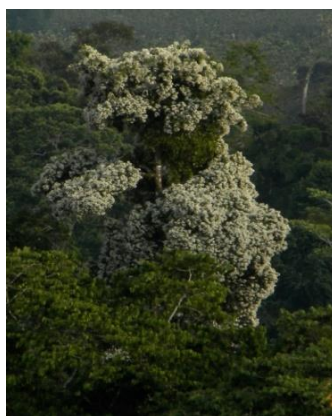




ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ
Διευθυντής Καθ Α.Λ. Σκαλτσούνης

Φυτοχημική μελέτη (απομόνωση και καθορισμός χημικής δομής) σε επιλεγμένα φυτά του τροπικού γένους *Cordia* L. (οικ. Boraginaceae)

- *Cordia bicolor* A.DC
- *Cordia megalantha* S.F. Blake
- *Cordia dentata* Poir.
- *Cordia linnaei* Stearn



**Μεταπτυχιακή Εργασία
Μαρίνη Γεωργία**

Αθήνα 2017

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στα ακόλουθα άτομα, χωρίς τη συμβολή των οποίων δε θα ήταν δυνατόν να ολοκληρώσω την παρακάτω εργασία.

- Την Καθηγήτρια κα Ιωάννα Χήνου για τη δυνατότητα που μου έδωσε να εργαστώ στην ερευνητική της ομάδα, την επιλογή του θέματος, καθώς και τη συνεχή καθοδήγηση και υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της εργασίας.
- Τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, κα Ελένη Σκαλτσά, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ Τμήμα Φαρμακευτικής, κ. Γεώργιο Αλβέρτο Καρίκα, Καθηγητή ΤΕΙ Αθηνών Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, και κα Ιωάννα Χήνου, Καθηγήτρια ΕΚΠΑ Τμήμα Φαρμακευτικής, που έκριναν την εργασία αυτή.
- Τη Δρα κα Κωσταντία Γκράικου για την πολύτιμη και συνεχή βοήθειά της στο εργαστήριο, την καθοδήγηση και τις υποδείξεις της σχετικά με το πειραματικό μέρος της εργασίας αυτής.
- Τον Δρα Χαρίλαο Δαμιανάκο για τη βοήθεια και την καθοδήγηση που μου προσέφερε κατά την αρχή εκπόνησης της εργασίας μου .
- Τον Καθηγητή κ. Mahabir Gupta για την παραχώρηση φυτικού υλικού από το Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας του Πανεπιστημίου του Παναμά.
- Τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Αλβέρτο Καρίκα για την πολύτιμη συνεργασία σε σχέση με τα φυτά του Παναμά.
- Τον Καθηγητή κ. Α.Λ. Σκαλτσούνη για την παραχώρηση της εργαστηριακής υποδομής για τη λήψη και παραλαβή αναγκαίων φασμάτων.
- Τη Δρα κ. Μαρία Χαλαμπαλάκη για τη λήψη των φασμάτων μάζας HR-ESI-MS.
- Τη Δρα κ. Δήμητρα Μπενάκη για τη λήψη φασμάτων NMR.
- Όλους τους συμφοιτητές μου για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας που είχε δημιουργηθεί στο εργαστήριο και ιδιαίτερα την Τούφα Τεήσα και τον Τζίμα Πέτρο για την αλληλοβοήθεια και υποστήριξη που μου προσέφεραν.
- Την οικογένεια και τους φίλους μου για τη συνεχή στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η φυτοχημική μελέτη τεσσάρων τροπικών ειδών του γένους *Cordia* (Boraginaceae) τα οποία εντοπίζονται στη περιοχή του Παναμά με σκοπό την απομόνωση και τον προσδιορισμό της δομής των δευτερογενών μεταβολιτών τους. Πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε η φαρμακογνωστική μελέτη φύλλων από τα είδη *Cordia bicolor* A.DC ex DC, *Cordia megalantha* S.F. Blake, *Cordia dentata* Poir. και *Cordia linnaei* Stearn.

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους αποτελούν ενώσεις με ενδιαφέρουσα χημεία και ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Το θεωρητικό μέρος, λοιπόν, εστιάζεται στη βιβλιογραφική ανασκόπηση της δρογοχημείας του γένους, των φυσικών προϊόντων που έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί από διάφορα είδη *Cordia*, καθώς και της εθνοφαρμακολογίας και των βιολογικών δράσεων φυτών του γένους.

Το πειραματικό μέρος περιλαμβάνει τις διαδικασίες εκχύλισης, απομόνωσης και καθορισμού της δομής φυσικών προϊόντων από τα φυτά που μελετήθηκαν μέσω χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών μεθόδων. Πραγματοποιήθηκε η επεξεργασία του μεθανολικού εκχυλίσματος από τα είδη *C. bicolor*, και *C. megalantha*, του μεθανολικού και διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος της *C. dentata* και του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος από το φυτό *C. linnaei*. Απομονώθηκαν συνολικά 16 δευτερογενείς μεταβολίτες.

Πιο αναλυτικά, από την *C. bicolor* απομονώθηκαν ένα ουρεΐδιο (1), τρία φαινολικά οξέα (2,3,4), ένας φαινολικός μονοσακχαρίτης και ένας φαινολικός δισακχαρίτης που αναφέρονται για πρώτη φορά στο είδος:

- αλλαντοΐνη (1)
- ροσμαρινικό οξύ (2)
- καφεϊκό οξύ (3)
- υδρόξυ προπανοϊκό οξύ (4)
- κερκέτινο 3-O- β- D- γλυκοσίδης (5)
- κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L- ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης (6)

δύο φαινολικοί δισακχαρίτες (7,8) που αναφέρονται για πρώτη φορά στο γένος *Cordia*:

- κερκέτινο-3-O- (2''-O-α-L-ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης (7)
- καιμπφέρολο -3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης (8)

έναν φαινολικό κουμαροϋλο-μόνοσακχαρίτη (9) και έναν φαινολικό κουμαροϋλο-δισακχαρίτη (10), που απομονώνονται για πρώτη φορά τόσο από το γένος *Cordia*, όσο και από την οικογένεια *Boraginaceae*:

- κερκέτινο 3-O- (6'' *trans*- p- κουμαροϋλ)-β-D- γλυκοσίδης (9)
- καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L-ραμνόσυλ -6''-O- *trans*- p- κουμαροϋλ) β-D- γλυκοσίδης (10)

Από το είδος *C. megalantha* απομονώθηκε για πρώτη φορά το φαινολικό οξύ ροσμαρινικό οξύ (2), ενώ για πρώτη φορά τόσο από το είδος, όσο και από την οικογένεια *Boraginaceae* απομονώθηκε ο φαινολικός κουμαροϋλο-μόνοσακχαρίτης:

- κερκέτινο 3-O- (6'' *trans*- p- κουμαροϋλ-) β-D- γαλακτοπυρανοσίδης (11).

Στη συνέχεια, από το είδος *C. dentata* ανιχνεύθηκαν και απομονώθηκαν στο μεθανολικό του εκχύλισμα οι ουσίες κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L- ραμνοσυλ)- β-D- γλυκοσίδης (6) και ροσμαρινικό οξύ (2) και για πρώτη φορά από το είδος τα φαινολογξέα καφεϊκό οξύ (3) και

- (4- υδροξυφαίνυλ-) γαλακτικό οξύ (12)

Από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του φυτού απομονώθηκαν για πρώτη φορά δύο φυτοστερόλες (13,14):

- β- σιτοστερόλη (13)
- σιτοστενόνη (14)

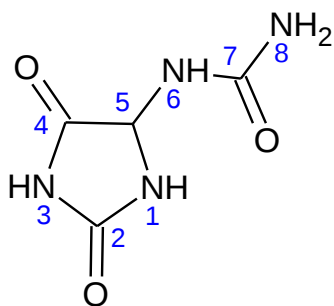
Τέλος, από το είδος *Cordia linnaei* από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά σε μίγμα ένα φαινολικό οξύ (15) και ένα φλαβονοειδές (16):

- p- κουμαρικό οξύ (15)
- καιμπφερόλη (16)

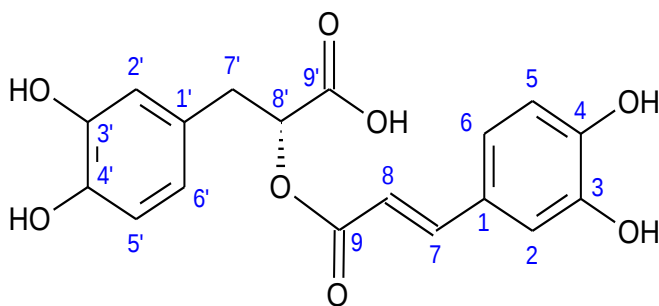
Στα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών πραγματοποιήθηκε ακόμη προσδιορισμός των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Όλα τα δείγματα εμφάνισαν υψηλό φορτίο φαινολικών συστατικών, ενώ την υψηλότερη συγκέντρωση παρουσίασε η *Cordia dentata*.

Πραγματοποιήθηκε επίσης και ένα ποιοτικό τεστ ανίχνευσης ακόρεστων αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (PAs) και των N- οξειδίων τους σε δέκα είδη της οικογένειας *Boraginaceae* *Cordia alliodora* (ρίζες), *C. bicolor* (φύλλα), *C. collococca* (φύλλα), *C. dentata* (φύλλα), *C. linnaei* (φύλλα), *C. megalantha* (φύλλα), *C.*

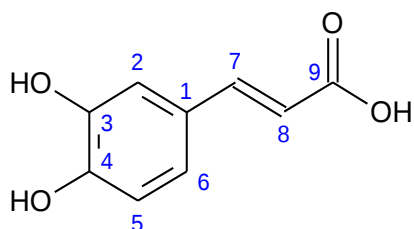
panamensis (φύλλα), *Heliotropium indicum* (υπέρργειο), *H. Procumbens* (υπέρργειο) και *Tournefortia angustiflora* (φύλλα). Τα αποτελέσματα της μεθόδου υπέδειξαν την ύπαρξη N- οξειδίων PAs στο φυτό *Heliotropium indicum*.



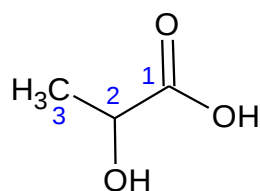
Αλλαντοΐνη (1)



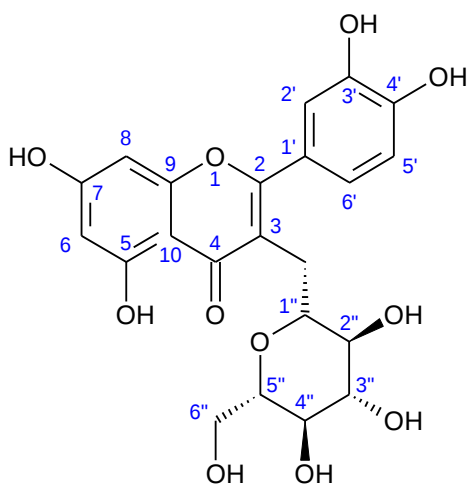
Ροσμαρινικό οξύ (2)



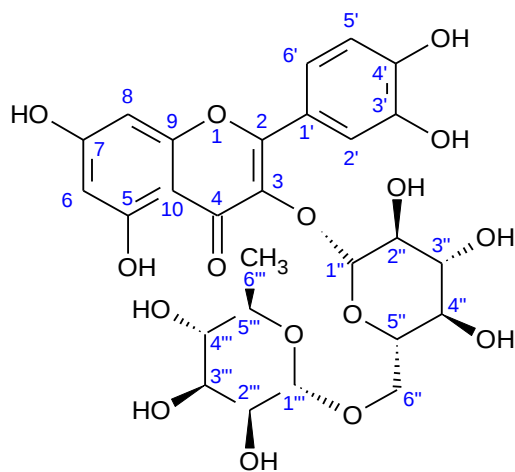
Καφεϊκό οξύ (3)



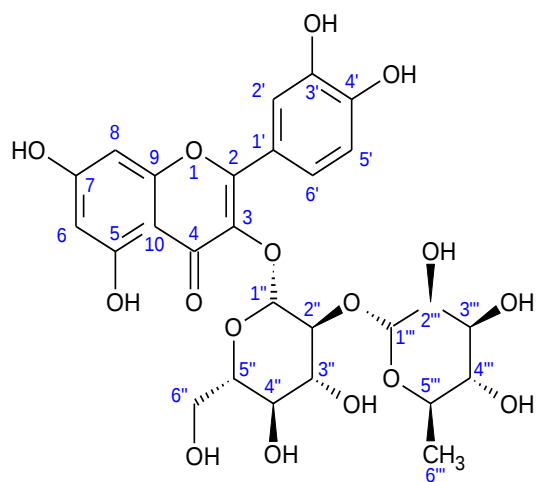
υδρόξυ προπανοϊκό οξύ (4)



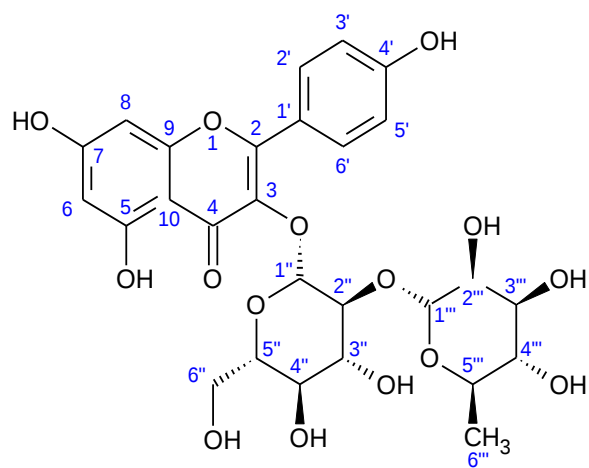
κερκέτινο 3-O- β-D- γλυκοσίδης (5)



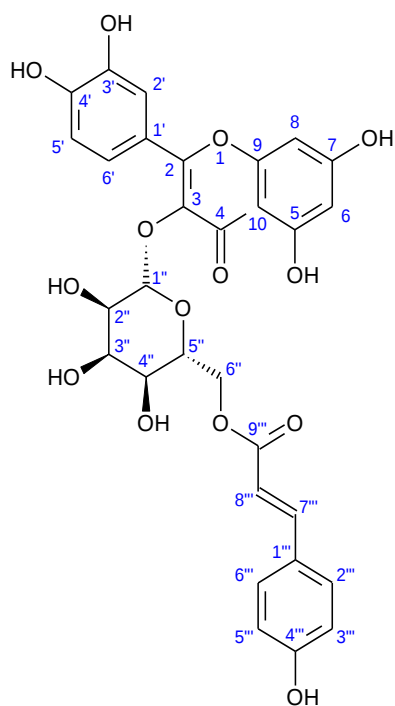
κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L- ραμνόσυλ)- β-D- γλυκοσίδης (6)



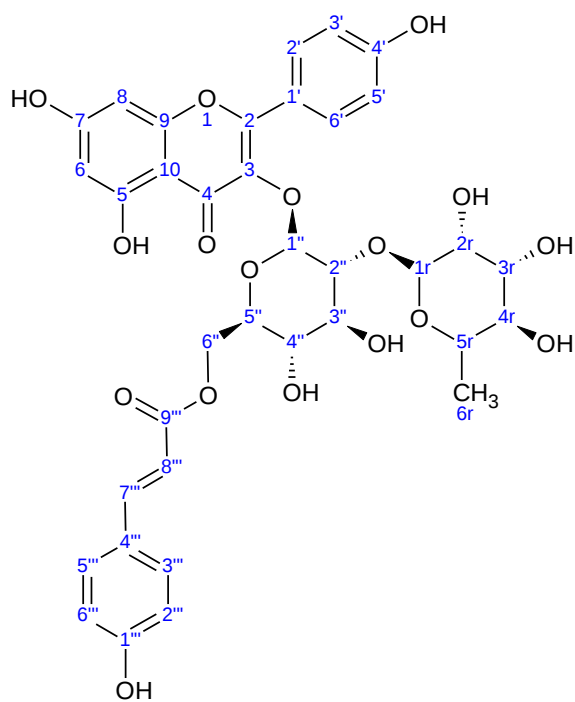
κερκέτινο-3-Ο- (2''ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδης (7)



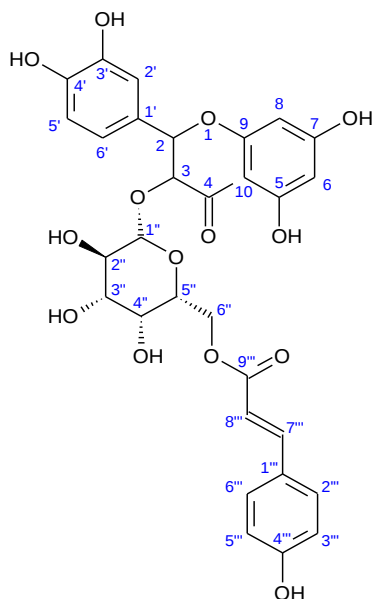
καιμπφέρολο -3-Ο- (2''ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδης (8)



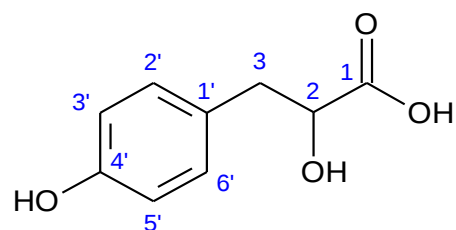
κερκέτινο 3-Ο- (6'' trans- p- κουμαροϋλ) - β-D-γλυκοπιρανοσίδης(9)



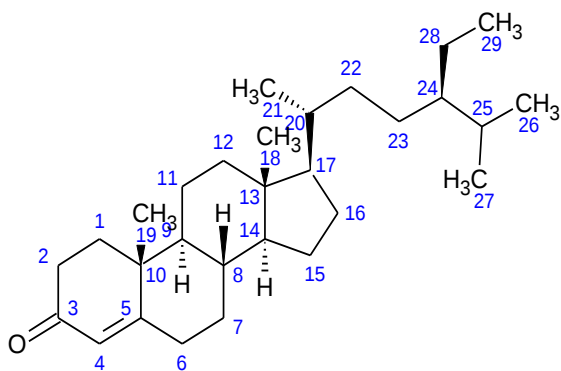
Καιμπφέρολο3-Ο-(2''-Ο-α-L-ραμνόσυλ-6''-Ο- trans- p- κουμαροϋλ) β-D- γλυκοσίδης (10)



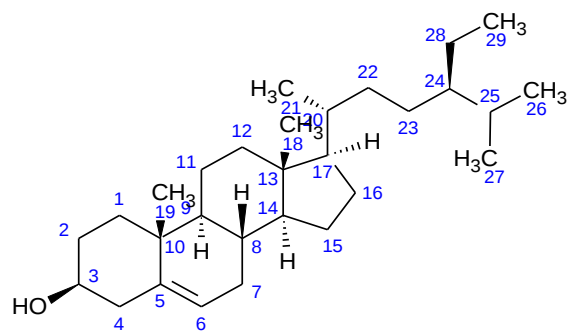
κερκέτινο 3-O- (6'' trans- p- κουμαροϋλ-)
β-D-γαλακτοπιρανοσίδης (11)



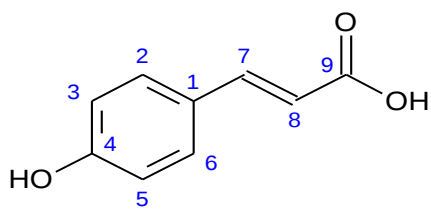
(4- υδρόξυφαινουλ-) γαλακτικό οξύ (12)



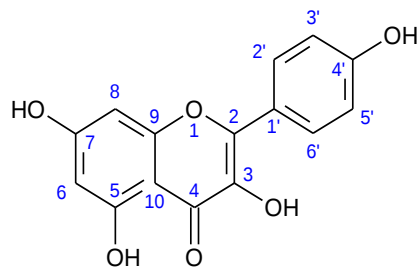
σιτοστενόνη.(14)



β-σιτοστερόλη (13)



p- κουμαρικό οξύ (15)



καιμπφερόλη (16)

Πίνακας: Απομονωμένες ενώσεις από τα τέσσερα φυτά του γένους *Cordia*.

Ενώσεις	<i>C. bicolor</i>	<i>C.megalantha</i>	<i>C.dentata</i>	<i>C. linnaei</i>
αλλαντοΐνη	X			
ροσμαρινικό οξύ	X	X	X	
καφεϊκό οξύ	X		X	
υδρόξυ προπανοϊκό οξύ	X			
κερκέτινο 3-O- β- D- γλυκοσίδης	X			
κερκέτινο 3-O-(6''-O-α- L- ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης	X		X	
κερκέτινο-3-O- (2''-O-α- L-ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης	X			
καιμπφέρολο -3-O-(2''- O-α-L-ραμνόσυλ)- β- D- γλυκοσίδης	X			
κερκέτινο 3-O- (6'' trans-p- κουμαρούλ)-β- D- γλυκοσίδης	X			
καιμπφέρολο 3-O- (2''- O-α-L-ραμνόσυλ -6''-O- trans- p- κουμαρούλ)- β- D- γλυκοσίδης	X			
κερκέτινο-3-O-(6'' trans- p-κουμαρούλ)-β-D- γάλακτοπυρανοσίδης		X		
(4-υδρόξυφαίνυλ-) γαλακτικό οξύ			X	
β- σιτοστερόλη		X*		X
Σιτοστενόνη		X*		X
p- κουμαρικό οξύ				X
καιμπφερόλη				X

*Οι συγκεκριμένες ενώσεις έχουν απομονωθεί μετά από επεξεργασία του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος της *C.megalantha* (Φουσέκη, 2015)

Abstract

The subject of the present diploma thesis is the phytochemical study of four tropical *Cordia* species (Boraginaceae) from Panama which were studied phytochemically for the first time. *Cordia bicolor* A.DC ex DC, *Cordia megalantha* S.F. Blake, *Cordia dentata* Poir. and *Cordia linnaei* Stearn, in order to isolate and determine the chemical structure of their constituents.

The theoretical part of this study focuses on a literature review of the traditional uses of the *Cordia* plants in medicine and their biological activities. It also refers to the secondary metabolites that have been isolated and identified from species of the genus, their chemical structure and specific biological properties.

In the experimental part of present thesis the methanolic extract of leaves from *Cordia bicolor* and *C. megalantha*, the dichloromethane and methanolic extract from *C. dentata* as well as the dichloromethane extract from *C. linnaei* were subjected to chromatographic separations and spectroscopic analysis in order to afford **16** secondary metabolites.

From the methanolic extract of *Cordia bicolor* **10** chemical constituents were isolated. Amongst them allantoin (1), rosmarinic acid (2), caffeic acid (3), hydroxy propanoic acid (4), quercetin 3-O- β -D- glucoside (5) and quercetin 3-O-(6''-O- α -L- rhamnosyl)- β - D- glucopyranoside (6) were reported from the species for the first time. The flavonoids quercetin-3-O- (2'' rhamnosyl)- β -D- glucoside (7) and kaempferol-3-O- (2'' rhamnosyl)- β -D- glucoside (8) were isolated for the first time from the genus while it is the first mention of the flavonoids quercetin 3-O- (6'' trans- p- coumaroyl) - β -D- glucopyranoside (9) and kaempferol 3-O- (2''-O- α -L- rhamnosyl- 6'' *trans*- p- coumaroyl)- β -D- glucoside (10) in the *Cordia* genus and whole Boraginaceae family.

The methanolic extract of *C. megalantha* yielded for the first time in the species rosmarinic acid (2) and the flavonoid quercetin 3-O- (6'' trans- p- coumaroyl) β - D- galactopyranoside (11) which is novel within *Cordia* genus and the Boraginaceae family as a whole.

Quercetin 3-O-(6''-O- α -L- rhamnosyl)- β - D- glucopyranoside (6), rosmarinic acid (2), caffeic acid (3) and 4 -hydroxyphenyl lactic acid (12) were isolated from the methanolic extract of *C. dentata*. The processing of plant's dichloromethane extract lead to the isolation of phytosterols β - sitosterol(13) and sitostenone (14) . Moreover,

the dichloromethane extract of *C. Linnaei* afforded the phenolic acid p- coumaric acid (16) a mixture of the flavonoid kaemferol (15) .

Furthermore, the total phenolic content of the methanolic extracts of the four plants was determined according to the Folin-Ciocalteau method. The results showed that all species contain a considerable amount of phenols, but the highest content of total phenolic compounds was detected in the leaves of *C.dentata*.

Finally, a qualitative screening test for unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) and their N-oxides took place for ten species of Boraginaceae family :*Cordia alliodora* (roots), *C. bicolor* (leaves), *C.collococca* (leaves), *C. dentata* (leaves), *C. linnaei* (leaves), *C. megalantha* (leaves), *C. panamensis* (leaves), *Heliotropium indicum* (aerial part), *H. Procumbens* (aerial part) and *Tournefortia angustiflora* (leaves). The results of the method led to the detection of PAs N- oxides to *Heliotropium indicum* .

Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	1
Abstract.....	7
Σκοπός της εργασίας.....	13
1. Οικογένεια Boraginaceae.....	15
1.1. Εισαγωγή	15
1.2. Γεωγραφική κατανομή	16
1.3. Βοτανική περιγραφή	17
1.4. Χημεία της οικογένειας Boraginaceae	18
1.5 Δρογοφαρμακολογία της οικογένειας Boraginaceae	24
2. Γένος <i>Cordia</i> L.....	25
2.1. Εισαγωγή	25
2.2. Γεωγραφική κατανομή	25
2.3. Βοτανική περιγραφή	26
2.4. Δρογοχημεία γένους <i>Cordia</i> L.....	27
2.5. Δρογοφαρμακολογία του γένους <i>Cordia</i>	57
2.6. <i>Cordia bicolor</i> A.DC.....	71
2.7. <i>Cordia megalantha</i> S.F. Blake	75
2.8. <i>Cordia dentata</i> Poir.....	78
2.9. <i>Cordia linnaei</i> Stearn	82
3.1 Όργανα – Υλικά – Μέθοδοι.....	86
3.2 Συλλογή δειγμάτων	91
3.3 <i>Cordia bicolor</i> A.DC ex DC.....	91
3.3.1 Εκχυλίσες του φυτικού υλικού	91
3.3.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cb _{DCM}	92
3.3.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Cb _{MeOH}	94
3.3.4 Φασματοσκοπική μελέτη των απομονωμένων ουσιών του μεθανολικού εκχυλίσματος της <i>Cordia bicolor</i>	106
1. Φασματοσκοπική μελέτη αλλαντοΐνης	106
2.Φασματοσκοπική μελέτη του μίγματος κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη και καιμπφέρολο 3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη.....	109
3.Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη.....	119
4.Φασματοσκοπική μελέτη του καφεϊκού οξέος	126

5.Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη.....	129
6.Φασματοσκοπική μελέτη του ροσμαρινικού οξέος	134
7. Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-β-D-γλυκοσίδη	137
8. Φασματοσκοπική μελέτη του καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L ραμνοσυλ)- (6''-O-trans- p- κουμαροϋλ) γλυκοπυρανοσίδη.....	143
3.4.1 Εκχυλίσες του φυτικού υλικού	151
3.4.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cmeg _{DCM}	151
3.4.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Cmeg _M	153
3.4.4 Φασματοσκοπική μελέτη των απομονωμένων ουσιών του μεθανολικού εκχυλίσματος της <i>Cordia megalantha</i>	160
1.Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο-3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γαλακτοπυρανοσίδη.....	160
3.5 <i>Cordia dentata</i> Poir.	167
3.5.1 Εκχυλίσες του φυτικού υλικού	167
3.5.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cden _{DCM}	168
1.Φασματοσκοπική μελέτη της σιτοστενόνης.....	170
2. Φασματοσκοπική μελέτη της β-σιτοστερόλης.....	173
3.5.4 Μεθανολικό εκχύλισμα Cden _M	176
1.Φασματοσκοπική μελέτη του (4-υδροξυφαινυλ)–γαλακτικού οξέος.....	180
3.6 <i>Cordia linnaei</i> Stearn.....	183
3.6.1 Εκχυλίσες του φυτικού υλικού	183
3.6.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Clin _{DCM}	183
1. Φασματοσκοπική μελέτη του παρα- κουμαρικού οξέος	186
2.Φασματοσκοπική μελέτη του μίγματος καιμπφερόλης, παρα-κουμαρικού οξέος.....	188
3.6.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Clin _{MeOH}	189
3.7 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu	191
3.7.1 Περιγραφή μεθόδου	191
3.7.2 Οργανολογία.....	192
3.7.3 Διαδικασία.....	192
3.7.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού ολικών φαινολικών	193
3.8 Ανίχνευση αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης	194
3.8.1 Περιγραφή μεθόδου	194
3.8.2 Αντιδραστήρια.....	195
3.8.3 Διαδικασία.....	196
3.8.3 Αποτελέσματα.....	197

3.9 Ανίχνευση αλλαντοΐνης σε εκχυλίσματα <i>Cordia</i>	200
Συμπεράσματα	203
Βιβλιογραφία	205

Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της συγκεκριμένης ερευνητικής εργασίας αποτέλεσε η φαρμακογνωστική μελέτη τεσσάρων φυτών του Παναμά και της Κεντρικής Αμερικής της οικογένειας Boraginaceae, προκειμένου να πραγματοποιηθεί χημική μελέτη, απομόνωση και προσδιορισμός των δευτερογενών μεταβολιτών τους. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν φύλλα από τέσσερα είδη του γένους *Cordia*, των *Cordia bicolor* A.DC, *Cordia megalantha* S.F. Blake, *Cordia dentata* Poir και *Cordia linnaei* Stearn . Τα φυτά αυτά μελετήθηκαν στα πλαίσια φυτοχημικών μελετών ειδών της οικογένειας Boraginaceae που διεξάγονται στο Φαρμακευτικό Τμήμα του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων από την ερευνητική ομάδα της Καθηγήτριας κας Ιωάννας Χήνου. Στην επιλογή των φυτών συνετέλεσαν τα ακόλουθα κριτήρια:

- Τόσο το είδος *C.bicolor* όσο και το είδος *C.megalantha*, σε αντίθεση με άλλα είδη του γένους δεν έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία.
- Υπάρχουν αναφορές για μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άνθη του φυτού *Cordia dentata* (Ferrari et al., 1997) και σε ρίζες της *Cordia linnaei* (Ioset et al., 1998). Εντούτοις, δεν έχει πραγματοποιηθεί φυτοχημική ανάλυση των φύλλων από τα δύο είδη.
- Στο γένος *Cordia* βάση βιβλιογραφικών αναφορών έχουν εντοπιστεί ουσίες με ποικίλες βιολογικές δράσεις και χημικές ιδιότητες, γεγονός που αποτελεί σοβαρό κίνητρο για περαιτέρω μελέτη ειδών που ανήκουν σε αυτό.

Βάση λοιπόν των παραπάνω λόγων αποφασίστηκε η φυτοχημική μελέτη φύλλων από τα φυτά *Cordia megalantha* και *Cordia bicolor* προκειμένου να ανιχνευθούν, να απομονωθούν και να ταυτοποιηθούν χημικές ουσίες με πιθανό βιολογικό ενδιαφέρον.

Θεωρητικό μέρος

1. Οικογένεια Boraginaceae

1.1. Εισαγωγή

Το 1789 ο Antoine Laurent de Jussieu πρότεινε ένα σύστημα ταξινόμησης των φυτών, το οποίο σε αντίθεση με το υπάρχον σύστημα ταξινόμησης του Linnaeus (*Genera plantarum*), το οποίο ταξινομούσε τα φυτά βάση του αριθμού των στημόνων και των υπέρων τους, χρησιμοποιούσε πολλαπλά χαρακτηριστικά για τον καθορισμό των οικογενειών. Το νέο σύστημα που δημοσίευσε αποτέλεσε σημαντική βελτίωση συγκριτικά με το παλαιότερο, ενώ πολλές από τις οικογένειες που πρότεινε διατηρούνται ακόμη στις σύγχρονες ταξινομήσεις.

Μεταξύ των 100 οικογενειών που εμφανίζονταν στο *Genera Plantarum* ο Jussieu απέδωσε τον όρο Boraginaceae σε μία οικογένεια που βασίζονταν στο γένος *Borago* L. Κατά την περιγραφή του γένους *Borago* ο Linnaeus χρησιμοποίησε τη λατινική ονομασία «burra» που μεταφράζεται ως τριχωτό ένδυμα σε νύξη των τριχωτών φύλλων των φυτών του. Παλαιότερα το σύστημα ταξινόμησης Cronquist System είχε εντάξει την οικογένεια Boraginaceae στην τάξη Lamiales. Πλέον όμως είναι φανερό πως εμφανίζει ομοιότητες με οικογένειες τόσο της συγκεκριμένης όσο και άλλων τάξεων. Σύμφωνα με την Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV), η οικογένεια Boraginaceae ανήκει στην ομάδα euasterid I, η οποία περιλαμβάνει τις τάξεις Gentianales, Lamiales και Solanales καθώς και την προσφάτως αναγνωρισμένη τάξη Boraginales, της οποίας αποτελεί και το μοναδικό μέλος. Σε πρόσφατες ταξινομήσεις, η τάξη Boraginales διαχωρίζεται σε διάφορες υποοικογένειες: Boraginaceae s.s. Cordiaceae, Ehretiaceae, Heliotropiaceae, Hydrophyllaceae και Lennoaceae.

