹H- NMR της ουσίας **2**

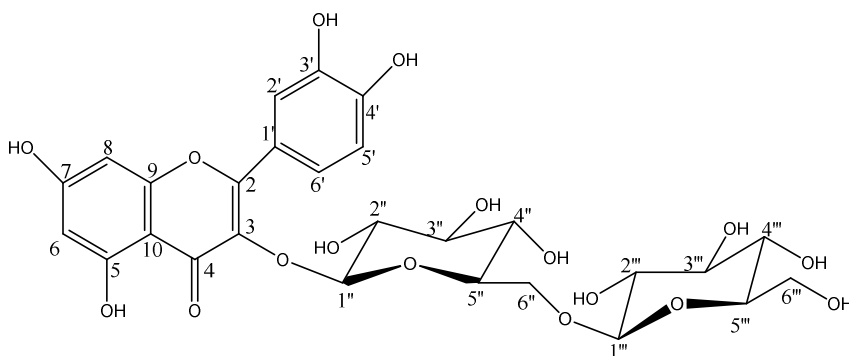


Φάσμα COSY της ουσίας 2



Φάσμα HSQC της ουσίας 2

**Γ.Ι.3. Ουσία 3:Κερκετινο-3-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-(1→6)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης
(κερκετινο-3-O-γεντιοβιοσίδης)**



Η ουσία απομονώθηκε ως υποκίτρινο υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Chludil et al., 2008; Lee et al., 2012; Liao et al., 2012; Jung et al., 2015).

Έχει απομονωθεί από διάφορα φυτά, όπως *Chenopodium album* (Chenopodiaceae) και *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae) (Liao et al., 2012; Poonia & Upadhyay, 2015). Επίσης, έχει απομονωθεί και από κατώτερα φυτά, στο γένος *Asplenium* L, στο είδος *A. ceterach* (Aspleniaceae) (Iwashina & Matsumoto, 2011). Ορισμένες από τις βιολογικές δράσεις που αποδίδονται στη συγκεκριμένη ουσία είναι η αντιοξειδωτική δράση και η ανασταλτική της δράση στην παραγωγή μελανίνης με αποτέλεσμα τη πιθανή χρήση της στη θεραπεία υπερχρωματοποίησης (Lee et al., 2012; Liao et al., 2012; Jung et al., 2015).

Στο υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία μετά την εμφάνιση με το αντιδραστήριο Neu παρουσιάζει στο υπεριώδες φως (λ 254 nm) κιτρινο-πορτοκαλόχροο φθορισμό.

UV_{λmax} (MeOH) nm: 256, 267 (sh), 290(sh), 360.

Από το φάσμα ¹H-NMR παίρνουμε τις εξής πληροφορίες:

- στην αρωματική περιοχή εντοπίζεται ένα σύστημα υποκατάστασης ABX, που υποδηλώνει την ύπαρξη υποκαταστατών στις θέσεις 3' και 4' του Β δακτυλίου: σε δ_H 7.93 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή με μικρή σταθερά σύζευξης ($J = 2.0\text{Hz}$, μετα-σύζευξη), σε δ_H 7.64 μία διπλώς διπλή κορυφή ($J = 8.6, 2.0\text{Hz}$, ορθο- & μετα-σύζευξη) και σε δ_H 6.86 μία διπλή κορυφή με μεγάλη σταθερά σύζευξης ($J = 8.6\text{Hz}$, ορθο-σύζευξη). Τα πρωτόνια

του δακτυλίου A εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές με μικρές σταθερές σύζευξης σε δ_H 6.41 ($J = 2.0$ Hz) και 6.20 ($J = 2.0$ Hz).

- οι πολλαπλές κορυφές σε δ_H 3.87-3.04 υποδηλώνουν την παρουσία σακχάρου. Μάλιστα, οι δύο κορυφές σε δ_H 5.15 (d , $J = 7.8$ Hz) και δ_H 4.15 (d , $J = 7.7$ Hz) παραπέμπουν στην ύπαρξη δύο ανωμερικών πρωτονίων και επομένως σε κάποιο δισακχαρίτη, λαμβάνοντας υπ' όψιν τη θωράκιση του δεύτερου ανωμερικού πρωτονίου.

- η απουσία σήματος υπό μορφή απλής κορυφής στην αρωματική περιοχή επιβεβαιώνει την απουσία H-3. Επιπλέον από τις τιμές δ_H των πρωτονίων του δακτυλίου A υπάρχει η ένδειξη ότι ο δισακχαρίτης είναι συνδεδεμένος στη θέση 3 του φλαβονοειδούς. Αν ήταν συνδεδεμένος στη θέση 7, τα σήματα των γειτονικών πρωτονίων H-6 και H-8 θα είχαν μετατοπιστεί προς χαμηλότερες τιμές πεδίου.

Από το φάσμα COSY παρατηρούμε ότι:

- Το πρωτόνιο H-6' (δ_H 7.64) συζεύγνυται αφενός με το πρωτόνιο σε δ_H 6.86 (ορθο-σύζευξη, H-5') και αφετέρου με το πρωτόνιο σε δ_H 7.93 (μετα-σύζευξη, H-2').
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' σε δ_H 5.15 του ενός σακχάρου συζεύγνυται με το πρωτόνιο σε δ_H 3.85, επομένως συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για το H-2'' του ίδιου σακχάρου.
- Το ανωμερικό πρωτόνιο του άλλου σακχάρου H-1''' σε δ_H 4.15 συζεύγνυται με το πρωτόνιο σε δ_H 3.04, επομένως συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για το H-2''' του ίδιου σακχάρου.

Από τα φάσματα HSQC και HMBC προσδιορίστηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων (βλ. πίνακα).

Από το φάσμα HSQC σε συνδυασμό με το φάσμα COSY, καθώς και από το φάσμα $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$, εντοπίστηκαν τα σήματα δύο μεθυλενικών ανθράκων σε δ_C 67.9 (C-6'') και σε δ_C 61.4 (C-6'''). Η αποθωράκιση του άνθρακα C-6'' (δ_C 67.9) υποδηλώνει ότι η σύνδεση μεταξύ των δύο σακχάρων είναι 1→6.

Από το φάσμα HMBC πήραμε τις εξής πληροφορίες:

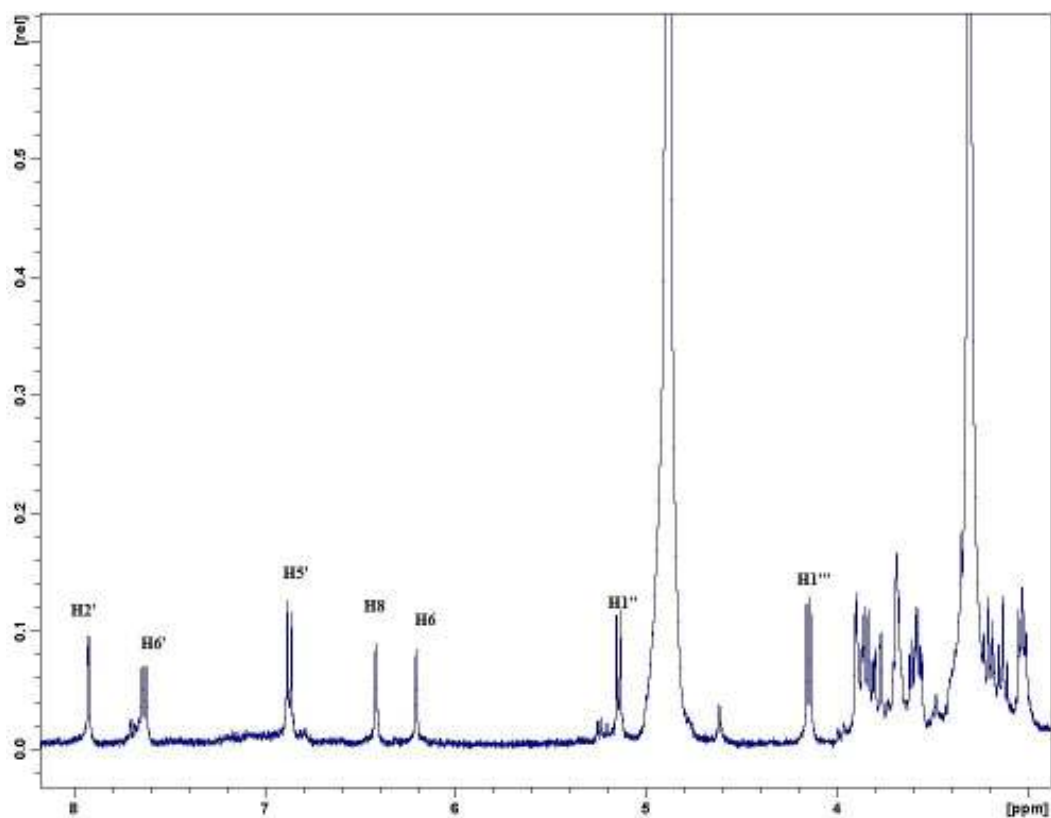
- Το πρωτόνιο H-2' σε δ_H 7.93 δίνει σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 159.5, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον C-2.
- Το πρωτόνιο H-6' σε δ_H 7.64 δίνει σήμα διασταύρωσης με τους άνθρακες C-2' (HSQC) και C-5' (φάσμα HSQC) σε δ_C 117.6 και 115.5, αντίστοιχα. Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 148.9, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον C-4'.

- Το πρωτόνιο H-5' σε δ_H 6.86 δίνει σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-6' σε δ_C 122.5 (φάσμα HSQC). Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 145.7, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον C-3'.
- Το πρωτόνιο H-6 δίνει σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-8 σε δ_C 95.4 (φάσμα HSQC). Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 105.7, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον C-10.

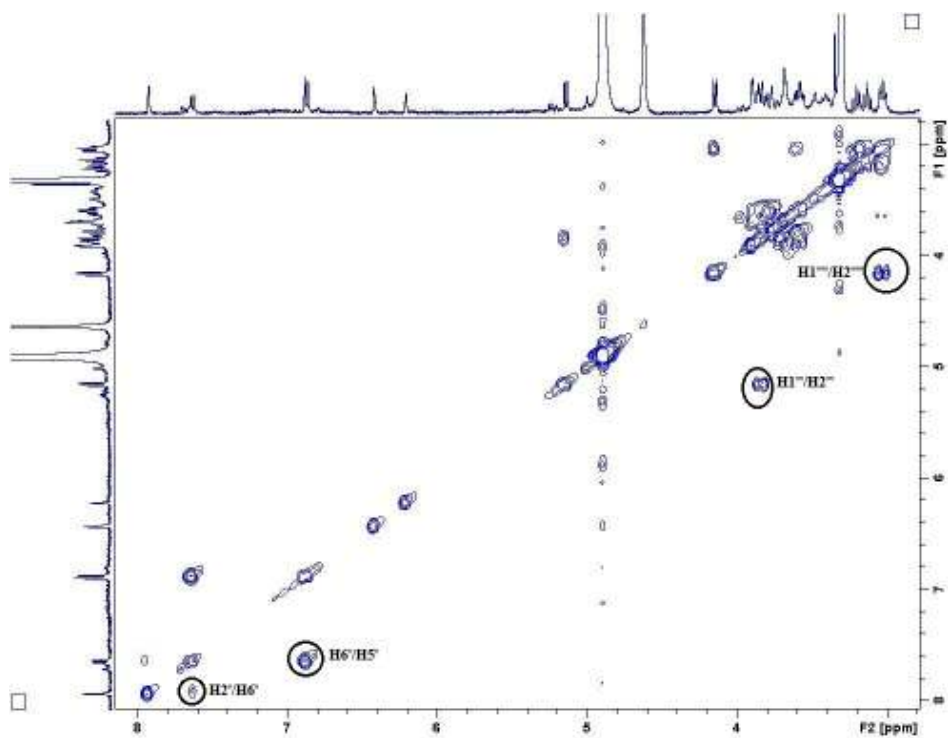
Πίνακας 3: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας **3** (CD₃OD, 400MHz)

Θέση	δH (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)	Δc (ppm)
2	-	-	159.5
6	6.20	d (2.0)	99.6
8	6.41	d (2.0)	95.4
10	-	-	105.7
2'	7.93	d (2.0)	117.6
3'	-	-	145.7
4'	-	-	148.9
5'	6.86	d (8.6)	115.5
6'	7.64	dd (8.6, 2.0)	122.5
γλυκόση			
1''	5.15	d (7.8)	104.9
2''	3.85	*	75.1
3''	3.57	*	77.5
4''	3.89*	*	70.0
5''	3.58*	*	74.4
6''a	3.87*	dd (12.7, *)	67.9
6''b	3.69	dd (12.7, 4.8)	
γλυκόση			
1'''	4.15	d(7.7)	104.1
2'''	3.04	br t (8.7)	74.3
3'''	3.13	t (8.9)	77.3
4'''	3.18	t (8.9)	71.2
5'''	3.06*	*	77.4
6'''a	3.79	dd (11.7, *)	61.4
6'''b	3.61	dd (*, 5.8)	

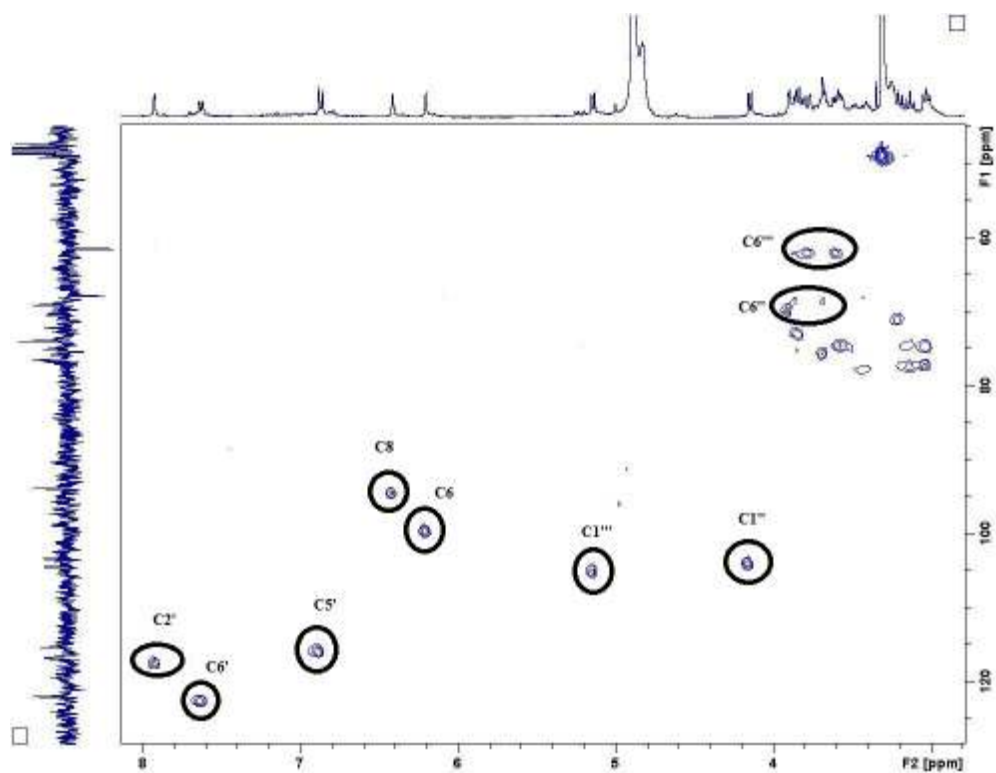
* επικαλυπτομένα σήματα



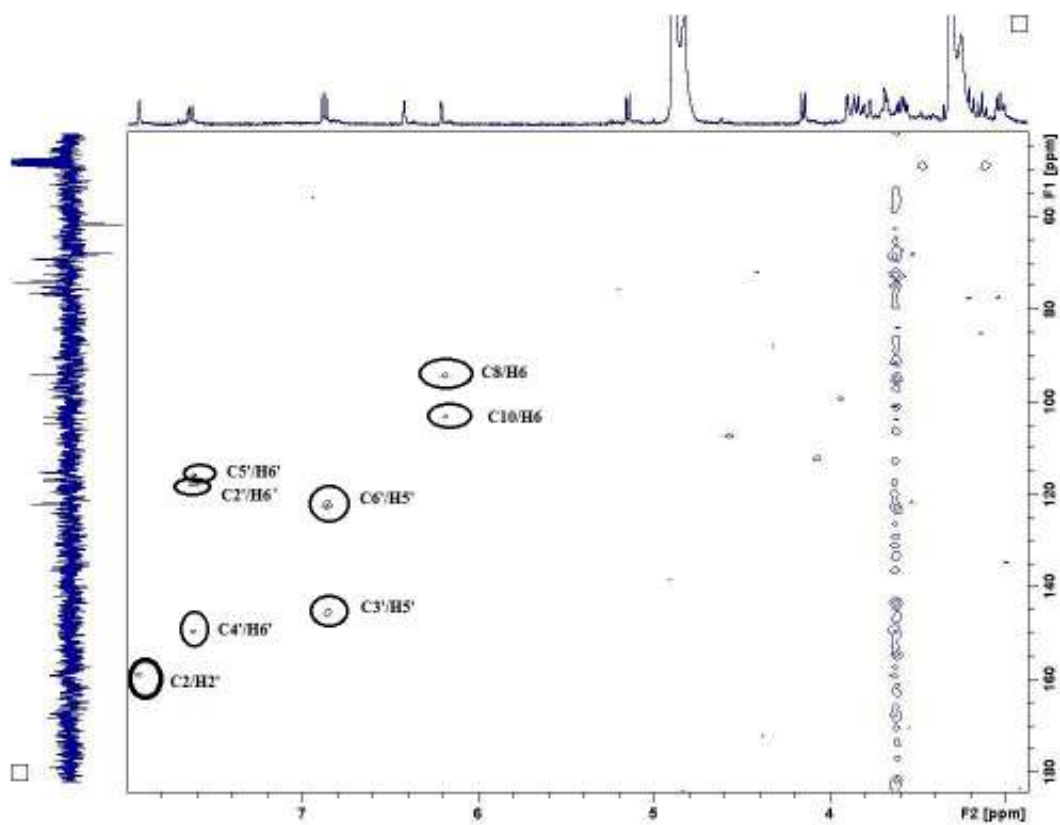
Φάσμα ^1H -NMR της ουσίας 3



Φάσμα COSY της ουσίας 3



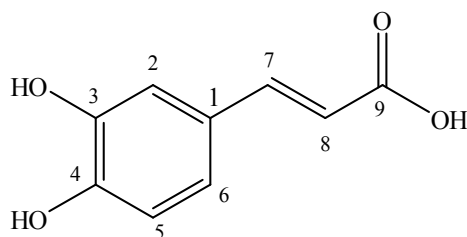
Φάσμα HSQC της ουσίας 3



Φάσμα HMBC της ουσίας 3

Γ.ΙΙ. ΦΑΙΝΟΛΟΞΕΑ

Γ.Π.1. Ουσία 4: E-καφεϊκό οξύ



Η ουσία αυτή απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Jeong et al., 2011; Chang et al., 2009) ως E-καφεϊκό οξύ.

Έχει απομονωθεί από ένα μεγάλο αριθμό φυτών όπως *Matricaria chamomilla* (Asteraceae) και *Bistorta manshuriensis* (Polygonaceae) (Chang et al., 2009; Singh et al., 2011). Επιπλέον, απαντάται και σε πολλές φτέρες όπως *Athyrium filix-femina* (Athyriaceae), *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae) και *A. ceterach* (Aspleniaceae) (Glass & Bohm, 1968; Adam, 1995; Živcović et al., 2010).

Είναι ευρέως γνωστό για τις βιολογικές δράσεις του, ορισμένες από αυτές είναι αντιοξειδωτική δράση, αντιδιαβητική δράση, αντιφλεγμονώδη δράση και αντιπηκτική δράση (Jiang et al., 2005; Gülçin, 2006; Jung et al., 2006; Chao et al., 2009).

Η ουσία παρουσιάζει κυανό φθορισμό σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Μετά εμφάνιση με το αντιδραστήριο Neu εμφανίζεται ως κιτρινο-κυανή φως (λ 254 nm).

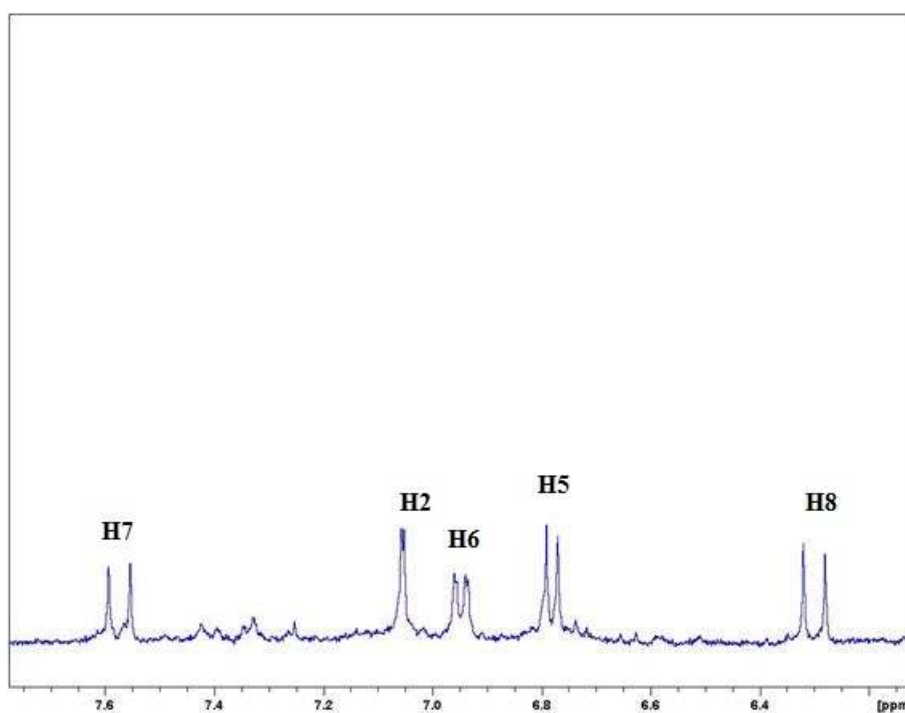
UV_{λmax} (MeOH) nm: 243, 297 (sh), 325.