Στην οικογένεια Boraginaceae εντάσσονται πάνω από 155 γένη και σχεδόν 2.500 είδη. Τα μέλη της συναντώνται σε παγκόσμια κλίμακα και απαρτίζονται από μία ποικιλία δέντρων, θάμνων και χόρτων. Στα φυτά της οικογένειας εντοπίζονται διαφορές τόσο στο φύλλωμα, όσο και στις ταξιανθίες και τη μορφολογία των καρπών και των ανθών τους. Βασικό γνώρισμα μελών της οικογένειας αποτελεί η απουσία αιθερίων ελαίων όσο και η παραγωγή αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης από τα γένη της, γεγονός που πιθανότατα προκαλεί εκδήλωση ηπατοτοξικότητας η οποία περιγράφεται με τον γενικό όρο πυρρολιζιδινική αλκαλοείδωση (Ορφανού,2014; Φουσέκη,2015; APG IV,2016)

1.2. Γεωγραφική κατανομή:

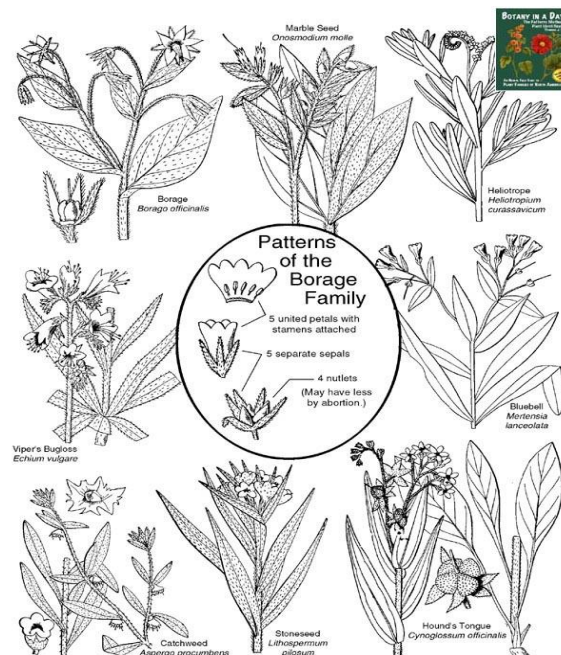
Μέλη της οικογένειας Boraginaceae απαντώνται σε ολόκληρο τον κόσμο σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές, με τα δύο κύρια κέντρα κατανομής τους να εντοπίζονται στη μεσογειακή περιοχή της Μέσης Ανατολής και στις Νοτιοδυτικές Ηνωμένες Πολιτείες . Φυτά που ανήκουν στην οικογένεια εντοπίζονται σε κάθε Ήπειρο και σε πολλά νησιά, όπως σε αυτά του Πράσινου Ακρωτηρίου- Cape Verde και στη Μαδαγασκάρη. Στην Κίνα εμφανίζονται 47 γένη και 294 είδη εκ των οποίων τα 4 γένη και 156 είδη είναι ενδημικά (Ge-link et al., 1995), ενώ στη Νότιο Αφρική 21 γένη και 110 είδη κατανεμημένα σε ποικίλους βιοτόπους. Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί 12 γένη και 42 είδη της οικογένειας (Φουσέκη, 2015).



Εικόνα 1.1: Γεωγραφική κατανομή της οικογένειας Boraginaceae στον κόσμο.

1.3. Βοτανική περιγραφή:

Τα μέλη της οικογένειας είναι κυρίως ποώδη φυτά, σπανίως θαμνώδη, δένδρως ή αναρριχητικά με μονοετή, διετή ή πολυετή διάρκεια ζωής. Ο βλαστός τους είναι κυλινδρικός ή ακανόνιστα γωνιώδης, συνήθως αδρότριχος, οι ρίζες ή τα ριζώματα σαρκώδη και τα φύλλα είναι απλά, χωρίς παραφύλλα και φύονται κατ' εναλλαγήν στο κλάδο (σπανίως αντίθετα) με το περιθώριο τους να είναι ολόκληρο ή οδοντωτό. Λόγω της τραχύτητάς τους το παλιό όνομα της οικογένειας ήταν *Asperifoliaceae* – Τραχυφυλλίδες. Τα άνθη τους είναι συνήθως ακτινόμορφα, υπόγυνα και πενταμερή σε σχήμα διπλού σκορπιού. Εμφανίζονται συχνά κατά μήκος μια πλευράς των κλάδων ή στην άκρη του μίσχου, καθώς αυτό ωριμάζει, σε μια σπειροειδώς κολουριασμένη επάνθιση που ξετυλίγεται και είναι ακτινωτά, ποικιλόχρωμα και σπανίως ελαφρώς ασύμμετρα. Είναι ερμαφρόδιτα, αν και κάποιες φορές τα θηλυκά εμφανίζονται σε ξεχωριστά φυτά. Ο κάλυκας τους είναι τετρασχιδής ή πεντασχιδής ενώ η στεφάνη που φέρουν είναι συμπέταλη, κυλινδρική, με 4-5 λοβούς, συνήθως ισομήκεις και ορισμένες φορές με λέπια ή διπλώσεις στο άνοιγμα του σωλήνα. Οι 5 επιπετάλιοι στήμονες εναλλάσσονται με τους λοβούς της στεφάνης. Η ωοθήκη είναι επιφυής και αποτελείται από δύο καρπόφυλλα. Το κάθε καρπόφυλλο χωρίζεται σε δύο μέρη, ώστε να φαίνεται ότι η ωοθήκη αποτελείται από 4 καρπόφυλλα με μία σπερματική βλάστη το καθένα. Σπάνια η ωοθήκη είναι δίλοβη και ακόμα σπανιότερα τετράχωρη με επάκριο στύλο. Ο στύλος είναι γυνοβασικός και το στίγμα απλό, δισχιδές ή τετρασχιδές. Ο καρπός αποτελείται από 2-4 μονόσπερμα αχαίνια, τα οποία είναι αποξυλωμένα, σκληρά, τραχιά, μερικές φορές αγκαθωτά και φέρουν πτερύγια (Καββάδας, 1956i).



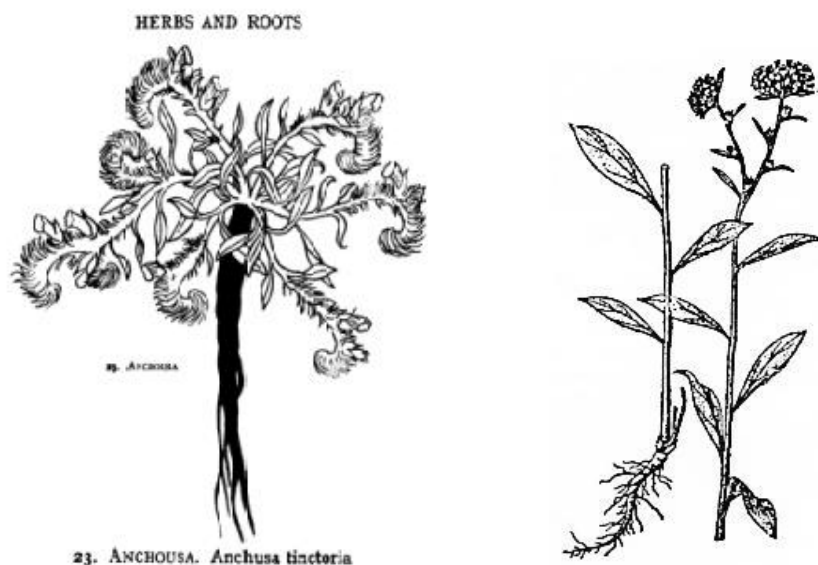
Εικόνα 1.2:Μορφολογικά χαρακτηριστικά ειδών της οικογένειας Boraginaceae

1.4. Χημεία της οικογένειας Boraginaceae

Οι βασικότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες που χαρακτηρίζουν την οικογένεια Boraginaceae είναι τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης καθώς και οι ναφθοκινόνες – παράγωγα αλκαννίνης και σικονίνης. Ακολουθεί μία αναλυτικότερη περιγραφή τους.

1.4.1 Αλκαννίνη/Σικονίνη και παράγωγα

Οι ναφθοκινόνες αποτελούν γνωστούς μεταβολίτες της οικογένειας *Boraginaceae* με τα εναντιομερή μέλη τους αλκαννίνη και σικονίνη να εντοπίζονται στα εξωτερικά στρώματα ριζών των φυτών της οικογένειας σε αναλογία που διαφέρει από φυτό σε φυτό. Βασικότερα είδη στα οποία απαντώνται είναι τα *Alkanna tinctoria* (η παλαιότερη πηγή αλκαννίνης γνωστή και ως *Anchusa tinctoria* ή “alkannet”), *Lithospermum erythrorhizon* (η παλαιότερη πηγή σικονίνης γνωστή και ως “tzu ts’ao, tzu-ken και hung-tzu ken”) και *Arnebia euchroma*. Το πρώτο παράγωγο της κατηγορίας απομονώθηκε το 1922 και ήταν η ακετυλοσικονίνη. Η απομόνωση πραγματοποιήθηκε από τις ρίζες του *Lithospermum erythrorhizon* από τους Ιάπωνες χημικούς Majima και Kuroda.



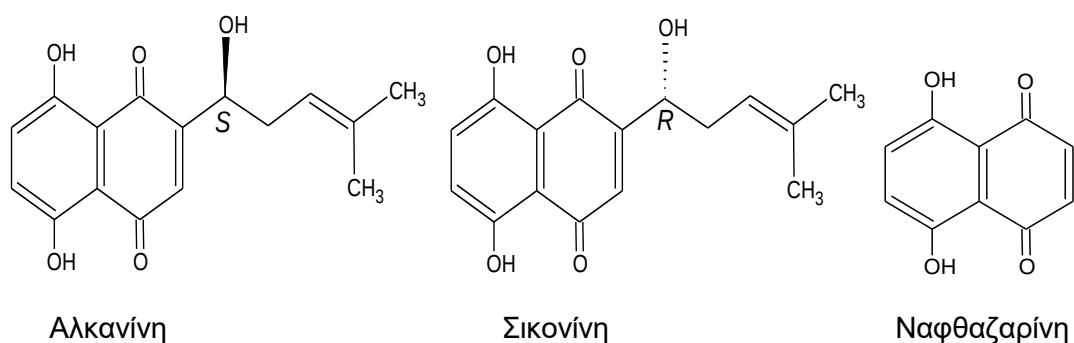
Εικόνα 1.3: σχέδιο φυτών *Alkanna tinctoria* και *Lithospermum erythrorhizon*.

Η αλκανίνη και η σικονίνη είναι εναντιομερείς υδρόξυ-ναφθοκινόνες με την αλκανίνη να αποτελεί την R διαμόρφωση και τη σικονίνη αντίστοιχα την S της φυσικά απαντώμενης ναφθοκινόνης. Επιπλέον εμφανίζονται και τα παράγωγα του ακυλιωμένου υδροξυλίου της πλευρικής τους αλυσίδας.

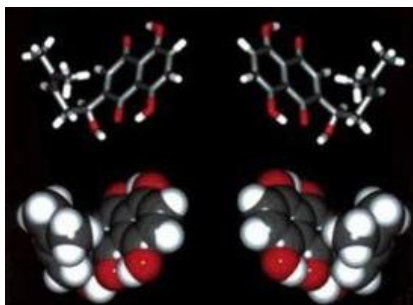
Τα δύο αυτά εναντιομερή είναι γνωστά ως χρωστικές ναφθοκινόνες λόγω του έντονου κόκκινου χρώματος που εμφανίζουν αδιάλυτα ή διαλυμένα σε οργανικούς κυρίως διαλύτες. Με έγχυση τους σε αλκαλικά υδατικά διαλύματα αποκτούν μπλε χρώμα μέσω ιονισμού των όξινων φαινολικών υδροξυλίων. Λόγω της συγκεκριμένης ιδιότητας η αλκανίνη έχει χρησιμοποιηθεί ως χρωστική από τα αρχαία χρόνια, ενώ πλέον τόσο εκείνη (στην Ευρώπη και τη Β. Αμερική) όσο και η σικονίνη (στη Ιαπωνία) χρησιμοποιούνται ως φυσικές χρωστικές στην κλωστοϋφαντουργία, σε τρόφιμα και σε καλλυντικά. Αναφέρονται επίσης και ως ισοεξενυλοναφθαζαρίνες λόγω της πλευρικής αλυσίδας του ισοεξ-3-ενυλίου που εμφανίζεται σχεδόν σε όλα τα παράγωγα του δυκυκλικού συστήματος ναφθαζαρίνης.

Κατά την αρχαιότητα εκχυλίσματα ριζών από *Alkanna tinctoria* χρησιμοποιούνταν για τις θεραπευτικές τους ιδιότητες (επουλωτικές, κατά του έλκους) όμως με το πέρασμα των χρόνων η χρήση τους ξεχάστηκε. Εντούτοις, σύγχρονες μελέτες έρχονται να επιβεβαιώσουν την επουλωτική και αντιμικροβιακή δράση του εκχυλίσματος με τα παράγωγα αλκανίνης να χαρακτηρίζονται ως τα ενεργά συστατικά. Επιπλέον, παράγωγα αλκανίνης/σικονίνης έχουν εμφανίσει σημαντική αντιφλεγμονώδη, αντιθρομβωτική και αντικαρκινική δράση.

Το εύλογο ενδιαφέρον που έχουν προκαλέσει στις φαρμακοβιομηχανίες και τις βιομηχανίες καλλυντικών τα φυσικά αυτά προϊόντα οδήγησε στην υπερεκμετάλλευση και τον κίνδυνο εξαφάνισης των φυτών που τα παράγουν. Για τον λόγο αυτό η διερεύνηση ενός βιοτεχνολογικού τρόπου παραγωγής τους κρίνεται εξαιρετικά ενδιαφέροντα (Δαμιανάκος, 2011., Παπαγεωργίου et al., 1999).



Εικόνα 1.4: Χημική δομή αλκανίνης, σικονίνης και ναφθαζαρίνης



Εικόνα 1.5: Στερεοχημικό μοντέλο αλκαννίνης (αριστερά) και σικονίνης (δεξιά). Ο άνθρακας συμβολίζεται με γκρι χρώμα, το οξυγόνο με κόκκινο και το υδρογόνο με λευκό.

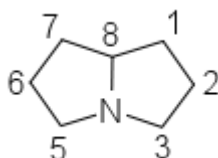
1.4.2. Αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης

Ως αλκαλοειδή καλούνται οι αζωτούχες οργανικές ενώσεις φυσικής προέλευσης που έχουν βασικό χαρακτήρα και σημαντικές φαρμακολογικές ιδιότητες. Το άζωτο βρίσκεται ενσωματωμένο σε ετεροκυκλικό δακτύλιο με τη μορφή δευτεροταγούς ή τριτοταγούς αμίνης, ακόμα και τεταρτοταγούς αμμωνίου. Προέρχονται κυρίως από το φυτικό βασίλειο, σπανίως από ζώα, μύκητες ή μικροοργανισμούς. Απαντώνται περίπου στο 5% των φυτικών ειδών και εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία στη χημική δομή τους. Αν και δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως η σημασία των αλκαλοειδών στα φυτά πιθανά λειτουργούν ως αποθέματα αζώτου σε κάποια είδη ενώ εμφανίζουν και προστατευτικό ρόλο εμποδίζοντας την κατανάλωση του φυτού από φυτοφάγα ζώα.

Τα αλκαλοειδή που ανήκουν στην χημική ομάδα της πυρρολιζιδίνης αποτελούν τους μοναδικούς εκπροσώπους της κατηγορίας που εμφανίζουν ηπατοτοξικότητα (Σουλελές,2000; Δαμιανάκος 2011).

Τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης (PAs) αποτελούν μια ομάδα φυσικά απαντώμενων αλκαλοειδών που έχουν ως βάση τους τη δομή της πυρρολιζιδίνης. Ανιχνεύονται σε περισσότερα από 6000 φυτά, σε περίπου 300 είδη σε 13 διαφορετικές οικογένειες. Οι πλέον χαρακτηριστικές είναι οι οικογένειες Boraginaceae (όλα τα γένη), Asteraceae (γένη Senecioneae, Eupatorieae) και Fabaceae (γένος Crotalaria) (Prakash et al., 1999).

Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί πάνω από 350 διαφορετικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης (χωρίς τον αριθμό των N οξειδίων) με τα μισά περίπου από αυτά να χαρακτηρίζονται ως ηπατοτοξικά (Fu et al., 2004). Επιπλέον, η σύνθεση και η συγκέντρωση των φυτών σε PAs εξαρτάται από την ηλικία, το μέρος του φυτού, την ποικιλία του (γονότυπος/χημειότυπος) όπως επίσης και τις κλιματικές και περιβαλλοντολογικές συνθήκες. (Hoogenboom et al.,2011). Υπάρχει τέλος η πιθανότητα να ανιχνεύονται διαφορετικά αλκαλοειδή σε είδη που αναπτύσσονται σε διαφορετικές εποχές ή τοποθεσίες (Mattocks et al., 1968).

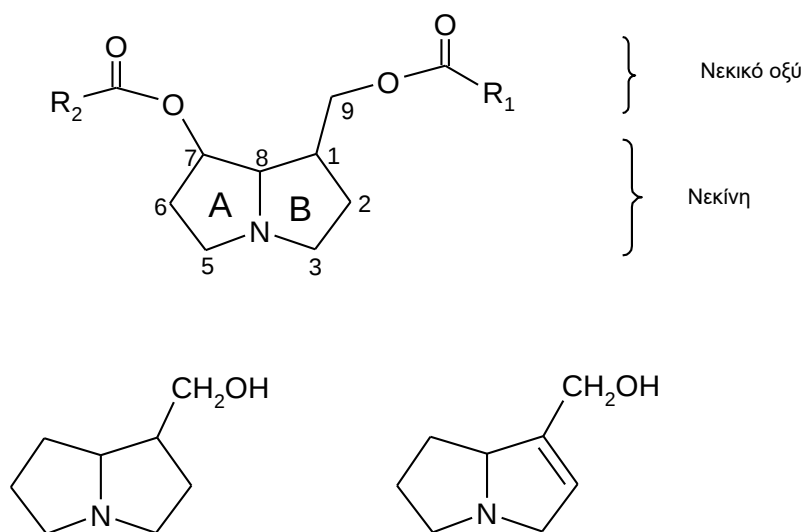


Εικόνα 1.6: Δομή μορίου πυρρολιζιδίνης

Χημεία των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης:

A. Νεκίνες

Ένας μεγάλος αριθμός αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης φέρουν ως βάση τα χημικά μόρια νεκίνες, οι οποίες αποτελούν παράγωγα δικυκλικών αμινοαλκοολών που με τη σειρά τους προέρχονται από 1-υδροξυ-μέθυλο πυρρολιζιδίνη. Η νεκίνη είτε εμφανίζεται κορεσμένη είτε φέρει διπλό δεσμό στη θέση 1,2 (Roeder et al.,1995).



Εικόνα 1.7: Δομή αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης

B. Νεκικά οξέα

Ως νεκικά οξέα ορίζονται τα οξέα με τα οποία είναι εστετοποιημένες οι νεκίνες. Όλα πέραν του οξικού οξέος περιέχουν 5-10 άτομα C και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη δομή. Περιλαμβάνουν μονο- και δι-καρβοξυλικά οξέα με διακλαδισμένες αλυσίδες, που βασίζονται σε απλά δομικά συστατικά. Φέρουν ως υποκατάστατες υδροξυ-, μεθοξυ- ή άλλες αλκοξυ-, εποξυ-, καρβοξυ- και ακετοξυ- ομάδες. Άρα δομικά μπορούν να υπάρξουν πολυάριθμα, στερεο- και διαστερεοϊσομερή παράγωγα (Δαμιανάκος, 2011).

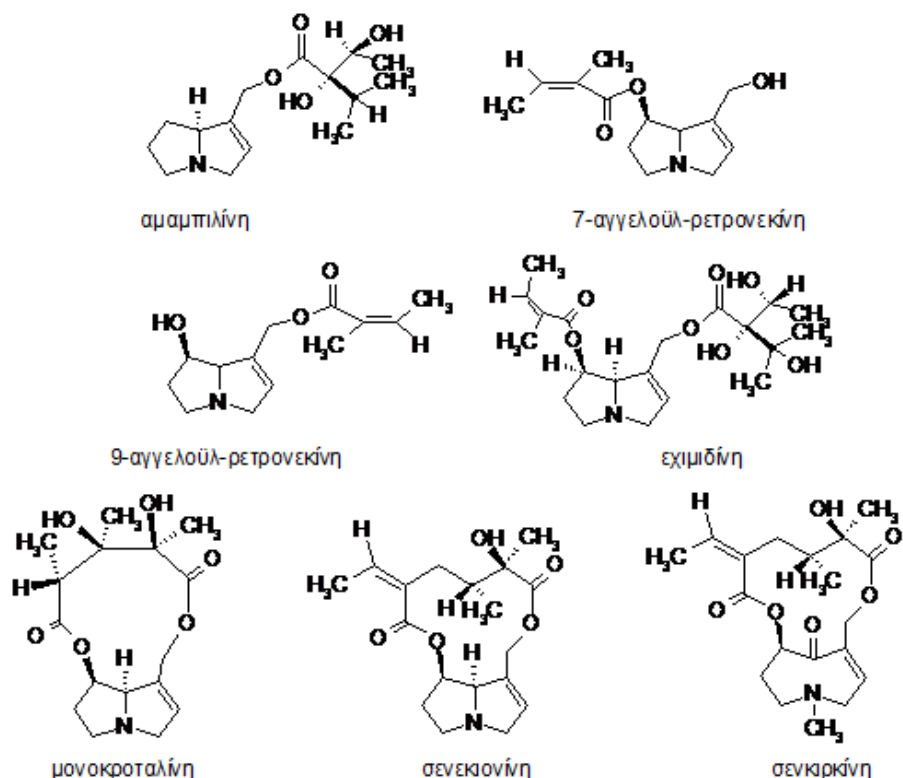
Τοξικότητα των πυρρολιζιδινικών αλκαλοειδών:

Για να εκδηλωθεί η ηπατοτοξικότητα των πυρρολιζιδινικών αλκαλοειδών πρέπει να πληρούνται οι παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Να υπάρχει διπλός δεσμός στη θέση 1,2 της νεκίνης,
- 2.εστεροποίηση της υδροξυλομάδας σε τουλάχιστον μία θέση
3. Να υπάρχει διακλαδισμένη ανθρακική αλυσίδα σε τουλάχιστον μία από τις εστερικές πλευρικές αλυσίδες.

Αλκαλοειδή που προέρχονται από 1-υδροξυμεθυλ-1,2-δεϋδροπυρρολιζιδίνη και είναι εστεροποιημένα με ένα τουλάχιστον διακλαδισμένο C-5 καρβοξυλικό οξύ επιδεικνύουν μια τοξική, καρκινογόνο και μεταλλαξιογόνο δράση. Περίπου 100 από τα μέχρι τώρα γνωστά αλκαλοειδή παρουσιάζουν τέτοια δράση. Ενίσχυση αυτού του φαινομένου παρουσιάζεται όταν μια ακόμα -OH ομάδα εισάγεται στην θέση 7 και επιπλέον είναι εστεροποιημένη, ιδιαίτερα δε αν η νεκινολόλη εστεροποιείται με ένα δικαρβοξυλικό οξύ για να παράγει μια μακροκυκλική ένωση.

Μετά τη λήψη τους τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης διασπώνται σε νεκίνες και νεκικά οξέα από τις μη εξιδεικευμένες εστεράσες του αίματος. Οι νεκίνες δεν εμφανίζουν τοξικότητα και απεκρίνονται συζευγμένες από τα νεφρά και τα ούρα. Το μεγαλύτερο μέρος των αλκαλοειδών μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου εξαιτίας μεταβολικών διεργασιών εμφανίζονται αντιδράσεις γνωστές ως «αντιδράσεις δηλητηρίασης». Κατά την εκδήλωση της τοξικότητας συμβαίνουν κεντρολοβιώδης ηπατική αιμορραγία (συμφόρηση) και κεντρολοβιώδης ηματική νέκρωση. Υπάρχει μάλιστα μία ολοένα αυξανόμενη ανησυχία αναφορικά με τα φυτικά φάρμακα που περιέχουν PAs δεδομένου ότι η επαγόμενη από αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης ηπατική βλάβη είναι συσσωρευτική. Στη χαρακτηριστική κλινική και βιοχημική περίπτωση δηλητηρίασης εμφανίζεται ασκίτης στο 96% των ασθενών, ηπατομεγαλία στο 85% και αυξημένα επίπεδα ηπατικών ενζύμων στο 92% (Neuman et al., 2009).



Εικόνα 1.8: Παραδείγματα αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης.

1.5 Δρογοφαρμακολογία της οικογένειας *Boraginaceae*

Αρκετά μέλη της οικογένειας *Boraginaceae* έχουν χρησιμοποιηθεί στη φυτοθεραπεία με τα σημαντικότερα από αυτά να είναι ο Βόραγος (*Borago officinalis* L.) το Σύμφυτο (*Symphytum officinalis* L.) και η Πουλμονάρια (*Pulmonaria Officinalis* L. και *P. angustifolia* L.) Χαρακτηριστικό των φυτών της οικογένειας είναι ότι δεν παράγουν αιθέρια έλαια, ενώ η παραγωγή αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης μπορεί να φτάσει σε τοξικές συγκεντρώσεις.

Από ρίζες μελών της οικογένειας έχουν απομονωθεί εστέρες αλκαννίνης, οι οποίοι εμφανίζουν επουλωτική, αντιμικροβιακή, αντιογκογόνο και αντιθρομβωτική δράση. Επίσης, η αλκαννίνη και οι συναφείς ενώσεις αποτελούν χρήσιμες χρωστικές, με την πιο γνωστή απ' αυτές να είναι η αλκάννα (γνωστή και ως αλκαννέτ, από το φυτό *Alkanna tinctoria* Tausch), η οποία χρησιμοποιήθηκε από γυναίκες στη Γαλλία για το βάψιμο του προσώπου τους (Φουσέκη, 2015).

2. Γένος *Cordia* L.

2.1. Εισαγωγή

Το γένος *Cordia* L. περιλαμβάνει περίπου 300 είδη και ανήκει στην οικογένεια Boraginaceae. Αποτελεί γένος παντροπικό και το όνομα του αποδόθηκε από τον Plumier το 1703 προς τιμήν του Γερμανού βοτανολόγου και ιατρού Valerius Cordus (1515-1544) (Quattrochi, 1999). Διαχωρίζεται στα ακόλουθα έξι τμήματα: *Cordia*, *Gerascanthus* (Browne) G. Don, *Myxa* (Endlicher) DC, *Rhabdocalyx* A. DC., *Superbiflorae* Taroda, *Varronia* (Browne) G. Don. Από αυτά το μεγαλύτερο με διαφορά είναι το τμήμα *Myxa* (Endlicher) DC, το οποίο περιλαμβάνει περίπου 200 είδη (Miller, 2001).

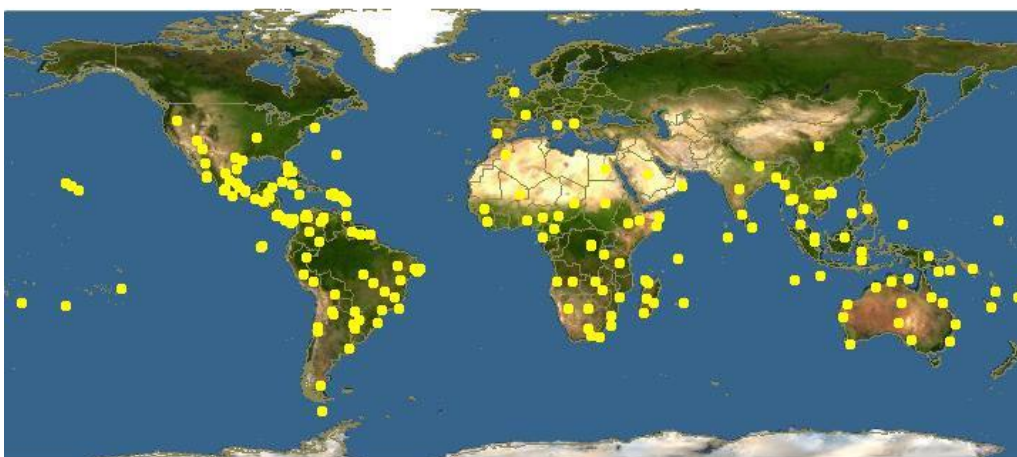
Τα φυτά του γένους *Cordia* αποτελούν σημαντική πηγή ξυλείας καθώς το ξύλο που αποδίδουν είναι ελαφρύ, ανθεκτικό και εύκολα επεξεργάσιμο. Η οικονομική σημασία τους για τις περιοχές στις οποίες φύονται λοιπόν είναι μεγάλη, καθώς χρησιμοποιούνται για την κατασκευή κτιρίων, δαπέδων επίπλων, παραδοσιακών αντικειμένων, σκαφών και μουσικών οργάνων. (Orwa et al, 2009; Southwell et al, 1971; Dai et al., 2010) Μάλιστα, ορισμένα είδη του γένους όπως το *C. alliodora* εμφανίζουν χαρακτηριστικά που τα καθιστούν ιδανικούς υποψηφίους για τη δημιουργία φυτειών. (Bossu, 2015) Τέλος, ο φλοιός ορισμένων ειδών *Cordia* είναι κατάλληλος για το πλέξιμο σχοινιών και χοντρού σπάγκου (Καββάδας, 1965ii).

2.2. Γεωγραφική κατανομή

Το γένος *Cordia* εκτείνεται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές σε ολόκληρο τον κόσμο και με πάνω από 300 είδη αποτελεί το μεγαλύτερο γένος της οικογένειας Boraginaceae (Miller, 2001) Τα φυτά του γένους αναπτύσσονται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές στην Κεντρική και Νότια Αμερική, στην Ινδία την Ασία και την Αφρική. Ενδεικτικά αναφέρεται πως το είδος *C. trichotoma* εντοπίζεται στην Βραζιλία, την Αργεντινή, την Παραγουάη και τη νότια Βολιβία, ενώ ενδημικά της Βραζιλίας είναι τα είδη *C. piauiensis*, *C. laureacea*, *C. leucocephala* και *C. toothi*. Το είδος *C. verbenacea* αναπτύσσεται στη Βραζιλία, την Κεντρική Αμερική και την Αργεντινή ενώ το *C. dichotoma* στην Ινδία. Τα είδη *C. sinensis* και *C. superba* κατανέμονται σε ξηρές περιοχές της Ινδίας, στην Αφρική και την Σαουδική Αραβία. Τέλος τα είδη *C.*

alliodora και *C.africana* εμφανίζονται στην τροπική Αφρική και τη Σαουδική Αραβία. (Matias et al., 2015)

Στην Ελλάδα συναντάται μόνο καλλιεργούμενο το είδος *C.myxa*, στη Χίο και την Ρόδο, γνωστό και ως Κορδία ή Ιξός. Μάλιστα, η περιοχή Μίξη στο χωριό Ιαλυσός της Ρόδου πήρε το όνομα της από το συγκεκριμένο δέντρο. Το ξύλο του είναι μαλακό και χρησιμοποιείται ως προσάναμμα, ενώ από τον καρπό κατασκευάζονται οι ιξόβεργες ή ξόβεργες, πασαλειμμένες με κολλώδη ουσία για τη σύλληψη μικρών πουλιών. πουλιών (http://www.valentine.gr/Rodos-tropica_gr.php). Το είδος αυτό καλλιεργείται και στην Κύπρο, όπου είναι γνωστό και ως μυξιά (Καββάδας, 1956ii; Davis et al., 1978).



Εικόνα 2.1:Γεωγραφική κατανομή του γένους *Cordia* L. στον κόσμο.