Από το φάσμα ¹H-NMR πήραμε τις εξής πληροφορίες:

- Τα ολεφινικά πρωτόνια H-7 και H-8 εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές σε δ_H 7.58 (J=16.1Hz) και σε δ_H 6.29 (J=16.1Hz), αντίστοιχα. Χαρακτηριστικά της δομής ενός *trans* διπλού δεσμού.
- Το πρωτόνιο H-2 εμφανίζεται ως μια διπλή κορυφή σε δ_H 7.06 (J=2.0 Hz, *meta*-σύζευξη).
- Το πρωτόνιο H-6 εμφανίζεται ως μία διπλώς διπλή κορυφή σε δ_H 6.91 (J=8.1, 2.0Hz, *ortho*- & *meta*-σύζευξη).
- Το πρωτόνιο H-5 εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ_H 6.77 (J=8.1Hz, *ortho*-σύζευξη).

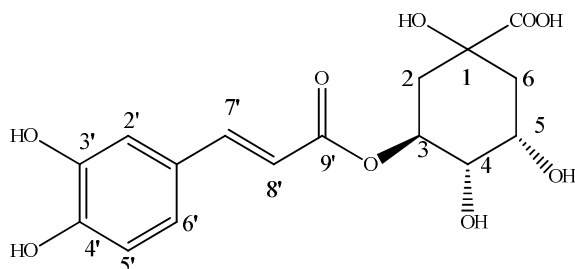
Πίνακας4: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας **4**(CD₃OD, 400 MHz)

Θέση	δ _H (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)
2	7.06	d (2.0)
5	6.77	d (8.1)
6	6.91	dd (8.1, 2.0)
7	7.58	d (16.1)
8	6.29	d (16.1)



Φάσμα ¹H- NMR της ουσίας **4**

Γ.Π.2. Ουσία 5:Χλωρογενικό οξύ [3-O-καφεοϋλοκινικό οξύ]



Η ουσία απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Chan et al, 2009; Hyun et al, 2010; Kim et al., 2013).

Το χλωρογενικό οξύ αποτελεί έναν από τους πιο κοινούς εστέρες του κινικού και του καφεϊκού οξέος. Έχει απομονωθεί από διάφορα φυτά, όπως *Hybiscus sabdariffa* (Malvaceae) και *Origanum vulgare* (Lamiaceae) (Spiridon et al., 2011; Zhen et al., 2016). Επίσης, έχει απομονωθεί και από κατώτερα φυτά, όπως από τη φτέρη *Polypodium vulgare* (Polypodiaceae) (Veit et al., 1992), αλλά και από το υπό μελέτη φυτό *A. ceterach* (Žincović et al., 2010). Μαζί με τα ισομερή του, 4-O-καφεοϋλοκινικό οξύ (κρυπτοχλωρογενικό οξύ) και 5-O-καφεοϋλοκινικό οξύ (νεοχλωρογενικό οξύ) αποτελεί χημειοταξονομικό δείκτη.

Το χλωρογενικό οξύ έχει ιδιαίτερα μελετηθεί, καθώς αποτελεί συστατικό της καθημερινής μας διατροφής. Έχει βρεθεί κυρίως σε ροφήματα, όπως καφέ και τσάι, αλλά και σε φρούτα και λαχανικά (Liang & Kitts, 2016). Έχουν αναφερθεί πολλές βιολογικές δράσεις του χλωρογενικού οξέος. Ορισμένες από αυτές είναι:

- Αντιοξειδωτική δράση (Liang & Kitts, 2016; Zhen et al., 2016; Spiridon et al., 2011)
- Αντιφλεγμονώδη δράση (Zhen et al., 2016)
- Αντιμικροβιακή δράση (Zhen et al., 2016)
- Διουρητική δράση (Jiménez-Ferrer et al., 2012)

$[\alpha]_D$: -1.5 (CH₃OH, *c* 0.20).

UV_{λmax} (MeOH) nm: 244 (sh), 299 (sh), 328.5.

Αρχικά, υποθέσαμε ότι πρόκειται για παράγωγο φαινολοξέος λόγω του κυανού φθορισμού της ουσίας σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε συνδυασμό με το φάσμα UV-Vis. Μετά από τη φασματοσκοπική ανάλυση και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, η υπόθεση αυτή επιβεβαιώθηκε.

Από το φάσμα ¹H-NMR εντοπίζεται η παρουσία ενός αρωματικού συστήματος, το οποίο εμφανίζει υποκατάσταση τύπου ABX: δ_H 7.05 (d, J=2.2 Hz), 6.77 (d, J=8.2 Hz), 6.94,

(dd, J=8.2, 2.2 Hz). Επιπλέον, εντοπίζονται δύο πρωτόνια τα οποία ανήκουν σε *trans*-διπλό δεσμό, καθώς δίνουν δύο διπλές κορυφές σε $\delta_{\text{H}} 7.57$ και $\delta_{\text{H}} 6.29$ με σταθερά σύζευξης 16.2 Hz.

Σύμφωνα με το φάσμα HMBC της ουσίας τα πρωτόνια του διπλού δεσμού βρίσκονται πλησίον των πρωτονιωμένων ανθράκων του αρωματικού πυρήνα: C-6' ($\delta_{\text{C}} 123.3$) και C-2' ($\delta_{\text{C}} 115.0$), και του τεταρτοταγή άνθρακα του αρωματικού πυρήνα C-1' ($\delta_{\text{C}} 127.8$) καθώς και πλησίον άνθρακα με $\delta_{\text{C}} 169.9$, τιμή που υποδηλώνει πιθανή παρουσία καρβονυλίου.

Επιπλέον, σύμφωνα με το φάσμα NOESY της ουσίας επιβεβαιώνεται ότι τα πρωτόνια του διπλού δεσμού βρίσκονται πλησίον των πρωτονίων σε $\delta_{\text{H}} 7.05$ (H-2') και 6.94 (H-6') του αρωματικού πυρήνα. Το σύνολο αυτών των δεδομένων παραπέμπει σε δομή καφεοϋλο-ομάδας.

Παράλληλα στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούνται τα ακόλουθα:

- μία πολλαπλή κορυφή σε $\delta_{\text{H}} 5.37$,
- ένα σύνολο κορυφών, οι οποίες εμφανίζονται την περιοχή $\delta_{\text{H}} 4.15$ -1.93.

Σύμφωνα με το φάσμα COSY, όσο αφορά το τμήμα αυτό, το πρωτόνιο σε $\delta_{\text{H}} 4.15$ (H-5) συζεύγνυται με το πρωτόνιο σε $\delta_{\text{H}} 3.67$ (H-4) και αυτό με το πρωτόνιο σε $\delta_{\text{H}} 5.37$ (H-3). Από τη χημική μετατόπιση των πρωτονίων αυτών συμπεραίνεται ότι πιθανώς να ανήκουν σε οξυγονωμένους άνθρακες.

Επίσης υπάρχουν και τέσσερα αλειφατικά μεθυλένια σε δ_{H} : 2.13/2.01 (H-2a/2b), 2.16/1.93 (H-6a/6b), τα οποία ανήκουν στους άνθρακες σε $\delta_{\text{C}} 40.3$ (C-2) και $\delta_{\text{C}} 38.9$ (C-6) (φάσμα HSQC) και παρουσιάζουν και τα δύο στο φάσμα COSY σύζευξη με τα πρωτόνια σε $\delta_{\text{H}} 5.37$ (H-3) και 4.15 (H-5) αντίστοιχα. Τα παραπάνω δεδομένα παραπέμπουν στη δομή του κινικού οξέος.

Από το φάσμα HMBC πήραμε τις εξής πληροφορίες:

- το πρωτόνιο H-7' σε $\delta_{\text{H}} 7.57$ δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα σε $\delta_{\text{C}} 169.9$ (C-9'). Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τους άνθρακες C-2' (φάσμα HSQC) και C-6' (φάσμα HSQC) σε $\delta_{\text{C}} 115.0$ και 123.3, αντίστοιχα.
- το πρωτόνιο H-2' σε $\delta_{\text{H}} 7.05$ δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε $\delta_{\text{C}} 149.4$ (C-4') και με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε $\delta_{\text{C}} 147.4$ (C-3'). Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-7' σε $\delta_{\text{C}} 147.0$ (φάσμα HSQC) και με τον άνθρακα C-6' σε $\delta_{\text{C}} 123.3$ (φάσμα HSQC).
- το πρωτόνιο H-6' σε $\delta_{\text{H}} 6.94$ δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε $\delta_{\text{C}} 149.4$ (C-4'). Επιπλέον, δίνει σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-7' σε $\delta_{\text{C}} 147.0$ (φάσμα

HSQC) και με τον άνθρακα C-2' σε δ_C 115.0 (φάσμα HSQC).

- το πρωτόνιο H-5' σε δ_H 6.77 δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 127.8 (C-1') και με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 147.4 (C-3').

- το πρωτόνιο H-8' σε δ_H 6.29 δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 127.8 (C-1').

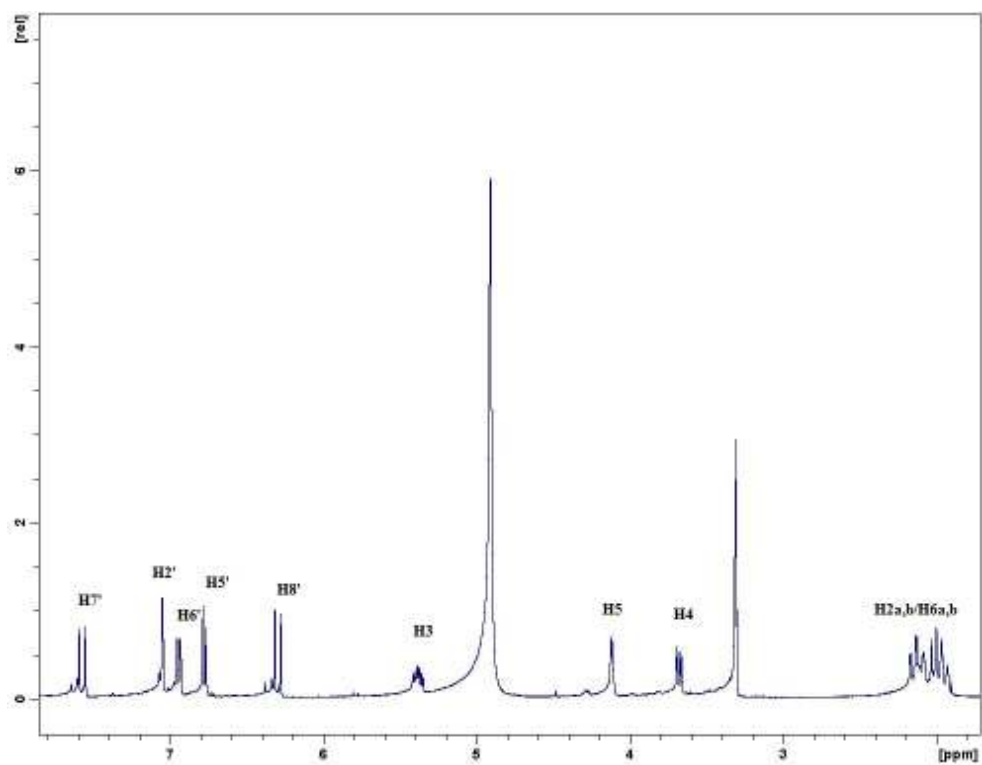
- το πρωτόνιο H-3 σε δ_H 5.37 δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα σε δ_C 78.0 (C-1). Επιπλέον, τα πρωτόνια H-2a,b (δ_H 2.13/2.01) δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα σε δ_C 74.9 (C-4). Τα πρωτόνια H-6a,b (δ_H 2.16/1.93) δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τους άνθρακες σε δ_C 74.9 (C-4) και σε δ_C 73.1 (C-5).

Από το φάσμα NOESY της ουσίας παρατηρείται ότι το πρωτόνιο σε δ_H 3.67 (H-4) δίνει σήμα διασταύρωσης με το πρωτόνιο δ_H 4.15 (H-5), επομένως συμπεραίνουμε ότι αυτά τα δύο πρωτόνια είναι σε *cis* διάταξη, άρα επιβεβαιώνεται ότι πρόκειται για χλωρογενικό οξύ. Από το φάσμα ^{13}C -NMR προσδιορίστηκε ο άνθρακας του καρβοξυλικού οξέος σε δ_C 181.0.

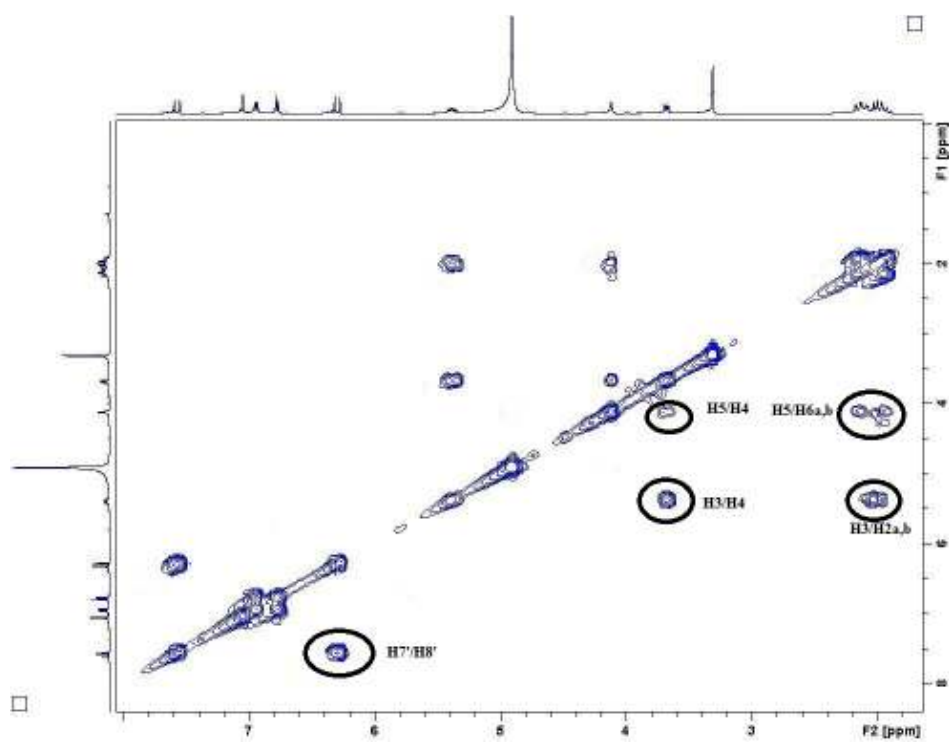
Πίνακας 5: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας **5** (CD_3OD , 400MHz)

Θέση	δ_H (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)	Δ_c (ppm)
1	-	-	78.0
2a, 2b	2.13-2.01#	M	40.3#
3	5.37	M	72.1
4	3.67	dd (9.9/3.2)	74.9
5	4.15	brd (3.2)	73.1
6a, 6b	2.16-1.93#	M	38.9#
1'	-	-	127.8
2'	7.05	d (2.2)	115.0
3'	-	-	147.4
4'	-	-	149.4
5'	6.77	d (8.2)	116.5
6'	6.94	dd (8.2/2.2)	123.3
7'	7.57	d (16.2)	147.0
8'	6.29	d (16.2)	115.2
9'	-	-	169.9
COOH	-	-	181.0

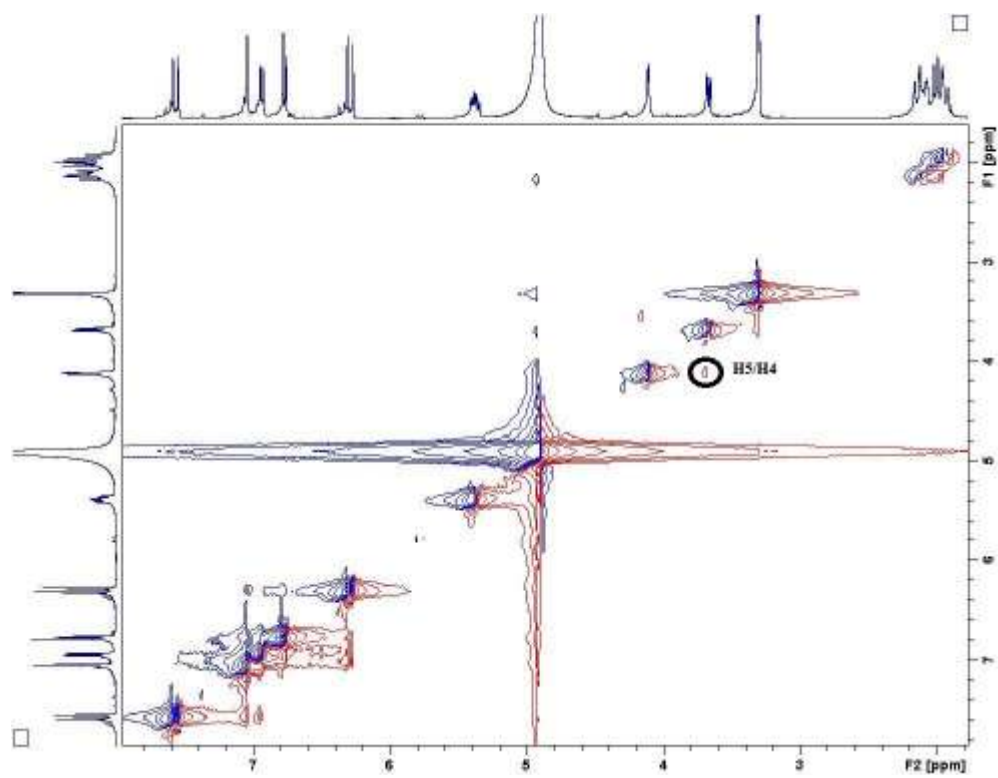
πιθανώς αντίστροφα



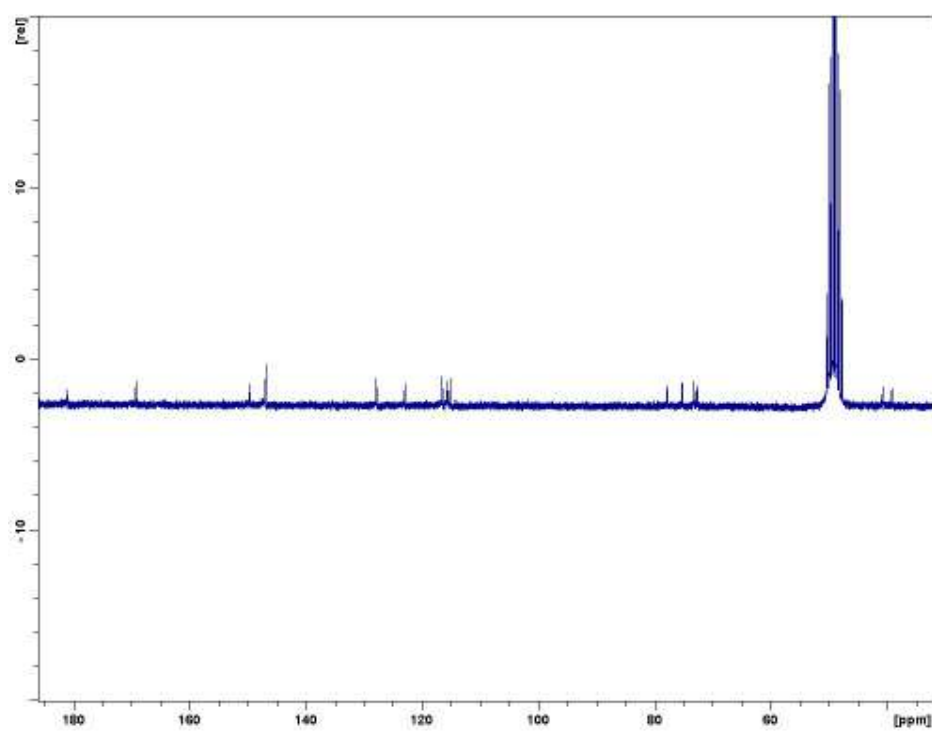
Φάσμα ^1H -NMR της ουσίας 5



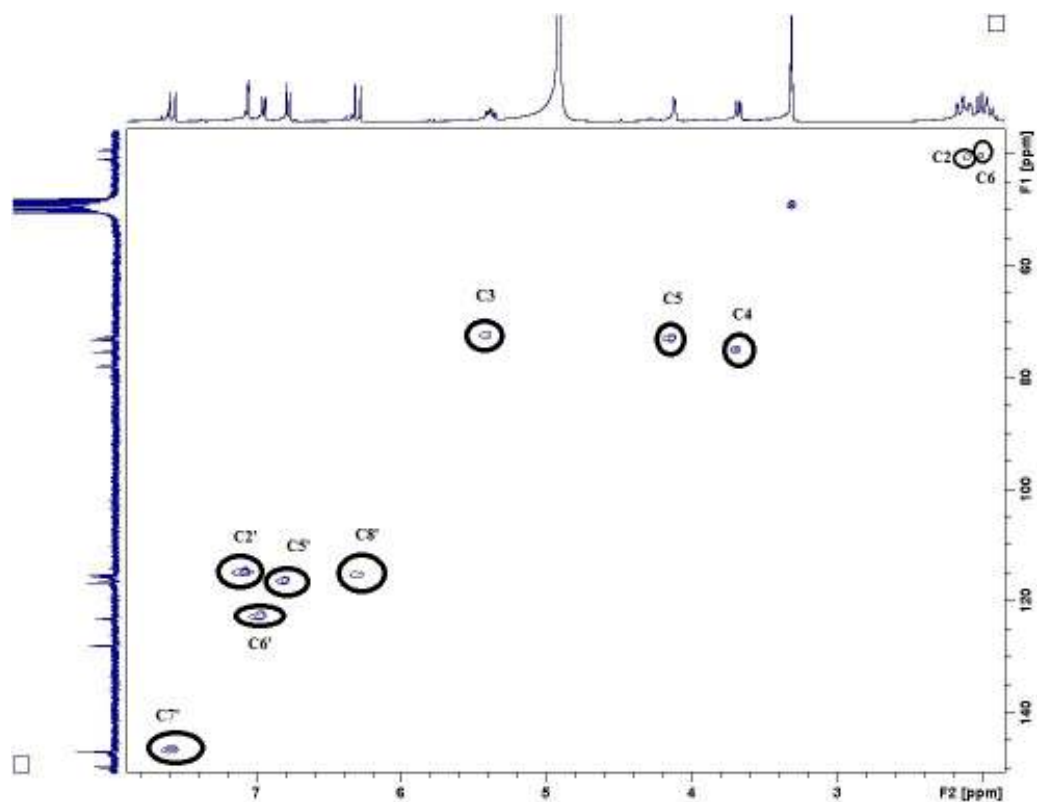
ΦάσμαCOSY της ουσίας 5



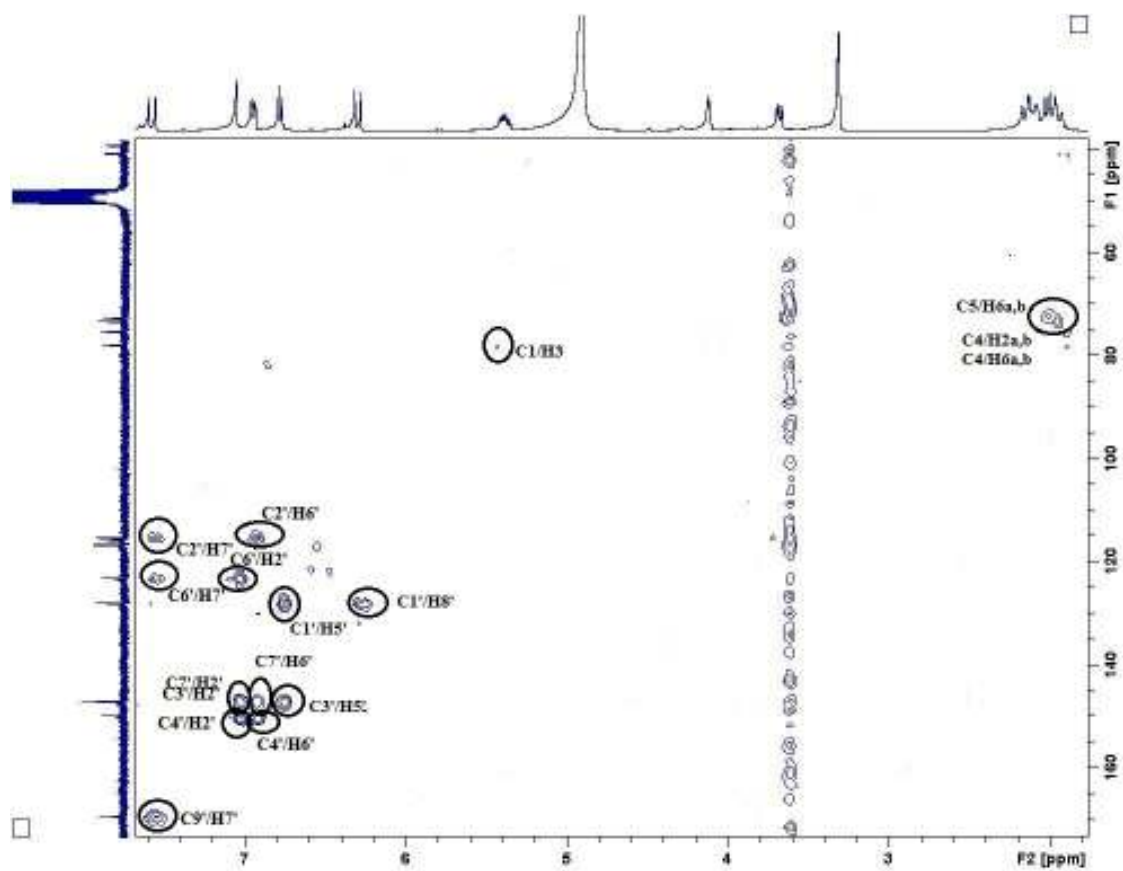
Φάσμα NOESY της ουσίας 5



Φάσμα ^{13}C -NMR της ουσίας 5

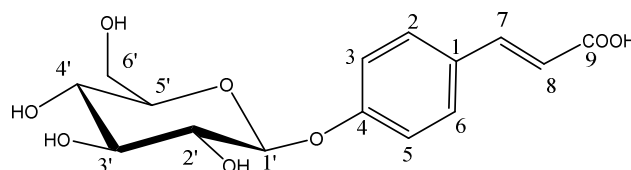


Φάσμα HSQC της ουσίας 5



Φάσμα HMBC της ουσίας 5

Γ.Π.3. Ουσία 6:π-κουμαροϋλο-4-O-β-D-γλυκοσίδης



Η ουσία αυτή απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Foo et al., 2000; Katsuragi et al., 2011).

Έχει απομονωθεί από διάφορα φυτά, όπως *Onobrychis viciifolia* (Fabaceae) και *Hypericum sikokumontanum* (Hypericaceae) (Regos et al., 2009; Tanaka et al., 2009). Στα πτεριδόφυτα έχει απομονωθεί από το είδος *Cyathea phalerata* (Cyatheaceae) (Pizzolatti et al., 2007). Μία από τις πιο γνωστές βιολογικές του δράσεις είναι η αντιοξειδωτική του δράση (Kasote, 2013).

Πρόκειται για παράγωγο φαινολοξέος λόγω του κυανού φθορισμού της ουσίας σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και με βάση το φάσμα του σε UV-Vis: $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm: 285 nm, 305(sh).

Από το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ πήραμε τις εξής πληροφορίες:

- Τα πρωτόνια H-2,6 εμφανίζονται ως μια διπλή κορυφή σε δ_{H} 7.54 ($J=8.6\text{Hz}$).
- Τα πρωτόνια H-3,5 εμφανίζονται ομοίως ως μία διπλή κορυφή σε δ_{H} 7.12 ($J=8.6\text{Hz}$).
- Τα ολεφινικά πρωτόνια H-7 και H-8 εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές σε δ_{H} 7.60 ($J=16.2\text{Hz}$) και σε δ_{H} 6.37 ($J=16.2\text{Hz}$), αντίστοιχα. Χαρακτηριστικά της δομής ενός *trans*-διπλού δεσμού.
- Στη μεσαία περιοχή του φάσματος εμφανίζονται τα πρωτόνια ενός μορίου γλυκόσης.
- Σε δ_{H} 4.96 εμφανίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο H-1' ως μία διπλή κορυφή ($J=7.2\text{Hz}$).
- Σε δ_{H} 3.88 και 3.70 εμφανίζονται τα πρωτόνια H-6α και H-6β, αντίστοιχα.

Από το φάσμα COSY πήραμε τις εξής πληροφορίες:

- Το πρωτόνιο H-7 σε δ_H 7.60 συζεύγνυται με το γειτονικό του πρωτόνιο H-8 σε δ_H 6.37.
- Τα πρωτόνια H-2,6 σε δ_H 7.54 συζεύγνυνται με τα γειτονικά πρωτόνια H-3,5 αντίστοιχα σε δ_H 7.12.
- Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1' σε δ_H 4.96 συζεύγνυται με το γειτονικό πρωτόνιο H-2' σε δ_H 3.46.
- Τα πρωτόνια H-6a και H-6b συζεύγνυνται μεταξύ τους.

Από τα φάσματα HSQC και HMBC προσδιορίστηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων (βλ. πίνακα).

Από το φάσμα HMBC παίρνουμε τις εξής πληροφορίες:

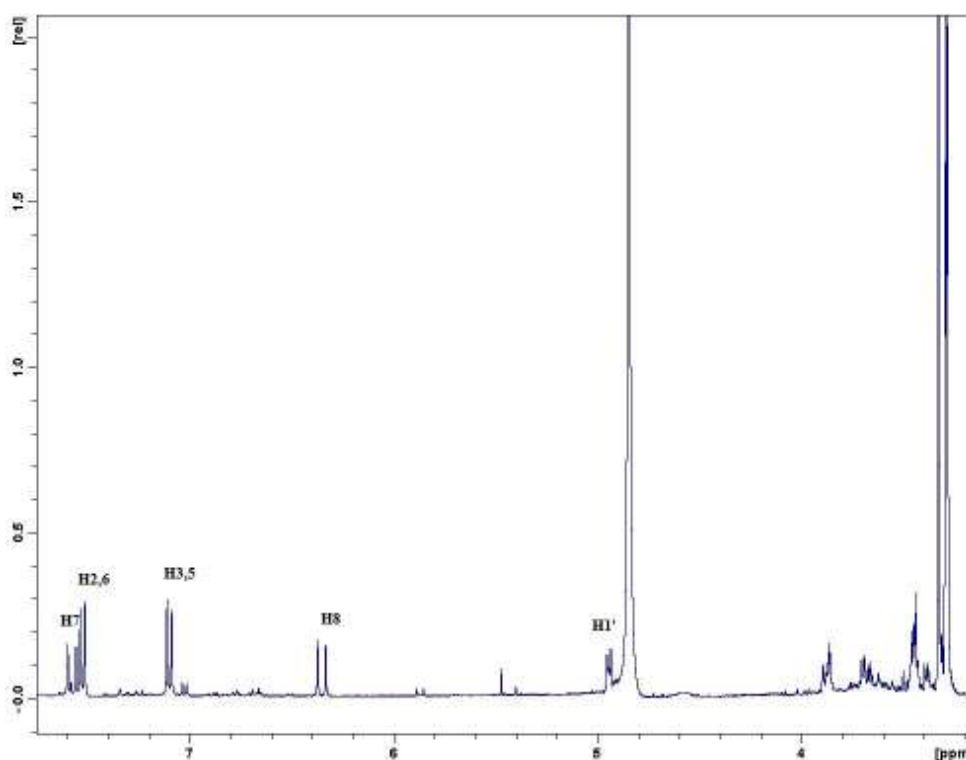
- Το πρωτόνιο H-7 σε δ_H 7.60 δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα του καρβονυλίου σε δ_C 170.5 (C-9) και με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 129.4 (C-1).
- Τα πρωτόνια H-2,6 σε δ_H 7.54 δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 159.3 (C-4) και με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 129.4 (C-1). Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα σε δ_C 144.0 (C-7) (φάσμα HSQC).
- Τα πρωτόνια H-3,5 σε δ_H 7.12 δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 159.3 (C-4). Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 129.4 (C-1).
- Το πρωτόνιο H-8 σε δ_H 6.37 δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 129.4 (C-1).

Πίνακας6: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας6 (CD₃OD, 400MHz)

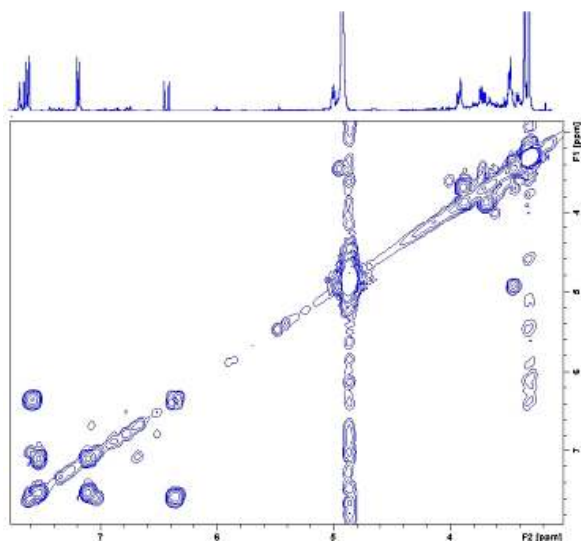
Θέση	δH (ppm)	Πολλαπλότητα(J,Hz)	Δc (ppm)**
1	-	-	129.4
2,6	7.54	d (8.6)	130.0
3,5	7.12	d (8.6)	117.4
4	-	-	159.3
7	7.60	d (16.2)	144.7
8	6.37	d (16.2)	117.8
9	-	-	170.5
γλυκόση			
1'	4.96	d (7.2)	101.2
2'	3.46	*	74.4
3'	3.73	*	77.5#
4'	3.41	*	70.7
5'	3.47	*	77.9#
6'a	3.88	dd (12.1,1.9)	62.2
6'b	3.70	dd (12.1, 5.8)	

*επικαλυπτόμενα σήματα** η απόδοση των ανθράκων έγινε μέσω HMBC&HSQC

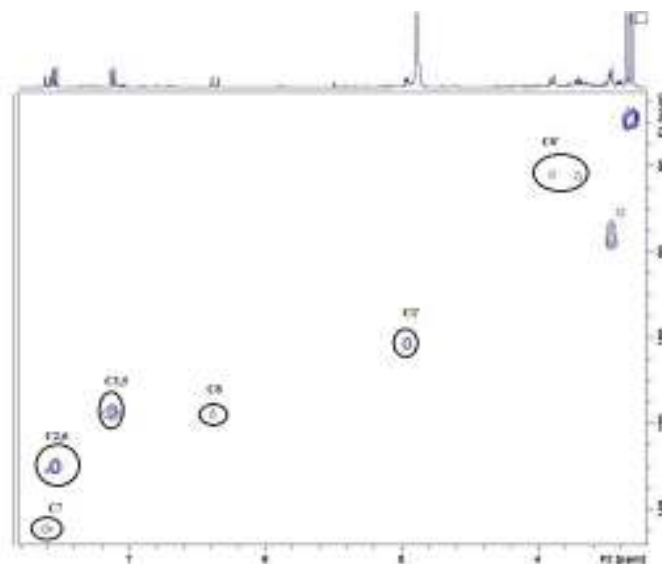
πιθανώς αντίστροφα



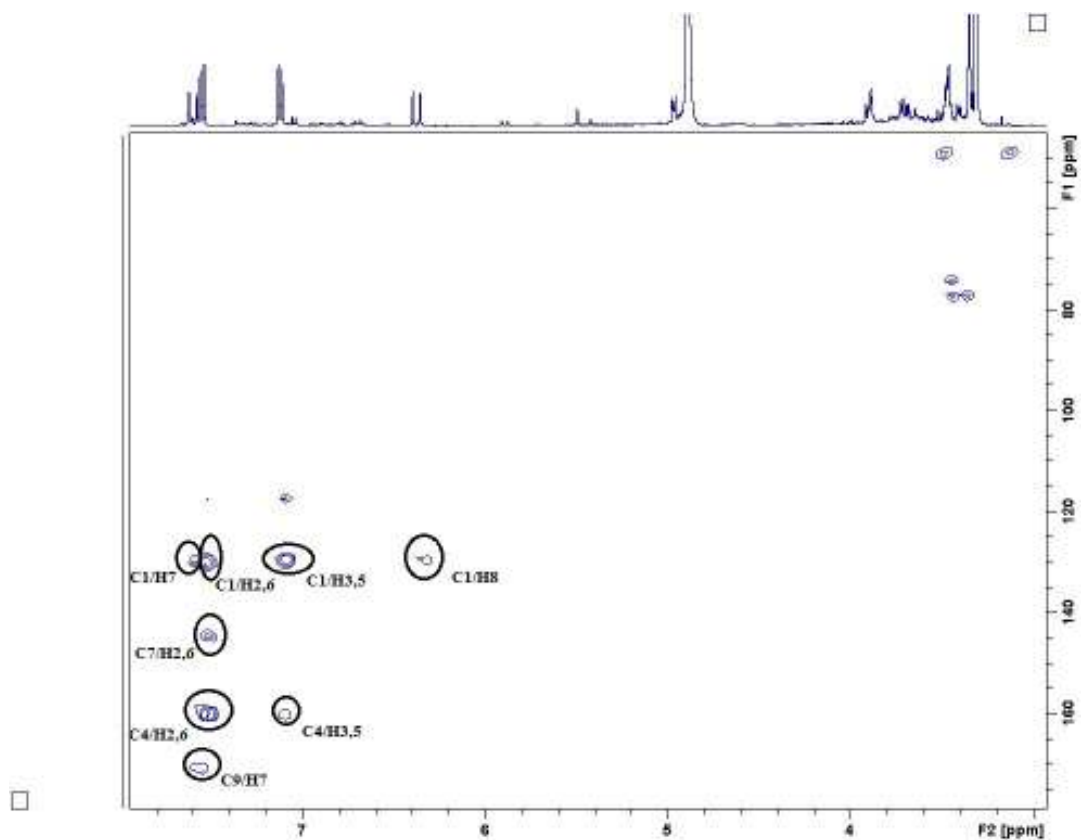
Φάσμα ¹H- NMR της ουσίας 6



Φάσμα COSY της ουσίας 6



Φάσμα HSQC της ουσίας 6

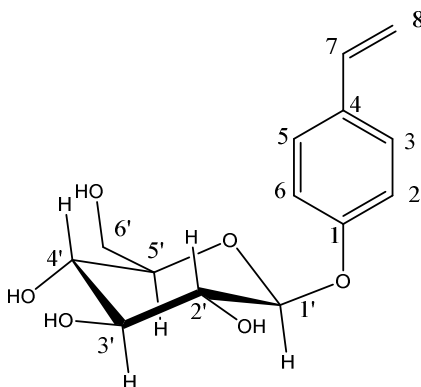


Φάσμα HMBC της ουσίας 6

Γ.ΙΙΙ. ΑΠΛΕΣ ΦΑΙΝΟΛΕΣ

Γ.ΙΙΙ.1. Ουσία 7:4-βινυλο-φαινυλο-1-O-β-D-γλυκοπυρανοσίδης

[β-D-γλυκοσίδης του π-υδροξυστυρενίου]



Η ουσία απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Socolsky et al., 2007; Tanaka et al., 1993).

Έχει απομονωθεί από ορισμένα ανώτερα φυτά, όπως *Papaver somniferum* (Papaveraceae), αλλά και από κατώτερα φυτά, όπως *Cheilanthes kuhnii* (Pteridaceae) και *Pteridium esculentum* (Dennstaedtiaceae) (Ojika et al., 1985; Tanaka et al., 1993).

Στο γένος *Asplenium* L. έχουν βρεθεί η 4-O-βινυλο-φαινόλη και ο διγλυκοσίδης της 4-βινυλο-φαινυλο-1-O-[α-L-ραμνοπυρανοσυλο(1→6)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] στο είδος *A. trichomanes* (Dall'Acqua et al., 2009), όμως ο β-γλυκοσίδης της δεν αναφέρεται στη βιβλιογραφία του γένους.

Σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζει κυανό φθορισμό.

UV_{λmax} (MeOH) nm: 258(sh), 277, 395.5 (sh).

Από το φάσμα ¹H-NMR πήραμε τα κάτωθι σήματα:

- Τα πρωτόνια H-3,5 εμφανίζονται ως μια διπλή κορυφή σε δ_H 7.37 ($J=8.5\text{Hz}$).
- Τα πρωτόνια H-2,6 εμφανίζονται ομοίως ως μία διπλή κορυφή σε δ_H 7.04 ($J=8.5\text{Hz}$).
- Το πρωτόνιο H-7 εμφανίζεται ως μία διπλή διπλώς κορυφή σε δ_H 6.67 ($J=15.9, 11.0\text{Hz}$).
- Τα βινυλικά πρωτόνια H-8a και H-8b εμφανίζονται ως: μία ευρέως διπλή κορυφή σε δ_H 5.67 ($J=15.9\text{Hz}$), που αντιστοιχεί στο H-8b και μία ευρέως διπλή κορυφή σε δ_H 5.11 ($J=11.0\text{Hz}$), που αντιστοιχεί στο H-8a.

- Στη μεσαία περιοχή του φάσματος εμφανίζονται τα πρωτόνια ενός μορίου γλυκόσης.
- Σε δ_H 4.85 εμφανίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο H-1' ως μία διπλή κορυφή ($J=7.4\text{Hz}$).
- Σε δ_H 3.89 και 3.69 εμφανίζονται τα πρωτόνια H-6'a και H-6'b, αντίστοιχα.

Από το φάσμα COSY διαπιστώθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου H-1' σε δ_H 4.85, του πρωτονίου H-2' σε δ_H 3.45 και επιβεβαιώθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων H-6'a και H-6'b. Επιπλέον, τα πρωτόνια δ_H 7.37 (H-3,5) συζεύγγονται με τα γειτονικά πρωτόνια σε δ_H 7.04 (H-2,6). Το πρωτόνιο σε δ_H 6.67 (H-7) συζεύγγεται με τα γειτονικά πρωτόνια σε δ_H 5.67 (H-8b) και σε δ_H 5.11 (H-8a).

Από το φάσμα HSQC επιβεβαιώνεται ότι τα πρωτόνια σε δ_H 5.67 (H-8b) και σε δ_H 5.11 (H-8a) αντιστοιχούν στο ίδιο σήμα άνθρακα σε δ_C 112.6 (C-8). Επιπλέον, από το φάσμα HSQC της ουσίας προσδιορίστηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των μεθινίων (βλ. πίνακα).

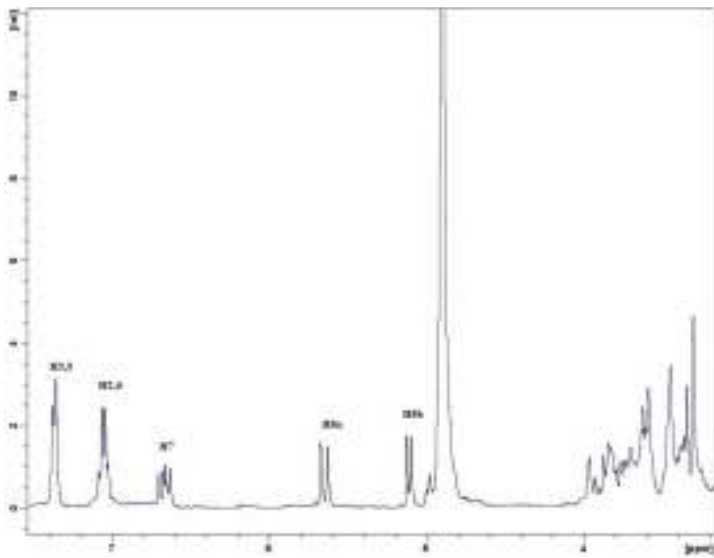
Η επιβεβαίωση της δομής κατέστη δυνατή μετά από μελέτη φάσματος HMBC, ^{13}C -NMR και ^{13}C -DEPT.

Από το φάσμα HMBC πήραμε τα παρακάτω δεδομένα:

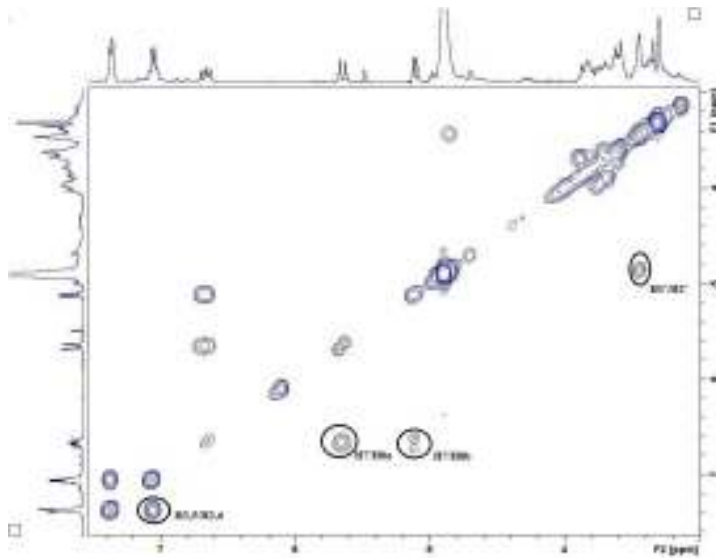
- Τα πρωτόνια H-3,5 (δ_H 7.37) δίνουν ένα σήμα με τον άνθρακα σε δ_C 137.0 (C-7) (φάσμα HSQC). Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 158.5, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον άνθρακα C-1.
- Τα πρωτόνια H-2,6 (δ_H 7.04) δίνουν ένα σήμα με τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 133.7, συνεπώς πρόκειται για τον άνθρακα C-4. Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 158.5, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον άνθρακα C-1.
- Το πρωτόνιο H-7 (δ_H 6.67) δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με άνθρακα σε δ_C 128.0, συνεπώς πρόκειται για τον άνθρακα C-3,5 (φάσμα HSQC).
- Τα πρωτόνια H-8a (δ_H 5.11) και H-8b (δ_H 5.67) δίνουν και τα δύο σήμα με τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 133.7, συνεπώς πρόκειται για τον άνθρακα C-4.