2.3. Βοτανική περιγραφή

Τα είδη του γένους *Cordia* είναι θάμνοι ή δέντρα. Τα φύλλα τους διατάσσονται κατ' εναλλαγή, είναι φυλλοβόλα ή αειθαλή, έμμισχα, με τους μίσχους συνήθως να φέρουν αυλακώσεις. Οι ταξιανθίες τους είναι διακλαδισμένες, ακραίες ή μασχαλιαίες, χωρίς βράκτια σε σχήμα κυματοειδές ή σύνθετου βότρου. Τα άνθη είναι τέλεια ή αμφίφυλα, με τα φυτά τότε να είναι δίοικα. Ο κάλυκας έχει σχήμα κυλινδρικό έως καμπανοειδές και μπορεί να είναι έλλοβος (συνήθως με 5 λοβούς) ή οδοντώτος. Η στεφάνη έχει μορφή χωνοειδή, καμπανοειδή ή σωληνοειδή με κυρτωμένους προς τα κάτω ή εκτεινόμενους λοβούς, συνήθως πέντε, σπανίως τέσσερις ή δεκαοκτώ. Μερικές φορές οι λοβοί είναι σχεδόν εξαφανισμένοι, με τη στεφάνη να είναι ακραίως κυματιστή ή σχεδόν περικομμένη. Ο αριθμός των στημόνων είναι ίσος με εκείνο των

λοβών της στεφάνης, με το κατώτερο τμήμα των νηματίων να εισέρχεται στο εσωτερικό της και να φέρει τριχίδια κοντά ή στο σημείο της εισόδου. Οι ανθήρες είναι λογχοειδείς και η ωοθήκη ενιαία με τετρασχιδή ή τετράλοβο στύλο. Ο καρπός είναι δρύπτης, τετράχωρος, με λεπτό εξωκάρπιο, μεσοκάρπιο σαρκώδες και ένα σκληρό ενδοκάρπιο, που περιβάλλει ένα μόνο σπέρμα, χωρίς ενδοσπέρμιο και περιβάλλεται μερικώς από τον κάλυκα (Davis et al., 1978; Miller.,1988).

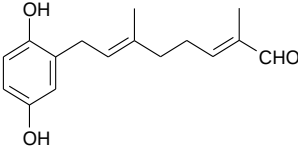
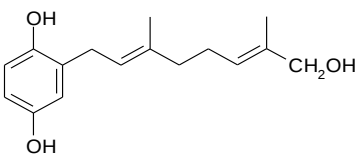
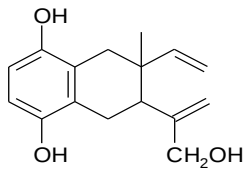
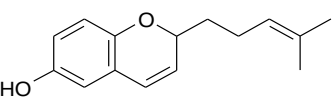
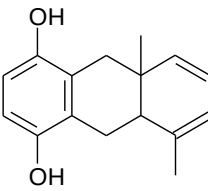
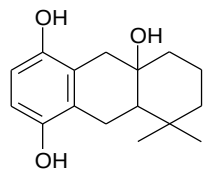
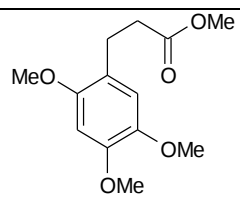
2.4. Αρογοχημεία γένους *Cordia* L.

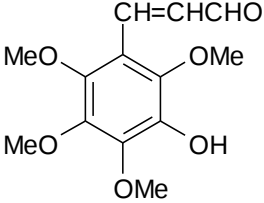
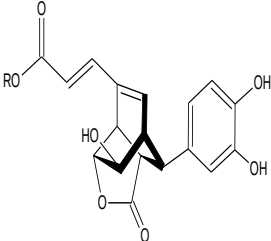
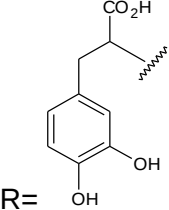
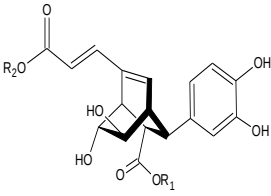
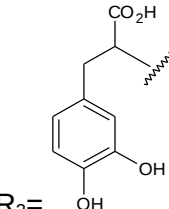
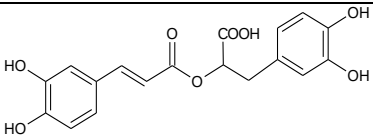
Το γένος *Cordia* L. περιλαμβάνει πληθώρα δευτερογενών μεταβολιτών, με ποικίλες χημικές, βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη διεξαγωγή πολλών μελετών με στόχο την απομόνωση και τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό τους (Matias et al., 2015). Πιο συγκεκριμένα, σε είδη του γένους εντοπίζονται φλαβονοειδή (Wang et al., 1996), φαινολικά παράγωγα (Al-Musayeb et al., 2011), βενζοκινόνες (Menezes et al., 2005), ναφθοκινόνες (Ioset et al., 1999), υδροκινόνες, διτερπένια (Siddiqui et al., 2006ii), τριτερπένια (Velde et al., 1982), σεσκιτερπένια (Owis, 2014), σαπωνίνες (Santos et al., 2005) και αλκαλοειδή (Parks et al., 2010).

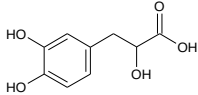
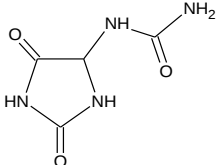
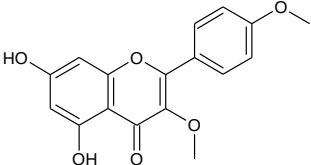
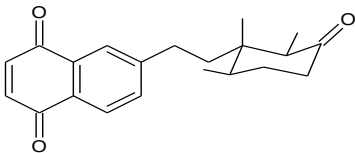
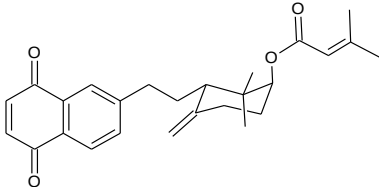
Η ικανότητα ορισμένων ειδών του γένους να βιοσυνθέτουν βενζοκινόνες, ναφθοκινόνες, καθώς και τις ανηγμένες τους μορφές (υδροκινόνες) είναι ιδιαίτερα σημαντική. Τα παράγωγα αυτά, γνωστά ως cordiaquinols, cordiaquinones, allioquinols, cordiols και cordiachromes, θεωρούνται χημειοταξινομικοί δείκτες του γένους, ενώ η παρουσία τους περιορίζεται στις ρίζες των φυτών. (Freitas et al., 2012). Η βιοσυνθετική πορεία των μορίων δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Από τους Moir και Thomson έχει προταθεί μία πορεία κατά την οποία αλληλοεπιδρά ένα μόριο πυροφωσφορικού γερανυλίου με ένα φαινολικό πρόδρομο προς σχηματισμό ενός γερανυλοφαινολικού προδρόμου μορίου. Στη συνέχεια πραγματοποιείται οξείδωση σε μια αλλυλική μεθυλομάδα του νεοσχηματισθέντος μορίου και ενδομοριακή κυκλοποίηση της πλευρικής αλυσίδας του γερανυλίου, η οποία είναι μια αντίδραση όξινης κατάλυσης του φαινολικού τμήματος του μορίου με την αλλυλική υδροξυλομάδα του γερανυλίου. Τα τελικά μόρια cordiaquinols, allioquinols και cordiols σχηματίζονται από επιπρόσθετες κυκλοποιήσεις μέσω όξινης κατάλυσης και μεταθέσεων. Με περαιτέρω οξείδωσή τους σχηματίζονται cordiachromes και συναφή τους μόρια. (Moir et al., 1973i; Manners et al., 1976).

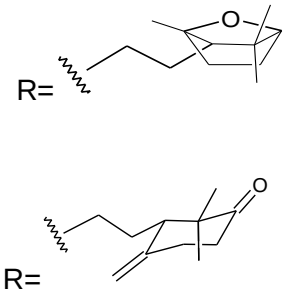
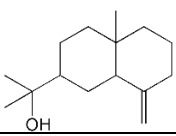
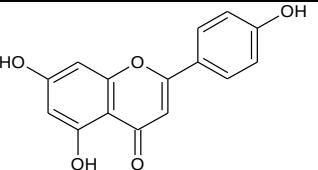
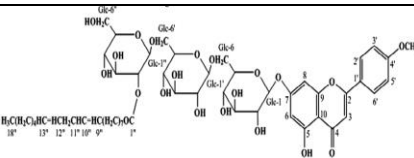
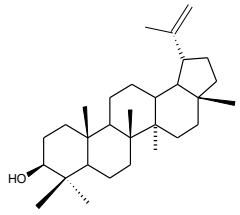
Χαρακτηριστικό των μελών του γένους *Cordia* είναι το γεγονός ότι δεν συνθέτουν ηπατοτοξικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης, σε αντίθεση με πολλά άλλα γένη της οικογένειας Boraginaceae. Τα μοναδικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης που έχουν απομονωθεί ως σήμερα από το γένος είναι το floridanine από την *C.sinensis* και το macrophylline, το οποίο εντοπίζεται στο φυτό *Cordia myxa* και δεδομένης της απουσίας ακόρεστου δακτυλίου 3-πυρρολίνης δεν πληρούν τις δομικές προϋποθέσεις για την εμφάνιση τοξικότητας (Wassel et al., 1987) Άλλες αζωτούχες ενώσεις που έχουν απομονωθεί από το γένος είναι το ουρεΐδιο αλλαντοΐνη από τα είδη *C. boissieri* (Domínguez et al., 1972), *C. millennii* (Tapondjou et al., 2005), *C. obliqua* (Chauhan et al., 1978ii) *C. trichotoma* (Menezes et al., 2001, και *C.alliadora* (Φουσέκη, 2015) αλλά και τα αλκαλοειδή γλουταριμιδίου (cordiarimide A και cordiarimide B) από την *C. globifera* (Parks et al., 2010)

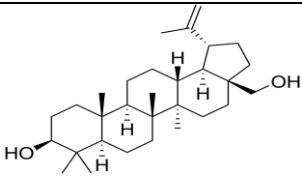
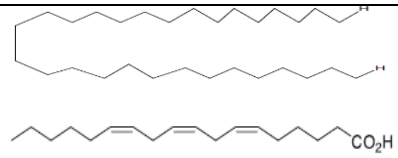
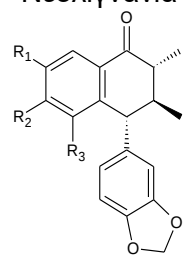
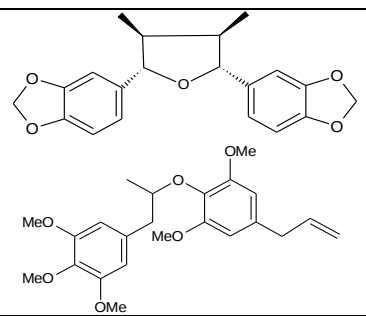
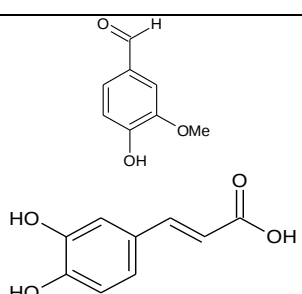
Πίνακας 2.1: Απομονωμένες ενώσεις από είδη του γένους *Cordia*.

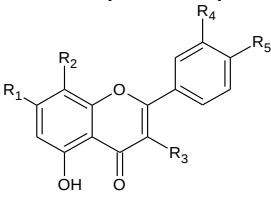
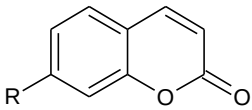
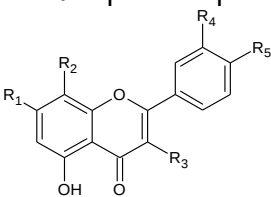
Είδος <i>Cordia</i>	Τμήμα φυτού	Τάξη ενώσεων	Όνομα ένωσης	Δομή απομονωμένης ένωσης
<i>C. alliodora</i> (Stevens et al., 1973) (Manners et al., 1977)	καρδιόξυ-λο	Φαινολικά τερπένια	alliodorin	
			alliodorol	
			allioquinol C	
			cordiachromen A	
			cordiaquinol C	
			cordiol A	
(Ioset et al., 2000i)	φλοιός ρίζας	Παράγωγο φαινυλοπροπανίου	1-(3'-methoxypropanoyl)-2,4,5-trimethoxybenzene	

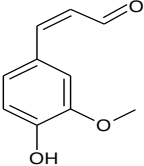
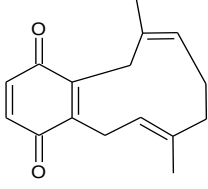
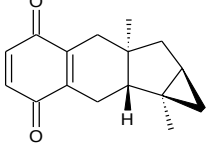
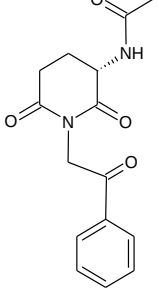
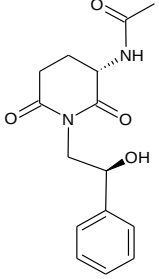
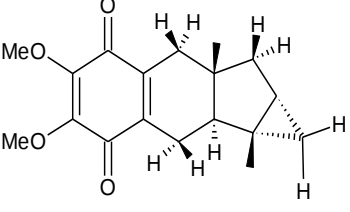
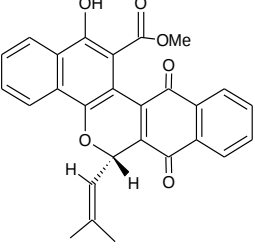
		Παράγωγο φαινυλοπροπανίου	patagonaldehyde	
(Fernández et al., 2013)	φλοιός	Νεολιγνάνια	rufescenolide B	
			rufescenolide C	R=H
			rufescenolide D	
			yunnaneic acid I	R ₁ = H
			yunnaneic acid J	
				R ₂ =
				R ₁ =CH ₃
		Φαινολικό οξύ	rosmarinic acid	

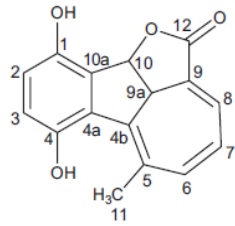
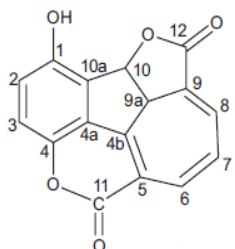
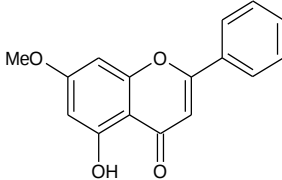
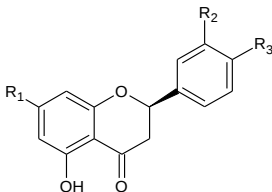
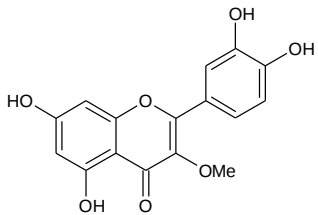
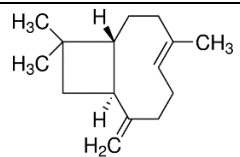
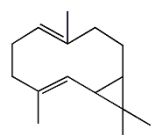
(Geller et al., 2010)	φύλλα	Τριτερπένια	α -amyrin β -amyrin	
		Φαινολικά οξέα	rosmarinic acid danshensu	
		Φλαβονοειδή	rutin quercitrin	
		Φυτοστερόλες	β -sitosterol campesterol	
C. boissieri (Domínguez et al., 1972)	άνθη	Ουρεΐδιο	allantoin	
		Φλαβονοειδή	dimethyl-3,4'-kaempferol	
C. corymbosa (Bieber et al., 1990; Bieber et al., 1994)	ρίζες	Μεροτερπενικές ναφθοκινόνες	cordiaquinone A	R=H
			cordiaquinone D	R=CH ₃ (CH ₂) ₂₄ CO
			cordiaquinone B	
			cordiaquinone C	

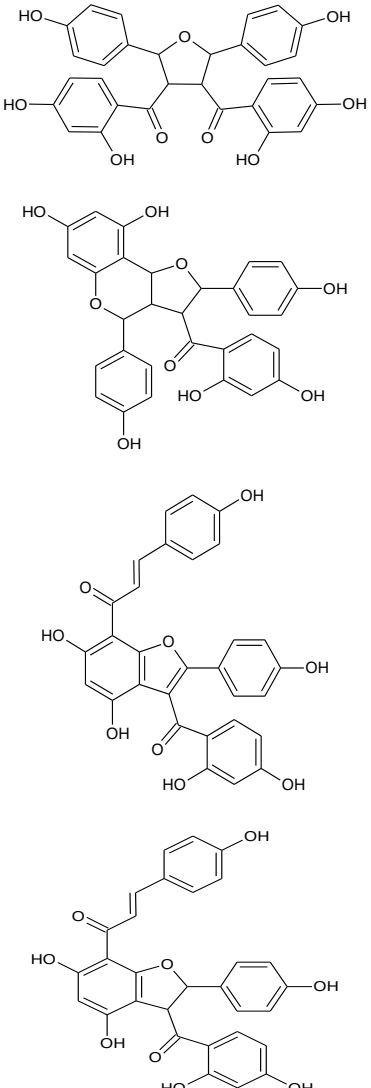
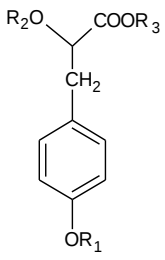
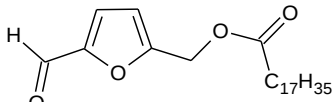
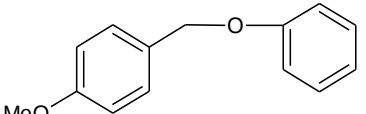
C.curassavica (loset et al.,2000)	Ρίζες	Μεροτερπενικές ναφθοκινόνες	cordiaquinone A cordiaquinone J cordiaquinone K	
	Υπέργειο τμήμα	Σεσκιτερπένιο	β-eudesmol	
	Φύλλα	Σεσκιτερπένια	α-pinene β-phellandrene rosmarinic acid	
C.dentata (Ferrari et al., 1997)	άνθη	Φαινολικό οξύ	rosmarinic acid	
		Φλαβονοειδές	rutin	
C.dichotoma (Ganjare et al., 2011) (Jamkhanda et al.,2013)	φλοιός	Φλαβονοειδές	apigenin	
		Ουρεΐδιο	allantoin	
		Φυτοστερόλες	β-sitosterol	
(Wang et al., 1996)	φύλλα	Φλαβονοειδή	5,7-Dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O-β-d-glucopyranosyl-(Glc-6 → Glc-1')-O-β-d-glucopyranosyl-(Glc-6 → Glc-1'')-O-β-d-glucopyranosyl-Glc-2''-linolenate. quercetin quercitrin	
	καρποί	Τριτερπένια	α- amyrin lupeol	

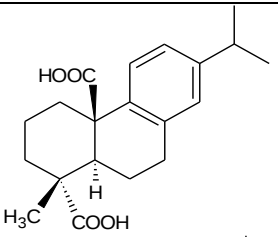
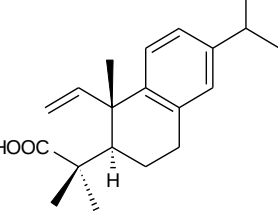
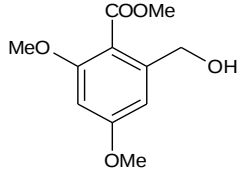
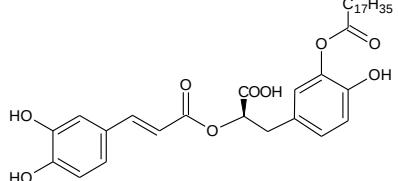
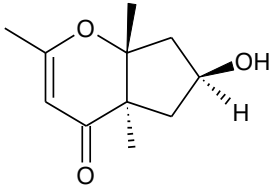
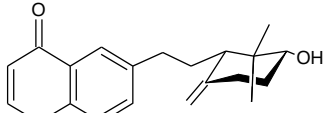
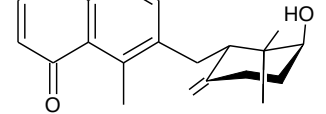
			betulin	
		Φλαβονοειδή	robinin rutin datiscoside hesperidin dihydrorobinetin Taxifollin 3,5-dirhamnoside	
		Φαινολικά οξέα	caffeic acid chlorogenic acid	
		Λιπαρά οξέα	Hentricontanol γ -linolenic acid	
C. exaltata (Nogueira et al., 2013)	καρποί	Νεολιγνάνια 	8,8'-dimethyl-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-oxo-2,7'-cyclo lignan 8,8'-dimethyl-4,5-dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7-oxo-2,7'-cyclo lignan	$R_1=H$ $R_2=R_3= -OCH_3O-$ $R_1= R_2= OCH_3$ $R_3= H$
	φλοιός	Νεολιγνάνια	2,5-bis-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-3,4-dimethyltetrahydrofuran 3,4,5,3',5'-pentamethoxy-1'-allyl-8.O.4'-neolignan	
		Πορφυρίνη	13 ² -hydroxy-17 ³ -ethoxypheophorbide A	
		Φαινολικά οξέα	<i>m</i> -methoxy- <i>p</i> -hydroxybenzaldehyde (<i>E</i>)-7-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-propenoic acid	

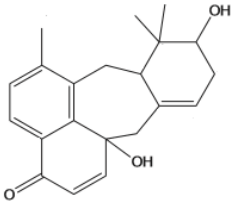
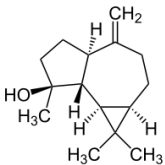
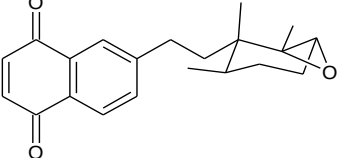
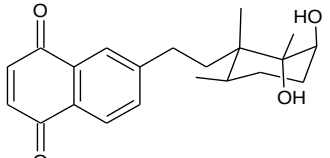
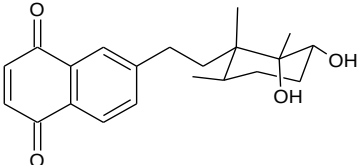
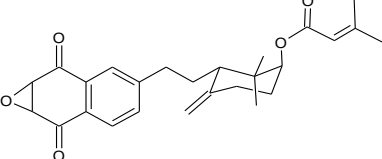
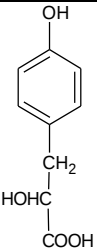
		Φλαβονοειδή 	5,8-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone kaempferol 3-O-β-D-glucosyl-6"-α-L-rhamnopyranoside	R ₁ =R ₅ =OMe R ₂ =OH R ₃ =R ₄ =H R ₁ = R ₅ =OH R ₂ = R ₄ =H R ₃ =-O-Glucose-6"-O-rhamnose
		Φυτοστερόλες sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside		
	Φύλλα	Κουμαρίνες 	1-benzopyran-2-one 7-hydroxy-1-benzopyran-2-one	R= H R=OH
		Πορφυρίνες phaeophytin A 13 ² -hydroxyphaeophytin A		
		Φλαβονοειδή 	3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavonol 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavone kaempferol 3,7-di-O-α-L-rhamnopyranoside	R ₁ = R ₃ =R ₄ =R ₅ = OH R ₂ =H R ₁ = OH R ₂ = R ₃ = R ₄ =H R ₅ =OMe R ₁ = R ₃ = -O-rhamnose R ₂ = R ₄ =H R ₅ = OH
		Φυτοστερόλες sitosterol stigmasterol sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside		
	C. francisci (Ficarra et al., 1995)	Φλαβονοειδή robinin rutin datiscoside hesperidin dihydrorobinetin		
		Φαινολικά οξέα chlorogenic acid caffeic acid		
C. gillettii	φλοιός	Τριτερπένιο	lupeol	

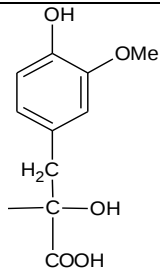
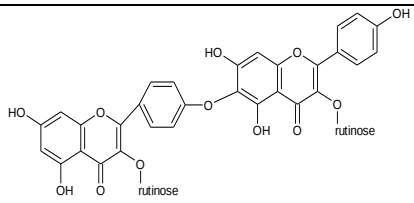
(Osuka et al., 2014)	ρίζας	Φαινολικό παράγωγο	ferulaldehyde	
C. globifera (Dettrakul et al., 2009) (Parks et al., 2010)	ρίζας	Μεροτερπενικές βενζοκινόνες	globiferin	
			globiferane	
		Αλκαλοειδή γλουταριμιδίου	cordiarimide A	
			cordiarimide B	
C.globosa (Menezes et al., 2005)	ρίζας	Μεροτερπενική βενζοκινόνη	(1aS,1bS,7aS,8aS)-4,5-dimethoxy-1a,7a-dimethyl-1,1a,1b,2,7,7a,8,8a-octahydrocyclopropa[3,4]cyclopenta[1,2-b]naphthalene-3,6-dione	
		Ναφθοκινόνη	microphyllaquinone	

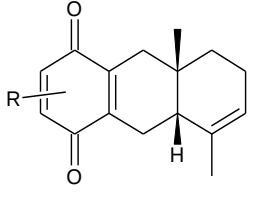
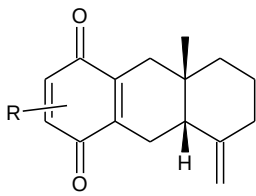
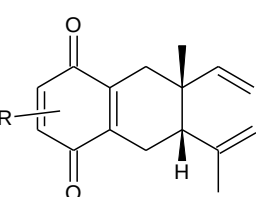
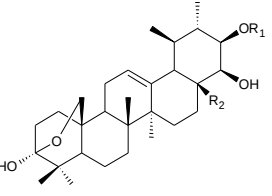
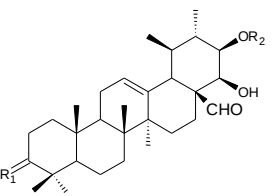
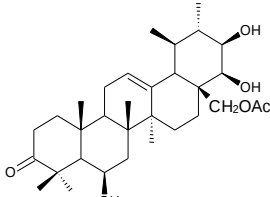
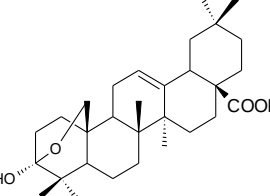
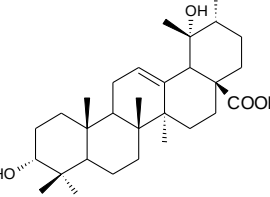
(Silva et al., 2016)		Υδροκινόνες	<i>rel</i>-(4<i>bE</i>,6<i>Z</i>,8<i>E</i>,9<i>aS</i>,10<i>S</i>)-1,4-dihydroxy-9<i>a</i>,10-dihydro-10,12-epoxy-5-methylbenzo[<i>a</i>]azulen-12-one <i>rel</i>-(4<i>bZ</i>,6<i>Z</i>,8<i>E</i>,9<i>aS</i>,10<i>S</i>)-1-hydroxy-9<i>a</i>,10-dihydro-4,11:10,12-diepoxybenzo[<i>a</i>]azulen-11,12-dione	 
(Silva et al., 2004i)	υπέργειο	Φλαβονοειδή	7-methoxyflavone	
(Silva et al., 2010)			quercetin 3-methyl ether	
			narigenin-4',7-dimethyl ether	
			5-hydroxy-4',7-dimethoxyflavanone	$R_1=R_3=\text{OCH}_3$ $R_2=\text{H}$
(Owis et al., 2014)			eriodictyol	$R_1=R_3=\text{OCH}_3$ $R_2=\text{H}$
	Φύλλα	Σεσκιτερπένιο	β-caryophyllene	
			bicyclogermacrene	

<i>C. goetzei</i> (Marston et al., 1988)	φλοιός	Πολυφαινολικά παράγωγα	cordigone cordigole 3-(2,4-dihydroxybenzoyl)- 4,6-dihydroxy-2-(4 -hydroxyphenyl)-1-benzofuran-7-yl 2-(4-hydroxyphenyl)- ethenyl ketone 3-(2,4-dihydroxybenzoyl)-2,3-dihydro-4,6-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-benzofuran-7-yl 2-(4-hydroxyphenyl)-ethenyl ketone	
<i>C. latifolia</i> (Siddiqui et al., 2006i) (Siddiqui et al., 2010) (Begum et al., 2011)	καρποί	Παράγωγα φαινυλοπτοπανίου  Παράγωγο υδροξυμεθυλοφουρ- φουράλης Φαινολικό παράγωγο Φαινολικό οξύ	latifolicinin A latifolicinin B latifolicinin C latifolicinin D latifolinal latifolidin rosmarinic acid	$R_1=R_2=H$ $R_3=(CH_2)_3CH_3$ $R_1=R_2=H$ $R_3=CH_2CH_3$ $R_1=R_2=H$ $R_3=CH_3$ $R_1=CH_3$ $R_2=R_3=H$  

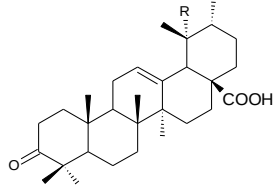
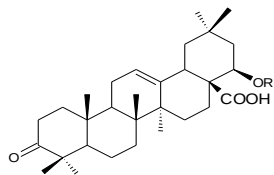
(Siddiqui et al., 2006ii) (Begum et al., 2011)	φλοιός	Διτερπένια	cordioic acid	 
		Τριτερπένιο	cordinoic acid	
(Siddiqui et al., 2010) (Begum et al., 2011)	Φύλλα	Παράγωγα φαινολικών οξέων	cordicinol	 
			cordicilin	
		Μονοτερπένιο	cordinol	
C. <i>leucocephala</i> (Matias et al., 2015) (Diniz et al., 2015) (Owis, 2014)	Ρίζες	Ναφθοκινόνες	cordiaquinone J	   
			cordiaquinone L	
			cordiaquinone M	
			cordiaquinone P	

				
	Φύλλα	Σεσκιτερπένια	β-caryophyllene spathulenol	
<i>C. nariya</i> (loset et al., 1998)	ρίζες	Ναφθοκινόνες	cordiaquinone E cordiaquinone F cordiaquinone G cordiaquinone H cordiaquinone B cordiaquinone C	   
(loset et al., 1999)				
<i>C. macleodii</i> (El-Sayed et al., 1998)	υπέργεια	Παράγωγα φαινολικών οξέων	π-hydroxyphenyl lactic acid	

			2-hydroxy 3-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl) 2-methyl propionamide π-hydrobenzoic acid ferulic acid caffeic acid chlorogenic acid	
		Φλαβονοειδή	3,3''-hinokiflavanol dirutinoside quercetin quercetin 3-O-L-rhamnoside quercetin 3-O-rutinoside quercetin 3-O-β-glucopyranosyl (1→2) O-β-D-glucuronate ethyl ester kaempferol kaempferol 3-O-β-glucopyranoside kaempferol 3-O-L-rhamnoside kaempferol 7-O-neohesperidoside	
C. martinicensis (Ficarra et al., 1995)	φύλλα	Φλαβονοειδή	robinin rutin datiscoside hesperidin dihydrorobinetin	
		Φαινολικά οξέα	chlorogenic acid caffeic acid	
C. millennii (Moir et al.,	καρδιόξυ-λο	Τερπενικές βενζοκινόνες		

1973i)		  	cordiachrome A cordiachrome D cordiachrome B cordiachrome E cordiachrome C cordiachrome F	R=H R=OMe R=H R=OMe R=H R=OMe
<i>C.multispicata</i> (Kuroyanagi et al., 2001)	φύλλα	Τριτερπένια  	cordiaketal A cordiaketal B cordianal A cordianal B cordianal C cordianone lantanollic acid 3-epipomolic acid	R₁=Ac, R₂=CHO R₁=H, R₂=CH₂OAc R₁=O, R₂=Ac R₁=O, R₂=H R₁=β-OH, α-H, R₂=H   

(Kuroyanagi et al., 2003)



lantalic acid

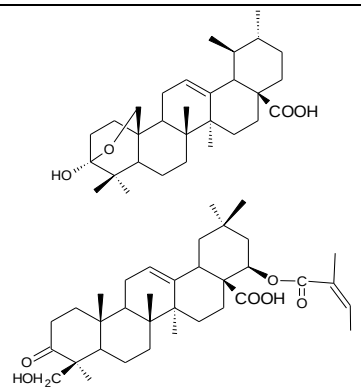
icterogenin

lantadene A
lantadene B

ursolic acid
pomonic acid

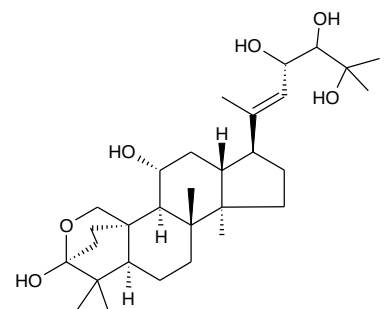
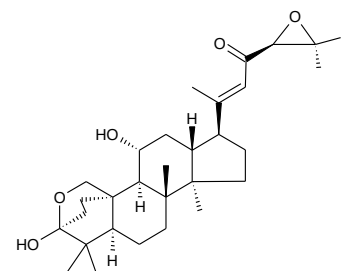
cordialin A