Πίνακας 7: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας 7(CD₃OD, 400MHz)

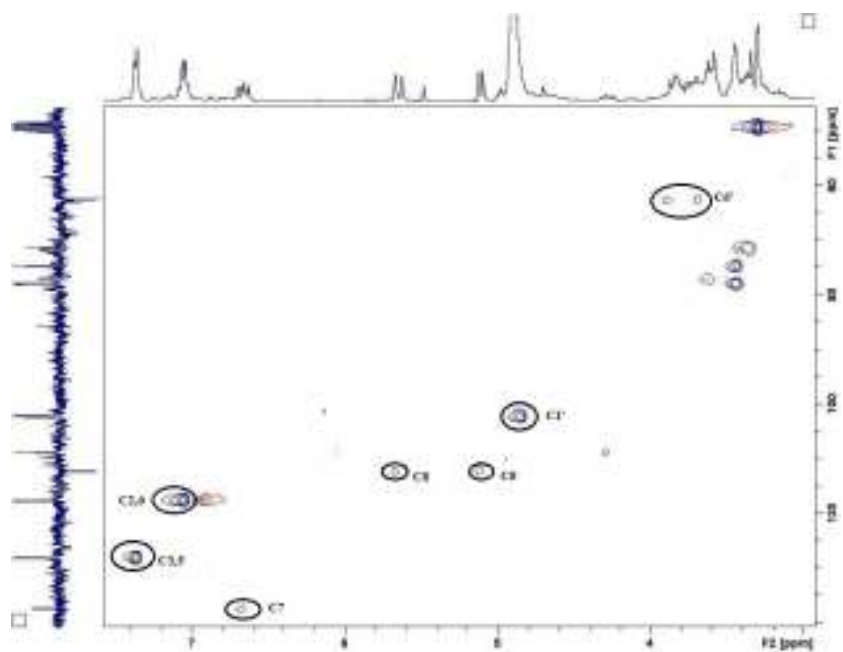
Θέση	δH (ppm)	Πολλαπλότητα (J,Hz)	Δc (ppm)
1	-	-	158.5
2,6	7.04	d (8.5)	117.7
3,5	7.37	d (8.5)	128.0
4	-	-	133.7
7	6.67	dd (15.9, 11.0)	137.0
8a	5.67	br d (15.9)	112.6
8b	5.11	brd (11.0)	
γλυκόση			
1´	4.88	d (7.4)	102.2
2´	3.45	*	74.6
3´	3.36	*	77.3
4´	3.70	*	71.1
5´	3.43	*	76.7
6´ a	3.89	dd (11.7, *)	62.2
6´ b	3.69	dd (11.7, 2.7)	



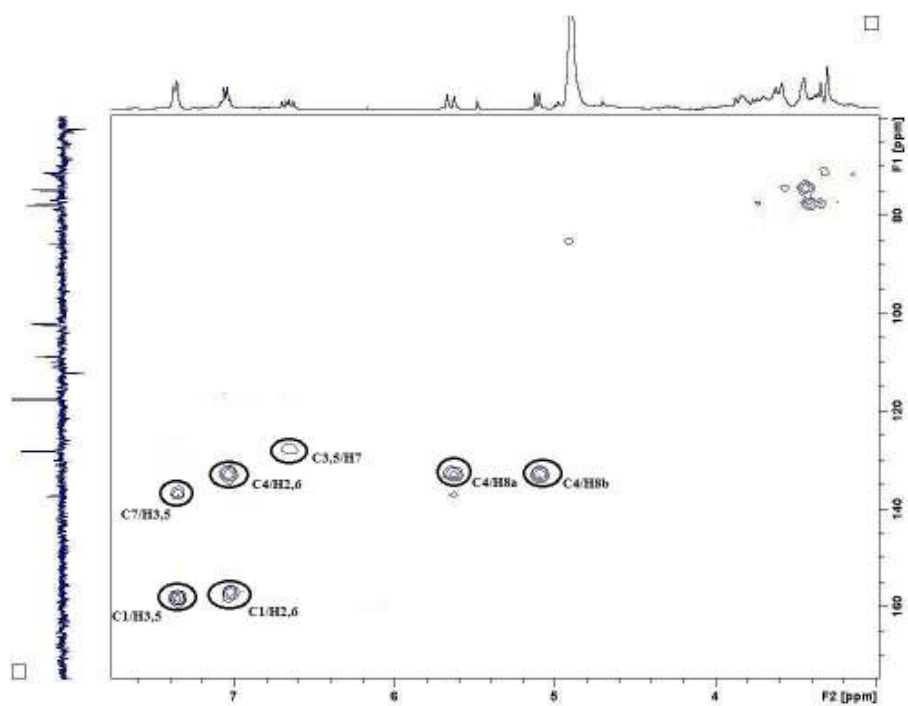
Φάσμα ^1H - NMR της ουσίας **7**



Φάσμα COSY της ουσίας 7

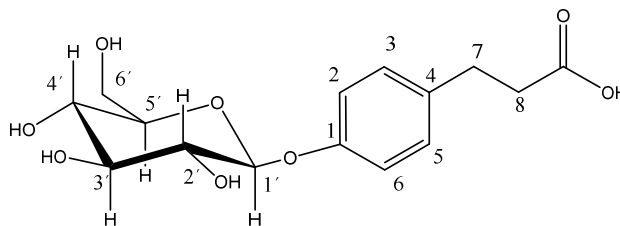


Φάσμα HSQC της ουσίας 7



Φάσμα HMBC της ουσίας 7

Γ.ΙΙΙ.2. Ουσία 8:3-(1-O-β-D-γλυκοπυρανοσυλο-4-υδροξυφαινυλο)-προπιονικό οξύ



Η ουσία απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης και με σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Hisamoto et al., 2004; Owen et al, 2003; Pabst et al., 1990).

Είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από φυτό, που ανήκει στα Πτεριδόφυτα.

Σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζεται κυανό χρώμα.

UV $_{\lambda_{\max}}$ (MeOH) nm: 250, 296.

Από το φάσμα $^1\text{H-NMR}$ πήραμε τα κάτωθι σήματα:

- Τα πρωτόνια H-3,5 εμφανίζονται ως μια διπλή κορυφή σε δ_{H} 7.10 ($J=8.0\text{Hz}$).
- Τα πρωτόνια H-2,6 εμφανίζονται ομοίως ως μία διπλή κορυφή σε δ_{H} 7.03 ($J=8.0\text{Hz}$).
- Τα μεθυλενικά πρωτόνια CH_2 -7 και CH_2 -8 εμφανίστηκαν ως μία πολλαπλή κορυφή σε δ_{H} 2.82.

Στη μεσαία περιοχή του φάσματος εμφανίζονται τα πρωτόνια ενός μορίου γλυκόσης.

- Σε δ_{H} 4.87 εμφανίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο H-1' ως μία διπλή κορυφή($J=7.1\text{Hz}$).
- Σε δ_{H} 3.88 και 3.69 εμφανίζονται τα πρωτόνια H-6'a και H-6'b αντίστοιχα.

Από το φάσμα COSY διαπιστώθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου H-2' σε δ_{H} 3.47 και επιβεβαιώθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων H-6'a και H-6'b. Επιπλέον, τα πρωτόνια σε δ_{H} 7.10 (H-3,5) συζεύγγουν με τα πρωτόνια σε δ_{H} 7.03 (H-2,6).

Από το φάσμα HMBC πήραμε τα παρακάτω δεδομένα:

- τα πρωτόνια H-3,5(δ_{H} 7.10) δίνουν ένα σήμα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_{C} 157.1, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον C-1. Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα με τον άνθρακα σε δ_{C} 29.6, συνεπώς πρόκειται για τον άνθρακα του μεθυλενίου CH_2 -7 (C-7).

- τα πρωτόνια H-2,6 ($\delta_H 7.03$) δίνουν ένα σήμα με άνθρακα σε $\delta_C 136.4$, με τον οποίο δίνουν σήμα και τα μεθυλενικά πρωτόνια CH₂-8($\delta_H 2.88$) και CH₂-7($\delta_H 2.88$), συνεπώς πρόκειται για τον τεταρτοταγή άνθρακα C-4.
- το ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόσης ($\delta_H 4.87$) δίνει ένα διασταυρούμενο σήμα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε $\delta_C 157.1$ (C-1). Επομένως, συμπεραίνουμε ότι η γλυκόση συνδέεται στον C-1 του αρωματικού δακτυλίου.
- Τα μεθυλενικά πρωτόνια CH₂-7 ($\delta_H 2.88$) δίνουν ένα σήμα με άνθρακα σε $\delta_C 129.9$, συνεπώς πρόκειται για τον C-3,5.

Από το φάσμα HSQC διαπιστώνεται ότι στην κορυφή σε $\delta_H 2.88$ αντιστοιχούν δύο σήματα ανθράκων σε $\delta_C 29.6$ και 44.8 . Στο φάσμα HMBC παρατηρούμε ένα διασταυρούμενο σήμα των πρωτονίων H-3,5 ($\delta_H 7.10$) με τον άνθρακα σε $\delta_C 29.6$ και καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για τον άνθρακα του μεθυλενίου CH₂-7 (C-7). Συνεπώς ο άνθρακας σε $\delta_C 44.8$ αντιστοιχεί στον άνθρακα του CH₂-8 (C-8). Επίσης, παρατηρούνται και τα μεταξύ τους διασταυρούμενα σήματα.

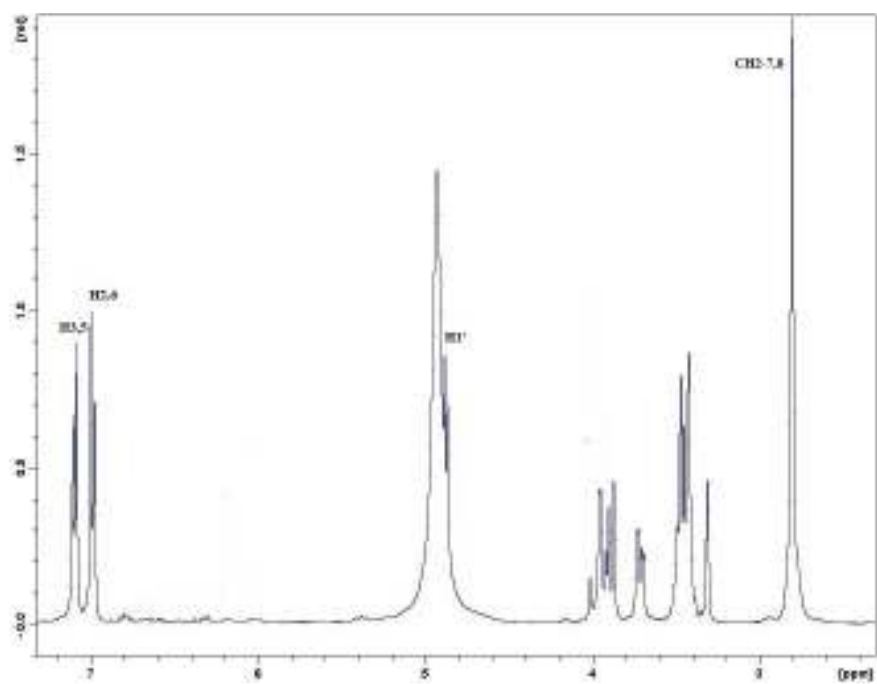
Στο φάσμα ROESY παρατηρήθηκαν τα διασταυρούμενα σήματα rOe μεταξύ των H-3,5/CH₂-7 & CH₂-8, H-2,6/H-1'.

Από το φάσμα ¹³C-NMR παρατηρήσαμε μία κορυφή σε $\delta_C 175.9$, η οποία συμπεράναμε ότι πρόκειται για τον άνθρακα της καρβοξυλομάδας.

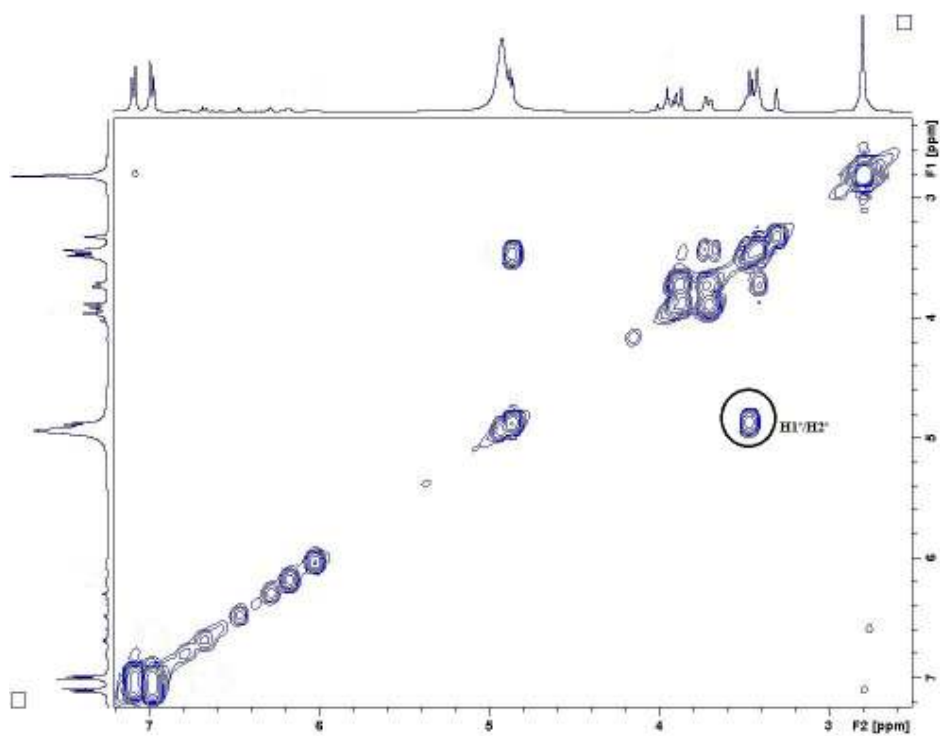
Πίνακας 8: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας **8** (CD₃OD, 400MHz)

Θέση	δ_H (ppm)	Πολλαπλότητα (J, Hz)	Δ_C (ppm)
1	-	-	157.1
2,6	7.03	d(8.0)	117.8
3,5	7.10	d(8.0)	129.9
4	-	-	136.4
7	2.82	M	29.6
8			44.8
-COOH	-	-	175.9
γλυκόση			
1'	4.87	d (7.1)	101.9
2'	3.47	*	74.6
3'	3.44	*	77.8
4'	3.43	*	71.9
5'	3.42	*	78.0
6'a	3.88	dd (11.9, *)	62.1
6'b	3.69	dd(11.9, 2.9)	

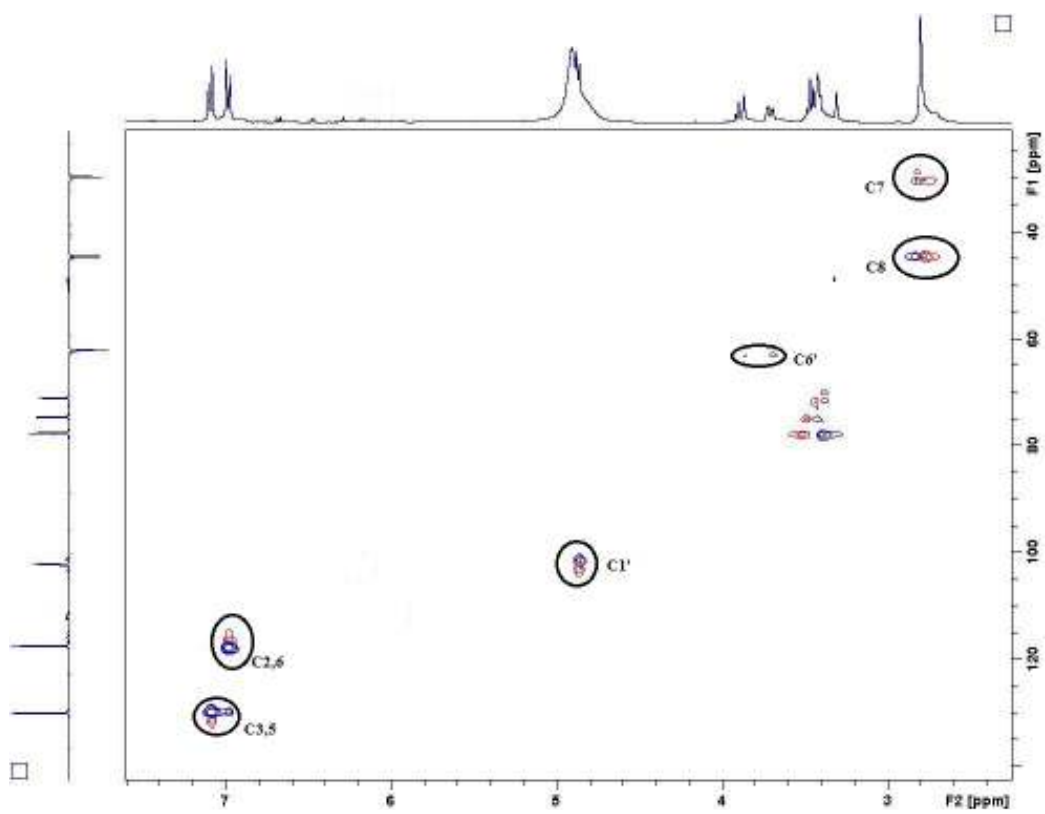
*επικαλυπτόμενα σήματα



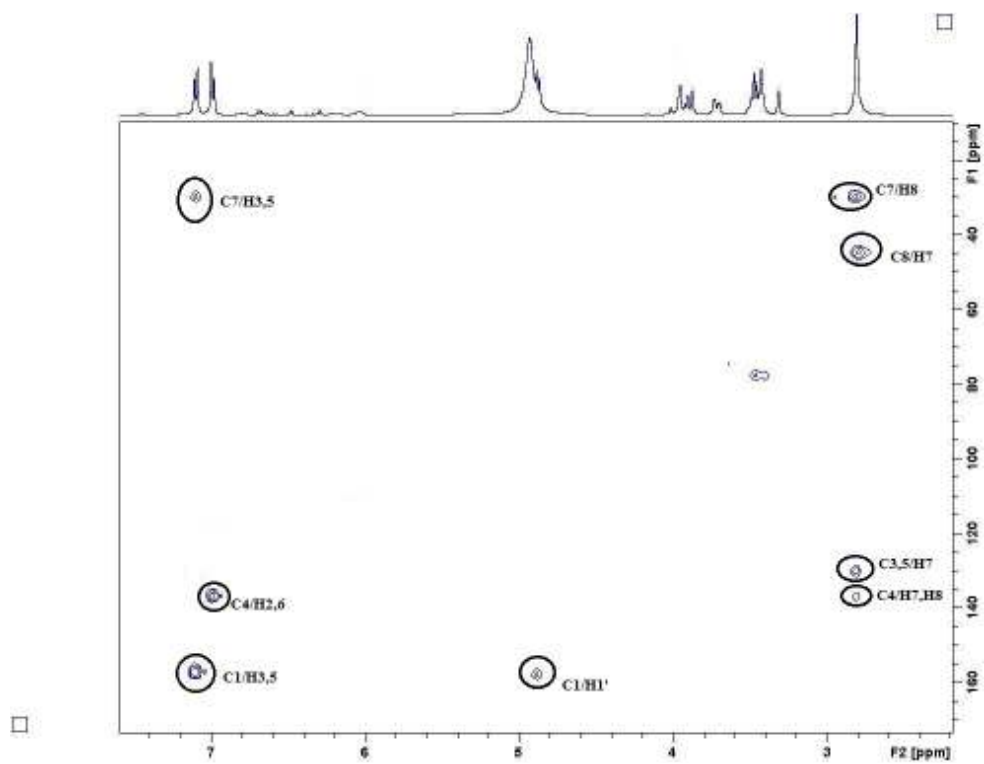
Φάσμα ^1H - NMR της ουσίας **8**



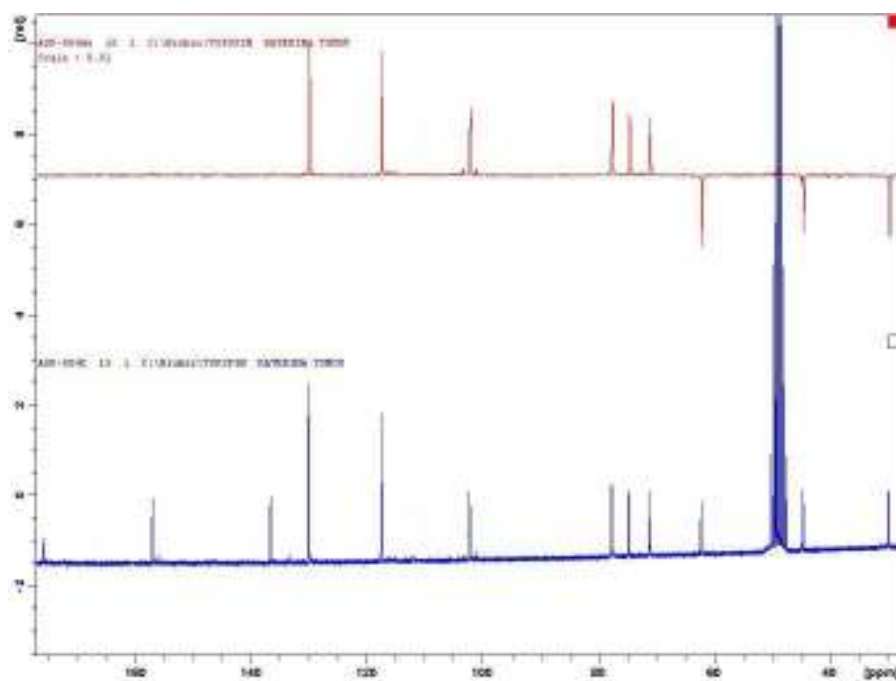
Φάσμα COSY της ουσίας **8**



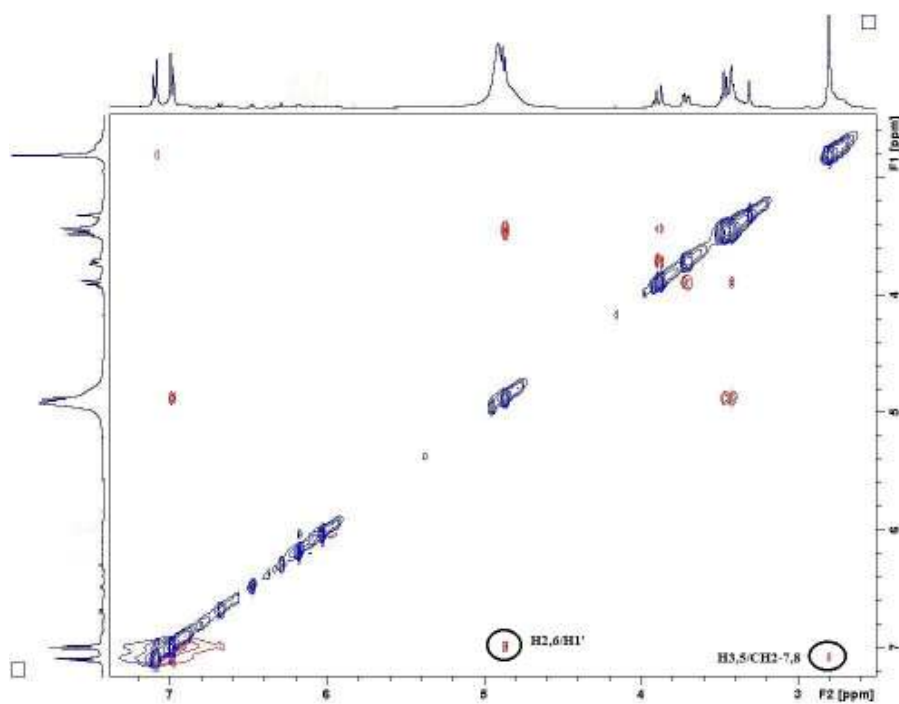
Φάσμα HSQC της ουσίας **8**



Φάσμα HMBC της ουσίας **8**

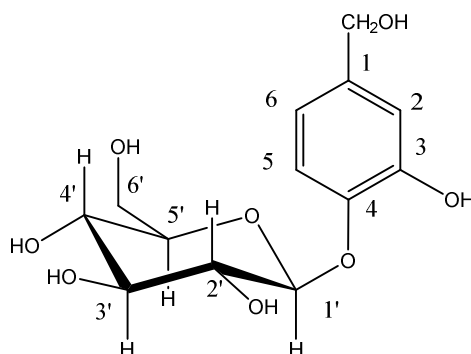


Φάσμα ^{13}C -DEPT(πάνω) - ^{13}C -NMR (κάτω) της ουσίας **8**



Φάσμα ROESY της ουσίας **8**

Γ.ΙΙΙ.3. Ουσία 9:4-β-O-D-γλυκοσυλο-3,4-διυδροξυβενζυλο-αλκοόλη



Η ουσία απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Challice et al., 1980).

Έχει απομονωθεί από τα φυτά *Pyrus calleryana* (Rosaceae) και *Prunus lusitanica* (Rosaceae) (Challice et al., 1980).

Είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από φυτό, που ανήκει στα Πτεριδόφυτα.

Σε υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης εμφανίζει κυανό φθορισμό.

$UV_{\lambda_{max}}$ (MeOH) nm: 280.5, 326 (sh).

Από το φάσμα 1H -NMR πήραμε τα κάτωθι σήματα:

- Το H-5 εμφανίζεται ως μια διπλή κορυφή σε δ_H 7.14 ($J=8.3\text{Hz}$).
- Το H-2 εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ_H 6.88 ($J=1.9\text{Hz}$).
- Το H-6 εμφανίζεται ως μία διπλώς διπλή κορυφή σε δ_H 6.77 ($J=8.3, 1.9\text{Hz}$).
- Τα μεθυλενικά πρωτόνια εμφανίζονται ως μία απλή κορυφή σε δ_H 4.48.

Στη μεσαία περιοχή του φάσματος εμφανίζονται τα πρωτόνια ενός μορίου γλυκόσης:

- Σε δ_H 4.75 εμφανίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο H-1' ως μία διπλή κορυφή ($J=7.2\text{Hz}$).
- Σε δ_H 3.89 και 3.73 εμφανίζονται τα πρωτόνια H-6'a και H-6'b, αντίστοιχα.

Από το φάσμα COSY διαπιστώθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις του πρωτονίου H-2' σε δ_H 3.49 και οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων H-6'a και H-6'b. Επιπλέον, το πρωτόνιο σε δ_H 7.14 (H-5) συζεύγνυται με το πρωτόνιο σε δ_H 6.77 (H-6). Επίσης, το πρωτόνιο H-6'b σε δ_H 3.73 συζεύγνυται με το πρωτόνιο σε δ_H 3.43 (H-5').

Από το φάσμα HSQC διαπιστώνεται ότι τα πρωτόνια σε δ_H 4.48, αντιστοιχούν στο ίδιο σήμα άνθρακα σε δ_C 64.8. Επιπλέον, από το φάσμα HSQC της ουσίας προσδιορίστηκαν οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονιωμένων ανθράκων (βλ. πίνακα).

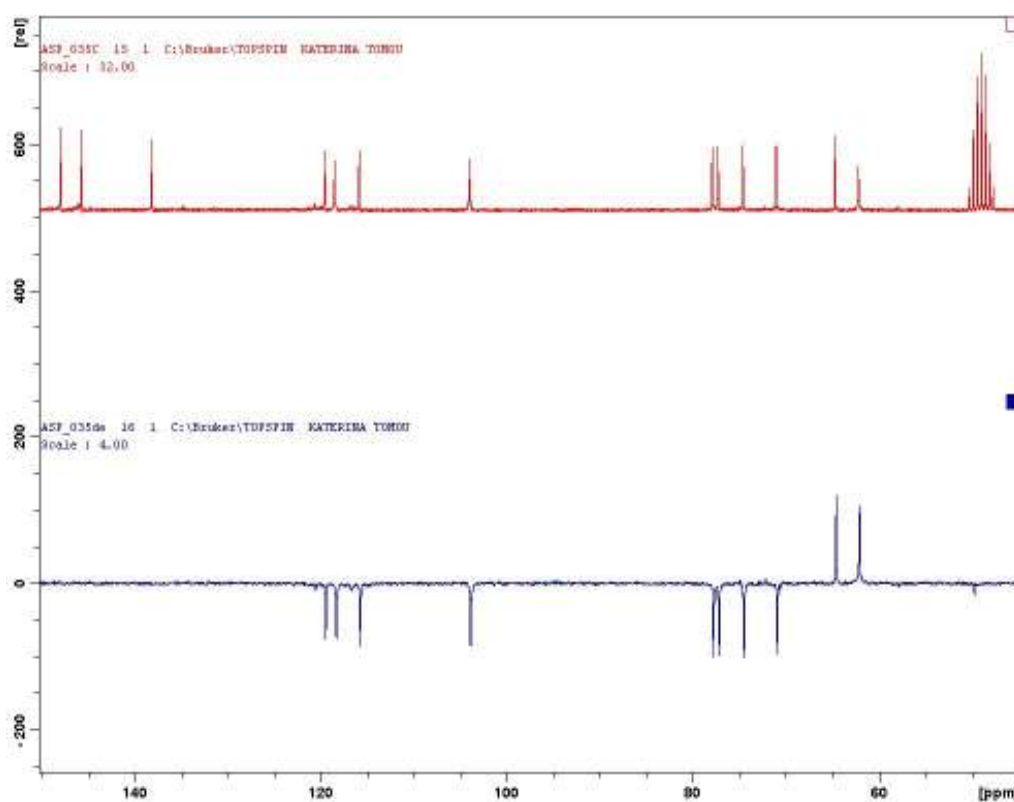
Από το φάσμα HMBC πήραμε τα παρακάτω δεδομένα:

- Το πρωτόνιο H-5 (δ_H 7.14) δίνει ένα σήμα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 138.2, συνεπώς πρόκειται για τον C-1. Επιπλέον, δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 146.0 και σε δ_C 148.2, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον άνθρακα C-4 και C-3, αντίστοιχα.
- Το πρωτόνιο H-2 (δ_H 6.88) δίνει ένα σήμα διασταύρωσης σε δ_C 64.8 και ένα σήμα με άνθρακα σε δ_C 119.6, προκύπτει ότι είναι ο μεθυλενικός άνθρακας και ο άνθρακας C-6 αντίστοιχα (φάσμα HSQC). Επιπλέον, δίνει ένα σήμα με τους τεταρτοταγείς άνθρακες σε δ_C 146.0 και 148.2, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τους άνθρακες C-4 και C-3, αντίστοιχα.
- Το πρωτόνιο H-6 (δ_H 6.77) δίνει ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα σε δ_C 64.8 και ένα σήμα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 146.0, συνεπώς πρόκειται για τον μεθυλενικό άνθρακα και για τον άνθρακα C-4, αντίστοιχα. Επιπλέον, δίνει ένα σήμα με τον άνθρακα σε δ_C 115.1 (C-2) (φάσμα HSQC).
- Επίσης και τα μεθυλενικά πρωτόνια (δ_H 4.48) δίνουν ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-2 σε δ_C 115.1 και ένα σήμα διασταύρωσης με τον άνθρακα C-6 σε δ_C 119.6 (φάσμα HSQC). Επιπλέον, δίνουν ένα σήμα με τον τεταρτοταγή άνθρακα σε δ_C 138.2, οπότε συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για τον άνθρακα C-1.

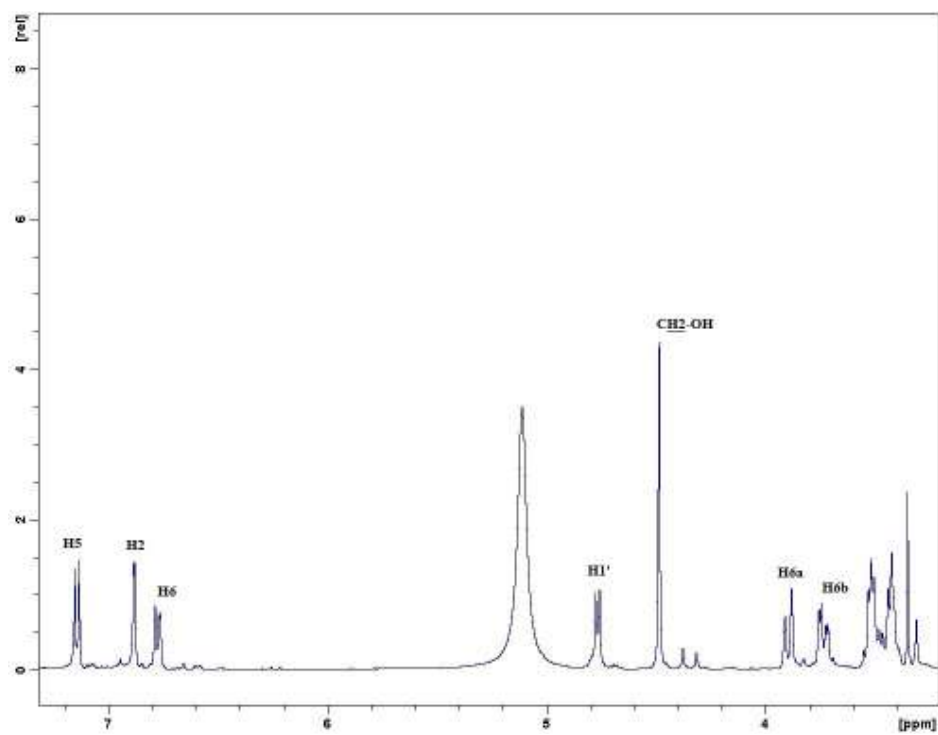
Η επιβεβαίωση της δομής κατέστη δυνατή μετά από πλήρη μελέτη των φασμάτων HMBC, ^{13}C -NMR και ^{13}C -NMR/DEPT.

Πίνακας9: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας9 (CD₃OD, 400MHz)

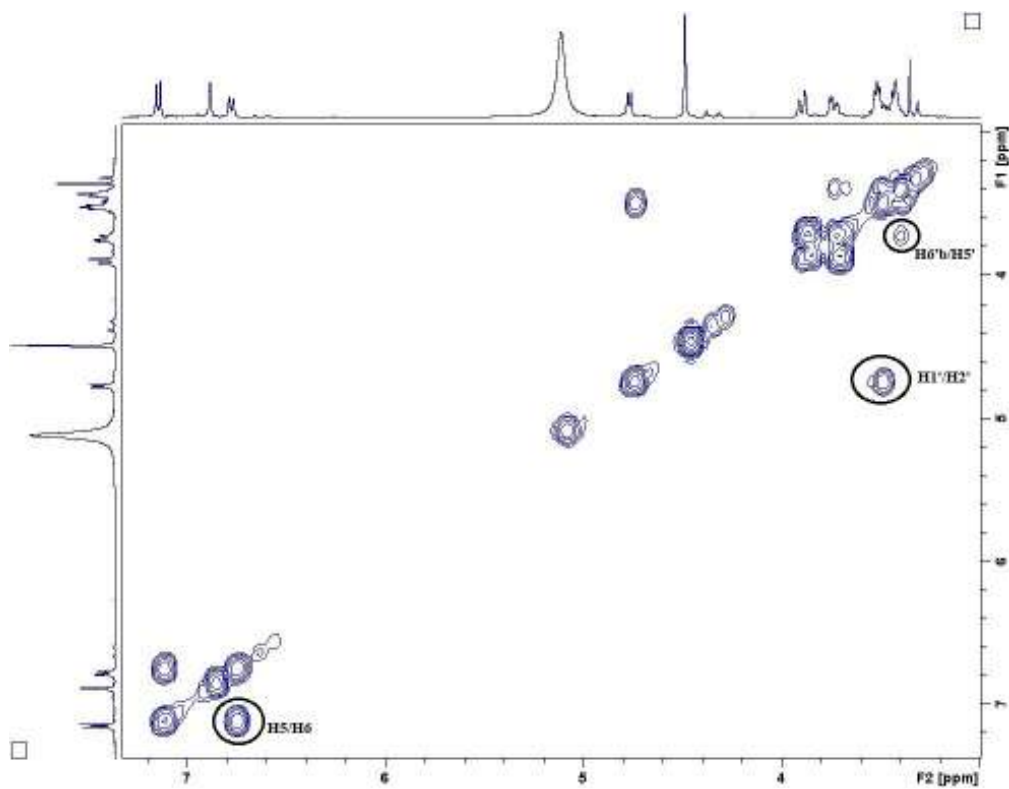
Θέση	δ_H (ppm)	Πολλαπλότητα (J,Hz)	δ_C (ppm)
1	-	-	138.2
2	6.88	d(1.9)	115.8
3	-	-	148.2
4	-	-	146.0
5	7.14	d(8.3)	118.3
6	6.77	dd(8.3, 1.9)	119.6
-CH ₂	4.48	s	64.8
γλυκόση			
1'	4.75	d(7.2)	103.9
2'	3.49	*	74.5
3'	*	*	77.1
4'	*	*	70.9
5'	3.43	*	77.8
6'a	3.89	dd(12.3, 1.8)	62.2
6'b	3.73	dd(12.3, 4.3)	



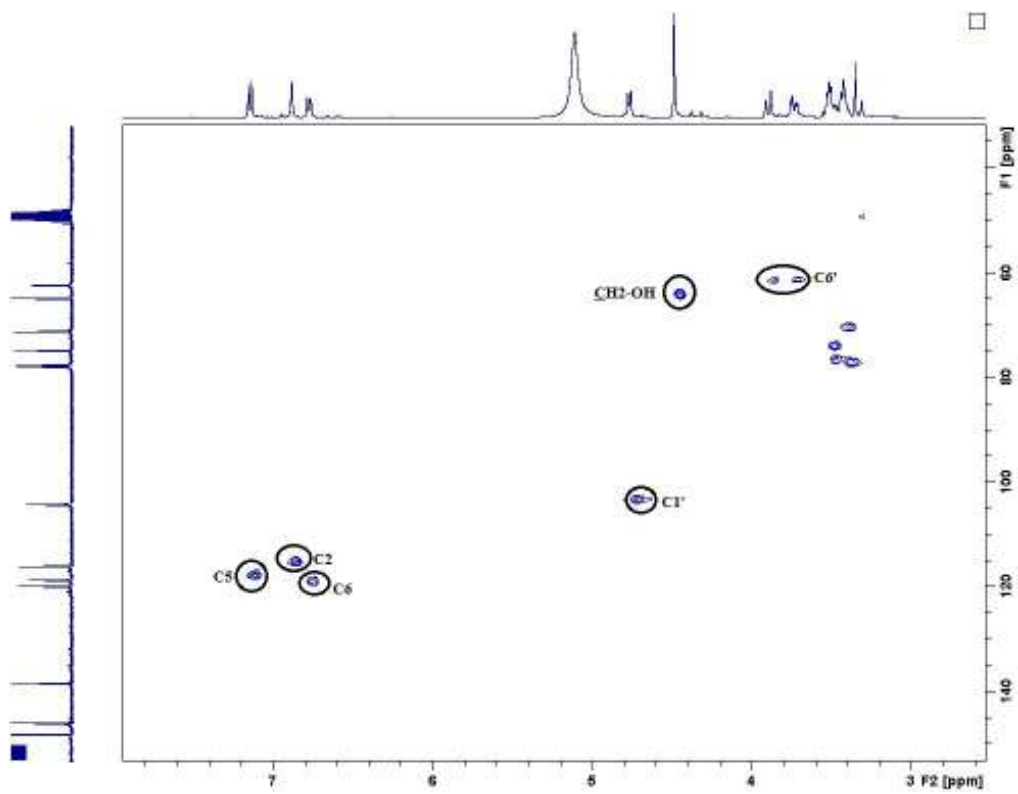
Φάσματα ¹³C-NMR & ¹³C-NMR /DEPT της ουσίας9



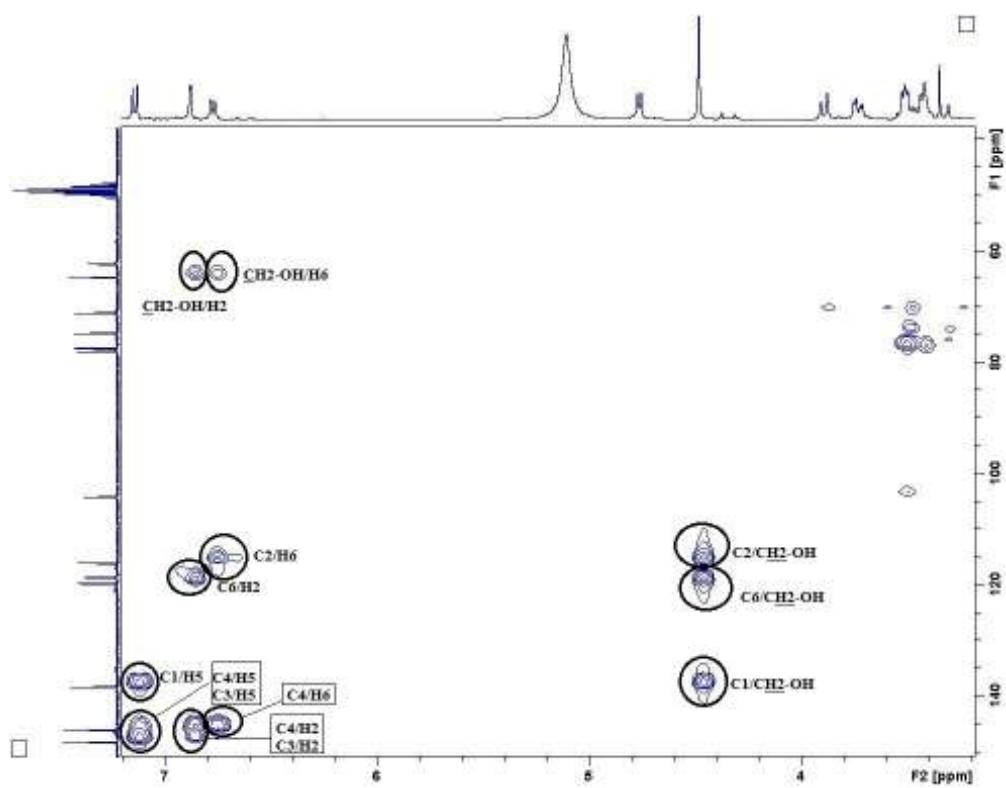
Φάσμα ^1H - NMR της ουσίας **9**



Φάσμα COSY της ουσίας **9**



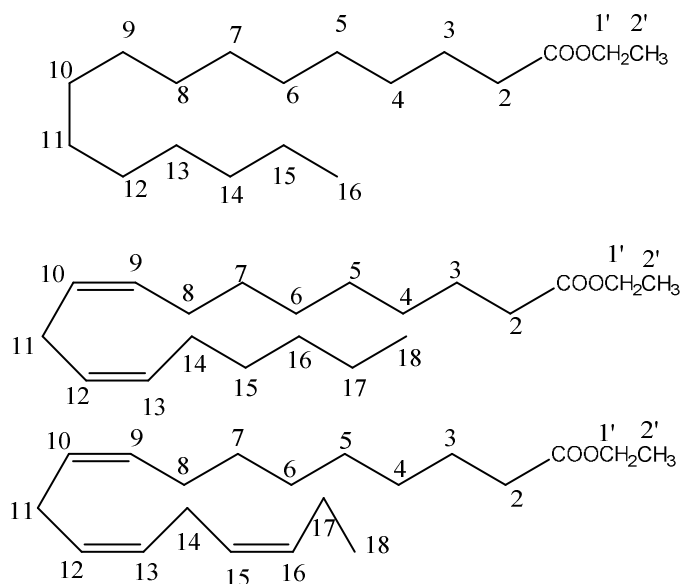
Φάσμα HSQC της ουσίας 9



Φάσμα HMBC της ουσίας 9

Γ.IV Λιπαρά Οξέα

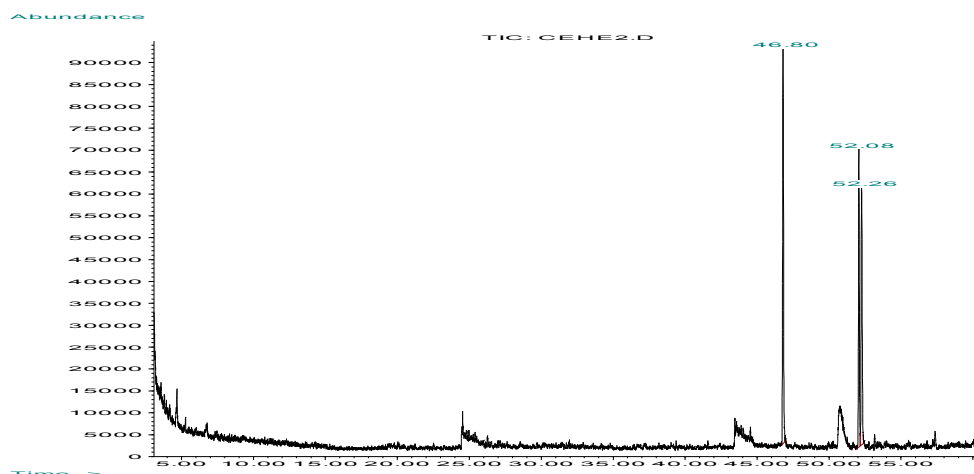
Γ.IV.1. Ουσία 10: Μίγμα αιθυλεστέρα του παλμιτικού οξέος(C16), αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος(C18:2) και αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος(C18:3)



Το κυκλοεξανικό εκχύλισμα αναλύθηκε μέσω αέριου χρωματογράφου συζευγμένου με φασματόμετρο μάζης (GC-MS) και μέσω των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$ και HSQC. Το μίγμα ταυτοποιήθηκε μετά από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Kawsar et al., 2009; Lee&Chang, 2000; Vlahov, 1999).