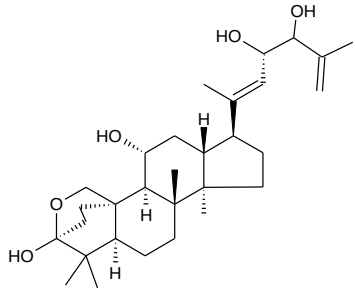
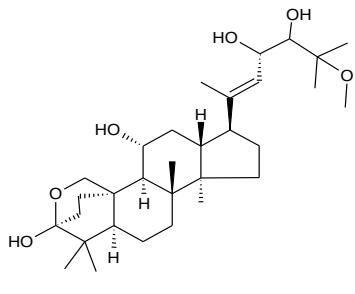
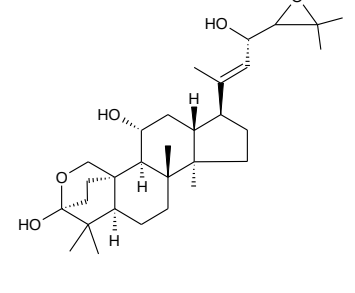
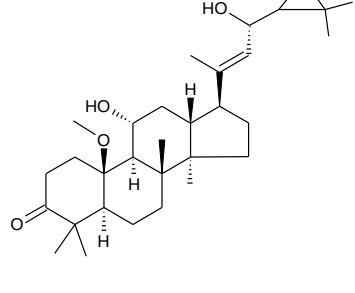
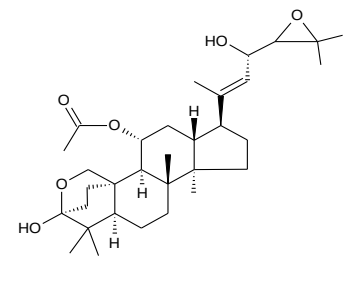
cordianol A

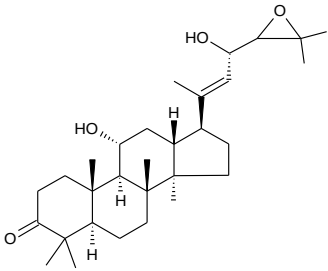
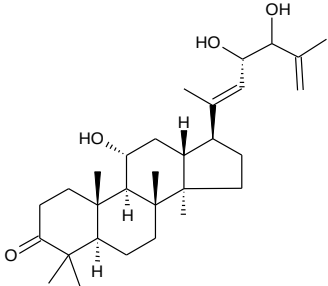
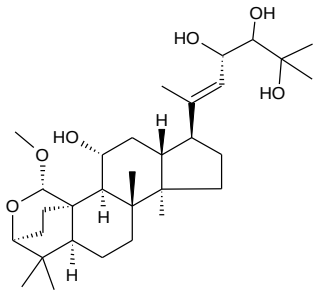
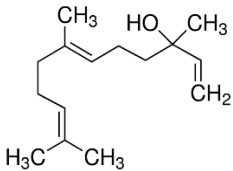


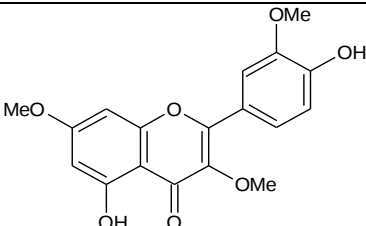
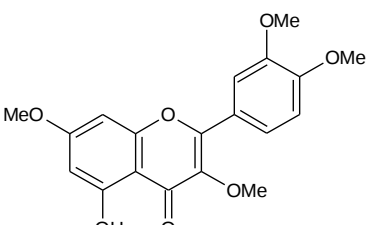
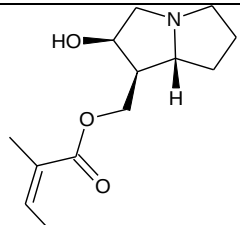
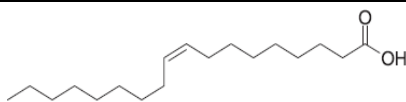
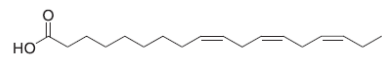
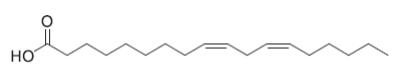
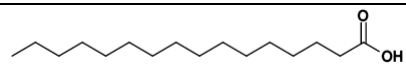
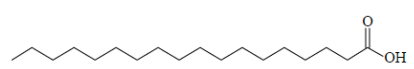
R=2-methyl-2Z-butenoyl
R=3-methylbutenoyl

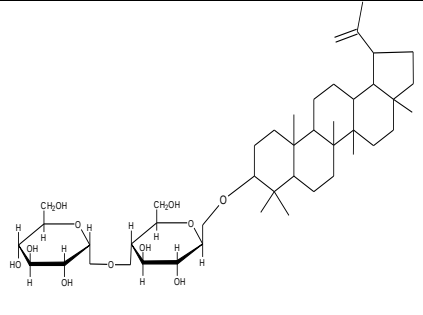
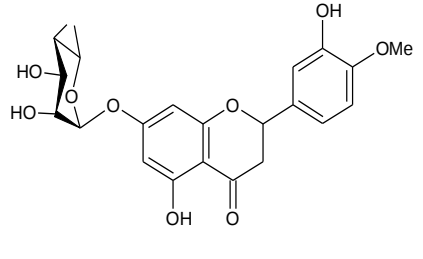
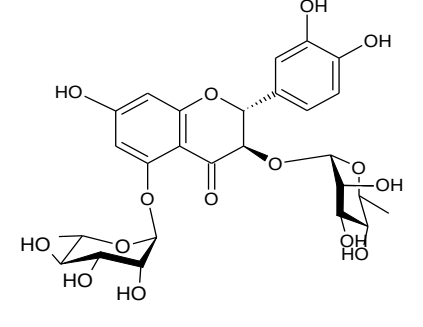
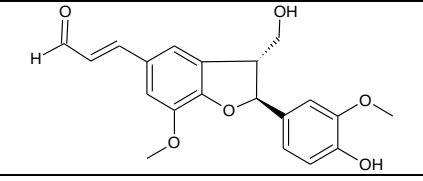
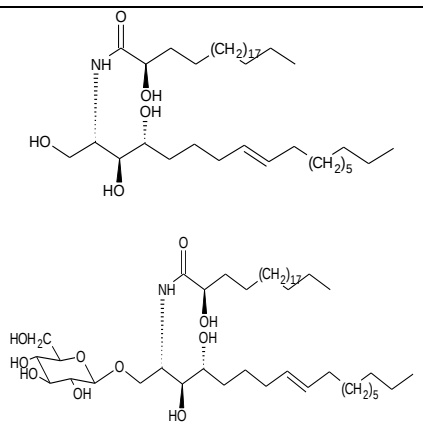
R=H
R=OH

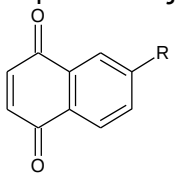
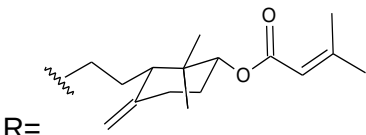
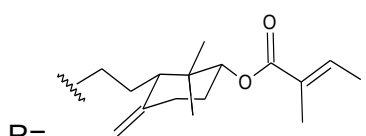
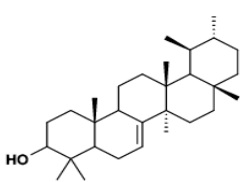


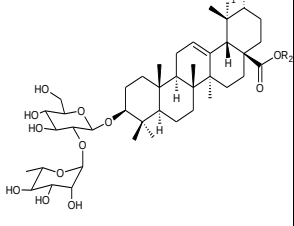
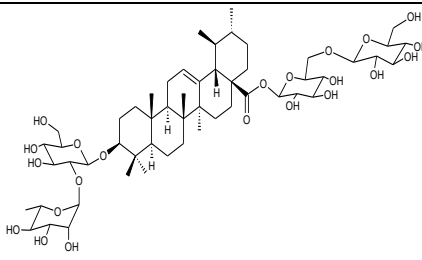
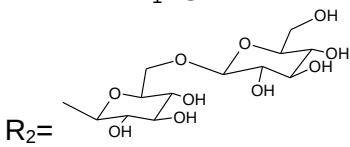
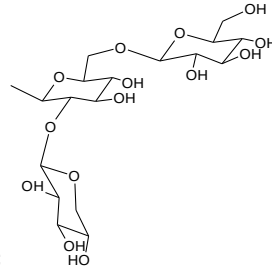
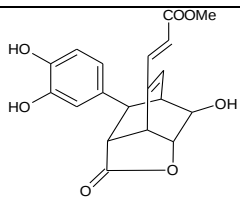
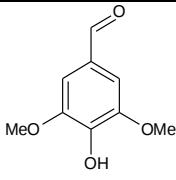
			cordianol B	
			cordianol C	
			cordianol D	
			cordianol E	
			cordianol F	
			cordianol G	

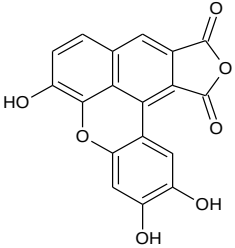
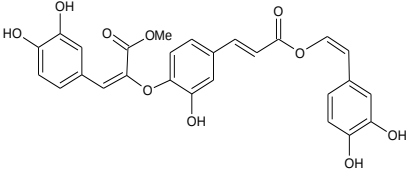
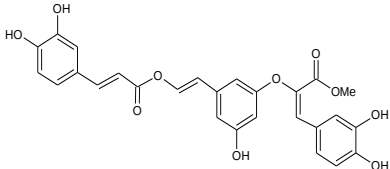
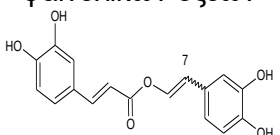
(Owis.,2014)			cordianol H	
			cordianol I	
				
		Σεσκιτερπένια	β-caryophyllene	
			(E)-Nerolidol	

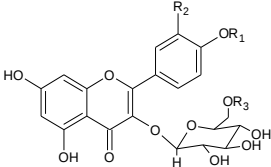
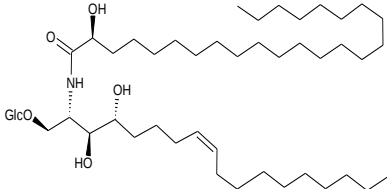
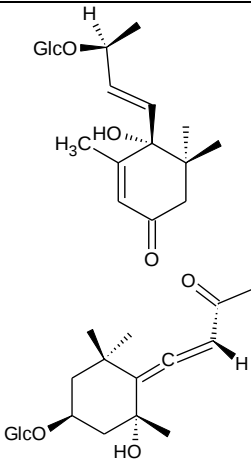
(Kuroyanagi et al., 2001)		Φλαβονοειδή	pachypodol	
			retusin	
C. myxa (Wassel et al., 1987)	όλο	Αλκαλοειδές πυρρολιζιδίνης	macrophylline	
(Al-Snafi, 2016)		Καροτενοειδή	violoxanthin 19'-Z-violoxanthin antherxanthin lutein β-carotene αβ-carotene	
(Thirupathi et al., 2008)	φύλλα	Λιπαρά οξέα	oleic acid α-linolenic acid linoleic acid	  
(Ranjbar et al., 2016)		Φυτοστερόλη	β-sitosterol	
	καρποί	Τριτερπενοειδές	α-amyrin	
		Λιπαρά οξέα	palmitic acid steatic acid	 
(Ficarra et al., 1995, Purkayastha, 1995)	φύλλα	Φαινολικά οξέα	chlorogenic acid caffeic acid p- coumaric acid vanillic acid	

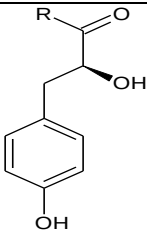
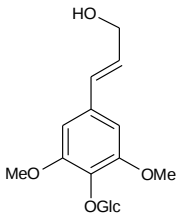
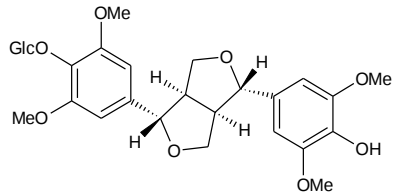
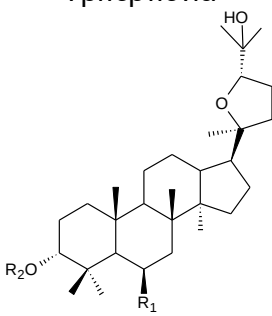
		Φλαβονοειδή	robinin rutin datiscoside hesperidin dihydorobinetin	
<i>C. obliqua</i> (Chauhan et al., 1978ii) (Chauhan et al., 1978i)	ρίζες	Τριτερπένιο	lupa-20, 29-ene-3-O-β-D-maltoside	
		Ουρεΐδιο	allantoin	
		Φλαβονοειδές	hesperetin 7-O-rhamnoside	
(Srivastava et al., 1979)	βλαστός	Φλαβονοειδές	taxifolin-3-5-dirhamnoside	
<i>C. platythyrsa</i> (Tapondjou et al., 2005)	βλαστός	Νεολιγνάνιο	balanophonin	
		Ουρεΐδιο	allantoin	
		Σφιγγολιπίδια	(2S,3S,4R,8E)-2N-[(2'R)-2'-hydroxy-tetracosanoyl]-8(E)-octadecene-1,3,4-triol 1-O-(β-D-glucopyranosyl)-(2S,3S,4R,8E)-2N-[(2'R)-2'-hydroxy-tetracosanoyl]-8(E)-octadecene-1,3,4-triol	

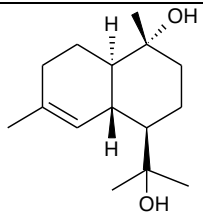
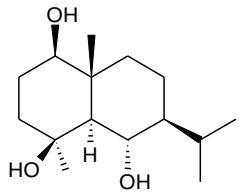
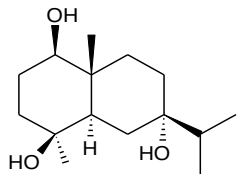
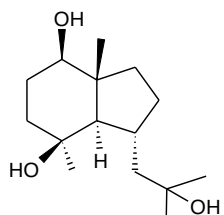
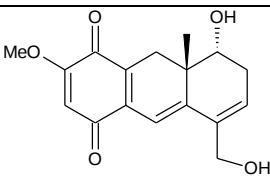
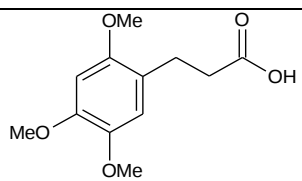
		Φυτοστερόλες	β -sitosterol 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -sitosterol	
C. polycephala (Freitas et al., 2012)	ρίζες	Ναφθοκινόνες 	cordiaquinone N cordiaquinone O cordiaquinone B cordiaquinone E cordiaquinone L	 R=  R=
(Ficarra et al., 1995)	φύλλα	Φαινολικά οξέα	chlorogenic acid caffeic acid	
		Φλαβονοειδή	robinin rutin datiscoside hesperidin dihydorobinetin	
C.retusa (Amudha et al., 2016)	Υπέργεια τμήματα	τριτερπένια	α -amyrin β -amyrin baurenol	

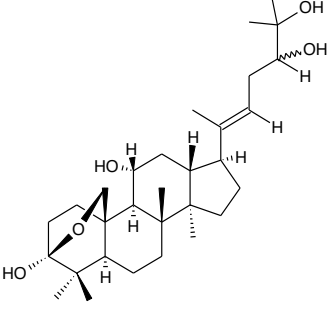
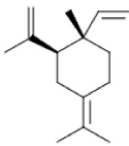
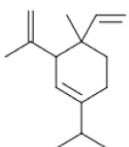
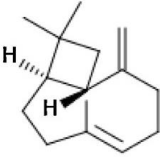
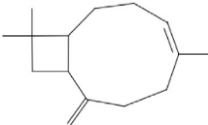
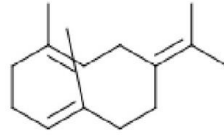
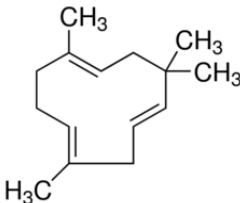
<i>C. rufescens</i> (Santos et al., 2003) Santos et al., 2005) (Vale et al., 2012)	βλαστός	Σαπωνίνες	3β-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl] ursolic acid 28-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester  3β-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl] pomolic acid 28-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester 3β-O-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl] oleanolic acid 28-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl] ester	 R₁=OH  R₂= R₁=H  R₂=
		Λιγνάνιο	rufescenolide	
		Παράγωγα φαινολικών οξέων	caffeic acid methyl ester rosmarinic acid methyl ester 4-methoxyprotocatechuic acid	
		Παράγωγο φαινυλοπροπανίου	syringaldehyde	
		Φυτοστερόλες	β-sitosterol stigmasterol 3-β-O-D-glucopyranosyl-	

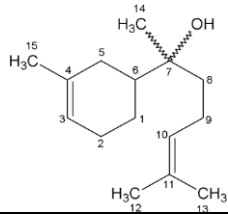
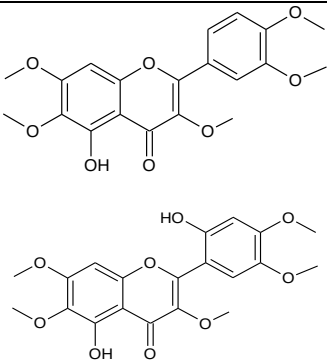
			sitosterol	
(Silva et al., 2004ii)	βλαστός + κλαδιά	Λιγνάνιο	rufescidride	
C.sebestena (Dai et al., 2010)	Καρποί	Παράγωγα φαινυλοπρροπανίου	sebestenoid A sebestenoid B sebestenoid C sebestenoid D	  $\Delta_{7,8} = Z$ $R_1 = OH$ $R_2 = H$ $\Delta_{7,8} = E$ $R_1 = H$ $R_2 = OH$
		Παράγωγα φαινολικών οξέων	netpetoidin A netpetoidin B caffeic acid rosmarinic acid rosmarinic acid methyl ester	 $\Delta_{7,8} = E$ $\Delta_{7,8} = Z$
C. serratifolia (Ficarra et al., 1995)	φύλλα	Φαινολικά οξέα	chlorogenic acid caffeic acid	
		Φλαβονοειδή	robinin rutin datiscoside hesperidin dihydrorobinetin	

C.sinensis (Al-Musayeib et al., 2011)	υπέργειο	Παράγωγα φαινολικών οξέων	protocatechuic acid trans-caffeic acid rosmarinic acid rosmarinic acid methyl ester	
		Φλαβονοειδή 	kaempferide-3-O-β-D-glucopyranoside kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside kaempferide-3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranoside kaempferol-3-O-α-L-rhamnopyranosyl (1→6)-β-D-glucopyranoside	R ₁ =Me R ₂ =R ₃ =H R ₁ =R ₂ =R ₃ =H R ₁ =R ₃ =H R ₂ =OH R ₁ =Me R ₂ =H R ₃ =rhamnosyl R ₁ =R ₂ =H R ₃ =rhamnosyl
		σφιγγολιπίδιο	(2S,1'S,2'S,3'R,7'Z)-N-1'-(O-β-D-glucopyranosyl)methyl-2',3'-dihydroxy-heptadec-7'-enyl-2-hydroxy-tetracosaneamide	
			6-hydroxy-3-oxo-α-ionol 9-O-β-D-glucopyranoside staphylionoside D	
		φαινολικά παράγωγα	methyl 2-hydroxy-3-(4'-hydroxy)-phenyl-propionate	R=OMe
(Firdous et al., 2014)	φύλλα			

			(2R)-(4-hydroxyphenyl)lactic acid 3-(3',5'-dimethoxy-4'-O-β-D-glucopyranosyl-phenyl)-prop-3E-en-1-ol syringaresinol mono-β-D-glucoside	R=OH  
		φυτοστερόλες	β-sitosterol 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sitosterol	
<i>C. spinescens</i> (Nakamura et al., 1997) (Lim et al., 1997)	φύλλα	Τριτερπένια 	3α,6β,25-trihydroxy-20(S),24(S)-epoxydammarane 3α-acetoxyl-6β,25-dihydroxy-20(S),24(S)-epoxydammarane cabraleadiol	R₁=OH R₂=H R₁=OH R₂=Ac R₁=R₂=H
		Παράγωγα φαινολικών οξέων	magnesium lithospermate magnesium rosmarinatate calcium rosmarinatate	
<i>C. trichotoma</i> (Menezes et al., 2001) (Seikel et al., 1964)	καρδιόξυ-λο	Ουρεΐδιο	allantoin	
		Τριτερπένιο	oleanolic acid	
		Σεσκιτερπένια	α-eudesmol β-eudesmol γ-eudesmol guaiol α-cadinol	

(Menezes et al., 2001) (Menezes et al., 2004) (Menezes et al., 2001) (Menezes et al., 2004) (Menezes et al., 2001)			trichotomol (+)-1β,4β,6α-trihydroxyeudesmane (-)-1β,4β,7α-trihydroxyeudesmane (+)-1β,4β,11-trihydroxy-8(7$\rightarrow$6)-abeoeudesmane	   
		Τερπενικές βενζοκινόνες	oncocalyxone A cordiachrome C	
		Παράγωγο φαινυλοπροπανίου	3-(2',4',5'-trimethoxyphenyl) propionic acid	
		Φυτοστερόλες	β-sitosterol sitosterol-β-D-glucoside	

(Dutra et al., 2016) (Guimaraes et al., 2015)		Τριτερπένια	cordialin A cordialin B	
			α-pinene	
		σεσκιτερπένια	γ-elemene	
			δ-elemene	
			β-caryophyllene	
			γ-caryophyllene	
			germacrene β	
			α-humulene	

		Σεσκιτερπενική αλκοόλη	6-methyl-2-(3- methycyclohex-3- enyl)hept-5-en-2-ol	
		Φαινολικά οξέα	rosmarinic acid Caffeic Acid gallic acid chlorogenic acid	
		Φλαβονοειδή	artemetin 5,6'-dihydroxy- 3,6,7,3',4'- pentamethoxyflavone rutin quercetin	

2.5. Δρογοφαρμακολογία του γένους *Cordia*

Τα είδη του γένους *Cordia* έχουν αναφερθεί πολλές φορές στη λαϊκή θεραπευτική ως φυτά που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση διαφόρων ασθενειών που επηρεάζουν τον άνθρωπο. Οι εθνοφαρμακολογικές του εφαρμογές βασίζονται κατά κύριο λόγο στις αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, ανθελμινθικές, αναλγητικές και διουρητικές ιδιότητες, ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και για την αντιμετώπιση διαταραχών στο πεπτικό, το αναπνευστικό, το καρδιαγγειακό και το ουροποιητικό σύστημα.(Matias et al., 2016). Ακολουθεί αναφορά σε παραδοσιακές χρήσεις ορισμένων ειδών του γένους.

Στην παραδοσιακή ιατρική της Ινδίας το φυτό *C. dichotoma* αποτελεί βασικό συστατικό ενός φυτικού σκευάσματος ευρέος διαδεδομένου κατά του κοινού κρυολογήματος, του βήχα, του πυρετού και παθήσεων του αναπνευστικού.

Σε υποτροπικές περιοχές ο καρπός του φυτού καταναλώνεται για την αντιμετώπιση του βήχα, του πονόλαιμου και των θωρακικών ενοχλήσεων. Παράλληλα, φύλλα και ο φλοιός του κορμού χρησιμοποιούνταν από την αρχαιότητα κατά της δυσπεψίας, του πυρετού, της διάρροιας, της γονόρροιας και του αισθήματος καύσου. Τα φύλλα, χρησιμοποιούνται και ως ανθελμινθικά, στυπτικά, μαλακτικά, διουρητικά, αποχρεμπτικά, για την αντιμετώπιση του ίκτερου και για ανακούφιση συμπτωμάτων ηλίαςης καθώς επάλειψη τους υπό μορφή ελαίου προκαλεί μείωση της θερμοκρασίας του σώματος. (Jamkhande et al.,2013; Rahman et al.,2016, Slathia et al.,2017).

Στη Λαϊκή Δημοκρατία του Κονγκό ο φλοιός των ριζών του φυτού *C. giletti* χρησιμοποιείται παραδοσιακά υπό τη μορφή αφεψήματος για τη θεραπεία την ελονοσίας και της διάρροιας. Σε δερματικές παθήσεις και πληγές πραγματοποιούνταν τοπική εφαρμογή του, ενώ αφέψημα των φύλλων του φυτού χρησιμοποιείται για τον πυρετό (Osuka et al., 2007).

Στην παραδοσιακή ιατρική της Βραζιλίας αφέψημα ή έγχυμα των φύλλων της *C. globosa* καταναλώνεται για την αντιμετώπιση συμπτωμάτων πεπτικών διαταραχών, ρευματισμών και εμμηνορροϊκών κολικών. Φύλλα και άνθη του φυτού

χρησιμοποιούνται ακόμη σε περιπτώσεις κρυολογήματος, αιμορραγιών και μολύνσεων του λάρυγγα (Matias et al., 2016).

Φύλλα *C. latifolia* χρησιμοποιούνται σε έλκη και κεφαλαλγίες, εκχύλισμα του φυτού για δάγκωμα φιδιού, ενώ έγχυμα φλοιού για γαργάρες. Ο καρπός δρα θετικά σε παθήσεις των ουροφόρων οδών, των πνευμόνων και του σπλήνα (Siddiqui et al., 2006i).

Στην Κόστα Ρίκα αφέψημα από φύλλα του φυτού *Cordia linaeii* καταναλώνεται για την αντιμετώπιση του πυρετού και ηπατικών παθήσεων (Ioset et al., 1998).

Φύλλα και ρίζες του *C. leucoccephala* χρησιμοποιούνται στη παραδοσιακή ιατρική σε πεπτικές διαταραχές, εμμηνορροϊκούς κολικούς, ρευματισμούς και ως γενικό τονωτικό (Oliveira et al., 2012).

Χρήση στην παραδοσιακή ιατρική είχαν και τα φύλλα του φυτού *C.macleodii* στην επούλωση πληγών και στις στοματικές πληγές, ενώ ο φλοιός του χρησιμοποιούνταν στη θεραπεία του ίκτερου (Chaubey et al., 2015).

Οι καρποί του *C.myxa* χρησιμοποιούνται ευρέως στη λαϊκή θεραπευτική σε λοιμώξεις του ουροποιητικού αλλά και ως ανθελμινθικοί, μαλακτικοί, διουρητικοί, στυπτικοί και αποχρεμπτικοί παράγοντες. Στην Αφρική επίσης, ο πολτός των καρπών χρησιμοποιείται στη θεραπεία της διάρροιας, της δυσεντερίας, της φυματίωσης αλλά και για την καταπράυνση αποστημάτων και ρευματικών πόνων. (Jasiem et al., 2016).

Στην ανατολική και νοτιοανατολική Ασία αφέψημα από φύλλα *C.retusa* καταναλώνεται για την αντιμετώπιση του βήχα και ενοχλήσεων στο στόμαχο. Χυμός από τα φύλλα λαμβάνεται εσωτερικά τρεις μέρες πριν και τρεις μέρες μετά την έμμηνο ρύση για ενίσχυση της γονιμότητας, ενώ από τα φύλλα παρασκευάζεται και ένα τσάι που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση κοιλιακών κολικών, διάρροιας και δυσεντερίας. (Amudha et al., 2016).

Στην παραδοσιακή ινδική πρακτική της Ayurveda ο φλοιός του φυτού *C.rothii* χρησιμοποιείται σε καρδιακές ασθένειες και εμφάνισε μεγαλύτερη δραστικότητα από άλλα αγιουβερδικά καρδιοτονωτικά φάρμακα όπως το Arjuna (φλοιός από *Terminalia arjuna*.) και το Javsar (ξύλο από το *Pterocarpus marsupium*) (Chauhan et al., 2009).

Το είδος *C. salicifolia* χρησιμοποιείται ως διουρητικό, κατασταλτικό της όρεξης, καρδιοτονωτικό και για τη μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης στο αίμα (Alves et al., 2004, Matias et al., 2016).

Ο φλοιός του *C.sinensis* παραδοσιακά χρησιμοποιείται σε γαστρικές και αναπνευστικές ενοχλήσεις (Al-Musayeib et al., 2011). Οι καρποί του επιπλέον χρησιμοποιούνται σε παθήσεις όπως βρογχίτιδα, δυσεντερία, έλκη, αποστήματα και χρόνιο πυρετό (Ghori et al., 2011).

Έγχυμα από τις ρίζες και τα φύλλα της *C. spinescens* χρησιμοποιείται από τους Ινδιάνους της βορειοδυτικής Βενεζουέλας, για τον πυρετό και την κεφαλαλγία (Morton, 1981), ενώ κονιοποιημένος φλοιός εφαρμόζεται εξωτερικά για την επούλωση πληγών (Joly et al., 1990).

Οι παραδοσιακές εφαρμογές του *C. trichotoma* είναι ποικίλες, καθώς χρησιμοποιείται ως αντιφλεγμονώδες, ανθελμινθικό, επουλωτικό πληγών, διουρητικό και ανθελονοσιακό φάρμακο. Βρίσκει ακόμη εφαρμογή στη θεραπεία αναπνευστικών παθήσεων, σε λοιμώξεις του ουροποιητικού και κατά της λέπρας. (Menezes et al., 2001).

Τα φύλλα του φυτού *Cordia verbenacea* εμφανίζουν αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιαρθρικές, αντιρρευματικές, επουλωτικές και αναλγητικές ιδιότητες. (Matias et al., 2016) Στην Βραζιλία καταναλώνονται υπό τη μορφή αλκοολικών εκχυλισμάτων, αφεψημάτων και εγχυμάτων για το βήχα καθώς και για τη θεραπεία φλεγμονών, πνευμονιών και παρασιτικών ασθενειών. (Bayeux et al., 2002; Sertié et al., 2005). Στο Τρινιντάντ χρησιμοποιούνται ως αφέψημα για ιώσεις, συνάχι, πνευμονίες και βήχα (Morton, 1981) και στη Νικαράγουα για ιώσεις, συνάχι, βήχα, κεφαλαλγίες και παρασιτικές ασθένειες (Barett, 1998).

Πολλές από τις παραπάνω δράσεις έχουν επιβεβαιωθεί και πειραματικά μέσω βιολογικών και φαρμακολογικών μελετών που διεξήχθησαν τόσο σε εκχυλίσματα, όσο και σε απομονωμένες ουσίες των φυτών. Εντούτοις, πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω έρευνες αναφορικά με την κλινική τους αποτελεσματικότητα και τις προδιαγραφές ασφαλείας τους (Thuripathi et al., 2008).

Αρκετές έρευνες υποστηρίζουν την αντιβακτηριακή δράση ειδών του γένους *Cordia*. Ενδεικτικά, το μεθανολικό και κυρίως το εξανικό εκχύλισμα από φύλλα της *C. verbenacea* εμφάνισαν δραστηριότητα κατά στελεχών *Escherichia coli* και *Staphylococcus aureus* (Matias et al., 2015), ενώ εκχύλισμα άνθρων του *C. boissierie* έδωσε αξιόλογα αποτελέσματα ενάντια σε ανθεκτικά στελέχη του *S. aureus*. (Salazar-Aranda et al., 2011) Εκχυλίσματα των φυτών *C. alliodora*, *C. linnaei*, *C. verbenacea*, καθώς και οι αντίστοιχες απομονωμένες ουσίες (παράγωγα φαινυλοπροπανίου, ναφθοκινόνες- cordiaquinones) έχουν παρουσιάσει αντιμυκητιασική δράση κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα *Cladosporium cucumerinum* και του ανθρωποπαθογόνου *Candida albicans* και δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού *Aedes aegyptii*, που μεταδίδει τον κίτρινο πυρετό (Ioset et al., 1997; Ioset et al., 2000i; Ioset et al., 2000ii). Παράλληλα εκχύλισμα του φλοιού του *C. dichotoma* αξιολογήθηκε κατά των μυκήτων *Aspergillus niger*, *A. clavatus* και *C. albicans* εμφανίζοντας ζώνες αναστολής συγκρινόμενες με εκείνες των συμβατικών αντιμυκητιασικών νυστατίνη και γκριζεοφουλβίνη (Nariya et al., 2011), ενώ υδατικό εκχύλισμα των φύλλων του εμφάνισε αξιόλογη αντιβακτηριακή δράση (Kumari et al., 2016).

Παρατηρείται ακόμη, πως κάποιες cordiaquinones έχουν εμφανίσει κυτταροτοξική δράση (Freitas et al., 2012). Ο κινονικός δακτύλιος αποτελεί ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό βιολογικά ενεργών ουσιών με κυτταροτοξική δράση, όπως οι ανθρακυκλίνες και η μιτομυκίνη (Marinho-Filho et al., 2010). Η κυτταροτοξική δράση των κινονών σχετίζεται πιθανώς με την αναστολή της ηλεκτρονιακής μεταφοράς, την αποσύζευξη της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και την παραγωγή δραστικών οξυγονούχων ριζών (ROS) (Freitas et al., 2012) Αντικαρκινική δράση έχει εμφανίσει επιπλέον και το μεθανολικό εκχύλισμα φύλλων *C. dichotoma*, αναστέλλοντας in vitro τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας και επάγοντας την απόπτωση τους (Rahman et al., 2015).