Ο αιθυλεστέρας του παλμιτικού οξέος ($\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$) έχει βρεθεί σε διάφορα φυτά όπως *Hugonia mystax* (Linaceae) και *Mentha piperita* (Lamiaceae) (Gherman et al., 2000; Vimalavady&Kadavul, 2013). Έχει βρεθεί και σε φτέρες όπως *Dryopteris crassirizhoma* (Aspidiaceae) και *Adiantum capillus-veneris* (Pteridaceae) (Chang et al., 2010; Kale, 2015). Ορισμένες από τις βιολογικές του δράσεις είναι η αντιοξειδωτική και υποχοληστερολαιμική δράση (Kale&Dubal, 2015).

Ο αιθυλεστέρας του λινελαϊκού οξέος ($\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$) έχει βρεθεί σε πληθώρα φυτών όπως *Hedyotis diffusa* (Rubiaceae) και *Ferulago nodosa* (Apiaceae) (Demetzos et al., 2000; Chen et al, 2016) και ο αιθυλεστέρας του α-λινολενικού οξέος ($\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$) έχει βρεθεί σε ένα μεγάλο αριθμό φυτών όπως *Ocimum suave* (Lamiaceae) κλπ. (Chogo&Crank, 1981).



Η αναζήτηση στη βιβλιοθήκη WILEY275.L έδειξε για τις τρεις βασικές κορυφές τα ακόλουθα:

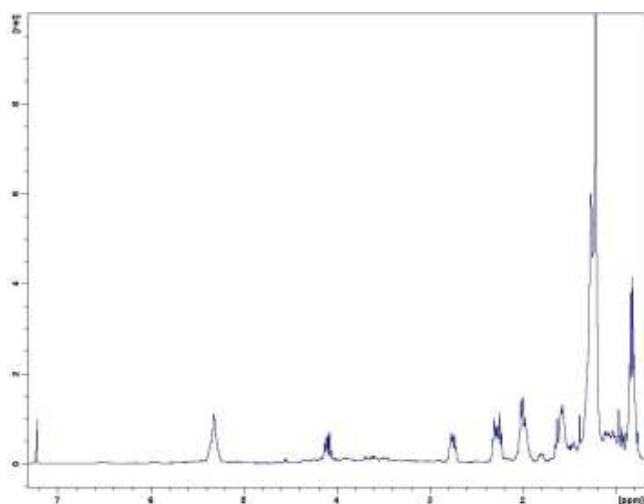
	R _t	%	Ουσία	MB
1	40.27	46.81	αιθυλεστέρα του παλμιτικού οξέος	284
2	52.08	28.11	αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος	308
3	52.27	31.62	αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος	306

Από το φάσμα ¹H-NMR των ουσιών, προέκυψαν τα εξής σήματα:

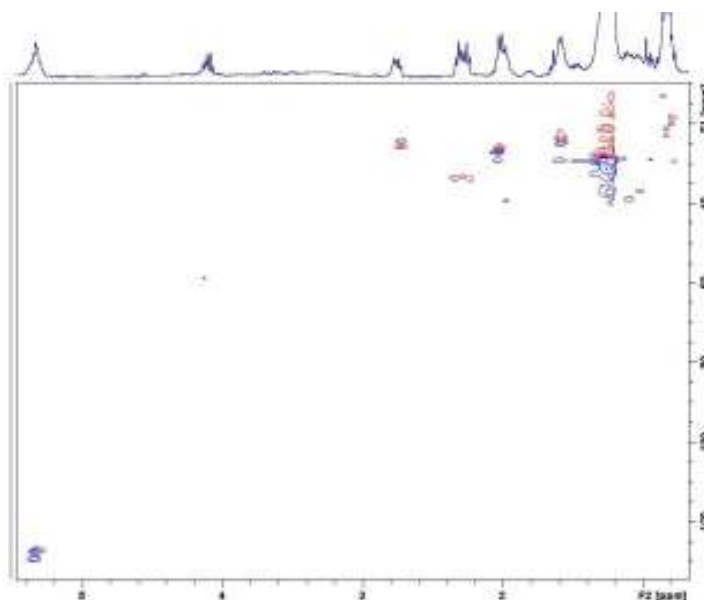
- Τα πρωτόνια H-1' και των τριών ουσιών εμφανίζονται ως μία πολλαπλή κορυφή στην οξυγονωμένη περιοχή σε δ_H 4.11.
- Τα πρωτόνια H-2' και των τριών ουσιών εμφανίζονται ως μία πολλαπλή κορυφή στην αλειφατική περιοχή σε δ_H 1.14.
- Τα πρωτόνια H-2 και των τριών ουσιών εμφανίζονται αποθωρακισμένα ως μία πολλαπλή κορυφή σε δ_H 2.26.
- Τα πρωτόνια H-3 και των τριών ουσιών εμφανίζονται ως μία πολλαπλή κορυφή στην αλειφατική περιοχή σε δ_H 1.58.
- Τα ολεφινικά πρωτόνια H-9, H-10, H-12, H-13 (του αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος) και τα ολεφινικά πρωτόνια H-9, H-10, H-12, H-13, H-15, H-16 (του αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος), έχουν κοινό σήμα σε ολεφινική περιοχή σε δ_H 5.35 και είναι το πιο αποθωρακισμένο σήμα του φάσματος.
- Τα πρωτόνια H-11 (του αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος) και τα H-11, H-14 (του αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος), τα οποία βρίσκονται ανάμεσα σε δύο ολεφινικά μεθίλια, αποθωρακίζονται περισσότερο από τα υπόλοιπα μεθυλένια, και αντιστοιχούν σε μια πολλαπλή κορυφή σε δ_H 2.75.

- Τα πρωτόνια H-4 έως H-15 (του αιθυλεστέρα του παλμιτικού οξέος), τα πρωτόνια H-4, H-5, H-6, H-7, H-16, H-17 (του αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος) και τα πρωτόνια H-4, H-5, H-6, H-7 (του αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος), εμφανίζουν ένα κοινό πολλαπλό σήμα στο φάσμα, που είναι στην αλειφατική περιοχή του φάσματος σε δ_H 1.21-1.29.
- Τα πρωτόνια του μεθυλίου (H-16, του αιθυλεστέρα του παλμιτικού οξέος/ H-18 του αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος και του αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος) κατέχουν την πιο θωρακισμένη κορυφή του φάσματος, η οποία είναι πολλαπλή κορυφή σε δ_H 0.83.
- Τα πρωτόνια H-8, H-14 (του αιθυλεστέρα του λινελαϊκού οξέος) και τα πρωτόνια H-8, H-17 (του αιθυλεστέρα του α-λινολενικού οξέος), εμφανίζονται ως πολλαπλή κορυφή σε δ_H 2.01.

Από το φάσμα HSQC παρατηρήσαμε σήματα: στην ολεφινική περιοχή του φάσματος (σε δ_C 128-130), στην περιοχή των οξυγονωμένων ανθράκων (σε δ_C 58), στην περιοχή των μεθυλενικών ανθράκων (σε δ_C 20-40) και στην αλειφατική περιοχή (σε δ_C 10-20).



Φάσμα ^1H -NMR του κυκλοεξανικού εκχυλίσματος



Φάσμα HSQC του κυκλοεξανικού εκχυλίσματος

**Γ.Υ ΚΑΤΕΡΓΑΣΜΑΤΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΛΑΪΚΗ
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ**

Παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα, αφεψήματα και ένα έγχυμα του *A.ceterach*, σύμφωνα με την βιβλιογραφία και από προφορικές πληροφορίες βικογιατρών (αφέψημα 3, εκχυλίσματα I, II, III, έγχυμα). Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση του χημικού φορτίου των παρασκευασμάτων, που χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική.

Αφεψήματα-Έγχυμα	Διαδικασία παρασκευής
Αφέψημα 1 (www.monastiriaka.gr)	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού τοποθετήθηκαν σε περίπου 400 ml (1 ½κούπα H ₂ O). Βρασμός επί 5 min. Διήθηση και συμπύκνωση
Αφέψημα 2 (De Feo et al., 1992; Said et al., 2002)	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού, τοποθετήθηκαν σε περίπου 120 ml H ₂ O. Βρασμός επί 5 min. Διήθηση και συμπύκνωση
Αφέψημα 3	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού, τοποθετήθηκαν σε περίπου 120 ml H ₂ O. Βρασμός επί 10 min Διήθηση και συμπύκνωση
Εκχύλισμα I (Malamas & Marselos, 1992)	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού, τοποθετήθηκαν σε περίπου 100 ml διαλύματος EtOH : H ₂ O 12: 88. Βρασμός επί 5 min. Διήθηση και συμπύκνωση
Εκχύλισμα II	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού, τοποθετήθηκαν σε περίπου 100 ml διαλύματος EtOH: H ₂ O 50: 50. Βρασμός επί 5 min. Διήθηση και συμπύκνωση
Εκχύλισμα III	Ζυγίστηκαν 6 g του φυτού, τοποθετήθηκαν σε περίπου 100 ml διαλύματος EtOH: H ₂ O 70: 30. Βρασμός επί 5 min. Διήθηση και συμπύκνωση
Έγχυμα	Σε 120ml ζέοντος H ₂ O προστέθηκαν 6 g φυτού, όπου παρέμειναν επί για 2min.

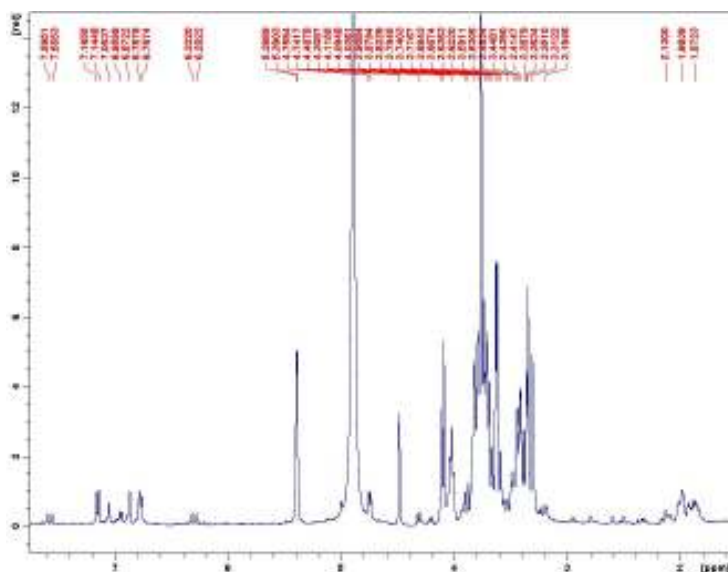
Χρησιμοποιήθηκε EtOH (absolut ep.a.Panreac, Art.121086).

Μετά τη συμπύκνωση, τα παραπάνω δείγματα συγχρωματογραφήθηκαν επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης και με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης οξικό οξύ 30% (CH₃COOH:H₂O 30:70) με τις ουσίες, που έχουν απομονωθεί από το εκχύλισμα του οξικού αιθυλεστέρα και το βουτανολικό εκχύλισμα.

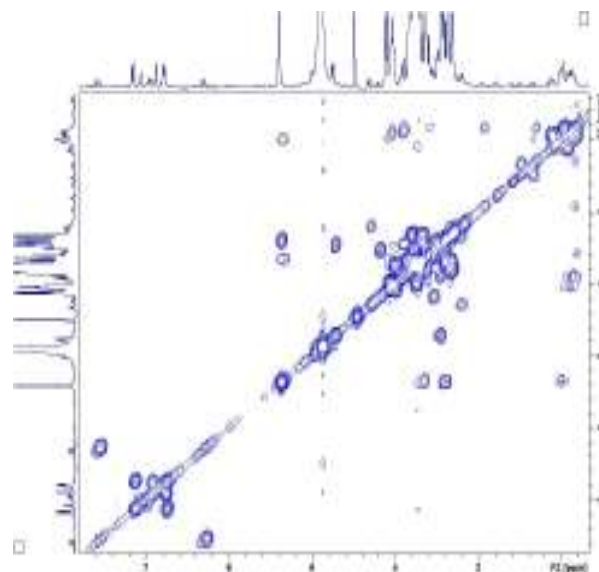
Παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα:

Στα αφεψήματα και στο έγχυμα διαπιστώθηκε η παρουσία όλων των συστατικών, που έχουν απομονωθεί. Αντιθέτως στα αιθανολικά εκχυλίσματα διαπιστώθηκε η παρουσία μόνο των φαινολοξέων.

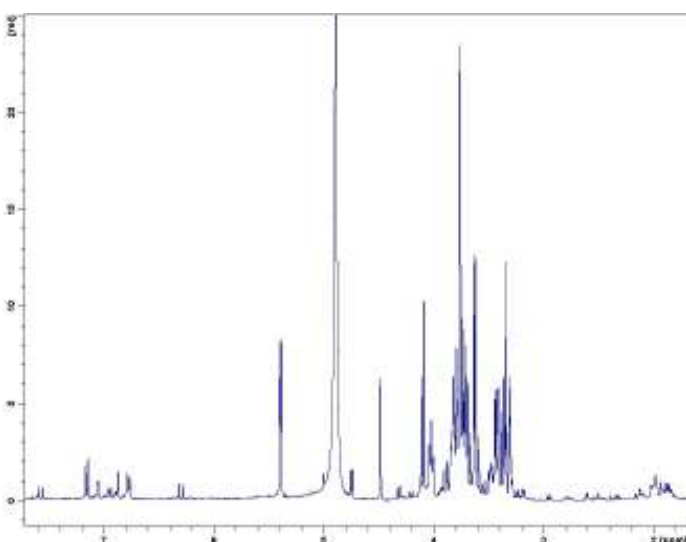
Επίσης, τα κατεργάσματα ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με φάσματα $^1\text{H-NMR}$, COSY και HSQC. Τα φάσματα HSQC των κατεργασμάτων ήταν ίδια, για αυτό το λόγο παρουσιάζεται ενδεικτικά ένα φάσμα HSQC του εκχυλίσματος II.



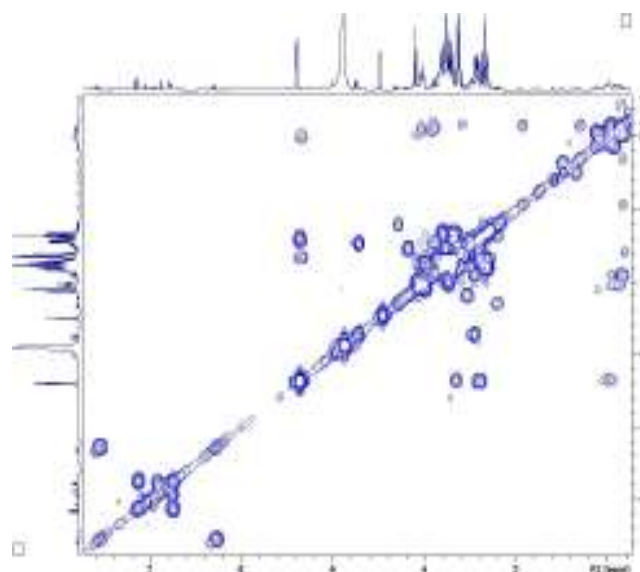
Φάσμα ^1H -NMR αφέψημα 1



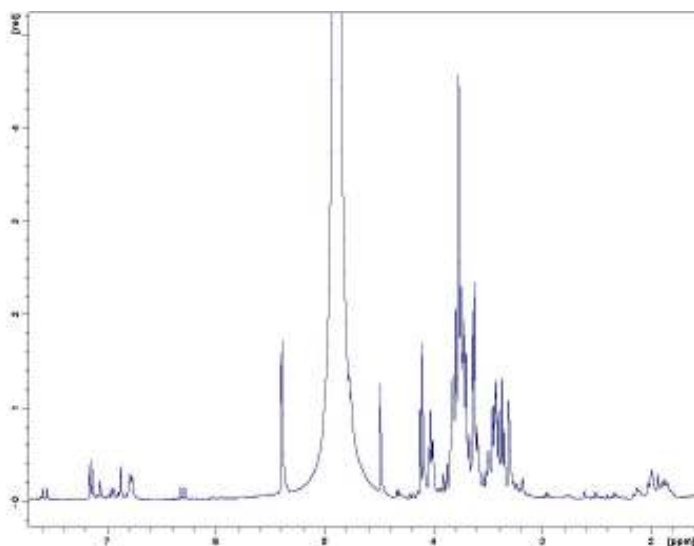
Φάσμα COSY αφέψημα 1



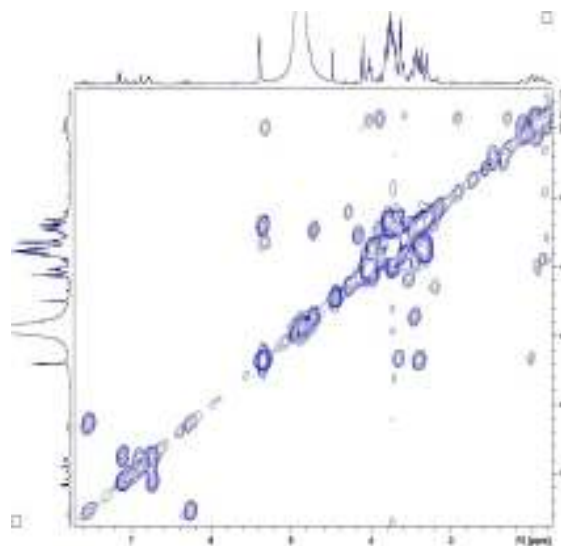
Φάσμα ^1H -NMR αφέψημα 2



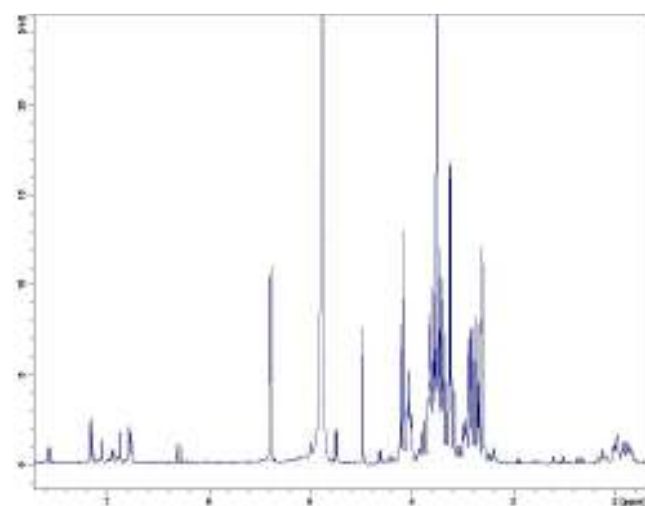
Φάσμα COSY αφέψημα 2



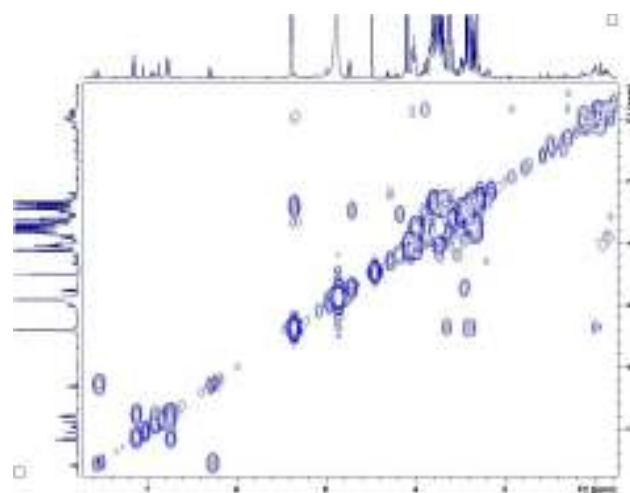
Φάσμα ^1H -NMR αφέψημα 3



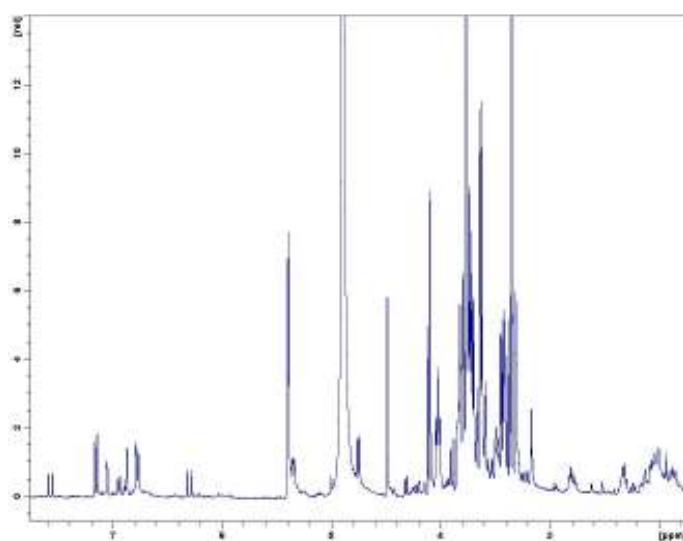
Φάσμα COSY αφέψημα 3



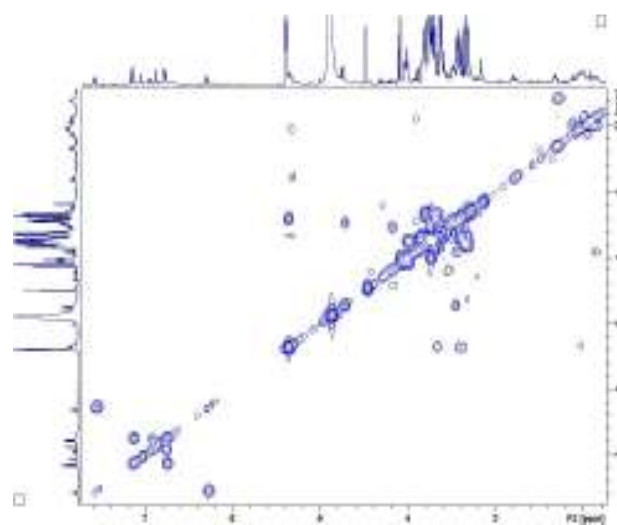
Φάσμα ^1H -NMR εκχύλισμα I



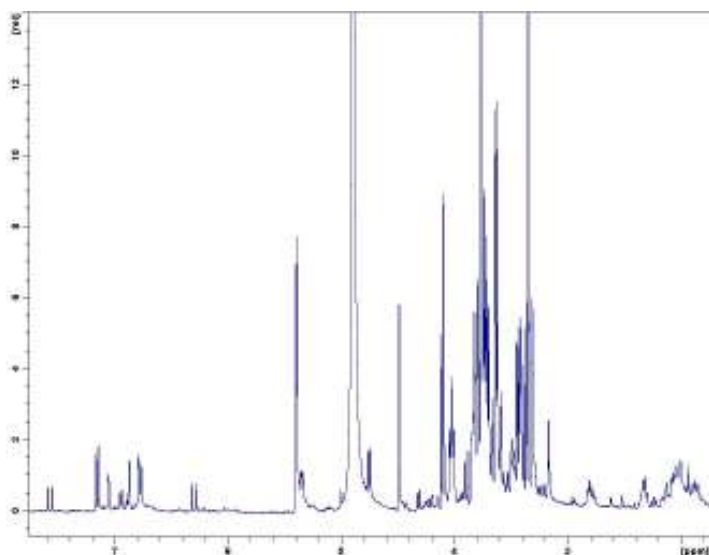
Φάσμα COSY εκχύλισμα I



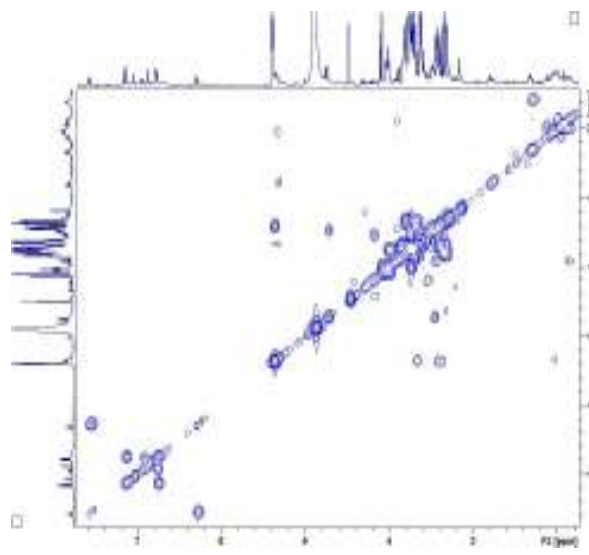
Φάσμα ^1H -NMR εκχύλισμα II



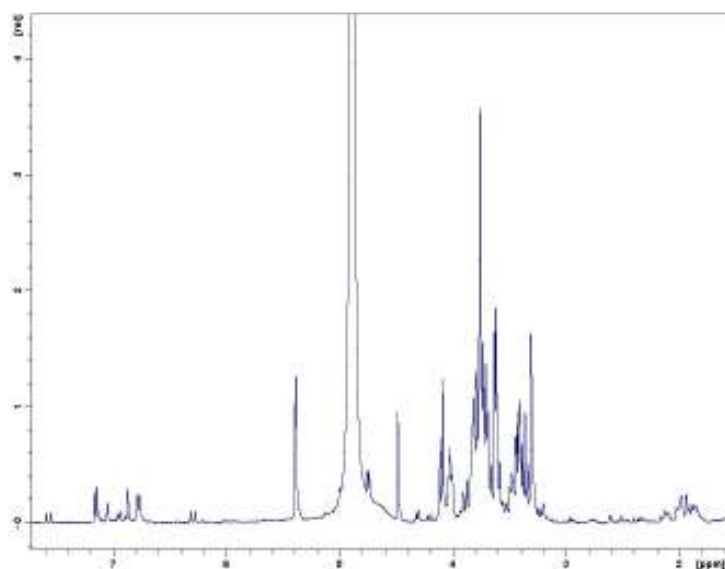
Φάσμα COSY εκχύλισμα II



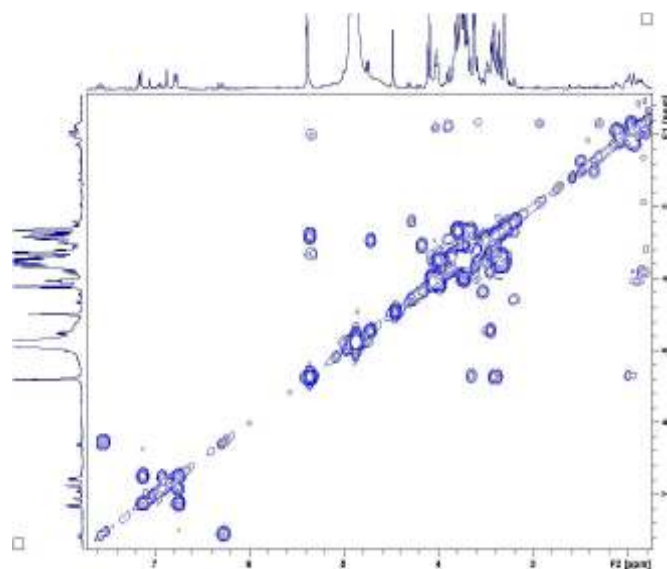
Φάσμα ^1H -NMR εκχύλισμα III



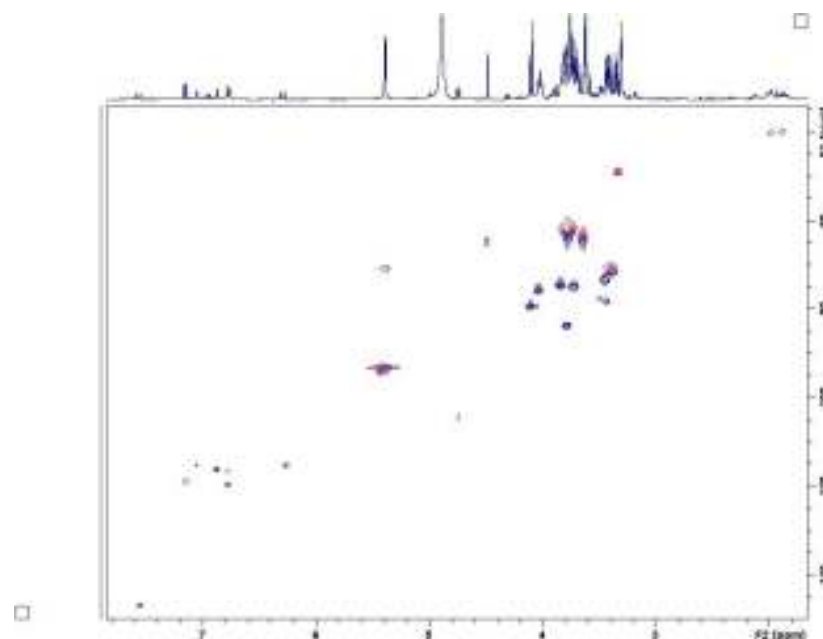
Φάσμα COSY εκχύλισμα III



Φάσμα ^1H -NMR έγχυμα



Φάσμα COSY έγχυμα



Φάσμα HSQC εκχυλίσμα II

Με βάση τη φασματοσκοπική εξέταση των κατεργασμάτων διαπιστώθηκε η παρουσία των φαινολοξέων σε όλα. Δεδομένου ότι τα κύρια σήματα στην αρωματική περιοχή του χλωρογενικού οξέος και του καφεϊκού οξέος συμπίπτουν δεν κατέστη εφικτό να διαπιστωθεί αν υπάρχουν και τα δύο ή μόνο ένα εξ αυτών. Όσον αφορά την παρουσία του π-κουμαροϋλο-γλυκοσίδη δεν είναι εμφανής λαμβάνοντας υπόψιν ότι τα σήματα στην αρωματική περιοχή διαφέρουν. Επιπλέον, σε όλα τα φάσματα είναι εμφανής η παρουσία σακχάρων, όπως φαίνεται στο φάσμα HSQC από τα σήματα των ανθράκων στην οξυγονωμένη περιοχή δc 83.0-61.0.

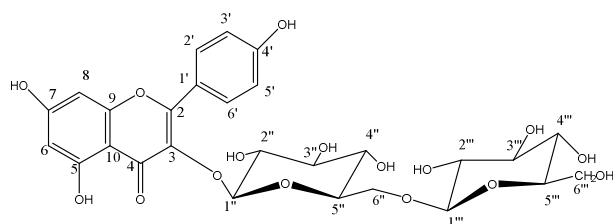
Προκειμένου να διαπιστωθεί η παρουσία των δύο προαναφερθέντων φαινολοξέων ή του ενός εξ αυτών επιλέγει το αφέψημα 2, το οποίο υποβλήθηκε σε αναλυτική υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) συνδεδεμένη με ανιχνευτή διαθλασίμετρο, με ροή 1 ml/min και ως διαλύτη έκλουσης το ισοκρατικό μίγμα μεθανόλης:οξικού οξέος 2% (MeOH: CH₃COOH 2%) σε αναλογία 1:1. Το χρωματογράφημα του αφεψήματος συγκρίθηκε με το χρωματογράφημα πρότυπου καφεϊκού οξέος (Rt 9.5 min) και με το χρωματογράφημα πρότυπου χλωρογενικού οξέος (Rt 9.3 min). Διαπιστώθηκε η παρουσία κυρίως χλωρογενικού οξέος και σε πολύ μικρή ποσότητα του καφεϊκού οξέος.

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

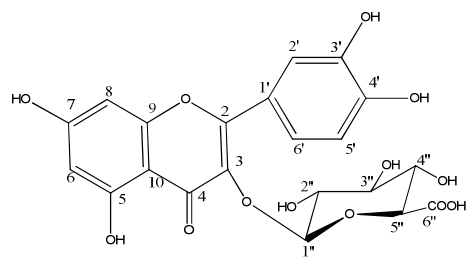
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι δευτερογενείς μεταβολίτες του περιδόφυτου *Asplenium ceterach* L. (= *Ceterach officinarum* Willd.) της οικογένειας Aspleniaceae.

Τα αποτελέσματα συνοπτικά αναφέρονται στον πίνακα που ακολουθεί. Συνολικά απομονώθηκαν 9 φυσικά προϊόντα και προσδιορίστηκε το χημικό φορτίο των παρασκευασμάτων, που χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική.

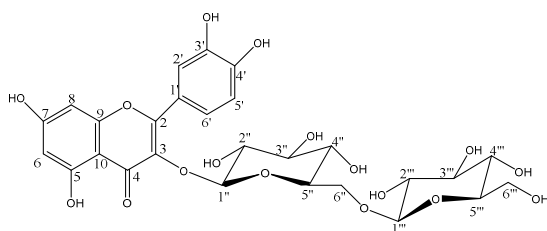
Φλαβονοειδή	Φαινολοξέα	Απλές φαινόλες
Καιμπφερολο-3-O-γεντιοβιοσίδης(1)	Ε-καφεϊκό οξύ(4)	4-βινυλο-φαινυλο-1-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης(7)
Κερκετινο-3-O-γλυκουρονίδιο(2)	Χλωρογενικό οξύ(5)	3-(1-O-β-D-γλυκοκυρανοσυλο-4-υδροξυφαινυλο)-προπιονικό οξύ(8)
Κερκετινο-3-O-γεντιοβιοσίδης(3)	π-κουμαροϋλο-4-O-β-D-γλυκοσίδης(6)	4-β-O-D-γλυκοσυλο-3,4-διυδροξυβενζυλο-αλκοόλη(9)



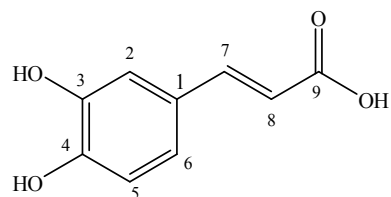
(1)



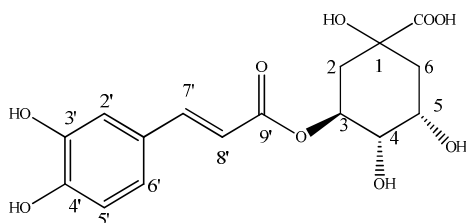
(2)



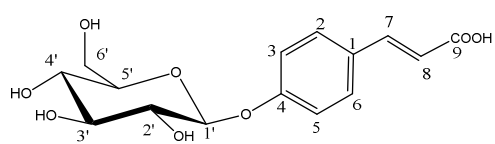
(3)



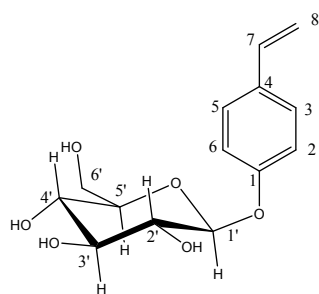
(4)



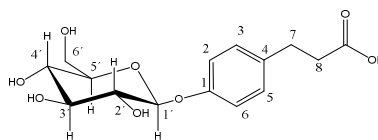
(5)



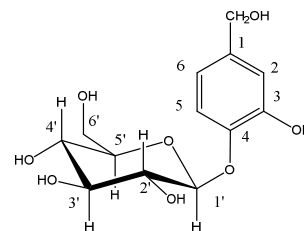
(6)



(7)

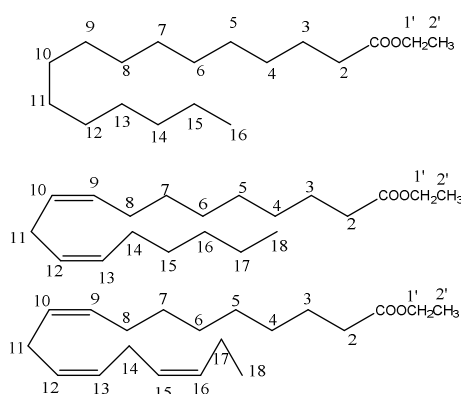


(8)



(9)

Επίσης μελετήθηκε το κυκλοεξανικό εκχύλισμα της δρόγης και διαπιστώθηκε η παρουσία των αιθυλεστέρων του παλμιτικού οξέος (C16), του λινελαϊκού οξέος (C18:2) και του α-λινολενικού οξέος (C18:3)



Η ουσία **1** αναφέρεται ως χημειοταξονομικός δείκτης του γένους *Asplenium* L. (Iwashina et al., 2000), όμως είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται στο *A. ceterach*.

Οι ουσίες **2-4** έχουν απομονωθεί από το *A. ceterach* (Iwashina&Matsumoto, 2011), καθώς και η ουσία **5** (Žincović et al., 2010).

Οι ουσίες **6** και **7** έχουν απομονωθεί στα Πτεριδόφυτα, όμως είναι η πρώτη φορά που απομονώνονται στο γένος *Asplenium* και συγκεκριμένα στο *A. ceterach*.

Οι ουσίες **8** και **9** δεν έχουν απομονωθεί στα Πτεριδόφυτα και είναι η πρώτη φορά που απομονώνονται στο γένος *Asplenium* και συγκεκριμένα στο *A. ceterach*.

Όσον αφορά το μίγμα των λιπαρών οξέων είναι η πρώτη φορά που έγινε σχετική ανάλυση.

Όσον αφορά τα αφεψήματα και το έγχυμα του *A. ceterach* L., που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο σύμφωνα με τη βιβλιογραφία και από προφορικές πληροφορίες

βικογιατρών (αφέψημα 3, εκχυλίσματα I, II, III, έγχυμα), διαπιστώθηκε με βάση τη φασματοσκοπική εξέταση η παρουσία του χλωρογενικού οξέος και του καφεϊκού οξέος σε όλα, ενώ δεν ήταν εμφανής η παρουσία του π-κουμαροϋλο-γλυκοσίδη. Τέλος, στο αφέψημα 2, το οποίο υποβλήθηκε σε αναλυτική υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης, διαπιστώθηκε η παρουσία κυρίως χλωρογενικού οξέος και σε πολύ μικρή ποσότητα του καφεϊκού οξέος.

Οι παρασκευές αυτές έγιναν λαμβάνοντας υπόψιν ότι με αυτούς τους τρόπους χρησιμοποιείται η δρόγη στη λαϊκή θεραπευτική κυρίως για τη διουρητική του δράση και κατά της ψαμίας με σκοπό να διερευνηθεί το χημικό προφίλ των παρασκευασμάτων. Φαίνεται από τις αναλύσεις ότι η διουρητική δράση οφείλεται στα φαινολοξέα και κυρίως στο χλωρογενικό οξύ. Από την βιβλιογραφία είναι γνωστή η διουρητική δράση αυτών των φαινολοξέων (Arafat et al., 2008; Jiménez-Ferrer et al., 2012; Kikowska et al., 2012).

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Adam, K-P., 1995. Caffeic acid derivatives in fronds of lady fern (*Athyrium filix-femina*). *Phytochemistry*, 40(5), 1577-1578.

Agelet, A., Vallés, J., 2003. Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part II. New or very rare uses of previously known medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 84, 211- 227.

André J., 1956. *Lexique des termes de botanique en latin. Etudes et commentaires XXIII.* Librairie C. Klincksieck, Paris, p. 45.

Arafat, O.M., Tham, S.Y., Sadikun, A., Zhari, I., Haughton, P.J., Asmawi, M.Z., 2008. Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats. *J. Ethnopharmacol.*, 118, 354-360.

Berck, S., Tepe, B., Arslan, S., Sarikurku, C., 2011. Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *Afr. J. Biotechnol.*, 10 (44), 8902-8908.

Bhardwaj, K.R., Lal, S.D., Jaiwal, P.K., 1982. Occurrence of rutin in *Asplenium trichomanes* L. *Curr. Sci.*, 51, 1036-1037.

Bourdy, G., François, C., Andary, C., Boucard, M., 1996. Maternity and medicinal plants in Vanuatu II. Pharmacological screening of five selected species. *J. Ethnopharmacol.*, 52, 139-143.

Brussell, D.E., 2004. Medicinal plants of Mt. Pelion, Greece. *Econ. Bot.*, 58, 174-202.

Carnoy A., 1959. *Dictionnaire étymologique des noms grecs de plantes.* Bibliothèque du Muséon, Louvain, p. 41.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Ling, S.K., Tan, S.P., Lim, K.K., Khoo, M.G.H., 2009. Caffeoylquinic acids from leaves of *Etlingera species* (Zingiberaceae). *Food Sci. Technol.*, 42, 1026-1030.

Chang, S.W., Kim, K.H., Lee, I.K., Choi, S.U., Riu, S.Y., Lee, K.R., 2009. Phytochemical Constituents of *Bistorta manshuriensis*. Nat. Prod.Res., 15(4), 234-240.

Chang, S-H., Bae, J-H., Hong, D-O., Choi, K-D., Kim, S-C., Her, E., Kim, S-H., Kang, C-D., 2010. Dryopteris crassirhizoma has anti-cancer effects through both extrinsic and intrinsic apoptotic pathways and G0/G1 phase arrest in human prostate cancer cells. J. Ethnopharmacol., 130, 248-254.

Chao, P-C., Hsu, C-C., Yin, M-C., 2009. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. Nutr. Metab., 6, 33.

Chen, R., He, J., Tong, X., Tang, L., Liu, M., 2016. The *Hedyotis diffusa* Willd. (Rubiaceae): A review on phytochemistry, pharmacology, quality control and pharmacokinetics. Molecules, 21 (6), 710.

Chludil, H.D., Corbino, G.B., Leicach, S.R., 2008. Soil quality effects on *Chenopodium album* flavonoid content and antioxidant potential. J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 5050–5056.

Chogo, G.B., Crank, G., 1981. Chemical composition and biological activity of the tanzanian plant *Ocimum suave*. J. Nat. Prod., 44(3), 308-311.

Codex grec. 2243. Νικολάου Μυρεψού, Δυναμερόν. 1334. B.n. F.

Dafni, A., Yaniv, Z., Palevitch, D., 1984. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Northern Israel. J. Ethnopharmacol., 10, 295-310.

De Feo, V., Aquino, R., Menghini, A., Ramundo, E., Senatore, F., 1992. Traditional phytotherapy in the peninsula Sorrentina, Campania, Southern Italy. J. Ethnopharmacol., 36, 113-125.

Dell'Acqua, S., Tome, F., Vitalini, S., Agradi, E., Innocenti, G., 2009. In vitro estrogenic activity of *Asplenium trichomanes* L. extracts and isolated compounds. J. Ethnopharmacol., 122, 424-429.

Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Tan, K., Economakis, C., 2000. Chemical analysis and antimicrobial studies on three species of *Ferulago* from Greece. Planta Med., 66 (6), 560-3.

Fan, D., Zhou, X., Zhao, C., Chen, H., Zhao, Y., Gong, X., 2011. Anti-inflammatory, antiviral and quantitative study of quercetin-3-O- β -D-glucuronide in *Polygonum perfoliatum* L., Fitoterapia, 82, 805-810.

Fan, P., Zhao, L., Hostettmann, K., Lou, H-X., 2012. Chemical constituents of *Asplenium ruta-muraria* L. Nat. Prod. Res., 26, 1413-1418.

Fernández-Marín, B., Balaguer, L., Esteban, R., Becerril, J.M., García-Plazaola, J.I., 2009. Dark induction of the photoprotective xanthophyll cycle in response to dehydration. J. Plant Physiol., 166, 1734-1744.