Στη Βραζιλία κυκλοφορεί από τη φαρμακευτική βιομηχανία Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A το αντιφλεγμονώδες σκεύασμα Acheflan, υπό μορφή σπρέι και κρέμας, εγκεκριμένο από τον τοπικό οργανισμό ANVISA το 2004. Περιέχει αιθέριο

έλαιο από φύλλα *C.verbenacea* καθώς και α- humulene και η τοπική του εφαρμογή ενδείκνυται σε περιπτώσεις τενοντίτιδας και αντιμετώπισης του πόνου που σχετίζεται με φλεγμονή, οσφυαλγία, διαστρέμματα και σε μώλωπες.(Dutra et al.,2016; Perini et al.,2015) Πρόσφατες μελέτες τέλος υποστηρίζουν ότι το σκεύασμα επιταχύνει την επούλωση πληγών σε μοντέλα δέρματος επίμυων πιθανώς μέσω εμπλοκής στη διαδικασία της αγγειογένεσης και της δερματικής αναδιαμόρφωσης.(Perini et al., 2015).



Εικόνα 2.2:Το εμπορικό σκεύασμα Acheflan με αιθέριο έλαιο *C. verbenacea*

Στους πίνακες που ακολουθούν παρατίθενται τα εκχυλίσματα και οι απομονωμένες ουσίες από φυτά του γένους *Cordia* που υπάρχουν αναφορές ότι έχουν βιολογικές και φαρμακολογικές δράσεις.

Πίνακας 2.2: Βιολογικές δράσεις εκχυλισμάτων ειδών *Cordia*.

Είδος <i>Cordia</i>	Τμήμα φυτού	Βιολογικές Δράσεις
<i>C.africana</i>	φλοιός κορμού	1.ήπια αντιπλασμοδιακή δράση(Muthaura et al.,2015) 2.αντιμυκητιασική δράση κατά του μύκητα <i>Mucobacterium aurum</i> 3.αντιφλεγμονώδης δράση μέσω αναστολής της 15-Lipoxygenase 4.αντιοξειδωτική δράση (Isa et al.,2016)
<i>C. alliodora</i>	φλοιός ρίζας	1. αντιμυκητιασική δράση κατά του

		φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (Ioset et al., 2000i)
C. Americana	φύλλα	μέτρια αντιφλεγμονώδης και επουλωτική δράση (Geller et al., 2010)
C.boissieri	άνθη	1.αντιβακτηριακή δράση κατά S.aureus και των Gram αρνητικών <i>Pseudomonas aeruginosa</i> και <i>Klebsiella pneumonia</i> (Salazar-Aranda et al., 2011) 2.αντιμυκητιασική δράση κατά του μύκητα <i>Candita glabrata</i> (Salazar-Aranda et al., 2011).
C. dichotoma	καρποί	1. ανθελμινθική δράση (Kuppasta et al., 2003) 2. αντιελκωτική δράση (Nazim et al., 2013) 3. αντιφλεγμονώδης δράση (Nazim et al., 2013) 4. επουλωτική δράση (Kuppasta et al., 2006) 5.υπολιπιδαιμική δράση 6.αντιοξειδωτική δράση (el-Newary et al., 2016)
	φλοιός	1.αντιμυκητιασική δράση κατά των μυκήτων <i>Aspergillus niger</i>, <i>A. Clavatus</i> και <i>Candita albicans</i> (Nariya et al., 2011) 2.αντιβακτηριακή δράση έναντι των Gram θετικών βακτηρίων <i>Escherihia coli</i> και <i>Pseudomonas aeruginosa</i> και των Gram αρνητικών <i>Streptococcus pyogenes</i> και <i>Staphylococcus aureus</i>(Jamkhande et al.,2013)
	φύλλα	1.επαγωγή απόπτωσης και <i>in vitro</i> αναστολή πολλαπλασιασμού ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας(Rahman et al.,2015)

		2.αντιβακτηριακή δράση έναντι των Gram θετικών βακτηρίων <i>Escherihia coli</i> και <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Kumari et al., 2016) 3. φωτοκαταλυτική αποδόμηση αζωχρωμάτων όπως κυανού του μεθυλενίου και ερυθρού του Κονγκο (Kumari et al., 2016)
<i>C. francisci</i>	φύλλα	1. αναλγητική δράση 2. αντιφλεγμονώδης δράση 3. αντιαρθριτική δράση (Ficarra et al., 1995)
<i>C. gilletii</i>	φλοιός ρίζας	1. αντιμικροβιακή δράση 2. αντιοξειδωτική δράση (Okusa et al., 2007)
<i>C. globose</i>	φύλλα	1. αγγειοδιασταλτική δράση 2. σπασμολυτική δράση (Silva et al., 2004i)
<i>C. goetzei</i>	φλοιός	αντιμυκητιασική δράση κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerimum</i> (Marston et al., 1988)
<i>C. latifolia</i>	καρποί, φλοιός, φύλλα	1.νηματωδοκτόνος εναντίον κομβονηματώδους <i>Meloidogyne incognita</i> (Begum et al., 2011) 2.αντιβακτηριακή δράση κατά του <i>S.aureus</i> 3.αιμολυτική δράση(Mehreen et al.,2016)
<i>C.linnaei</i>	ρίζες	1. αντιμυκητιασική δράση κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerimum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (loset et al., 1997)
<i>C.macleodii</i>	φύλλα	1. αντιοξειδωτική δράση 2. ηπατοπροστατευτική δράση (Qureshi et al., 2009)
<i>C. multispicata</i>	φύλλα	αντιανδρογόνος δράση (Kuroyanagi et al., 2001)

C.myxa	φύλλα	1. αναλγητική δράση 2. αντιφλεγμονώδης δράση 3. αντιαρθριτική δράση (Ficarra et al., 1995) 4. αντιβακτηριακή δράση κατά των Gram αρνητικών βακτηρίων <i>E.coli</i> και <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Jasiem et al.,2016)
	καρποί	1.ανοσοτροποποιητική δράση 2.βρογχοδιασταλτική δράση (Al-snafi et al.,2016)
C.rothii	φλοιός	1.καρδιοτονωτική δράση 2.αντιδιαβητική δράση (Chauhan et al., 2009)
	ρίζες	1.αντιβακτηριακή δράση μεταξύ άλλων έναντι των στελεχών <i>B. Thuringiensis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>MRSA</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>E. coli</i> και <i>K. pneumoniae</i> 2. αντιοξειδωτική δράση (Khan et al., 2016)
C.rufescens	φλοιός και φύλλα	1.ανοσοκατασταλτική δράση μέσω αναστολής του πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων και παραγωγής IL-2.(Costa et al., 2008)
C.salicifolia	φύλλα	1.αντιυπερλιπιδαιμική δράση (Cardozo et al., 2008)
C. sebestena	καρποί	αναστολή της ασπαρτικής πρωτεάσης BACE1 (β-σεκρετάση 1) (Dai et al., 2010)
C. serratifolia	φύλλα	1. αναλγητική δράση 2. αντιφλεγμονώδης δράση 3. αντιαρθριτική δράση (Ficarra et al., 1995)
C. spinescens	φύλλα	αντι-HIV δράση (Lim et al., 1997)
C. verbenacea	ρίζες	1.αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (Ioset et al., 2000ii)
	υπέργειο	αντιμικροβιακή δράση (Hernandez et al., 2007)
	φύλλα	1. αντιαλλεργική δράση (Oliviera et al., 2011) 2. αντιελκωτική δράση (Roldão et al., 2008)

		3. αντιογκογόνος δράση (Parisotto et al., 2012) 4. αντιφλεγμονώδης δράση (Passos et al., 2007) 5. κυτταροτοξική δράση (Parisotto et al., 2012) 6. αντιβακτηριακή δράση κατά των <i>Escherichia coli</i> και <i>S.aureus</i> (Pinhol et al., 2012) 7. συνεργιστική δράση με αντιβιοτικά (norfloxacin, gentamicin, amikacin, neomycin) έναντι στελεχών <i>S.aureus</i>, <i>E.coli</i> και <i>P.aeruginosa</i> (Matias et al., 2015ii)
--	--	--

Πίνακας 2.3: Βιολογικές δράσεις απομονωμένων ουσιών από είδη του γένους *Cordia*

Είδος <i>Cordia</i>	Τμήμα φυτού	Δραστικές ουσίες	Βιολογικές Δράσεις
<i>C. alliodora</i>	φλοιός ρίζας	<u>Παράγωγο φαινυλοπρωπανίου:</u> 1-(3'-methoxypropanoyl)- 2,4,5-trimethoxybenzene	1. αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (Ioset et al., 2000i)
		<u>Φαινολικό τερπένιο:</u> 2-(2Z)-(3-hydroxy-3,7-dimethylocta-1,6-dienyl)-1,4-benzenediol	αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> (Ioset et al., 2000i)
	φύλλα	<u>Τριτερπένια:</u> 3α-hydroxylean-12-en-27-oic acid 3-oxolean-12-en-27-oic acid 3,29-dioxoolean-12-en-27-oic acid	απωθητική δράση σε μυρμήγκια (Chen et al., 1983)

		3 α -hydroxy-29-oxoolean-12-en-27-oic acid 3 α -29-dihydroxyolean-12-en-27-oic acid 3 α -hydroxyolean-12-en-27,29-dioic acid	
C. americana	φλοιός	<u>Νεολιγνάνια:</u> rufescenolide B-D yunhaneic acid I-J	αντιοξειδωτική δράση (Fernández et al., 2013)
	φύλλα	<u>Φαινολικό οξύ:</u> rosmarinic acid	μέτρια αντιφλεγμονώδης και επουλωτική δράση (Geller et al., 2010)
C. corymbosa	καρποί	<u>Ναφθοκινόνες:</u> cordiaquinones A, B	1. αντιμικροβιακή 2. κυτταροτοξική (Filho et al., 1993)
C. dichotoma	καρποί	<u>Φλαβονοειδές:</u> Απιγενίνη Taxifolin-3-5-dirhamnoside	1.θεραπευτική δράση ελκώδους κολίτιδας (Ganjare et al., 2011) 2.ανοσοκατασταλτική δράση 3.αντιοξειδωτική δράση 4.αντιμυκητιασική δράση(Triantafillidis et al., 2016) Αντιφλεγμονώδης δράση (Jamkhande et al.,2013)
		<u>Τριτερπένιο:</u> α -amyrin	Αντιφλεγμονώδης δράση(Jamkhande et al.,2013)

<i>C. exaltata</i>	καρποί	<u>Νεολιγνάνια:</u> 8,8'-dimethyl-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-oxo-2,7'-cyclo lignan 8,8'-dimethyl-4,5-dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7-oxo-2,7'-cyclo lignan	αντιμικροβιακή (Nogueira et al., 2013)
<i>C. gillettii</i>	φλοιός ρίζας	<u>Τριτερπένιο:</u> lupaeol <u>Φαινολικό παράγωγο:</u> ferulaldehyde	αντιμικροβιακή (Osuka et al., 2014)
<i>C. globosa</i>	ρίζες	<u>Μεροτερπενική βενζοκινόνη:</u> (1aS,1bS,7aS,8aS)-4,5-dimethoxy-1a,7a-dimethyl-1,1a,1b,2,7,7a,8,8a-octahydrocyclopropra[3,4]cyclopenta[1,2-b]naphthalene-3,6-dione <u>Ναφθοκινόνη:</u> microphyllaquinone	κυτταροτοξική δράση (Menezes et al., 2005)
<i>C. goetzei</i>	φλοιός	<u>Πολυφαινολικά παράγωγα:</u> cordigone cordigole 3-(2,4-dihydroxybenzoyl)-4,6-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-benzofuran-7-yl 2-(4-hydroxyphenyl)-ethenyl ketone 3-(2,4-dihydroxybenzoyl)-2,3-dihydro-4,6-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-benzofuran-7-yl 2-(4-hydroxyphenyl)-ethenyl ketone	αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> (Marston et al., 1988)
<i>C. latifolia</i>	καρποί	<u>Παράγωγα</u>	δράση κατά των

		<u>φαινυλοπροπανίου:</u> latifolidin A-D	προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (Siddiqui et al., 2006i)
	καρποί, φλοιός, φύλλα	<u>Παράγωγα</u> <u>φαινυλοπροπανίου:</u> latifolidin A-D <u>Παράγωγα φαινολικών</u> <u>οξέων:</u> cordicilin cordicinol rosmarinic acid <u>Τερπένια:</u> cordioic acid cordifolic acid cordinol cordinoic acid	νηματωδοκτόνος εναντίον κομβονηματώδους <i>Meloidogyne incognita</i> (Begum et al., 2011)
<i>C. leucocephala</i>	ρίζες	<u>Ναφθοκινόνη:</u> cordiaquinone J	κυτταροτοξική δράση (Diniz et al., 2016)
<i>C. linnaei</i>	ρίζες	<u>Ναφθοκινόνες:</u> cordiaquinones B-C, E-G	1. αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium</i> <i>cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (loset et al., 1997)

<i>C. multispicata</i>	φύλλα	<u>Τριτερπένια:</u> cordiaketal A-B lantanolic acid lantic acid lantadene A-B icterogenin	αντιανδρογόνος δράση (Kuroyanagi et al., 2001)
<i>C. myxa</i>	καρποί	<u>Τριτερπένιο:</u> <u>α-amyrin</u>	1. αντιφλεγμονώδες 2. αναστολέας των ενζύμων COX-2 και 5-LOX με πιθανή αντικαρκινική δράση (Ranjbar et al., 2016)
<i>C. polycephala</i>	ρίζες	<u>Ναφθοκινόνες:</u> cordiaquinones B,E, L,N,O	κυτταροτοξική δράση (Freitas et al., 2012)
<i>C. sebestena</i>	καρποί	<u>Παράγωγα φαινυλοπροπανίου:</u> sebestenoids A-D	μέτρια αναστολή της ασπαρτικής πρωτεάσης BACE1 (β -σεκρετάση 1) (Dai et al., 2010)
<i>C. sinensis</i>	υπέργειο	<u>Παράγωγα φαινολικών οξέων:</u> protocatechuic acid trans-caffeic acid rosmarinic acid rosmarinic acid methyl ester <u>Φλαβονοειδή:</u> quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside kaempferide-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside	1. αντιοξειδωτική 2. αντιφλεγμονώδης 3. παρεμπόδιση της γλυκοζυλίωσης (Al-Musayeib et al., 2011)

		<u>Φλαβονοειδή:</u> kaempferide-3-O- β -D-glucopyranoside kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside	παρεμπόδιση της γλυκοζυλίωσης (Al-Musayeib et al., 2011)
C. verbenacea	ρίζες	<u>Ναφθοκινόνες:</u> cordiaquinones A, B, J, K	1.αντιμυκητιασική κατά του φυτοπαθογόνου μύκητα <i>Cladosporium cucumerinum</i> και του ανθρωποπαθογόνου <i>Candida albicans</i> 2. δράση κατά των προνυμφών του κουνουπιού <i>Aedes aegypti</i> (Ioset et al., 2000ii)
	φύλλα	<u>Φλαβονοειδές:</u> artemetin <u>Σεσκιτερπένια:</u> trans caryophyllene α -humulene <u>Μονοτερπένιο:</u> α -pinene sabinene <u>Παράγωγο φαινολικού οξέος:</u> Rosmarinic acid	αντιφλεγμονώδης δράση (Passos et al., 2007, Matias et al., 2015; Dutra et al., 2016) 1.βρογχοδιασταλτικό 2.αντιφλεγμονώδες συνέργεια με γενταμικίνη έναντι ανθεκτικών βακτηρίων (Matias et al., 2016) αντιοφική δράση κατά του δαγκώματος του φιδιού <i>Bothrops jararacussu</i> (Ticli et al., 2005)

2.6. Cordia bicolor A.DC

Το είδος *Cordia bicolor* ανήκει στο γένος *Cordia* L. Πρόκειται για δέντρο, ταχέως αναπτυσσόμενο, το οποίο συλλέγεται για παραγωγή ξυλείας από το φυσικό του περιβάλλον. Ακολουθούν πίνακες με τη συστηματική του κατάταξη καθώς και με τα συνώνυμα και τα κοινά του ονόματα.

Πίνακας 2.4: Συστηματική κατανομή του είδους *Cordia bicolor* A.DC

Βασίλειο (Regnum)	Plantae (Φυτά)
Άθροισμα ή διαίρεση (Division)	Magnoliophyta (Σπερματοφύτα)
Υποάθροισμα ή υποδιαίρεση (Subdivision)	Magnoliophytina (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (Classis)	Magnoliopsida (Magnoliatae, Δικοτυλήδονα)
Υποκλάση (Subclassis)	Lamiidae
Τάξη (Ordo)	Boraginales (Βοραγινώδη)
Οικογένεια (Familia)	Boraginaceae (Βοραγινίδες)
Γένος (Genus)	<i>Cordia</i>
Είδος (Species)	<i>Cordia bicolor</i> A.DC

Πίνακας 2.5: Συνώνυμα και κοινά ονόματα της *Cordia bicolor* A.DC (Grandtner, 2013)

Συνώνυμα ονόματα	
	<i>Cordia trichostyla</i> Pittier <i>Cordia belizensis</i> Lundell <i>Cordia carnosa</i> Rusby <i>Cordia Lockhartii</i> Kuntze <i>Lithocardium bicolor</i> (A.DC) Kuntze <i>Gerascanthus bicolor</i> (A.DC) Borhid
Κοινά ονόματα	
Γαλλικά	cordia bicolore

Ισπανικά	alatrique, cauvaro, cautaro
	bernabe, laurel
	laurel macho
	muneco
	pavo
	sombra de ternero

Το είδος απαντάται στον Παναμά, τη Γουατεμάλα και τη Βρετανική Ονδούρα. Ακόμη συναντάται στα νοτιότερα τμήματα των Δυτικών Ινδιών και από την Κολομβία έως τη Γουιάνα και τη νότια Βραζιλία. Αποτελεί είδος ευρέως διαδεδομένο, το οποίο όμως εντοπίζεται σποραδικά, σε υγρά μικτά δάση, αλσύλλια και λιβάδια έως και 550 μέτρα πάνω από το επίπεδο της θάλασσας. (Standley, 1970, Arboretum, 1949)



Εικόνα 2.4: Παγκόσμια γεωγραφική κατανομή της *Cordia bicolor* A.DC

Η *Cordia bicolor* αποτελεί αειθαλές δέντρο ύψους 10 έως 20 μέτρων. Ο κορμός του φυτού είναι ευθύς και κυλινδρικός, ενώ ο φλοιός του εξωτερικά είναι γκριζωπός. Τα κλαδιά του είναι διχοτομικά, με διχαλωτή μορφή και τα φύλλα έξω από το σημείο της διακλάδωσης.

Τα φύλλα είναι απλά, εναλλασσόμενα, και το έλασμα τους έχει σχήμα ελλειπτικό έως ωοειδές ή στενά ελλειπτικό μήκους 10-19 cm και πλάτους 4 με 10 cm. Η κορυφή τους είναι ωοειδής, οξεία ή οξυτενής, τα περιθώρια τους είναι ολόκληρα και η βάση

τους αμβλεία ή στρογγυλεμένη. Η άνω επιφάνεια του φύλλου είναι αραιώς καλυμμένη με λεπτά δύσκαμπτα τριχίδια, ενώ η κάτω επιφάνεια είναι ωχρή, χνουδωτή ή καλυμμένη και εκείνη με κοντά τριχίδια. Τα νεαρά φυτά έχουν λογχοειδή φύλλα με οδοντωτές άκρες. Ο μίσχος τους έχει μήκος 0.3 με 0.8 cm.

Οι ταξιανθίες τους είναι τελικές ή φέρονται στον άξονα των κλάδων και είναι συμπλεγματικές. Τα άνθη είναι λευκά, άμισχα, αμφίφυλλα, μονομορφικά με στήμονες ίδιου μήκους ή μακρύτερους από τα στίγματα. Ο κάλυκας τους είναι σωληνοειδής κωδωνοειδής, χωρίς ραβδώσεις, εντόνως καλυμμένος με λεπτά τριχίδια. Η στεφάνη είναι λευκή με πέντε κυρτούς λοβούς, επιμήκεις, δελτοειδείς έως κωνικούς. Οι στήμονες είναι πέντε με τριχίδια στο σημείο της εισόδου, οι ανθήρες επιμήκεις και η ωοθήκη ελλειψοειδής μήκους 0.8-1,6mm.

Οι καρποί του φυτού είναι δρύπεις, μήκους 0.8 με 1.3 cm και με τα κατάλοιπα του κάλυκα στη βάση τους πράσινα και να κιτρινίζουν όταν ο καρπός ωριμάζει. Οι συνήθως καλυμμένοι με κοντά τραχιά τριχίδια, σχεδόν όρθιοι (αντί για πλάγιοι) καρποί και τα εντόνως δίχρωμα φύλλα με τη χνουδωτή κάτω επιφάνεια τους επιτρέπουν την εύκολη αναγνώριση του είδους. (Miller 1988, Arboretum, 1949).

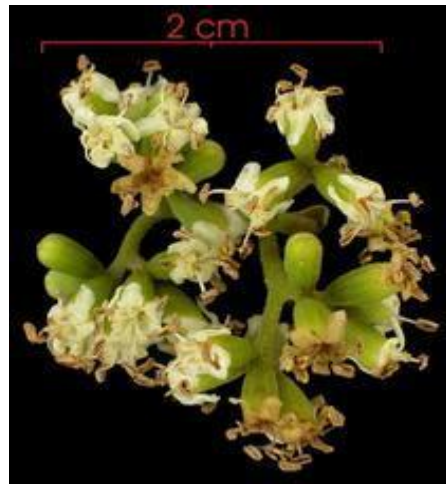
Η *Cordia bicolor* αποτελεί ίσως ένα από τα πιο συγγενή είδη του γένους στη *Cordia panamensis* από την άποψη ότι και τα δύο είδη εμφανίζουν διχοτομική πλευρική διακλάδωση, ανισόφυλλα φύλλα και παρόμοια επικάλυψη από λεπτά τριχίδια. Εντούτοις διαφέρει από το άλλο είδος της Κεντρικής Αμερικής στο γεγονός ότι φέρει καρπούς επικαλυμμένους με λεπτά τραχιά τριχίδια, ένα σχετικά σπάνιο γνώρισμα, το οποίο εντοπίζεται σε αρκετά μη συγγενή είδη του φυτού στη Νότια Αμερική. Η *Cordia toqueve* Aubl. αποτελεί το μοναδικό άλλο είδος του γένους με αυτό το χαρακτηριστικό. (Miller, 1989).



Εικόνα 2.5: Καρποί *C. bicolor*



Εικόνα2.6: Δέντρο *Cordia bicolor*



Εικόνα2.7: άνθη *C.bicolor*



Εικόνα2.8: Φύλλα και άνθη *C.bicolor*

2.7. Cordia megalantha S.F. Blake

Η *Cordia megalantha* S.F. Blake αποτελεί γένος του είδους *Cordia* L. Πρόκειται για δέντρο το οποίο συλλέγεται από το φυσικό του περιβάλλον λόγω του καλής ποιότητας ξύλου του. Χρησιμοποιείται για την παρασκευή ξυλουργικών προϊόντων, επενδύσεων, επίπλων και κόντρα πλακέ. (Grandtner, 2013) Ακολουθούν πίνακες που καταγράφουν τη συστηματική κατάταξη καθώς και τα συνώνυμα και κοινά ονόματα του είδους.

Πίνακας 2.6: Συστηματική κατάταξη της *C. megalantha* (S.F. Blake)

Βασίλειο (Regnum)	Plantae (Φυτά)
Αθροισμα ή διαίρεση (Division)	Magnoliophyta (Σπερματόφυτα)
Υποάθροισμα ή υποδιαίρεση (Subdivision)	Magnoliophytina (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (Classis)	Magnoliopsida (Magnoliatae, Δικοτυλήδονα)
Υποκλάση (Subclassis)	Lamiidae
Τάξη (Ordo)	Boraginales (Βοραγινώδη)
Οικογένεια (Familia)	Boraginaceae (Βοραγινίδες)
Γένος (Genus)	<i>Cordia</i>
Είδος (Species)	<i>Cordia megalantha</i> S.F. Blake

Πίνακας 2.7: Συνώνυμα και κοινά ονόματα της *C.megalatha* (Grandtner, 2013):

Συνώνυμα ονόματα	
	<i>Cordia macrantha</i> S.F.Blake <i>Gerascanthus megalanthus</i> (S.F.Blake) Borhidi
Κοινά ονόματα	
Αγγλικά	large flower cordia
Γαλλικά	cordia à grandes fleurs
Ισπανικά	canalete, laurel, laurel blanco, laurel de montana, laurel negro, noporo, suchil

Το δέντρο κατανέμεται κατά μήκος των ακτών του Ατλαντικού ωκεανού στην Κεντρική Αμερική σε υγρά δάση έως και 400 μέτρα από το επίπεδο της θάλασσας. Διακριτοί πληθυσμοί εντοπίζονται στις ακτές του Ειρηνικού στη Κεντρική Αμερική, στην Όσα Πενίνσουλα της Κόστα Ρίκα και στην Μπουρίκα Πενίνσουλα του Τσιρίκι.(Miller,1988)



Εικόνα2.9: παγκόσμια γεωγραφική κατανομή της *Cordia megalantha* S.F. Blake

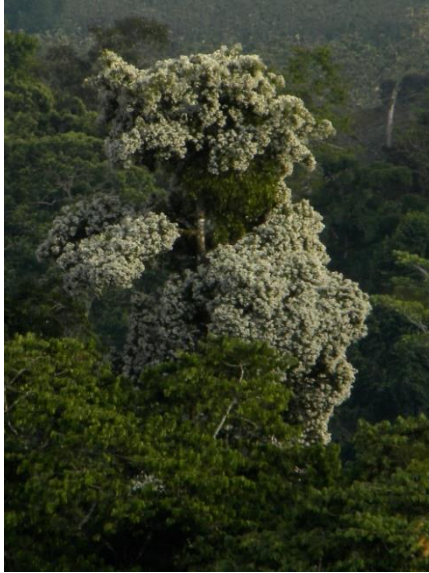
Η *Cordia megalantha* είναι ένα φυλλοβόλο δέντρο ύψους 20-40 μέτρων ο κορμός του οποίου διακλαδίζεται σπειροειδώς. Εξωτερικά ο φλοιός του έχει μαύρο ή γκριζωπό χρώμα, ενώ τα κλαδιά του είναι άτριχα και στις απολήξεις τους φέρουν λευκά φακίδια.

Τα φύλλα της *C.megalantha* είναι απλά, εναλλασσόμενα και συγκεντρωμένα στις άκρες των κλαδιών. Το έλασμα τους είναι ελλειπτικό ως ωοειδές, μήκους 6 με 19 cm και πλάτους 2.9 με 8 cm. Η κορυφή τους είναι οξεία ή λιγότερο συχνά ωοειδής. Η βάση οξεία ή σπανίως ωοειδής έως κυκλική με τα περιθώρια πλήρη. Ο μίσχος των φύλλων έχει μήκος 11 με 33 mm και τόσο η πάνω όσο και η κάτω επιφάνεια τους δε φέρουν τριχίδια (Miller,1988).

Ο κάλυκας είναι σωληνοειδής, μήκους 9-10mm, ραβδωτός, άτριχος ή με μικρά κοντά σκούρα καφέ τριχίδια και με άνισο αριθμό λοβών. Φέρει στεφάνη λευκή με μορφή χοάνης μήκους 28 με 50mm η οποία έχει 5 με 6 δελτοειδείς προς ωοειδείς λοβούς. Ο αριθμός των στημόνων είναι 5 με 6 και οι ανθήρες είναι επιμήκεις. Η ωοθήκη είναι ωοειδής προς κωνική και έχει μήκος 1.3 με 2.5 mm.

Το είδος είναι ερμαφρόδιτο με άνθη λευκά και αρωματικά. Οι ταξιανθίες που σχηματίζονται έχουν πλάτος 30 cm και οι καρποί του έχουν μήκος 0.8 με 1 cm με λεπτό ινώδες περίβλημα και περικλείονται από στεφάνη. Ο κάλυκας είναι πράσινος και μετατρέπεται σε καφέ όταν ωριμάζει ο καρπός.

Συχνά ξεπερνώντας σε ύψος τα 30 μέτρα, το δέντρο *C.megalantha* αποτελεί το ψηλότερο είδος του γένους *Cordia* στη Κεντρική Αμερική και χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι δεν ανθοφορεί κάθε χρόνο. Το είδος διακρίνεται από τα άλλα είδη του γένους στον Παναμά λόγω του μεγάλου μεγέθους του, της στεφάνης του και των λοβών της οι οποίοι έχουν χαρακτηριστικό δελτοειδές σχήμα (Miller, 1989).



Εικόνα2.10: δέντρο *C.megalatha*



Εικόνα2.11: φύλλα *C.megalatha*



Εικόνα2.12: άνθη *C.megalantha*.

2.8. *Cordia dentata* Poir.

Το είδος *Cordia dentata* Poiret ανήκει στο γένος *Cordia* L. της οικογένειας Boraginaceae. Στη λαϊκή θεραπευτική κάρβουνο προερχόμενο από το φυτό χορηγείται σε περιπτώσεις στομαχόπνου, ενώ αφέψημα από τα άνθη του χορηγούνται κατά της βρογχίτιδας. Οι καρποί του φυτού είναι εδώδιμοι με ιδιαίτερα γλυκιά γεύση, ενώ ο πολτός τους χρησιμοποιείται για την παρασκευή κόλλας. Έχουν δημιουργηθεί φυτείες του είδους για καλλωπιστικούς λόγους, ενώ η ξυλεία του είναι εκμεταλλεύσιμη προς παρασκευή ξυλουργικών προϊόντων, επενδύσεων, στύλων και επίπλων. Ακολουθούν πίνακες που καταγράφουν τη συστηματική κατάταξη καθώς και τα συνώνυμα και κοινά ονόματα του είδους (Grandtner, 2013).

Πίνακας 2.8 : Συστηματική κατάταξη της *C.dentata*:

Βασίλειο (Regnum)	Plantae (Φυτά)
Άθροισμα ή διαίρεση (Division)	Magnoliophyta (Σπερματοφύτα)
Υποάθροισμα ή υποδιαίρεση (Subdivision)	Magnoliophytina (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (Classis)	Magnoliopsida (Magnoliatae, Δικοτυλήδονα)
Υποκλάση (Subclassis)	Lamiidae
Τάξη (Ordo)	Boraginales (Βοραγινώδη)
Οικογένεια (Familia)	Boraginaceae (Βοραγινίδες)
Γένος (Genus)	<i>Cordia</i>
Είδος (Species)	<i>Cordia dentata</i> Poir.

Πίνακας 2.9: Συνώνυμα και κοινά ονόματα της *C.dentata* (Grandtner, 2013):

Συνώνυμα ονόματα	
	<i>Calyptrocordia alba</i> (Jacq.) Britton <i>Cordia alba</i> (Jacq.) Roem.& Schult <i>Cordia calyptrate</i> Bertero ex Spreng.

	<i>Cordia dentata</i> Vahl <i>Cordia leptopoda</i> K.Krause <i>Cordia ovata</i> Brandege <i>Cordia tenuifolia</i> Bertol. <i>Varronia alba</i> Jacq. <i>Varronia calyptrate</i> (Bertero ex Spreng.) DC
Κοινά ονόματα	
Αγγλικά	cordia dentate, clammy cherry, dope-chery, duppy cherry, Jack- wood, loblolly tree, white manjack
Γαλλικά	cordia denté, arbre à la colle, arbre à la glu, arbra à raisins, bois chique, bois-zizi, herbe à couronne, mahot blanc
Ισπανικά	ataje amarillo, baboso, candilero, cãpa blanca, cariacó,cautaro, cereza blanca, flor d àngel, goma, grimanso,jiguilote

Το είδος απαντάται σε ξηρά δάση καθώς και σε αμμώδεις ή βραχώδεις λόφους και υγρές ή ξηρές συστάδες έως και 400 με 1400 μέτρα πάνω από το επίπεδο της θάλασσας. Κατανέμεται από το Μεξικό έως τα βορειότερα τμήματα της Νότιας Αμερικής, τις Δυτικές Ινδίες και τη Μαδαγασκάρη. Στον Παναμά το είδος εντοπίζεται γύρω από τη Διώρυγα του Παναμά καθώς και στις επαρχίες Τσιρικί, Ερρέρα, Λος Σάντος, Παναμά και Βεράγκουας (Miller, 1988, Standley, 1970).



Εικόνα2.13: παγκόσμια γεωγραφική κατανομή της *Cordia dentata* Poir.

Η *C.dentata* χαρακτηρίζεται ως ψηλός θάμνος ή δέντρο ύψους 7 - 10 μέτρων ημιφυλλοβόλο. Ο κορμός του φυτού είναι κοντός και κυρτός με φλοιό φολιδωτό χρώματος ανοιχτού καφέ. Τα κλαδιά του είναι λεπτά σχεδόν λεία με πολύ μικρά τριχίδια. (Standley, 1970)

Ο μίσχος των φύλλων έχει μήκος 8- 20 mm και τα ελάσματα τους είναι ελλειψοειδή προς ωοειδή ή περιστρεφόμενα αντωοειδή μήκους 4.6 με 10 cm και πλάτους 3 με 7 cm. Η κορυφή τους είναι αμβλεία ή λιγότερο συχνά οξεία ή στρογγυλή, ενώ το περιθώριο τους είναι ολόκληρο ή με αμυδρές οδοντωτές προεξοχές. Η άνω επιφάνεια των φύλλων είναι αραιά καλυμμένη με λεπτά δύσκαμπτα τριχίδια έως τραχιά, με τα τριχίδια να εγείρονται από ένα διακριτό κυστόλιθο. Η υποαξονική τους επιφάνεια είναι σχεδόν λεία ή φέρει λεπτά τριχίδια με θυσάνους από πυκνά σγουρά τριχίδια στις μασχάλες των βασικών φλεβών.

Οι ταξιανθίες είναι τελικές συμπλεγματικές, φάρδους 15 με 20 cm. Τα άνθη έχουν χρώμα λευκό ή κιτρινωπό, είναι άμισχα με κάλυκα καμπανοειδή μήκους 3-3.8mm. Η στεφάνη τους είναι κίτρινη προς λευκή καμπανοειδή με μήκος 9-12 mm. Οι λοβοί είναι πέντε, ωοειδείς με ύφεση.

Οι στήμονες είναι 5 - 6, με νήματα μήκους 4.7 - 9.4mm και φέρουν αδρά τριχίδια στο σημείο της εισόδου τους. Οι ανθήρες είναι ελλειψοειδείς προς επιμήκεις και η ωοθήκη ελλειψοειδής προς σφαιρική.

Οι καρποί παράγονται στο δισκοειδή κάλυκα και έχουν χρώμα λευκό ημιδιαφανές. Είναι εδωδιμοί, εμπύρνητοι με σπέρμα ελλειψοειδές σχετικά συμμετρικό μήκους 9-11mm και πλάτους 5.5 -7.2 mm. Το ενδοκάρπιο είναι οστεώδες (Miller, 1988).



Εικόνα 2.14: Δέντρο *C. dentata*



Εικόνα 2.15: Φύλλα και άνθη *C. dentata*



Εικόνα 2.16: Άνθη *C. dentata*.



Εικόνα 2.17: Καρποί *C. dentata*

2.9. *Cordia linnaei* Stearn

Το είδος *Cordia linnaei* Stearn αποτελεί μέλος του γένους *Cordia* L. της οικογένειας Boraginaceae. Στο σύγγραμμα Flora of Panama (Nowicke, 1969) αναφέρονταν ως *Cordia lineata* (L.) Roem & Schultes όμως ο Stearn το 1971 απέδειξε πως το όνομα ήταν βασισμένο σε μία σειρά μη εγκεκριμένων ονομάτων. Είναι εύκολα αναγνωρίσιμο λόγω των πολυάριθμων, μικρών μασχαλιαίων ταξιανθιών του, οι οποίες ποτέ δε διακλαδίζονται συμπλεγματικά όπως παρατηρείται στη *C. bifurcata*. Το είδος με το οποίο συγχέεται συχνότερα η *C. linnaei* είναι το *C. inermis*, το οποίο όμως φέρει τελικές και κομβικές (intermodal) ταξιανθίες αντί για μασχαλαίες. (Miller, 1988) Ακολουθούν πίνακες που καταγράφουν τη συστηματική κατάταξη καθώς και τα συνώνυμα ονόματα του είδους.

Πίνακας 2.10 : Συστηματική κατάταξη της *C.linnaei*:

Βασίλειο (Regnum)	Plantae (Φυτά)
Άθροισμα ή διαίρεση (Division)	Magnoliophyta (Σπερματοφύτα)
Υποάθροισμα ή υποδιαίρεση (Subdivision)	Magnoliophytina (Αγγειόσπερμα)
Κλάση (Classis)	Magnoliopsida (Magnoliatae, Δικοτυλήδονα)
Υποκλάση (Subclassis)	Lamiidae
Τάξη (Ordo)	Boraginales (Βοραγινώδη)
Οικογένεια (Familia)	Boraginaceae (Βοραγινίδες)
Γένος (Genus)	<i>Cordia</i>
Είδος (Species)	<i>Cordia linnaei</i> Stearn

Πίνακας 2.9: Συνώνυμα και κοινά ονόματα της *C.linnaei* (Arboretum A., 1949):

Συνώνυμα ονόματα	
	<i>Cordia lineata</i> (L.) Roem & Schultes <i>Varronia lineata</i> L. <i>Lantana corymbosa</i> L.Sp. <i>Cordia corymbosa</i> (Desv.) G. Don.



Εικόνα 2.16: παγκόσμια γεωγραφική κατανομή της *Cordia linnaei* Stearn.

Το είδος εμφανίζεται σε υγρά δάση από το επίπεδο της θάλασσας μέχρι υψομέτρου 900 μέτρων. Απαντάται από το Μεξικό έως την Κολομβία και τις Δυτικές Ινδίες. Στον Παναμά στην περιοχή της διώρυγας, στο Κολόν, το Νταριέν, την επαρχία Παναμά, το Σαν Μπλας και η Βεράγκουα.

Πρόκειται για φυλλοβόλο θάμνο με ύψος που φτάνει τα τέσσερα μέτρα και κλαδιά που έχουν ανορθωμένα καστανόχρωμα τριχίδια.

Τα φύλλα φέρουν μικρούς άκανθες ύψους 1-1.5 mm, είναι έμμισχα και καλύπτονται από μικρά καφετί τριχίδια. Το έλασμα τους έχει σχήμα ωοειδές προς λογχοειδές μήκους 2-9 cm και πλάτους 0.9-5.4 cm. Η κορυφή τους είναι οξεία προς οξυτενής, το περιθώριο εντόνως οδοντωτό και η βάση τους σφηνοειδής. Η άνω επιφάνεια των φύλλων καλύπτεται εντόνως με κοντά τριχίδια και είναι ελαφρώς διογκωμένη στη βάση, ενώ η υπαξονική τους επιφάνεια καλύπτεται λιγότερο έντονα με κυματιστά, ανορθωμένα τριχίδια.

Οι ταξιανθίες του φυτού είναι πολυάριθμες, μασχαλιαίες, με μορφή κεφαλίου πλάτους 7-11 mm. Ο μίσχος τους έχει μήκος από 0.5 έως 6.4cm και φέρει και εκείνος καφετί

τριχίδια. Τα άνθη είναι άμισχα, δίστηλα με κάλυκα κυπελλοειδούς σχήματος μήκους 2-2.5 mm. Δεν εντοπίζονται νευρώσεις και οι λοβοί είναι 5-6 δελτοειδείς προς ελαφρώς τριγωνικοί, μερικές φορές με οξεία απόληξη. Η στεφάνη των ανθών είναι λευκή, σωληνοειδής με μήκος 3-4.2 mm και περικομμένη (truncate) κορυφή. Οι στήμονες των ανθών είναι 5 με νημάτια μήκους 2.5 με 3.8 mm. Οι ανθήρες και η ωοθήκη είναι ελλειψοειδείς, μήκους 0.4- 0.6mm και 0.6-1 mm αντίστοιχα. Ο δίσκος είναι σχεδόν λεπτός, σχεδόν επίπεδος με μορφή κρατήρα.

Οι καρποί είναι κόκκινοι, εμπύρρηνοι μήκους 3.5- 5 mm και πλάτους 2.6- 5 mm. Τα δύο τρίτα με σχεδόν το σύνολο τους είναι έγκλειστα στον κάλυκα. Το σπέρμα του φυτού έχει σχήμα ωοειδές προς ευρέως ωοειδές και το ενδοκάρπιο του είναι οστεώδες (Miller, 1988).



Εικόνα 2.17: Φυτό και φύλλα *C. Linnaei*.



Εικόνα 2.18: Φύλλα και καρποί *C. Linnaei*.

Πειραματικό μέρος

3.1 Όργανα – Υλικά – Μέθοδοι

Τα ακόλουθα όργανα χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό της δομής των ουσιών που απομονωθήκαν κατά την πειραματική διαδικασία.

- **Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)**

Για λήψη φασμάτων ^{13}C -NMR χρησιμοποιήθηκε όργανο Bruker AC 200 MHz στα 50 MHz. Φάσματα ^1H -NMR καθώς και φάσματα δύο διαστάσεων COSY (Correlation Spectroscopy), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Coherence), HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) και NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) ελήφθησαν σε όργανα Bruker DRX 400 (400 MHz) και Bruker Advance III (600 MHz). Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν δευτεριωμένο νερό (D_2O), δευτεριωμένη μεθανόλη (CD_3OD), δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (CDCl_3) και δευτεριωμένο διμεθυλοσουλφοξείδιο ($\text{DMSO}-d_6$), με εσωτερικό πρότυπο τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS). Οι σταθερές σύζευξης (J) εκφράζονται σε Hertz (Hz), ενώ οι χημικές μετατοπίσεις (δ) είναι εκφρασμένες σε ppm. Η πολλαπλότητα των κορυφών των φασμάτων αποδίδεται ως εξής : s = μονή, d = διπλή, t = τριπλή, q = τετραπλή.

- **Αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS)**

Οι αναλύσεις των ουσιών πραγματοποιήθηκαν σε αέριο χρωματογράφο Hewlett-Packard 6890, συνδεδεμένο με φασματόμετρο μάζας Hewlett-Packard 5973 με ανιχνευτή πρόσπτωσης ηλεκτρονίων (electron impact, EI) με ενέργεια ιονισμού 70 eV. Ο αέριος χρωματογράφος φέρει έναν split/splitless εγχυτήρα ρυθμισμένο σε λόγο διαχωρισμού 1/10 και τριχοειδή στήλη DB5 μήκους 30 m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm και πάχους 0,25 μm . Η θερμοκρασία στο θάλαμο εισαγωγής δείγματος ήταν 200°C, και το φέρον αέριο ήταν He. Η ταυτοποίηση έγινε με χρήση της βιβλιοθήκης Wiley 275 και με βιβλιογραφικά δεδομένα. Για την επίτευξη της βέλτιστης έκλουσης και διαχωρισμού των ουσιών χρησιμοποιήθηκε το παρακάτω θερμοκρασιακό προγράμμα:

Θερμοκρασιακό πρόγραμμα I: Η αρχική θερμοκρασία είναι 100°C και στη συνέχεια αυξάνεται με ρυθμό 4°C/min, μέχρι μέγιστης θερμοκρασίας 300°C. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης φτάνει τα 48 min. Η ταχύτητα ροής του He είναι 0.7 mL/min.

- **Φασματομετρία μάζας UHPLC-LTQ-Orbitrap**

Για τη λήψη των φασμάτων μάζας HR-ESI-MS χρησιμοποιήθηκε Υγρή Χρωματογραφία Υπερύψηλης Απόδοσης συνδεδεμένη με Φασματογράφο Μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (UHPLC-LTQ-Orbitrap).

- UHPLC: Thermo Finnigan Accela High Speed.
- MS: Υβριδικός φασματογράφος μάζας που περιλαμβάνει σε σειρά γραμμική παγίδα ιόντων (Ion trap - LTQ XL) και τροχιακή παγίδα ιόντων (Orbital trap – Orbitrap) LTQ-Orbitrap Discovery (Thermo Scientific - Brehmen, Germany) εφοδιασμένο με πηγή ιοντισμού τύπου ηλεκροψεκασμού (Electrospray - ESI)

Πραγματοποιήθηκε ποιοτικός έλεγχος των κλασμάτων με τη τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υπερύψηλης απόδοσης (UHPLC) συνδεδεμένη με φασματογράφο μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε αρνητικό ιοντισμό. Πρόκειται για αναλυτή FT τροχιακής παγίδας ιόντων (Orbital trap-Orbitrap Thermo) υψηλής διακριτικής ικανότητας (mass resolution 30000-100000) και μεγάλη ακρίβεια μάζας (mass accuracy: 2-3 ppm). Επίσης, η ύπαρξη γραμμικής παγίδας ιόντων (LTQ) επιτρέπει τη λήψης φασμάτων MS/MS, γεγονός που διευκολύνει σημαντικά τη διαδικασία ταυτοποίησης.

Φασματοσκοπικά, φασματομετρικά και χρωματογραφικά χαρακτηριστικά όπως ο χρόνος συγκράτησης (R_t), προτεινόμενοι μοριακοί τύποι (EC) και ο βαθμός ακορεστότητας (RDBeq.) μελετήθηκαν για τις κύριες κορυφές σε κάθε δείγμα χρησιμοποιώντας τα φάσματα μάζας πλήρους σάρωσης (Full scan) ενώ σε ένα δεύτερο στάδιο μελετήθηκαν τα φάσματα δίδυμης φασματομετρίας MS/MS και το μοτίβο θραυσματοποίησης (fragmentation pattern). Το εύρος μαζών που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση ήταν m/z 100 έως 1000. Η υψηλή διακριτική ικανότητα του αναλυτή Orbitrap επιτρέπει την πρόβλεψη των πιθανών μοριακών τύπων των επιλεγμένων κορυφών με μεγάλη ακρίβεια.

Η μέθοδος ανάλυσης εκχυλίσματος η οποία χρησιμοποιήθηκε φαίνεται στη συνέχεια:

Συγκέντρωση δείγματος (mg/mL): 0.4 (εκχύλισμα), 0.2 (κλάσματα)

Διαλύτης έγχυσης: Μεθανόλη/Νερό 50:50 v/v

Στήλη: Fortis, C18

Διαστάσεις στήλης: 100 x 2.1 mm, 1.7 μ m

Θερμοκρασία στήλης (°C): 40

Πίεση(psi): 9000-9500

Ροή (μL/min): 400

Όγκος έγχυσης (μL): 10

Θερμοκρασία δείγματος (°C): 10

Κινητή φάση:		Χρόνος (min)	Ροή (mL/min)	%A	%B
A = H₂O, 0.1 % φορμικό οξύ B = Ακετονιτρίλιο	1	0.00	400	95	5
	2	3.00	400	95	5
	3	21.00	400	0	100
	4	23.0	400	0	100
	5	25.0	400	95	5
	6	30	400	95	5

Για την επίτευξη της ανίχνευσης και απομόνωσης των φυσικών προϊόντων που περιέχονταν στα υπό μελέτη εκχυλίσματα χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες μέθοδοι:

- **Υγρή χρωματογραφία στήλης**

α) Ανοικτού τύπου υπό κενό με στατική φάση:

1. γέλη οξειδίου του πυριτίου (silica gel) 60H (<45 μm, Merck).
2. γέλη οξειδίου του πυριτίου silica gel (0.040-0.063 mm, Merck).
3. πυριτικό μαγνήσιο Florisil (0.15-0.25 mm Merck).
4. ρητίνη συμπολυμερούς στυρολίου-διβινυλοβενζολίου, XAD-4 (0.90-0.30 mm, Supelco).
5. μικροκρυσταλλική κυτταρίνη (Merck).

β) Ανοικτού τύπου, με στατική φάση πολυυδροξυπροπυλιωμένη δεξτράνη, Sephadex LH-20 (25-100 μm, Pharmacia).

γ) Μέσης πίεσης με στατική φάση γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (silica gel Rp-18) (Merck).

- **Συμπύκνωση υπό κενό**

Οι συμπυκνώσεις πραγματοποιήθηκαν με εξάτμιση μέχρι ξηρού, χρησιμοποιώντας συμπυκνωτή κενού Rotavapor Büchi R-200 σε θερμαινόμενο υδατόλουτρο Büchi Heating Bath B-490 στους 35-40°C.

- **Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC)**

α) Πλάκες αλουμινίου με επίστρωση:

1. διοξείδιο του πυριτίου (silica gel) με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄), 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).
2. διοξειδίου του πυριτίου αντίστροφης φάσης RP-18 με δείκτη φθορισμού (silica gel RP-18 F₂₅₄), 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).
3. κυτταρίνης (χωρίς δείκτη φθορισμού), 20 x 20 cm (αναλυτική χρωματογραφία).

β) Γυάλινες πλάκες με επίστρωση: 1. κυτταρίνης (χωρίς δείκτη φθορισμού), 20 x 20 cm (παρασκευαστική χρωματογραφία)

- 2.. διοξείδιο του πυριτίου (silica gel) με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄), 20 x 20 cm (παρασκευαστική χρωματογραφία)

Όλα τα παραπάνω είδη πλακών ήταν της εταιρίας Merck.

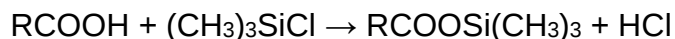
Εμφάνιση χρωματογραφημάτων TLC

Οι πλάκες αλουμινίου TLC με επίστρωση silica gel 60 F₂₅₄ κανονικής και αντίστροφης φάσης αρχικά εκτίθενται σε υπεριώδες-ορατό φως (UV-Vis) σε μήκη κύματος 254 και 366 nm, και στη συνέχεια ψεκάζονται με διάλυμα θειικής βανιλίνης και σύντομη θέρμανση του πλακιδίου σε ~300°C. Για την εμφάνιση των κηλίδων επί πλακών κυτταρίνης, το πλακίδιο αρχικά εκτίθεται σε υπεριώδες-ορατό φως σε μήκη κύματος 254 και 366 nm και ακολουθεί ψεκασμός του με διάλυμα Naturstoff. Στη συνέχεια υφίσταται ήπια θέρμανση και παρακολουθείται ξανά στα αντίστοιχα μήκη κύματος της ορατής και υπεριώδους ακτινοβολίας.

- **Σιλυλίωση**

Κατά την αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS) πριν από την ανάλυση κάποιων δειγμάτων είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί σιλυλίωση για αύξηση της απόκρισης του ανιχνευτή, της διαχωριστικότητας των κορυφών και

της πτητικότητας των ενώσεων. Πιο συγκεκριμένα, τα περιεχόμενα συστατικά του μίγματος μετατρέπονται σε πτητικά παράγωγα τους προς ανάλυση στο αέριο χρωματογράφο μέσω εισαγωγής ομάδων $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ σε ενεργά Η ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}$, $-\text{SH}$) και πραγματοποίηση της αντίδρασης:



Η τεχνική αυτή επιλέχθηκε για τη μελέτη των μεθανολικών εκχυλισμάτων, καθώς όπως προκύπτει βάση βιβλιογραφικής έρευνας, πολικές ενώσεις του γένους *Cordia* περιέχουν ενεργές ομάδες OH και COOH .

Διαδικασία παραγωγοποίησης: σε 5 mg ξηρού δείγματος προστίθενται 50 μL άνυδρης πυριδίνης (Prolabo) και 75 μL BSTFA [bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide] (Merck) και ακολουθεί θέρμανση στους 80°C για 20 min.

Ακολουθεί συνοπτική αναφορά στα αντιδραστήρια και τους διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκπόνηση των πειραμάτων:

- **Αντιδραστήρια:** Χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια των εταιριών, Sigma-Aldrich, Fluka, AcrosOrganics, Merck, Riedel-deHaën.
 1. Διάλυμα θειικής βανιλίνης: 1:1 μίγμα διαλυμάτων 5% H_2SO_4 σε MeOH και 5% βανιλίνης σε MeOH
 2. Διάλυμα Naturstoff (1% διάλυμα συμπλόκου αιθανολαμίνης διφαινυλοβορικού οξέος σε MeOH).
 3. πυριδίνη (Prolabo) και BSTFA [bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide] (Merck)
 4. Αντιδραστήριο Ehrlich: 4- dimethylaminobenzaldehyde (5 g) διαλυμένο σε μίγμα EtOH (75 ml), AcOH (25ml) και 60% perchloric acid (1 ml). Διάρκεια ζωής μία εβδομάδα, εάν αποθηκευτεί σε σκοτεινό μέρος
- **Διαλύτες:** Χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες μεθανόλη (MeOH), οξικός αιθυλεστέρας (EtOAc), διχλωρομεθάνιο (DCM), κυκλοεξάνιο (Cex), νερό (H_2O), οξικό οξύ (AcOH .) απεσταγμένοι ή καθαρότητας HPLC (εταιρίες LAB-SCAN, Merck Panreac, Fisher Scientific).
- **Δευτεριωμένοι διαλύτες:** Χρησιμοποιήθηκαν CDCl_3 , CDCl_3 CD_3OD (Merck), DMSO (Merck), και D_2O (euriso-top).

3.2 Συλλογή δειγμάτων

Η συλλογή των φυτών πραγματοποιήθηκε σε διάφορες περιοχές του Παναμά και πιο συγκεκριμένα το φυτό *Cordia bicolor* συλλέχθηκε στη περιοχή Cerro Azul του Finca Casa Club, η *C. megalantha* στη περιοχή El Valle de Anton της επαρχίας Cocle, η *C. dentata* στη Sarigua της επαρχίας Herrera, και η *C. linnaei* στη περιοχή που βρίσκεται στο οδικό δίκτυο Llano-Carti.

Η βοτανική πιστοποίηση των φυτών έγινε από την καθηγήτρια M. Correa, Διευθύντρια του Herbarium of Panama University. Τα δείγματα μετά την διαδικασία κονιοποίησης, διατηρήθηκαν σε ερμητικά κλειστούς σακκους, μέχρι την εκχύλιση. Οι κωδικοί εμπορίου για το κάθε φυτό παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. 1: Κωδικοί εμπορίου των μελετηθέντων φυτών του γένους *Cordia*:

Είδος	Κωδικός εμπορίου	Τμήμα φυτού
<i>C.bicolor</i>	7077	Φύλλα
<i>C.megalantha</i>	8226	Φύλλα
<i>C.linnaei</i>	2263	Φύλλα
<i>C.dentata</i>	2331	Φύλλα

3.3 *Cordia bicolor* A.DC ex DC

3.3.1 Εκχυλίσες του φυτικού υλικού

Πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές εκχυλίσες σε περίπου 250 gr κονιοποιημένων φύλλων του φυτού, με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: κυκλοεξάνιο, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη. Η εκχύλιση στον εκάστοτε διαλύτη επαναλήφθηκε τρεις φορές με εμβάπτιση του φυτικού υλικού σε περίπου 2.5 λίτρα διαλύτη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Τα εκχυλίσματα κάθε διαλύτη συμπυκνώθηκαν με εξάτμιση υπό κενό μέχρι ξηρού και ζυγίσθηκαν. Το τελικό βάρος κάθε εκχυλίσματος ήταν το ακόλουθο:

Κυκλοεξανικό εκχύλισμα **Cb_{C6}**: 2.35 gr

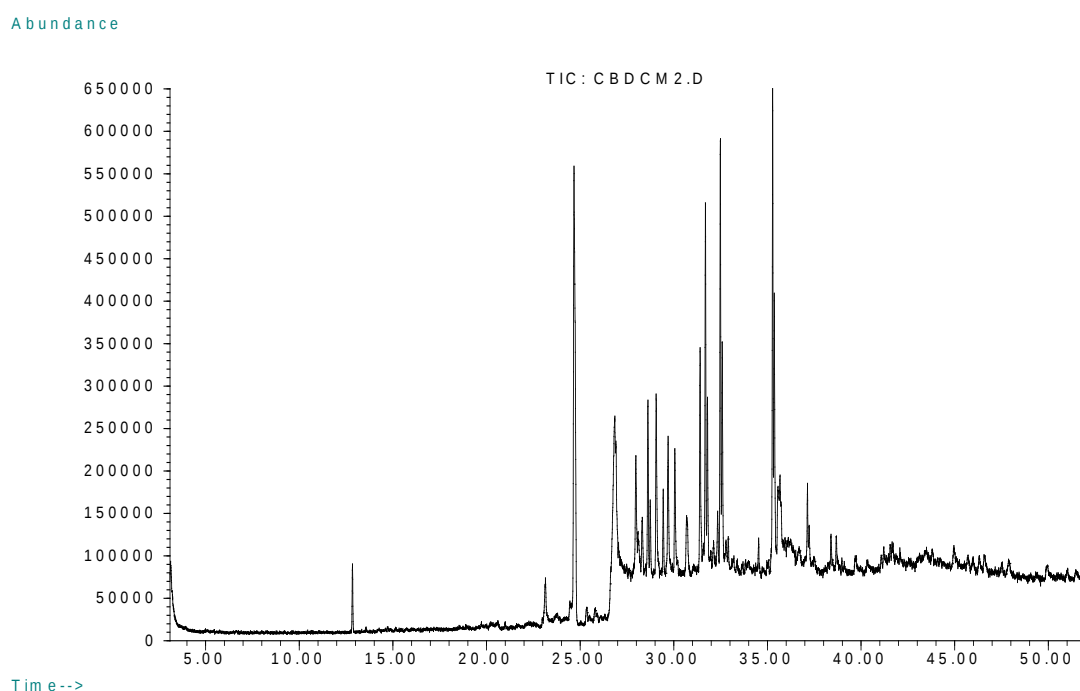
Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα **Cb_{DCM}**: 3.2 gr

Μεθανολικό εκχύλισμα **Cb_{MeOH}**: 12.4 gr

3.3.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cb_{DCM}

Μικρή ποσότητα (περίπου 100mg) από το πράσινο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία στήλης με στατική φάση florisil προκειμένου να απαλλαχθεί το δείγμα από την χλωροφύλλη. Χρησιμοποιήθηκε στήλη διαμέτρου 1 cm και ως διαλύτης έκλουσης μίγμα C6-Diethyl ether 70:30 (3 x 200ml). Η αναλογία της ουσίας ως προς τη στατική φάση ήταν 1:30. Η κινητή φάση, η οποία και συμπυκνώθηκε, είχε έντονο κίτρινο χρώμα, ενώ η στατική φάση απέκτησε σκούρο πράσινο χρώμα. Στη συνέχεια το εκχύλισμα υποβλήθηκε σε αέριο χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GC-MS, θερμοκρασιακό πρόγραμμα 1). Από το χρωματογράφημα ανιχνεύθηκαν τα λιπαρά οξέα παλμιτικό και ολεϊκό οξύ, παράγωγα του ολεϊκού οξέος η φαινολική διτερπενική κετόνη οξική ινόκιονη, η φυτοστερόλη β- σιτοστερόλη και η α- αμυρίνη. Το σύνολο των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

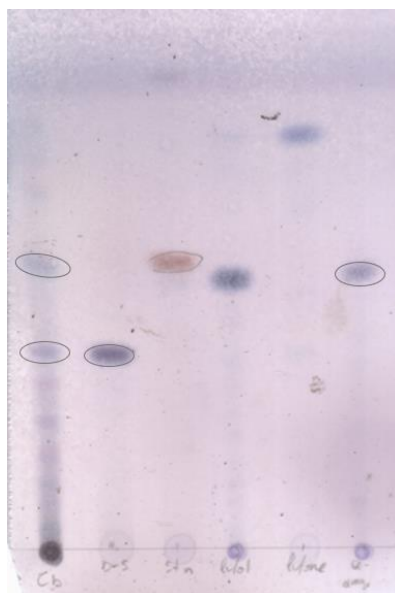
Χρωματογράφημα Cb_{DCM}:



Πίνακας 3. 2: Αποτελέσματα GC-MS του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος της *Cordia bicolor*:

Ενώσεις	<i>C.bicolor</i> DCM	
	Retention time	% ολοκλήρωση
palmitic acid	24.67	13.43
oleic acid	26.84	8.88
hinokione acetate	30.68	1.86
β- monoolein	31.69	5.31
3- hydroxypropyl ester of oleic acid,	31.80	2.63
olealdehyde	32.48	4.01
β- sitosterol	35.67	2.24
α- amyirin	37.14	0.72
Ολικό:		43.29

Στη συνέχεια το εκχύλισμα συγχρωματογραφήθηκε με πρότυπες ουσίες από την αρχειοθήκη του εργαστηρίου μας με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε πλάκες silica gel. Ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών C6- EtOAC 75:25 ενώ χρησιμοποιήθηκαν οι πρότυπες ουσίες β-σιτοστερόλη, σιτοστενόνη, λουπεόλη, λουπενόνη και α-αμυρίνη. Από τη διαδικασία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη της α- αμυρίνης και της β- σιτοστερόλης.



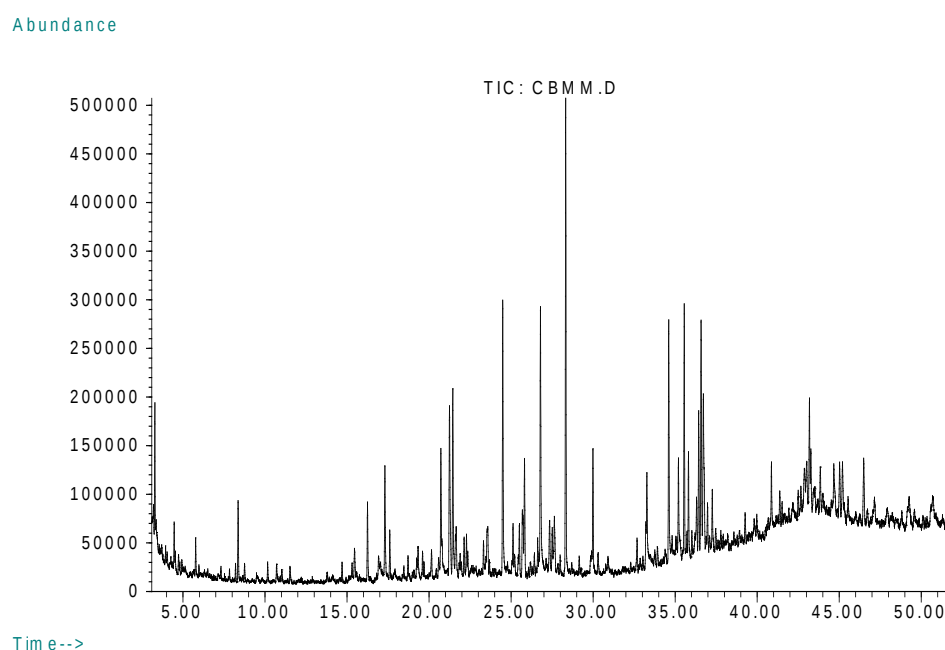
Εικόνα 3.1: TLC Cb_{DCM} με πρότυπες ουσίες

3.3.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Cb_{MeOH}

Στο σκούρο καφέ-πράσινο μεθανολικό εκχύλισμα πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσσεις με κυκλοεξάνιο προκειμένου να απομακρυνθεί η χλωροφύλλη. Η κάθε φάση είχε όγκο 300 ml και η σύσταση τους ήταν C6 100% και H₂O-MeOH 80:20. Αρχικά και οι δύο φάσεις ήταν ιδιαίτερα σκουρόχρωμες και ο διαχωρισμός τους ήταν δύσκολος αλλά σταδιακά με τις επακόλουθουσες εκχυλίσσεις ξεχώρισαν ευκρινώς, με την κυκλοεξανική φάση να λαμβάνει πράσινο χρώμα και τη μεθανολική να παραμένει καφέ. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά έξι εκχυλίσσεις και η μεθανολική φάση συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε.