Viane, R., Jermy, A.C., Lovis, J.D., 1993. *Asplenium* L. in Tutin T. G. et al (Eds) Flora Europaea 1. Cambridge University Press, pp. 18-23.

Forgione, G., De Martino, L., De Feo, V., 2008. Medicinal plants in Samnium popular medicine. Pharmacologyonline, 1, 90-98.

Garza, R.G., Domínguez, A.S., López, M.A.T., Martínez, N.D.B., Perez-Vertti, R.D.A., Orasma, C.L., Gallardo, B.S., Martínez, J.M., 2015. Testicular damage in Wistar rats caused by methanolic extracts of plants from the North of Mexico. J. Med. Plants Res., 9, 724-730.

Gherman, C., Culea, M., Cozar, O., 2000. Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. Talanta, 53, 253-262.

Guarrera, P.M., Salerno, G., Caneva, G., 2005. Folk phytotherapeutical plants from Maratea area (Basilicata, Italy). *J. Ethnopharmacol.*, 99, 367-378.

Glass, A.D.M., Bohm, B.A., 1969. The accumulation of cinnamic and benzoic acid derivatives in *Pteridium aquilinum* and *Athyrium filix-femina*. *Phytochemistry*, 8, 371-377.

Gülçin, I., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid) *Toxicology*, 217, 213-220.

Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V., Kokkini, S., 2004. The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *J. Ethnopharmacol.*, 91, 281-299.

Harborne, J.B., Willians, C.A., Smith, D.M., 1973. Species-specific kaempferol derivatives in ferns of the Appalachian *Asplenium* complex. *Biochem. Syst. Ecol.*, 1, 51-54.

Ho, L., Ferruzzi, M.G., Janle, E.M., Wang, J., Gong, B., Chen, T-Y., Lobo, J., Cooper, B., Wu, Q.L., Talcott, S.T., Percival, S.S., Simon, J.E., Pasinetti, G.M., 2012. Identification of brain-targeted bioactive dietary quercetin-3-O- β -glucuronide as a novel intervention for Alzheimer's disease. *FASEB J.*, 27(2), 769-81.

Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A., 1998. *Preparative Chromatographic Techniques, Application in Natural Product Isolation*. Springer-Verlag, Berlin.

Hyun, S.K., Jung, H.A., Min, B-S., Jung, J.H., Choi, J.S., 2010. Isolation of phenolics, nucleosides, saccharides, and an alkaloid from the root of *Aralia cordata*. *Nat. Prod.Sci.*, 16(1), 20-25.

Imperato, F., 1979a. Two new kaempferol 3,7-diglycosides and kaempferitrin in the fern *Asplenium trichomanes*. *Experientia*, 1134-1135.

Imperato, F., 1979b. A new and rare flavonol glucoside in the fern *Asplenium filix-foemina* Bernh. Chem. Ind., 525-526.

Imperato, F., 1980a. A new sulphated flavonol glycoside in fern *Asplenium fontanum* Bernh. Chem. Ind., 540-541.

Imperato, F., 1980b. 3,7,8-Trihydroxyxanthone- α - β -cellobioside: a new xanthone-O-glycoside from *Asplenium adiantum-nigrum*. Chem. Ind., 465-466.

Imperato, F., 1980c. A xanthone-O-glycoside from *Asplenium adiantum-nigrum*. Phytochemistry, 19, 2030-2031.

Imperato, F., 1981. Two new flavonol glycosides from the fern *Ceterach officinarum* Lam. et DC. Chem. Ind., 695-696.

Imperato, F., 1983a. A new sulphated flavonol glucoside in the fern *Asplenium septentrionale*. Chem. Ind., 390-391.

Imperato, F., 1983b. A flavone glycoside from the fronds of *Ceterach officinarum*. Phytochemistry, 22, 312-313.

Imperato, F., 1984a. Two new phenolic glycosides in *Asplenium septentrionale*. Am. Fern J., 74, 14-18.

Imperato, F., 1984b. A new kaempferide 3,7-diglycoside from the fern *Asplenium bulbiferum*. Chem. Ind., 667-668.

Imperato, F., 1984c. Two new kaempferide 3,7-diglycosides from the fern *Asplenium bulbiferum*. Chem. Ind., 186-187.

Imperato, F., 1985. Flavonol glycosides from *Asplenium bulbiferum*. Phytochemistry, 24, 2136-2137.

Imperato, F., 1986. An unusual glycosylation pattern in a new flavonoid from the fern *Asplenium nidus*. Chem. Ind., 555.

Imperato, F., 1987a. A new succinylflavonol glycoside from the fern *Asplenium bulbiferum*. Chem. Ind., 61-62.

Imperato, F., 1987b. A new flavonol 3,7-diglycoside from the fern *Asplenium bulbiferum*. Chem. Ind., 247.

Imperato, F., 1987c. A new flavonol glycoside from the fern *Asplenium bulbiferum*. Chem. Ind., 566-567.

Imperato, F., 1987d. A new flavonol glycoside from the fern *Asplenium nidus*. Chem. Ind., 487.

Imperato, F., 1989a. The first fern aurone and rare flavonoids from *Asplenium kauffussii*. Chim. Ind., 71, 86-87.

Imperato, F., 1990a. Kaempferol 3-sophoroside-4'-glucoside from *Asplenium septentrionale*. Phytochemistry, 29, 3374-3375.

Imperato, F., 1990b. Two mangiferin glycosides from *Asplenium adiantum-nigrum* L. Am. Fern J., 80, 27-29.

Imperato, F., 1991. Xanthone 2,4-di-C-glycosides from *Asplenium adiantum-nigrum*. Phytochemistry, 30, 3839-3840.

Imperato, F., 1992. Luteolin 6,8-di-C-rhamnoside from *Asplenium viviparum*. Phytochemistry, 31, 3290.

Imperato, F., 1993. 3,6,8-Tri-xylosylapigenin from *Asplenium viviparum*. Phytochemistry, 33, 729-730.

Irudayaraj, V. and Johnson, M., 2011. Pharmacognostical studies on three *Asplenium* species. J. Phytol., 3(10), 1-9.

Iwashina, T., Matsumoto, S., Ozawa, K., Akuzawa, K., 1990. Flavone glycosides from *Asplenium normale*. Phytochemistry, 29, 3543-3546.

Iwashina, T., Matsumoto, S., Yoshida, Y., 1993. Apigenin 7-rhamnoside-4'-glucosylrhamnoside from *Asplenium normale*. Phytochemistry, 32, 1629-1630.

Iwashina, T. and Matsumoto, S., 1994. Flavonoid variation and evaluation in *Asplenium normale* and related species (Aspleniaceae). J. Plant Res., 107, 275-282.

Iwashina, T., Matsumoto, S., Nishida, M., Nakaike, T., 1995. New and rare flavonol glycosides from *Asplenium trichomanes-ramosum* as stable chemotaxonomic markers. Biochem. Syst. Ecol., 23, 283-290.

Iwashina, T., López-Sàez, J.A., Herrero, A., Kitajima, J., Matsumoto, S., 2000. Flavone glycosides from *Asplenium foreziense* and its five related taxa and *A. incisum*. Biochem. Syst. Ecol., 28, 665-671.

Iwashina, T., Matsumoto, S., Kitajima, J., Nakamura, T., Kokubugata, G., Suleiman, M., Said, I.M., 2010. Apigenin di- and tri-rhamnoside from *Asplenium normale* in Malaysia. Nat. Prod. Commun., 5, 39-42.

Iwashina, T., Matsumoto, S., 2011. Flavonoid properties of six *Asplenium* species in Vanuatu and New Caledonia, and distribution of flavonoid and related compounds in *Asplenium*. Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., 37, 3, 133–145.

Jeong, C-H., Jeong, H.R., Choi, G.N., Kim, D-O., Lee, U., Heo, H.J., 2011. Neuroprotective and anti-oxidant effects of caffeic acid isolated from *Erigeron annuus* leaf. Chin. Med., 6, 25.

Jiang, R-W., Lau, K-M., Hon, P-M., Mak, T.C.W., Woo, K-S., Fung, K-P., 2005. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Curr.Med.Chem.*, 12(2), 237-246.

Jiménez-Ferrer, E., Alarcón-Alonso, J., Aguilar-Rojas, A., Zamilpa, A., Jiménez-Ferrer, C.I., Tortoriello, J., Herrera-Ruiz, M., 2012. Diuretic effect of compounds from *Hibiscus sabdariffa* by modulation of the aldosterone activity. *Planta Med.*, 78, 1893-1898.

Jung, U.J., Lee, M-K., Park, Y.B., Jeon, S-M., Choi, M-S., 2006. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in *db/db* mice. *JPET*, 318(2), 476-483.

Jung, H.G., Kim, H.H., Paul, S., Jang, J.Y., Cho, Y.H., Kim, H.J., Yu, J.M., Lee, E.S., An, B.J., Kang, S.C., Bang, B.H., 2015. Quercetin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside suppresses melanin synthesis by augmenting p38 MAPK and CREB signaling pathways and subsequent cAMP down-regulation in murine melanoma cells. *Saudi J. Biol. Sci.*, 22, 706-713.

Kale, M., Dubal, K., 2015. Determination of bioactive components of *Blechnum orientale* L. whole plant by using GC-MS analysis. *IJCST*, 3(11), 119-121.

Kale, M.V., 2015. GC-MS analysis of phytochemicals on whole plant extract *Adiantum capillus-veneris* L. - A potential folklore medicinal plant. *Life Science Informatics Publications*, 2(1), 116-121.

Karadeniz, A., Çinbilgel, I., Gün, S.Ş., Çetin, A., 2015. Antioxidant activity of some Turkish plant. *Nat.Prod.Res.*, 29(24), 2308-12.

Katsuragi, H., Shimoda, K., Yamamoto, R., Ishihara, K., Hamada, H., 2011. Glycosylation of capsaicin derivatives and phenylpropanoid derivatives using cultured plant cells. *Biochem. Insights*, 4, 1-12.

Kasote, D.M., 2013. Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *IFRJ*, 20 (1), 27-34.

Kawsar, S.M.A., Mostafa, G., Huq, E., Nahar, N., Ozeki, Y., 2009. Chemical constituents and hemolytic activity of *Macrotyloma uniflorum* L., Int.J.Biol.Chem., 3(1), 42-48.

Καββάδας, Δ., 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν-Φυτολογικόν Λεξικόν. Τόμος Α, Αθήνα, σελ. 630-633, 1905-1906.

Kikowska, M., Budzianowski, J., Krawczyk, A., Thiem, B., 2012. Accumulation of rosmarinic, chlorogenic and caffeic acids in in vitro cultures of *Eryngium planum* L. Acta Physiol Plant, 34, 2425-2433.

Kim, L.H., Chang, S.W., Ryu, S.Y., Choi, S.U., Lee, K.R., 2009. Phytochemical constituents of *Nelumbo nucifera*. Nat. Prod. Res., 15 (2), 90-95.

Kim, M.H., Ha, S.Y., Oh, M.H., Kim, H.H., Kim, S.R., Lee, M.W., 2013. Anti-oxidative and anti-proliferative activity on human prostate cancer cells lines of the phenolic compounds from *Corylopsis coreana* Uyeki. Molecules, 18, 4876-4886.

Kurkin, V.A., Shmygareva, A.A., 2014. The development of new approaches to standardization of *Cassia acutifolia* leaves. J. Pharmacogn. Phytochem., 3(3), 163-167.

Lee, C-K., Chang, M-H., 2000. The Chemical Constituents from the Heartwood of *Eucalyptus citriodora*. J.Chin.Chem.Soc., 47, 555-560.

Lee, D-Y., Shrestha, S., Seo, W.D., Lee, M-H., Jeong, T-S., Cho, J.H., Song, Y.C., Kang, H.W., Rho, Y-D., Baek, N-I., 2012. Structural and quantitative analysis of antioxidant and low-density lipoprotein-antioxidant flavonoids from the grains of sugary rice. J. Med. Food, 15 (4), 399-405.

Lentini, F., 2000. The role of ethnobotanics in scientific research. State of ethnobotanical knowledge in Sicily. Fitoterapia, 71, 83-88.

Liang, N., Kitts, D.D., 2016. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. Nutrients, 8(1), 16.

Liao, H., Liu, H., Yuan, K., 2012. A new flavonol glycoside from the *Abelmoschus esculentus* Linn. Pharmacogn. Mag., 29 (8), 12-15.

Mabry, T.G., Markham, K.R., Thomas, M.B., 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Malamas, M. and Marselos, M., 1992. The tradition of medicinal plants in Zagori, Epirus (northwestern Greece). J. Ethnopharmacol., 37, 197-203.

Mannan, M.M., Maridass, M., Victor, B., 2008. A review on the potential uses of ferns. Ethnobotanical Leaflets, 12, 281-285.

Matsumoto, S., Iwashina, T., Kitajima, J., Mitsuta, S., 2003. Evidence by flavonoid markers of four natural hybrids among *Asplenium normale* and related species (Aspleniaceae) in Japan. Biochem. Syst. Ecol., 31, 51-58.

Markham, K.R., 1981. Techniques of flavonoid identification, Academic Press.

Max Wellmann (Ed.), 1958. Πεδάνιου Διοσκουρίδη, Περί Ιατρικής Ὑγίης, Βιβλίον Γ', 480-481. Berlin.

Mizuno, M., Kyotani, Y., Iinuma, M., Tanaka, T., Kojima, H., Iwatsuki, K., 1990a. Kaempferol glycosides in *Asplenium scolopendrium* Newm. Z. Naturforsch., 45c, 143-146.

Mizuno, M., Kyotani, Y., Iinuma, M., Tanaka, T., Kojima, H., Iwatsuki, K., 1990b. Kaempferol 3-rhamnoside-7-[6-feruloyl-glucosyl(1→3)rhamnoside] from *Asplenium prolongatum*. Phytochemistry, 29, 2742-2743.

Mizuno, M., Kyotani, Y., Iinuma, M., Tanaka, T., Kojima, H., Iwatsuki, K., 1991. Mearnsetin 3,7-dirhamnoside from *Asplenium antiquum*. Phytochemistry, 30, 2817-2828.

Mohle, B., Heller, W., Wellmann, E., 1985. UV-Induced biosynthesis of quercetin-3-O- β -D-glucuronide in dill cell cultures. *Phytochemistry*, 24(3), 465-467.

Moon, J-H, Tsushida, T., Kazuhiko, N., Junji, T., 2001. Identification of quercetin 3-O- β -D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *FreeRadic.Biol.Med.*, 30(11), 1274-1285.

Moriyama, H., Iizuka, T., Nagai, M., 2001. A stabilized flavonoid glycoside in heat-treated *Cassia alata* leaves and its structural elucidation. *Yakugaku Zasshi*, 121 (11), 817-820.

Moriyama, H., Iizuka, T., Nagai, M., Miyataka, H., Satoh, T., 2003. Antiinflammatory activity of heat-treated *Cassia alata* leaf extract and its flavonoid glucoside. *Yakugaku Zasshi*, 123 (7), 607-611.

Moriyama, H., Iizuka, T., Nagai, M., Murata, Y., 2003. HPLC quantification of kaempferol-3-O-gentiobioside in *Cassia alata*. *Fitoterapia*, 74, 425-430.

Ojika, M., Kigoshi, H., Kuyama, H., Niwa, H., Yamada, K., Studies on *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*, IV. Isolation of three p-hydroxystyrene glycosides and an efficient method for the isolation of ptaquiloside, an unstable bracken carcinogen. *J.Nat.Prod.*, 48(4), 634-637.

Pan, C., Chen, Y.G., Ma, X.Y., Jiang, J.H., He, F., Zhang, Y., 2011. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of Plants from the Genus *Adiantum*: A Review. *Trop. J. Pharm. Res.*, 10 (5), 681-692.

Passalacqua, N.G., Guarrera, P.M., De Fine, G., 2007. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, 78, 52-68.

Pieroni, A., 2000. Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the upper Lucca province, Italy. *J. Ethnopharmacol.*, 70, 235- 273.

Pizzolatti, M.G., Brighente, I.M.C., Bortoluzzi, A.J., Schripsema, J., Verdi, L.G., 2007. Cyathenosin A, a spiropyranosyl derivative of protocatechuic acid from *Cyathea phalerata*. *Phytochemistry*, 68, 1327-1330.

Poonia, A. and Upadhyay A., 2015. *Chenopodium album* Linn: review of nutritive value and biological properties. *J. Food Sci. Technol.*, 52 (7), 3977-3985.

Puri, H.S., 1970. Indian pteridophytes used in folk remedies. *Am. Fern J.*, 60, 137-143.

Richardson, P.M., Lorenz-Liburnau, E., 1982. C-Glycosylxanthones in the *Asplenium adiantum-nigrum* complex. *Am. Fern J.*, 72, 103-106.

Rigat, M., Vallés, J., Inglésias, J., Garnatje, T., 2013. Traditional and alternative natural therapeutic products used in the treatment of respiratory tract infectious diseases in the eastern Catalan Pyrenees (Iberian Peninsula). *J. Ethnopharmacol.*, 148, 411-422.

Said, O., Khalil, K., Fulder, S., Azaizeh, H., 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *J. Ethnopharmacol.*, 83, 251-265.

Schneider, H., Russell, S.J., Cox, J.C., Bakker, F., Henderson, S., Rumsey, F., Barrett, J., Gibby, M., Vogel, J.C., 2004. Chloroplast phylogeny of Asplenioid Ferns based on *rbcL* and *trnL-F* spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implications for biogeography. *Syst. Bot.*, 29 (2), 260-274.

Shirai, M., Moon, J-H, Tsushida, T., Terao, J., 2001. Inhibitory effect of a quercetin metabolite, quercetin-3-O- β -D-glucuronide, on lipid peroxidation in liposomal membranes. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5602-5608.

Singh, O., Khanam, Z., Srivastava, M.K., 2011. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacogn. Rev.*, 5(9), 82-95.

Smith, D.M., Harborne, J.B., 1971. Xanthones in the Appalachian *Asplenium* complex. *Phytochemistry*, 10, 2117-2119.

Socolsky, C., Fascio, M.L., D'Accorso, N.B., Salvatore, A., Willink, E., Asakawa, Y., Bardon, A., 2008. Effects of p-vinylphenyl glycosides and other related compounds on the oviposition behavior of *Ceratitis capitata*. J.Chem.Ecol., 34, 539-548.

Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C.A., Bodirlau, R., Armatu, A., 2011. Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. NatProd.Res., 25(17), 1657-1661.

Stahl, E., 1969. Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, 2nd. Edit.

Tanaka, N., Yuhara, H., Wada, H., Murakami, T., Cambie, R.C., Braggins, J.E., 1993. Phenolic constituents of *Pteridium esculentum*. Phytochemistry, 32(4), 1037-1039.

Tanaka, M., Fujimori, T., Uchida, I., Yamaguchi, S., Takeda, K., 2001. A malonylated anthocyanin and flavonols in blue *Meconopsis* flowers. Phytochemistry, 56, 373-376.

Terao, J., Yamaguchi, S., Shirai, M., Miyoshi, M., Moon, J.H., Oshima S., Inakuma, T., Tsushida, T., Kato, Y., 2001. Protection by quercetin and quercetin-3-O-beta-D-glucuronide of peroxynitrite-induced antioxidant consumption in human plasma low-density lipoprotein. Free Radic. Res., 35 (6), 925-31.

Trewick, S.A., Morgan-Richards, M., Russell, S.J., Hendersn, S., Rumsey, F.J., Pintir, I., Barrett, J.A., Gibby, M., Vogel, J.C., 2002. Polyploidy, phylogeography and Pleistocene refugia of the rockfern *Asplenium ceterach*: evidence from chloroplast DNA. Mol. Ecol., 11, 2003-2012.

Umikalsen, Y., Grayer-Barkmeijer, R.J., Harborne, J.B., 1994. A comparison of the flavonoids in Athyriaceae and Aspleniaceae. Biochem. Syst. Ecol., 22, 587-594.

Valiakos, E., Marselos, M., Sakellaridis, N., Constantinidis, Th., Skaltsa, H., 2015. Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the “Antidotes” in Nikolaos Myrepsos' *Dynameron*. *J. Ethnopharmacol.*, 163, 68-82.

Varghese, G.K., Bose, L.V., Habtemariam, S., 2013. Antidiabetic components of *Cassia alata* leaves: Identification through α -glucosidase inhibition studies. *Pharm. Biol.*, 51(3), 345-349.

Veit, M., Weidner, C., Strack, D., Wray, V., Witte, L., Czygan, F-C., 1992. The distribution of caffeic acid conjugates in the Equisetaceae and some ferns. *Phytochemistry*, 31(10), 3483-3485.

Vimalavady, A., Kadavul, K., 2013. Phytochemicals identified on the various extracts of stem of *Hugonia mystax* L. (Linaceae). *Euro. J. Exp. Bio.*, 3(1), 73-80.

Vlahov, G., 1999. Application of NMR to the study of olive oils. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 35, 341–357.

Voirin, B., 1970. Recherches Chimiques, Taxonomiques et Physiologiques sur les Flavonoïdes des Pteridophytes. Thèse, Docteur-Science. Université de Lyon.

Vokou, D., Katradi, K., Kokkini, S., 1993. Ethnobotanical survey of Zagori (Epirus, Greece), a renowned centre of folk medicine in the past. *J. Ethnopharmacol.*, 39, 187-196.

Vorin, B., and Jay, M., 1974. Sur la présence de méthyl-3-quercétine chez *Asplenium viride*. *Phytochemistry*, 13, 275-276.

Wei, Y., Xie, Q., Dong, W., Ito, Y., 2009. Separation of epigallocatechin and flavonoids from *Hypericum perforatum* L. by high-speed counter-current chromatography and followed by preparative liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1216(19), 4313-4318.

Wimmer Fr. (Ed.), 1866. Theophrastos Eresius. *Περί φυτῶν Ἱστορία* IX, 18. (7), Paris.

Zhang, Y., Liu, C., Zhang, Z., Wang, J., Wu, G., Li, S., 2010. Comprehensive separation and identification of chemical constituents from *Apocynum venetum* leaves by high-performance counter-current chromatography and high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry. J. Chromatogr. B., 878, 3149-3155.

Zhen, J., Villani, T.S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M-H., Ho, C-T., Simon, J.E., Wu, Q., 2016. Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. Food Chem., 190, 673-680.

Živcović, S., Popović, M., Dragišić-Maksimović, J., Momčilović, I., Grubišić, D., 2010. Dehydration-related changes of peroxidase and polyphenol oxidase activity in fronds of the resurrection fern *Asplenium ceterach* L. Arch. Biol. Sci., 62(4), 1071-1081.

Ηλεκτρονικές Πηγές

www.monastiriaka.gr