Μικρή ποσότητα από το μεθανολικό εκχύλισμα συλινώθηκε σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω και στη συνέχεια το δείγμα υποβλήθηκε σε αέριο χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GC-MS, θερμοκρασιακό πρόγραμμα 1). Τα αποτελέσματα του χρωματογραφήματος εμφάνισαν σιλυλιωμένα παράγωγα από φαινολοξέα (βαννιλικό, κουμαρικό και καφεϊκό οξύ), τον 3,4 μέθυλεστέρα του κινναμικού οξέος, το δικαρβοξυλικό οξύ αζελαϊκό οξύ, σάκχαρα και τις ουσίες βαννιλεθανεδιόλη, catechollactate και υδρόξυφαινυλαιθανόλη. Ακολουθεί πίνακας που παρουσιάζει αναλυτικά τις ουσίες που ανιχνεύθηκαν:

Χρωματογράφημα Cb_{MeOH}:

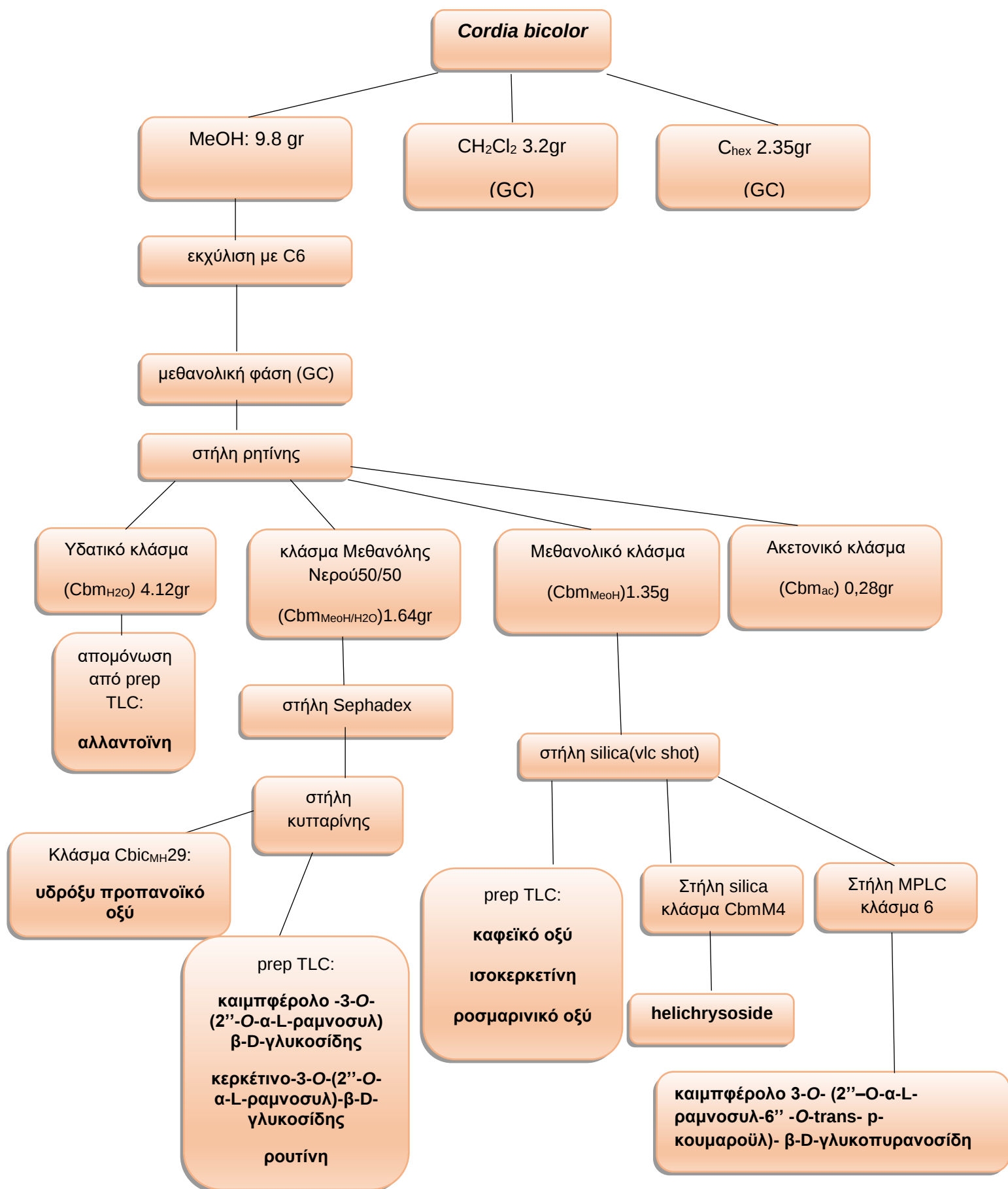


Πίνακας 3. 3: Αποτελέσματα GC-MS του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia bicolor*:

Ενώσεις	<i>C.bicolor</i> MeOH	
	Retention time	% ολοκλήρωση
Ethylamine	3.29	1.63
hydroxyphenylethanol	16.25	1.75
vanillic acid	20.72	3.30
azelaic acid	21.44	4.35
p-coumaric acid	24.49	6.57
3,4 methyl ester of cinnamic acid	25.81	2.93
catechollactate	26.78	7.42
caffeic acid	28.33	10.55
Sugar	29.99	2.68
vanilethanediol	35.81	2.33
Ολικό:		43.39

Το μεθανολικό εκχύλισμα ελέγχθηκε σε διάφορα συστήματα ανάπτυξης με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC). Μετά την παρατήρηση των χρωματογραφημάτων σε λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας και ψεκασμό με μεθανολικό διάλυμα θειικής βανιλίνης ή διάλυμα *Naturstoff* κατά περίπτωση, πραγματοποιήθηκαν χρωματογραφικοί διαχωρισμοί με σκοπό την απομόνωση καθαρών συστατικών.

Ακολουθεί διάγραμμα στο οποίο παρουσιάζονται αναλυτικά οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί που πραγματοποιήθηκαν στο μεθανολικό εκχύλισμα της *Cordia bicolor* :



Αρχικά το ξηρό μεθανολικό εκχύλισμα βάρους 9.8 g, υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης, διαμέτρου 4 cm, με στατική φάση ρητίνη XAD-4, ύψους 45 cm, προκειμένου να απομακρυνθούν τα σάκχαρα από το εκχύλισμα. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν H₂O, MeOH και Acetone. Από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό συλλέχθηκαν 60 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες τύπου RP-18 silica gel F₂₅₄ και σε πλάκες τύπου κυτταρίνης. Τα κλάσματα που προέρχονταν από το ίδιο σύστημα διαλυτών συνενώθηκαν και συμπυκνώθηκαν. Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται τα στοιχεία της έκλουσης:

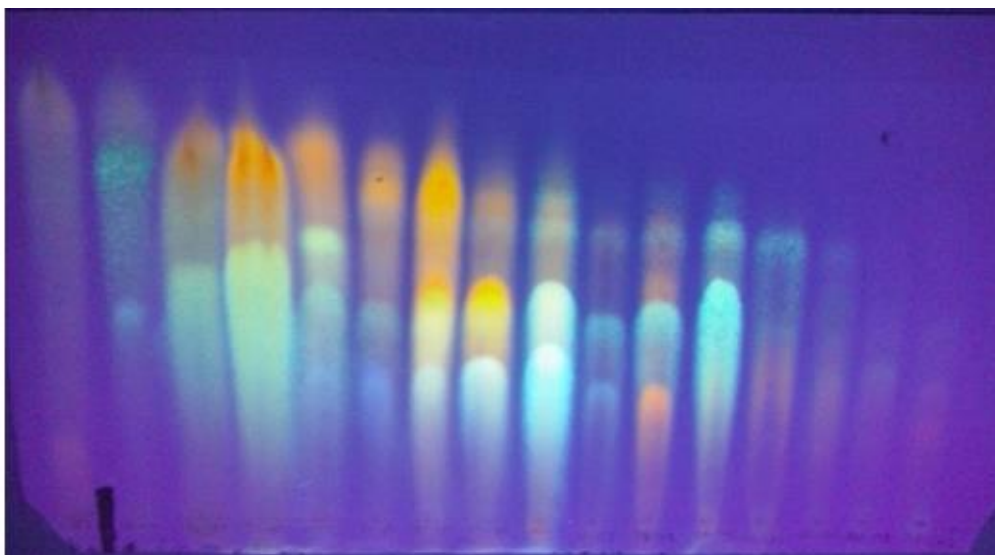
Πίνακας 3. 4: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης XAD-4 Cbic.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Βάρος εκχυλίσματος(gr)
1-24	H ₂ O	2500	4.13
25-36	MeOH-H ₂ O	2000	1.64
37-53	MeOH	2000	1.35
54-60	AcOH	1000	0.051

Από τα συνενωμένα κλάσματα επιλέχθηκαν προς μελέτη τα κλάσματα **Cbic1-24**, **Cbic 25-36** και **Cbic37-53**.

Το κλάσμα **Cbic1-24** συγχρωματογραφήθηκε με πρότυπη αλλαντοΐνη και η ύπαρξη της επιβεβαιώθηκε μέσω GC-MS μετά απο συλιλίωση του κλάσματος. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε 40 mg του κλάσματος σε γυάλινες πλάκες silica gel F₂₅₄ με σύστημα ανάπτυξης το σύστημα διαλυτών CH₂Cl₂:MeOH 70:30. Απομονώθηκε η ουσία Cb_H1 (11.0 mg). Η ουσία αυτή ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και ¹³C-NMR ως το ουρεΐδιο **αλλαντοΐνη**.

Περίπου 1.5g της συνένωσης **Cbic 25-36 (Cbic_{M-H})** υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης διαμέτρου 4.8 cm, με στατική φάση Sephadex LH-20, ύψους περίπου 30 cm. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε συστήμα διαλυτών 60:40 MeOH:H₂O, ενώ συλλέχθηκαν συνολικά 250 κλάσματα τα οποία ελέγχθηκαν σε πλάκες κυτταρίνης. Όσα κλάσματα εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν με αποτέλεσμα να προκύψουν 16 συνενώσεις. Εντούτοις, ο διαχωρισμός που επιτεύχθηκε δεν ήταν ο επιθυμητός με αποτέλεσμα τα κλάσματα να συνενωθούν εκ νέου και να πραγματοποιηθεί στη συνέχεια στήλη κυτταρίνης.



Εικόνα 3.5: Συνενωμένα κλάσματα στήλης Sephadex (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Ακολούθησε χρωματογραφικός διαχωρισμός περίπου 1.3gr του **Cbic_{M-H}** εκχυλίσματος με χρωματογραφία ανοικτής στήλης βαθμιαίας έκλουσης με στατική φάση μικροκρυσταλλική κυτταρίνη. Η διάμετρος της στήλης ήταν 4cm ενώ το ύψος της στατικής φάσης έφτανε τα 21cm. Το πληρωτικό υλικό εισάγεται στη στήλη διαλυμένο στον πρώτο διαλύτη έκλουσης, ενώ το δείγμα υπό τη μορφή ξηρού ντεπτό. Οι διαλύτες έκλουσης μετά την πολικότητα Cyclohexane/EtOAc 70/30 είναι κορεσμένοι σε νερό (μέσω ανατάραξής τους με μικρή ποσότητα νερού εντός διαχωριστικής χοάνης). Συνολικά συλλέχθηκαν 640 κλάσματα όγκου περίπου 35ml.

Πίνακας 3. 5: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης κυτταρίνης Cbic_{M-H}:

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος δ/των (mL)
Cbic _{M-H} 1-30	Cyclohexane/EtOAc 80/20	1200
Cbic _{M-H} 31-56	Cyclohexane/EtOAc 70/30	1200
Cbic _{M-H} 57-80	Cyclohexane/EtOAc 60/40	1000
Cbic _{M-H} 81-124	Cyclohexane/EtOAc 50/50	1900
Cbic _{M-H} 125-165	Cyclohexane/EtOAc 40/60	2000
Cbic _{M-H} 166-191	Cyclohexane/EtOAc 30/70	1200
Cbic _{M-H} 192-240	Cyclohexane/EtOAc 20/80	2100
Cbic _{M-H} 241-283	Cyclohexane/EtOAc 10/90	2000
Cbic _{M-H} 284-335	EtOAc	2000
Cbic _{M-H} 336-361	EtOAc/MeOH 99/1	1200
Cbic _{M-H} 362-395	EtOAc/MeOH 98/2	1600
Cbic _{M-H} 396-413	EtOAc/MeOH 97/3	1200
Cbic _{M-H} 414-431	EtOAc/MeOH 96/4	1200
Cbic _{M-H} 432-461	EtOAc/MeOH 95/5	1600
Cbic _{M-H} 462-478	EtOAc/MeOH 94/6	800
Cbic _{M-H} 479-490	EtOAc/MeOH 92/8	600

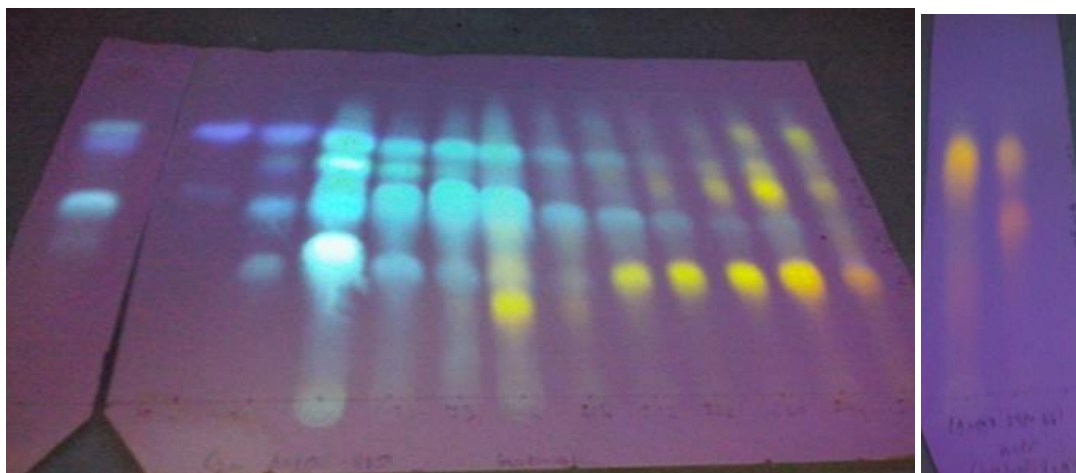
Cbic _{M-H} 491-514	EtOAc/MeOH 90/10	800
Cbic _{M-H} 515-561	EtOAc/MeOH 87/13	1200
Cbic _{M-H} 565-592	EtOAc/MeOH 86/14	800
Cbic _{M-H} 593-612	EtOAc/MeOH 85/15	800
Cbic _{M-H} 613-630	MeOH	800
Cbic _{M-H} 631-645	MeOH/H ₂ O 70/30	700
Cbic _{M-H} 646-660	MeOH/H ₂ O 50/50	600

Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες κυτταρίνης. Ως συστήματα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν τα συστήματα διαλυτών H₂O:Acetic Acid 85:15, 80:20 και 70:30. Όσα κλάσματα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. 6: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης κυτταρίνης Cbic_{M-H}:

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)	Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cbic _{M-H} 1:1-14	0.0313	Cbic _{M-H} 16:362-396	0.0264
Cbic _{M-H} 2:15-30	0.0090	Cbic _{M-H} 17:397-411	0.0172
Cbic _{M-H} 3:31-42	0.0121	Cbic _{M-H} 18:412-424	0.0095
Cbic _{M-H} 4:43-104	0.0640	Cbic _{M-H} 19:432-465	0.0660
Cbic _{M-H} 5:105-124	0.0213	Cbic _{M-H} 20:466-499	0.0385
Cbic _{M-H} 6:125-145	0.0323	Cbic _{M-H} 21:500-512	0.0098
Cbic _{M-H} 7:146-185	0.0405	Cbic _{M-H} 22:513-548	0.0209
Cbic _{M-H} 8:186-201	0.0343	Cbic _{M-H} 23:549-565	0.0461
Cbic _{M-H} 9:202-221	0.0296	Cbic _{M-H} 24:566-574	0.0294
Cbic _{M-H} 10:222-229	0.0130	Cbic _{M-H} 25:575-591	0.0342
Cbic _{M-H} 11:230-243	0.0157	Cbic _{M-H} 26:592-607	0.0316
Cbic _{M-H} 12:244-262	0.0218	Cbic _{M-H} 27:608-614	0.0385
Cbic _{M-H} 13:263-289	0.0418	Cbic _{M-H} 28:615-630	0.0203
Cbic _{M-H} 14:290-297	0.0292	Cbic _{M-H} 29:631-645	0.0166
Cbic _{M-H} 15:298-361	0.0853	Cbic _{M-H} 30:645-660	0.0140

Μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσίασαν οι συνενώσεις **Cbic_{M-H} 13**, **Cbic_{M-H} 14** **Cbic_{M-H} 15** και **Cbic_{M-H} 29** οι οποίες μελετήθηκαν περαιτέρω.



Εικόνα 3.6: Συνενωμένα κλάσματα στήλης κυτταρίνης (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Η συνένωση **Cb_{M-H} 14** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 85:15.. Με τον τρόπο αυτό απομονώθηκε η ουσία **Cb_{M-H} 14.1** (5 mg) η οποία ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και φασμάτων δύο διαστάσεων HMQC και COSY ως μίγμα των δισακχαριτών **καιμπφέρολο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη** (καιμπφέρολο-3-ο-νεοεσπεριδοσίδης) και **κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη** (κερκέτινο-3-ο-νεοεσπεριδοσίδης)

Η συνένωση **Cb_{M-H} 13** υποβλήθηκε επίσης σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Ως σύστημα διαλυτών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ανάπτυξης H₂O:Acetic acid 85:15 ενώ απομονώθηκε η ουσία **Cb_{M-H} 13.6** (1.8mg). Ανάλυση του φάσματος ¹H-NMR και σύγκριση του με βιβλιογραφικά δεδομένα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το δισακχαρίτη **καιμπφέρολο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη**.

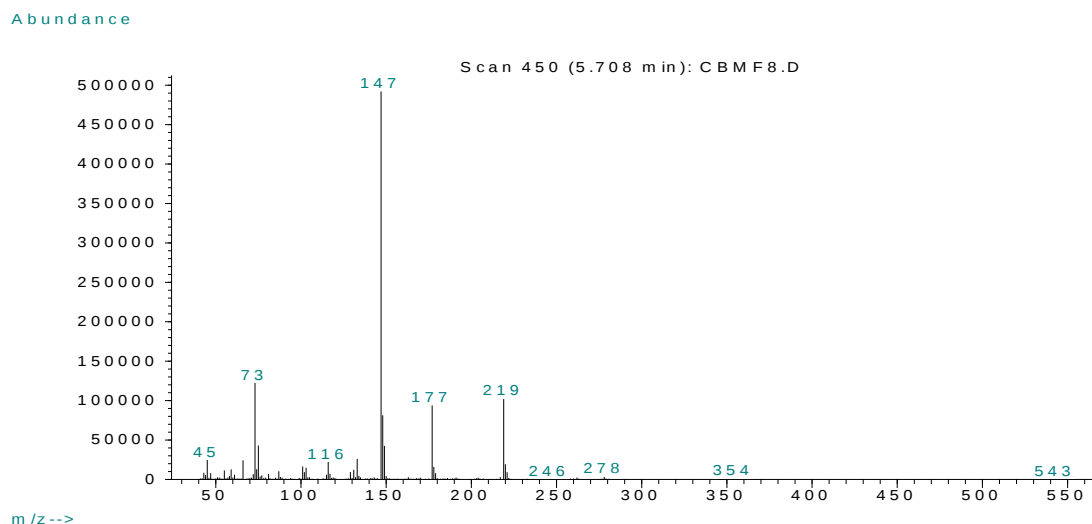
Παρασκευαστική χρωματογραφία στήλης πραγματοποιήθηκε και για την συνένωση **Cb_{M-H} 15** με σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 80:20.

Με τον τρόπο αυτό απομονώθηκε η ουσία **Cb_{M-H} 15.2** (5.5 mg) η οποία ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR, ¹³C NMR και φασμάτων δυο διαστάσεων ως το φλαβονοειδές **3-O-(6''-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδης** (ρουτίνη).

Μικρή ποσότητα της συνένωσης **Cb_{M-H} 29** σιλυλιώθηκε και υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS. Στο χρωματογράφημα εμφανίστηκε μία βασική κορυφή με χρόνο ανάσχεσης Rt: 5.70 min. Συγκρίνοντας το φάσμα μάζας της συγκεκριμένης κορυφής με βιβλιογραφικά δεδομένα (<http://webbook.nist.gov>) και σύμφωνα με τη βιβλιοθήκη Wiley 275 ταυτοποιήθηκε η ουσία **υδρόξυ-προπανοϊκό οξύ** (4mg). Στο

φάσμα μάζας E.I. παρατηρούνται τα εξής θραύσματα: 45, 73, 116, 147, 177, 219, 246 τα οποία αντιστοιχούν στο σιλυλιωμένο παράγωγο του προπανοϊκού οξέος.

Φάσμα MS Cbic_{M-H}29



Περίπου 1 g της συνένωσης **Cbic 37-53** υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης (διαμέτρου 3.8 cm) με στατική φάση flash silica gel (0.040-0.063 mm). Το δείγμα εισήχθη υπό τη μορφή ξηρού ντεπό και πραγματοποιήθηκε έκλουση του με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Συλλέχθηκαν συνολικά 45 κλάσματα των 100 ml. Τα στοιχεία της έκλουσης παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα.

Πίνακας 3. 7:Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης Cbic_M:

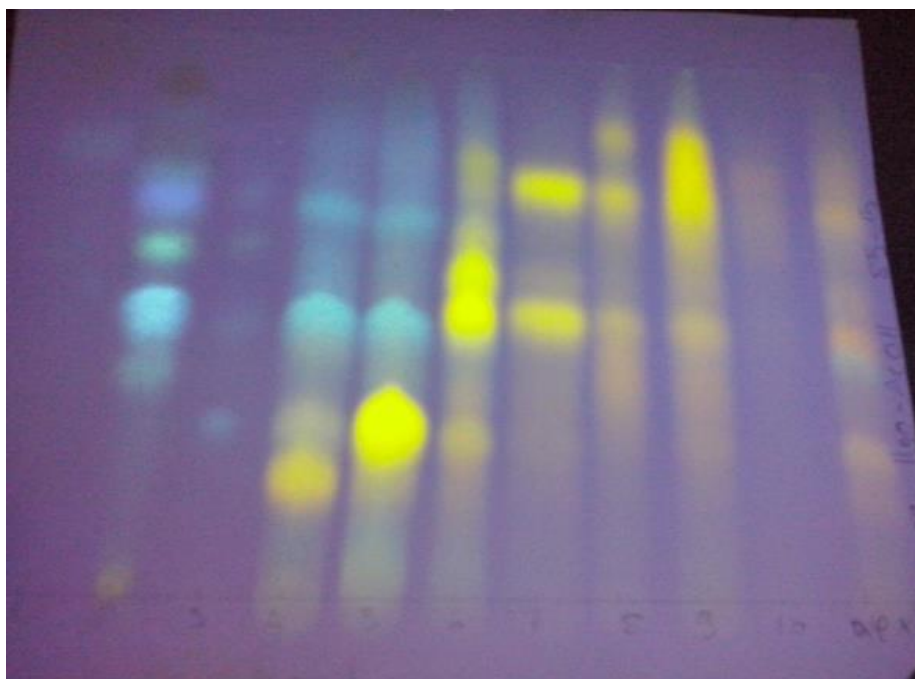
Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος δ/των (mL)
1-2	DCM	200
3-6	DCM/MeOH 95/5	350
7-10	DCM/MeOH 90/10	300
11-16	DCM/MeOH 85/15	450
17-20	DCM/MeOH 80/20	400
21-25	DCM/MeOH 75/25	450
26-28	DCM/MeOH 70/30	300
29-30	DCM/MeOH 65/35	200
31-33	DCM/MeOH 60/40	300
34-36	DCM/MeOH 55/45	300
37-39	DCM/MeOH 50/50	300
40-42	DCM/MeOH 25/75	300
43-45	MeOH	300

Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες κυτταρίνης. Ως συστήματα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν τα συστήματα διαλυτών H₂O:Acetic Acid 85:15, 80:20 και 70:30. Όσα κλάσματα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. 8: Συνενώσεις κλασμάτων της στήλης Cbic_M:

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cbic _M 1: 1-3	0.010
Cbic _M 2: 4	0.078
Cbic _M 3: 5-6	0.042
Cbic _M 4: 7-9	0.228
Cbic _M 5: 10-11	0.133
Cbic _M 6: 12-14	0.145
Cbic _M 7: 15-18	0.101
Cbic _M 8: 19-20	0.030
Cbic _M 9: 21-25	0.092
Cbic _M 10: 26-30	0.038
Cbic _M 11: 31-36	0.042
Cbic _M 12: 37-39	0.015
Cbic _M 13: 40-45	0.047

Περαιτέρω μελετήθηκαν οι συνενώσεις **Cbic_M3**, **Cbic_M4**, **Cbic_M5** και **Cbic_M6** δεδομένου ότι παρουσίασαν το μεγαλύτερο ενδιαφέρον.



Εικόνα 3.7: Συνενωμένα κλάσματα στήλης VLC (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Η συνένωση **Cbic_M3** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε γυάλινες πλάκες με επίστρωση κυτταρίνης Ως σύστημα διαλυτών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ανάπτυξης H₂O:Acetic acid 85:15. Απομονώθηκε η ουσία Cb_{M-H} 3.2 (4 mg). Η ουσία αυτή ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και σύγκρισης με βιβλιογραφικά δεδομένα ως το φαινολικό οξύ **καφεϊκό οξύ**.

Για την συνένωση **Cbic_M4** πραγματοποιήθηκε χρωματογραφικός διαχωρισμός της με ανοικτή στήλη (διαμέτρου 1 cm) και στατική φάση flash silica gel (0.040-0.063 mm). Τα στοιχεία έκλουσης παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 3. 9: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης silica gel Cbic_M4:

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος δ/των (mL)
1-9	DCM	100
10-23	DCM/MeOH 99/1	150
24-40	DCM/MeOH 98/2	250
41-58	DCM/MeOH 97/3	200
59-121	DCM/MeOH 96/4	500
122-167	DCM/MeOH 95/5	500
168-250	DCM/MeOH 94/6	1100
251-269	DCM/MeOH 98/2	600
270-299	DCM/MeOH 90/10	500
300-312	DCM/MeOH 85/15	300
313-339	DCM/MeOH 80/20	800
340-345	DCM/MeOH 50/50	200

Όλα τα κλάσματα ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες κυτταρίνης. Ως συστήματα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν τα συστήματα διαλυτών H₂O:Acetic Acid 85:15 και 80:20. Ακολούθησε η συνένωση των κλασμάτων που εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα σύμφωνα με τα στοιχεία που παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3. 10: Συνενώσεις κλασμάτων από τη στήλη Cb_M4:

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)	Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cb _M 4.1: 1-27	0.002	Cb _M 4.12: 170-183	0.044
Cb _M 4.2: 28-36	0.003	Cb _M 4.13: 184-195	0.031
Cb _M 4.3: 37-55	0.003	Cb _M 4.14: 196-210	0.015
Cb _M 4.4: 56-73	0.004	Cb _M 4.15: 211-236	0.016
Cb _M 4.5: 74-82	0.003	Cb _M 4.16: 237-250	0.007
Cb _M 4.6: 83-101	0.005	Cb _M 4.17: 251-266	0.006
Cb _M 4.7: 102-124	0.010	Cb _M 4.18: 267-278	0.006
Cb _M 4.8: 125-136	0.014	Cb _M 4.19: 279-303	0.005
Cb _M 4.9: 137-139	0.004	Cb _M 4.20: 304-327	0.006

Cb _m 4.10: 140-150	0.015	Cb _m 4.21: 329-339	0.004
Cb _m 4.11: 151-169	0.021	Cb _m 4.22: 340-345	0.005

Τα κλάσματα **Cb_m4.14** και **Cb_m4.15** εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα και συνενώθηκαν, ενώ ακολούθησε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε γυάλινες πλάκες με επίστρωση κυτταρίνης. Ως σύστημα διαλυτών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ανάπτυξης H₂O:Acetic acid 85:15. Και με τον τρόπο αυτό απομονώθηκε η ουσία Cb_{M-H} 4.β (5.2 mg). Η ουσία αυτή ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και σύγκρισης με βιβλιογραφικά δεδομένα ως το φλαβονοειδές **κερκέτινο-3-O-(6'' *trans*-p-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη** (helichrysoside).

Η συνένωση **Cbic_m5** υποβλήθηκε επίσης σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες πλάκες με επίστρωση κυτταρίνης ενώ ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 85:15. Απομονώθηκε η ουσία Cb_M5.1 (6.5 mg). Η ουσία αυτή ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και ¹³C-NMR ως το φαινολικό οξύ **ροσμαρινικό οξύ**. Αντίστοιχη διαδικασία πραγματοποιήθηκε και για τη ζώνη Cb_{ic}5.2 από την οποία απομονώθηκε η ουσία Cb_M5.2 (4.1 mg) η οποία ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και σύγκρισης με βιβλιογραφικά δεδομένα ως το φλαβονοειδές **κερκέτινο-3-O-β-D-γλυκοσίδης** (ισοκερκετίνη).

Το κλάσμα **Cbic_m6** υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης πίεσης (MPLC). Χρησιμοποιήθηκε η στήλη Lichrosorb RP-18 250 x 4 mm (Sigma- Aldrich) με στατική φάση silica gel RP-18. Η έκλουση του δείγματος πραγματοποιήθηκε με διαλύτες H₂O και MeOH. Η ροή των διαλυτών δεν υπερέβαινε τα 10ml/min. Από τον χρωματογραφικό αυτόν διαχωρισμό προέκυψαν 585 κλάσματα όγκου περίπου 15 ml. Τα στοιχεία έκλουσης παρουσιάζονται στον κάτωθι πίνακα:

Πίνακας 3. 11: Στοιχεία έκλουσης της στήλης silica RP-18 Cb_m6

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος δ/των (mL)
1-14	H ₂ O/MeOH 90/10	300
15-230	H ₂ O/MeOH 80/20	3500
231-456	H ₂ O/MeOH 75/25	3400
457-505	H ₂ O/MeOH 70/30	750
506-548	H ₂ O/MeOH 60/40	700
549-580	H ₂ O/MeOH 50/50	500
581-585	MeOH 100	300

Όλα τα κλάσματα ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες silica gel RP-18 F₂₅₄ και σύστημα ανάπτυξης διαλυτών 60/40 H₂O/MeOH καθώς και σε πλάκες κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξής το σύστημα διαλυτών H₂O/Acetic acid 85/15. Ακολούθησε η συνένωση των κλασμάτων που εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα σύμφωνα με τα στοιχεία που αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

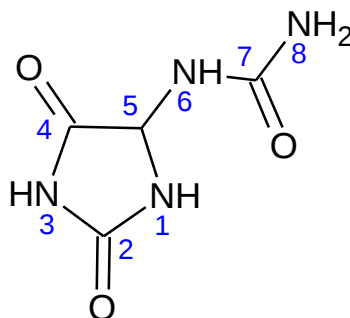
Πίνακας 3.12: Συνενώσεις κλασμάτων από τη στήλη Cb_m6:

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)	Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cb _m 6.1:1-17	0.006	Cb _m 6.11:239-270	0.017
Cb _m 6.2:18-30	0.029	Cb _m 6.12:271-293	0.015
Cb _m 6.3:31-39	0.012	Cb _m 6.13:294-325	0.019
Cb _m 6.4:41-47	0.007	Cb _m 6.14:326-350	0.013
Cb _m 6.5:48-65	0.020	Cb _m 6.15:351-400	0.023
Cb _m 6.6:66-68	0.005	Cb _m 6.16:401-450	0.020
Cb _m 6.7:69-79	0.016	Cb _m 6.17:451-509	0.026
Cb _m 6.8:80-106	0.018	Cb _m 6.18:510-525	0.010
Cb _m 6.9:107-141	0.020	Cb _m 6.19:526-560	0.014
Cb _m 6.10:142-238	0.038	Cb _m 6.20:561-585	0.012

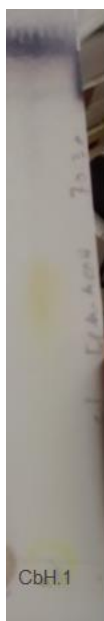
Η συνένωση **Cbm6.18** (8 mg) ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR, φασμάτων δύο διαστάσεων COSY, HMQC και HMBC καθώς και φάσματος μάζας **HR-ESI-MS** ως το φλαβονοειδές **καιμπφέρολο - 3 -O- (2''- O- α - L - ραμνόσυλ - 6''- O -trans -p-κουμαροϋλ)- β- D - γλυκοκυρανοσίδη**.

3.3.4 Φασματοσκοπική μελέτη των απομονωμένων ουσιών του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia bicolor*.

1. Φασματοσκοπική μελέτη αλλαντοΐνης



Η ουσία Cb_H1 απομονώθηκε υπό μορφή άμορφου λευκού στερεού. Μετά από ψεκασμό με διάλυμα θειικής βανιλίνης και θέρμανση έδωσε σε TLC κίτρινη κηλίδα η οποία μετατράπηκε σε ροζ.



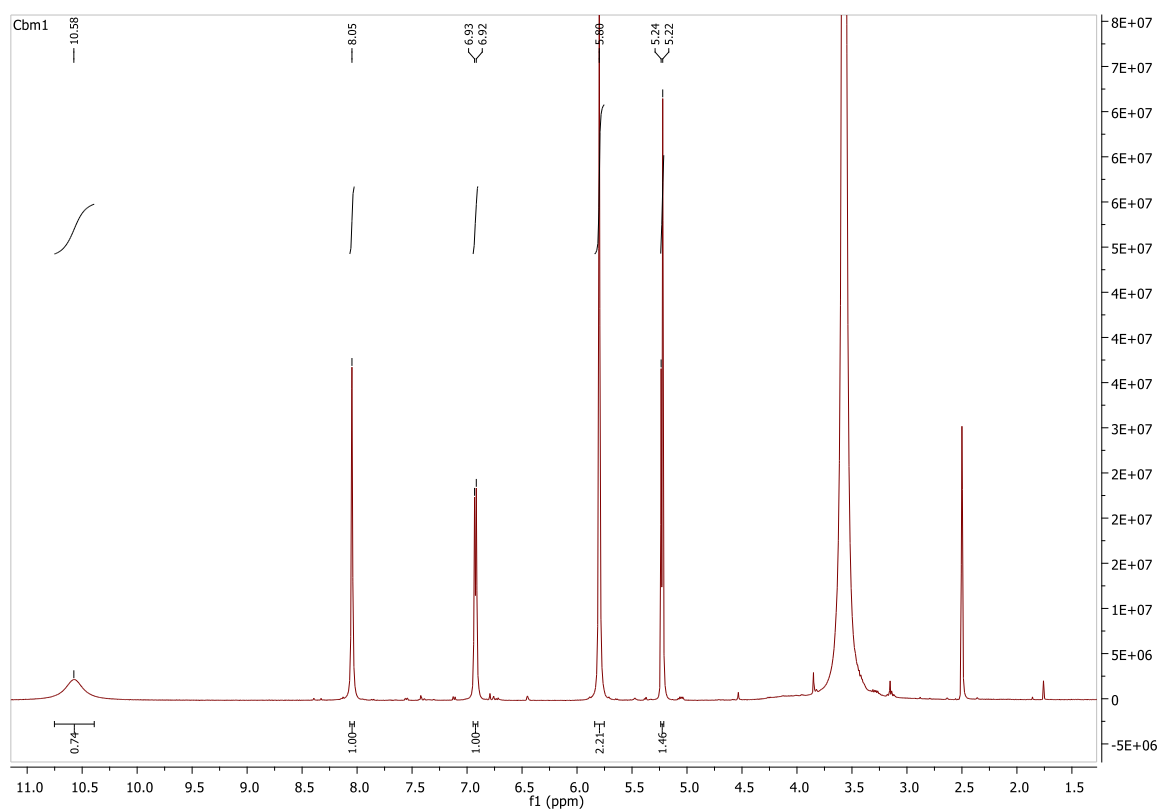
Εικόνα 3.8: TLC Cb_H1 (Sil. DCM:MeOH 70:30)

Κατόπιν φασματοσκοπικής ανάλυσης του διαλύματος της ουσίας σε DMSO-d₆ με ¹H-, ¹³C-NMR και σύγκρισης των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Δαμιανάκος, 2011, Φουσέκη 2015) προέκυψε η δομή της αλλαντοΐνης. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί:

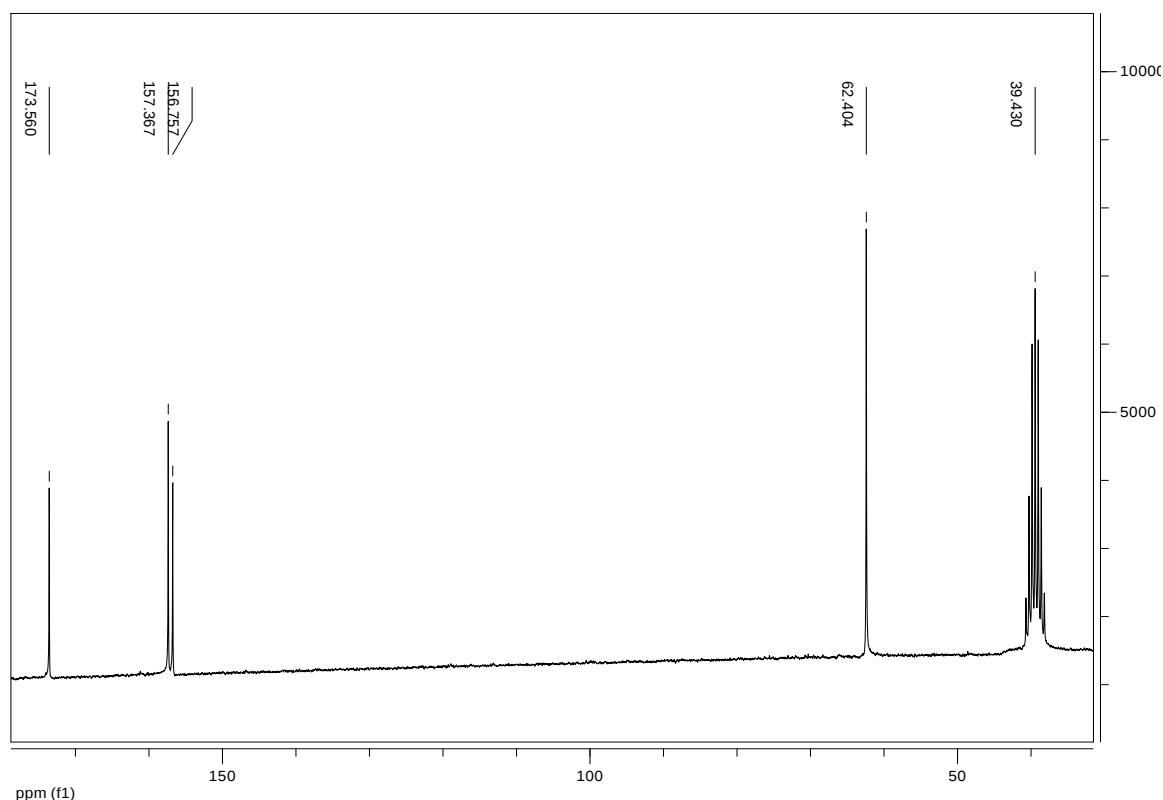
Πίνακας 3.13: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H , ^{13}C αλλαντοΐνης

Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)	^{13}C , δ (ppm)
1	10.57	1H	s	-	-
2	-				156.8
3	8.05	1H	s	-	-
4	-				173.6
5	5.23	1H	d	7.6	62.4
6	6.90	1H	d	7.6	-
7	-				157.4
8	5.80	2H	s	-	-

^1H -NMR:



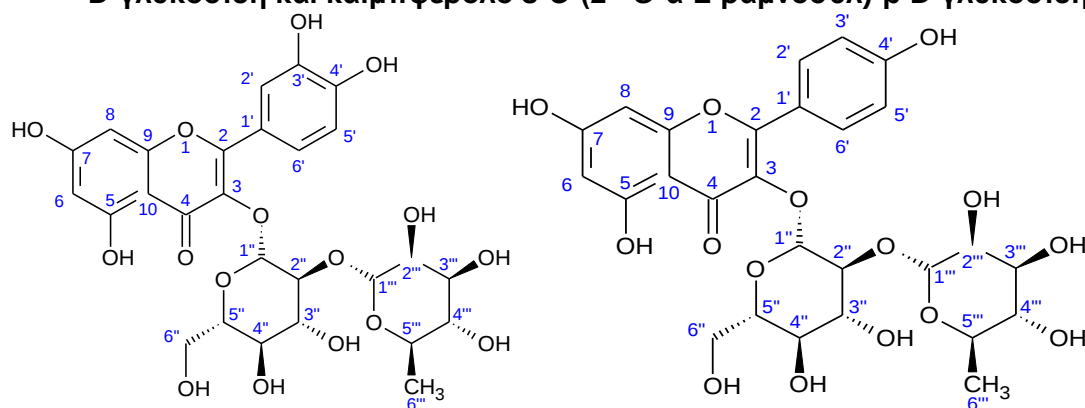
¹³C-NMR:



Το φυσικό προϊόν αλλαντοΐνη έχει ανιχνευθεί και απομονωθεί και από διάφορα είδη της οικογένειας Boraginaceae, όπως τα *Symphytum officinale* L., *S. tuberosum* L., *S. uplandicum* Nym. (Fell et al., 1968), *Anchusa officinalis* L. (Romussi et al., 1979), *Auxemma oncocalyx* (Pessoa et al., 1997), *Anchusa strigosa* (Braca et al., 2003), *Onosma erecta* Sibth. & Sm. (Δαμιανάκος, 2011) και άλλα. Είδη του γένους *Cordia* από τα οποία έχει απομονωθεί είναι τα *C. boissieri* (Domínguez et al., 1972), *C. millennii* (Tapondjou et al., 2005), *C. obliqua* (Chauhan et al., 1978ii), *C. trichotoma* (Menezes et al., 2001) και *C. alliodora* (Φουσέκη, 2015).

Η αλλαντοΐνη προέρχεται από το ουρικό οξύ και χρησιμοποιείται ευρέως στη κοσμετολογία δεδομένου ότι εμφανίζει ενυδατικές και κερατολυτικές ιδιότητες. Έμφανίζει ακόμη επουλωτική δράση ρυθμίζοντας την φλεγμονώδη απόκριση και διεγείροντας τον ινοβλαστικό πολλαπλασιασμό του εξωκυτταρικού πλέγματος (Araújo et al., 2012). Επίσης, δεδομένου ότι το ουρικό οξύ αποτελεί τελικό προϊόν του μεταβολισμού της πουρίνης στον άνθρωπο, η αλλαντοΐνη παράγεται μόνο με μη-ενζυματικές διαδικασίες με ενεργές ρίζες οξυγόνου. Το γεγονός αυτό την καθιστά κατάλληλο βιολογικό δείκτη για τη μέτρηση του οξειδωτικού στρες σε χρόνιες ασθένειες και τη γήρανση (Kandar et al., 2008).

2. Φασματοσκοπική μελέτη του μίγματος κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη και καιμπφέρολο 3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη



Το κλάσμα Cbm14.1 απομονώθηκε ως κίτρινη κόνις. Ψεκασμός της κηλίδας του σε TLC κυτταρίνης με διάλυμα Naturstoff και θέρμανση έδωσε έντονη κίτρινη χρώση.



Εικόνα 3.9: TLC Cbm14.1 (Cel. H₂O:AcOH 80:20)

Κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης του Cbm14.1 σε DMSO-d₆ με φάσματα ¹H-, HMQC- NMR και σε MeOD με ¹H- και COSY NMR αλλά και σύγκριση των φασμάτων με βιβλιογραφικά δεδομένα (Kazuma et al., 2003, Norbaek et al., 1999) καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για μίγμα δύο φαινολικών δισακχαριτών, του μίγματος **κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη** και του **καιμπφέρολο -3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδη**.

Στους πίνακες 3.14 - 3.16 φαίνονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα των δύο ουσιών διαλυμένων σε DMSO και MeOD. Οι κορυφές των πρωτονίων που αντιστοιχούν

στους άνθρακες του δακτυλίου Α της δομής φλαβονόλης τύπου κερκετίνης/καιμπφερόλης καθώς και εκείνα που αντιστοιχούν στον υποκαταστάτη της θέσης 3' είναι κοινά και στις δύο περιπτώσεις.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ (DMSO) οι κορυφές οι οποίες υποδηλώνουν την παρουσία φλαβονοειδούς τύπου κερκετίνης εντοπίζονται ως μία διπλή κορυφή στα 7.52ppm (H-2') με σταθερά σύζευξης $J = 2.16 \text{ Hz}$, μία διπλή κορυφή στα 6.82 ppm με $J = 8.4\text{Hz}$ (H-5') καθώς και μια διπλή διπλής κορυφή στα 7.60 ppm με σταθερά σύζευξης $J = 1.7/8.7 \text{ Hz}$ (H-6'). Τα στοιχεία αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα πως το στο κλάσμα υπάρχει ένα μόριο που φέρει αρωματικό πυρήνα 1,3,4-τρι-υποκατεστημένο.

Αντίστοιχα η ύπαρξη φλαβονοειδούς τύπου καιμπφερόλης ενισχύεται από την ύπαρξη μίας διπλή διπλής κορυφής στα 8.03ppm (H-2'/H-6') με σταθερά συζευξης $J = 2.1/8.7\text{Hz}$ και της διπλής κορυφής στα 6.82 ppm με $J = 8.7\text{Hz}$ (H-5'). Τα στοιχεία αυτά αποτελούν ένδειξη για την ύπαρξη ενός 1,4-δι-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα.

Στα 6.18 ppm (H-6) και στα 6.38 ppm (H-8) παρατηρούνται δυο διπλές κορυφές με σταθερά σύζευξης $J = 2.0 \text{ Hz}$, χαρακτηριστική των *μέτα*-συζεύξεων.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρήθηκε μία διπλή κορυφή στα 5.65 ppm με $J = 8.25\text{Hz}$ που αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόζης καθώς και μία απλή κορυφή στα 5.08 ppm η οποία αντιστοιχίζεται στο ανωμερικό πρωτόνιο της ραμνόζης. Από την περιοχή 3.08 ppm έως 4.10 ppm εντοπίζονται τα πρωτόνια των σακχάρων (γλυκόζη και ραμνόζη) ενώ το μεθυλίο της ραμνόζης συντονίζεται στα 0.77 ppm δίνοντας μια διπλή κορυφή με $J = 6.5 \text{ Hz}$. Το γεγονός ότι αποθωρακίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόζης στα 5.65 ppm υποδεικνύει πως η γλυκόζη συνδέεται απευθείας με το άγλυκο. Επιπλέον, η τιμή της σταθεράς σύζευξης του (8.25Hz) είναι χαρακτηριστική β- γλυκοζιτικού δεσμού (Kazuma et al., 2003). Τέλος, η ενδογλυκοσιδική σύνδεση με τη ραμνόζη (το ανωμερικό πρωτόνιο της οποίας εμφανίζεται ως απλή κορυφή στα 5.08 ppm δίνοντας ενδείξεις για α-γλυκοζιτικό δεσμό) πραγματοποιείται στη θέση 2 της γλυκόζης συντελώντας στην έντονη αποθωράκισή του.

Από το φάσμα COSY (MeOD) μπορούμε να δούμε την συσχέτιση του H-6 (6.18 ppm) με το H-8 (6.38 ppm) που αντιστοιχούν και στα δυο φλαβονοειδή καθώς και του H-5' (6.87 ppm) της κερκετίνης με το H-6' (7.60 ppm) και των H-3'/H-5' (6.89ppm) της καιμπφερόλης με το σήμα στα 8.03 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2' και H-6'.

Εντοπίζεται ακόμη η γειννίαση του H-1'' της γλυκόζης (5.75ppm) με το H-2''(3.68ppm) αλλά και των H-6''_a και H-6''_b (3.74-3.55ppm) μεταξύ τους καθώς και με το H-5'' (3.27ppm). Τέλος, στο σάκχαρο της ραμνόζης εντοπίζεται η γειννίαση του ανωμερικού H-1''' (5.24ppm) με το H-2'''(4.01ppm), του H-2''' με το H-3'''(3.79ppm) αλλά και του H-5'''(4.10ppm) με το H-4'''(3.33ppm) και το H-6'''(0,96ppm).

Η αντιστοίχιση των σημάτων μεταξύ των πρωτονίων και των αντίστοιχων ανθράκων τους έγινε με βάση τις HMQC αλληλεπιδράσεις για όλους τους μη-τεταρτοταγείς άνθρακες και με τη βοήθεια βιβλιογραφικών δεδομένων.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί πως ο δισακχαρίτης της καιμπφερόλης απομονώθηκε και από διπλανό κλάσμα (Cb13.6) σε ποσότητα όμως που επέτρεπε μόνο τη μελέτη του με ¹H- NMR. Η φασματοσκοπική ανάλυση της ένωσης σε DMSO εντόπισε και πάλι τα σήματα που αντιστοιχούν στην ένωση καιμπφερόλο -3-O-β-(1→2) ραμνοσυλ-γλυκοσίδη: 8.03ppm: d, J=8.7 Hz ,H-2'/H-6' , 6.86ppm: d, J=8.1Hz , H-5', 6.42ppm: s , H-6, 6.19ppm: s, H-8, 5.65ppm: d, J=7.5Hz ,H-1'', 5.06ppm: s, H-1''', 4.07-3.11ppm:H-sugars. Τα δεδομένα αυτά επιβεβαιώνονται και από τη βιβλιογραφία (Norbaek et al., 1999)

Πίνακας 3.14: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H- NMR κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη και καιμπφερόλο -3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη

Θέση	¹ H, δ (ppm)		Πολλα- πλότητα		Σταθερά σύζευξης J (Hz)	
	DMSO	MeOH			DMSO	MeOH
Κερκετίνη						
6	6.18	6.18	d	d	2.0	1.8
8	6.38	6.38	d	d	2.0	1.8
2'	7.52	7.62	d	d	2.16	1.2
5'	6.82	6.86	d	d	8.4	8.7
6'	7.60	7.61	dd	dd	1.7/8.7	2.1/7.5
γλυκόζη						
1''	5.65	5.75	d		8.25	
2''		3.68	m			
3''-4''		3.30-3.60	m			
5''		3.27	m			
6'' _(a,b)		3.74,3.55	dd		2.5/12	

ραμνόζη				
1'''	5.08	5.22	s	-
2'''		4.01	m	
3'''		3.79	m	
4'''		3.33	m	
5'''		4.10	m	
6'''	0.78	0.96	d	6.3

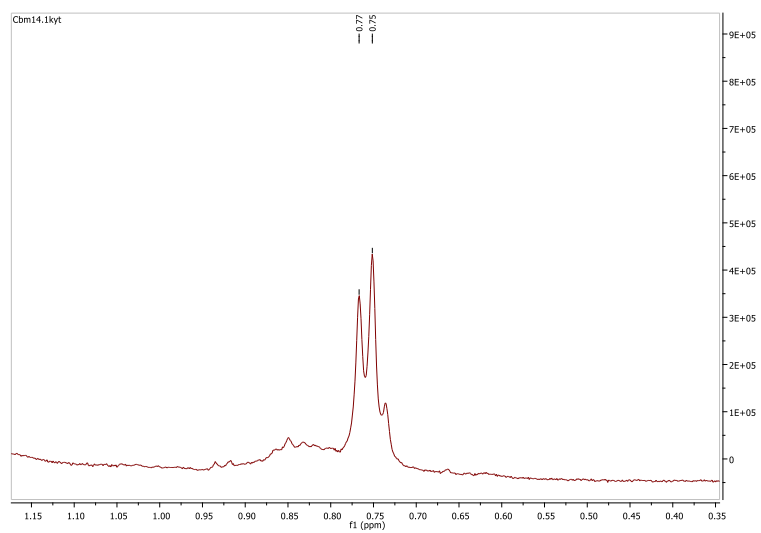
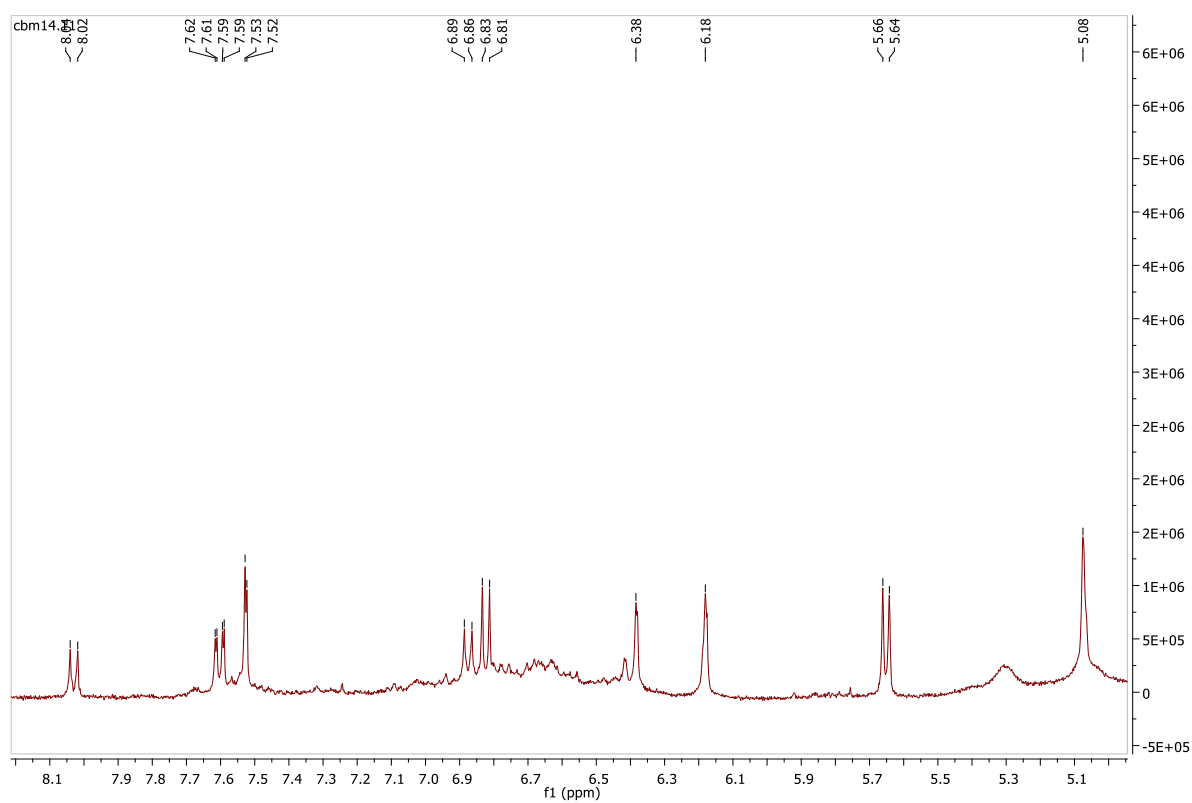
Πίνακας 3.15: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H- NMR κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη και καιμπφέρολο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη

Θέση	¹ H, δ (ppm)		Πολλα-πλότητα		Σταθερά σύζευξης J (Hz)	
Καιμπφερόλη	DMSO	MeOH				
6	6.18	6.18	d	d	2.0	2.16
8	6.38	6.38	d	d	2.0	2.16
2'	8.03	8.05	dd	dd	8.7	8.7
3'	6.86	6.89	d	d	1.7/7.05	1.7/7.05
5'	6.86	6.89	d	d	1.7/7.05	1.7/7.05
6'	8.03	8.05	dd	dd	8.7	8.7
γλυκόζη						
1''	5.65	5.75	d		8.25	
2''		3.68	m			
3''-4''		3.30-3.60	m			
5''		3.27				
6''(a,b)		3.74,3.55	dd		2.5/12	
ραμνόζη						
1'''	5.08	5.22	s		-	
2'''		4.01	m			
3'''		3.79	m			
4'''		3.33	m			
5'''		4.10	m			
6'''	0.78	0.96	d		6.3	

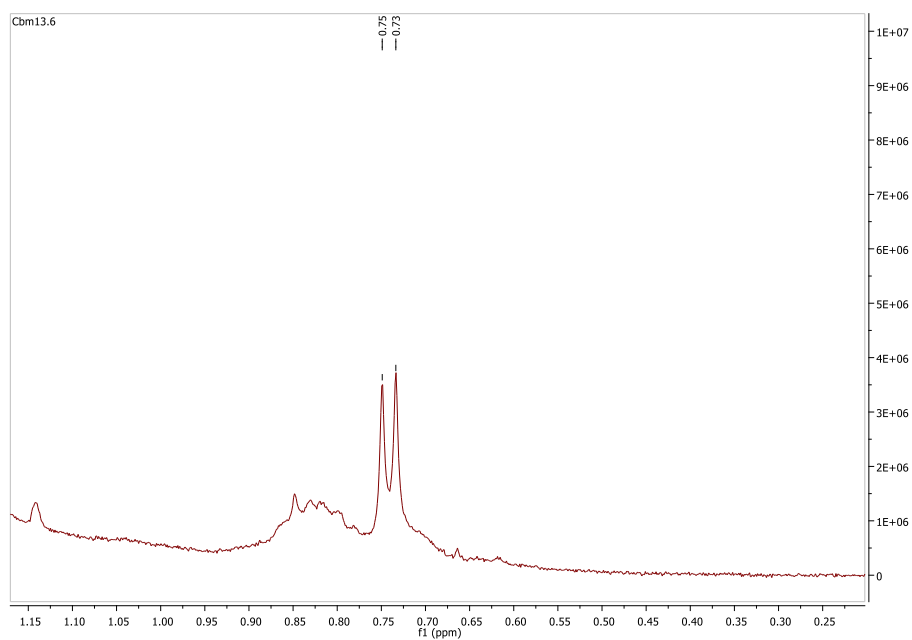
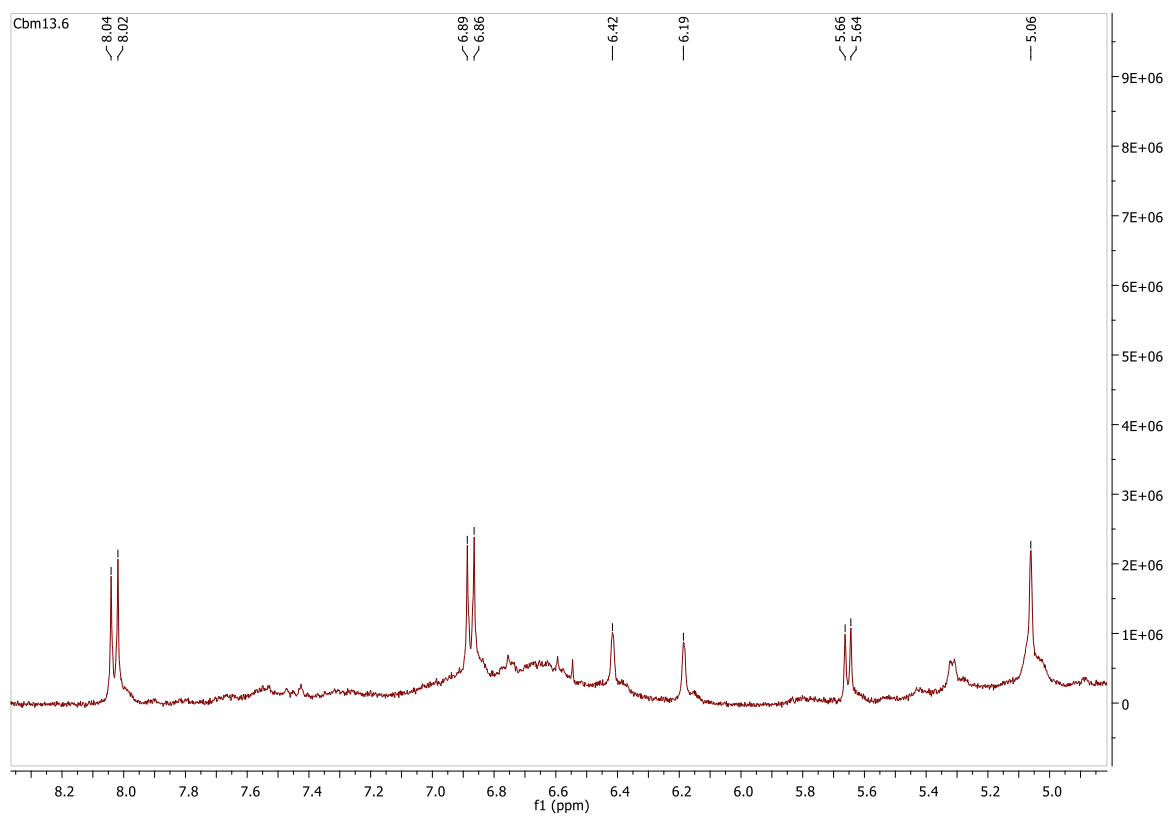
Πίνακες 3.16: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C - NMR κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη και καιμπφερόλο -3-O- (2''-O-α-L- ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδη

	$^{13}\text{C}, \delta(\text{ppm})$	
άγλυκο	κερκετίνη	καιμπφερόλη
6	98.7	98.7
8	93.65	93.65
2'	116.04	131.06
5'	115.1	115.1
6'	121.5	131.06
γλυκόζη		
1''	98.1	
2''	78.0	
3''	77.7	
4''	70.9	
5''	77.5	
6''	61.1	
ραμνόζη		
1'''	100.3	
2'''	70.3	
3'''	70.8	
4'''	72.2	
5'''	68.7	
6'''	17.64	

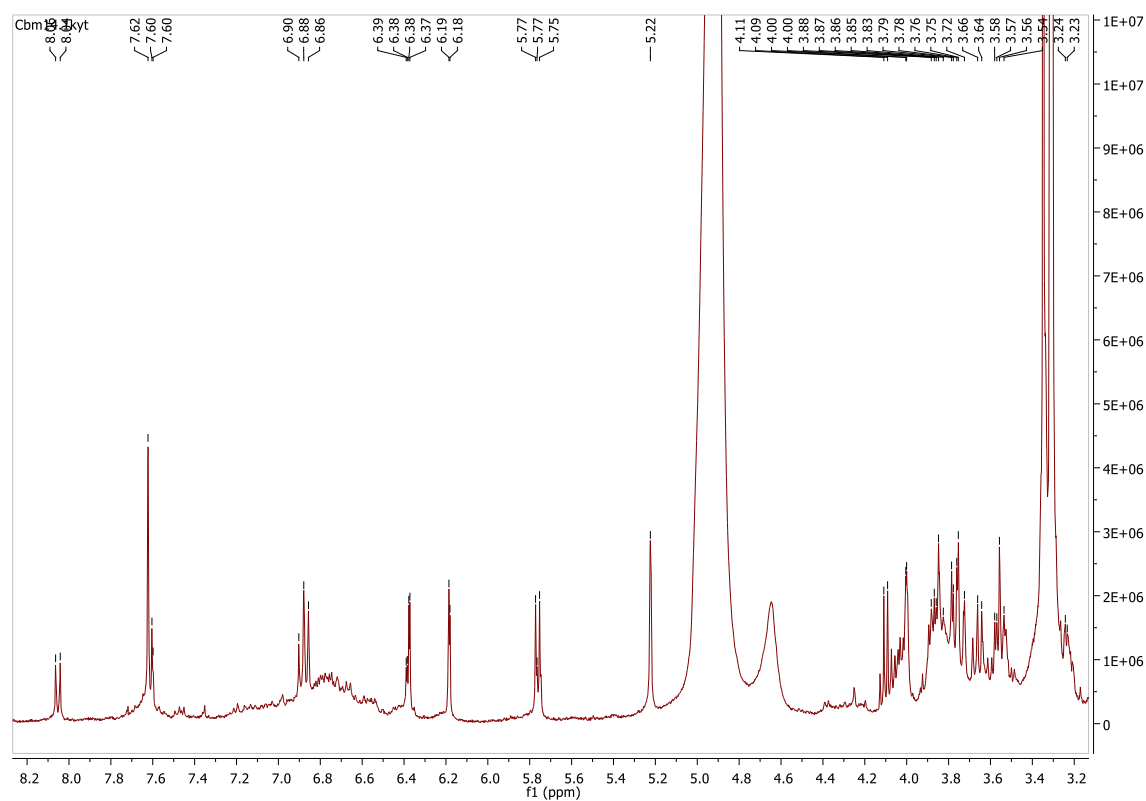
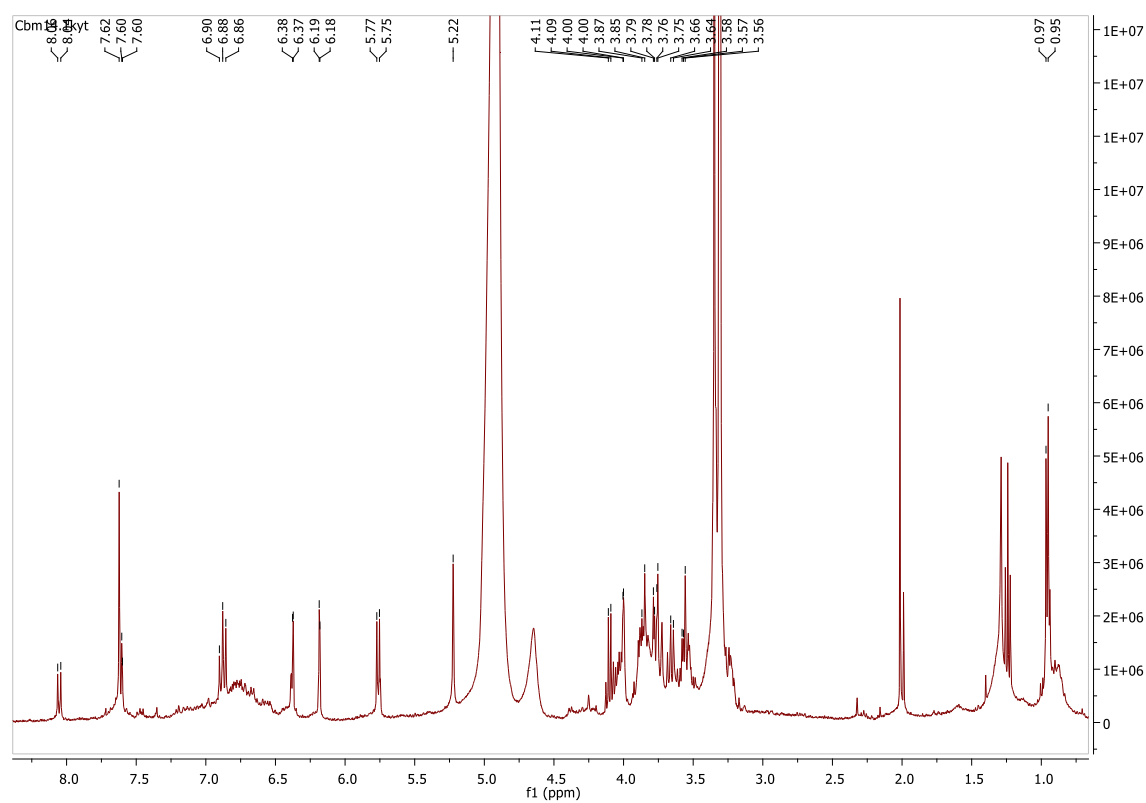
^1H -NMR Cbm 14.1 (DMSO):



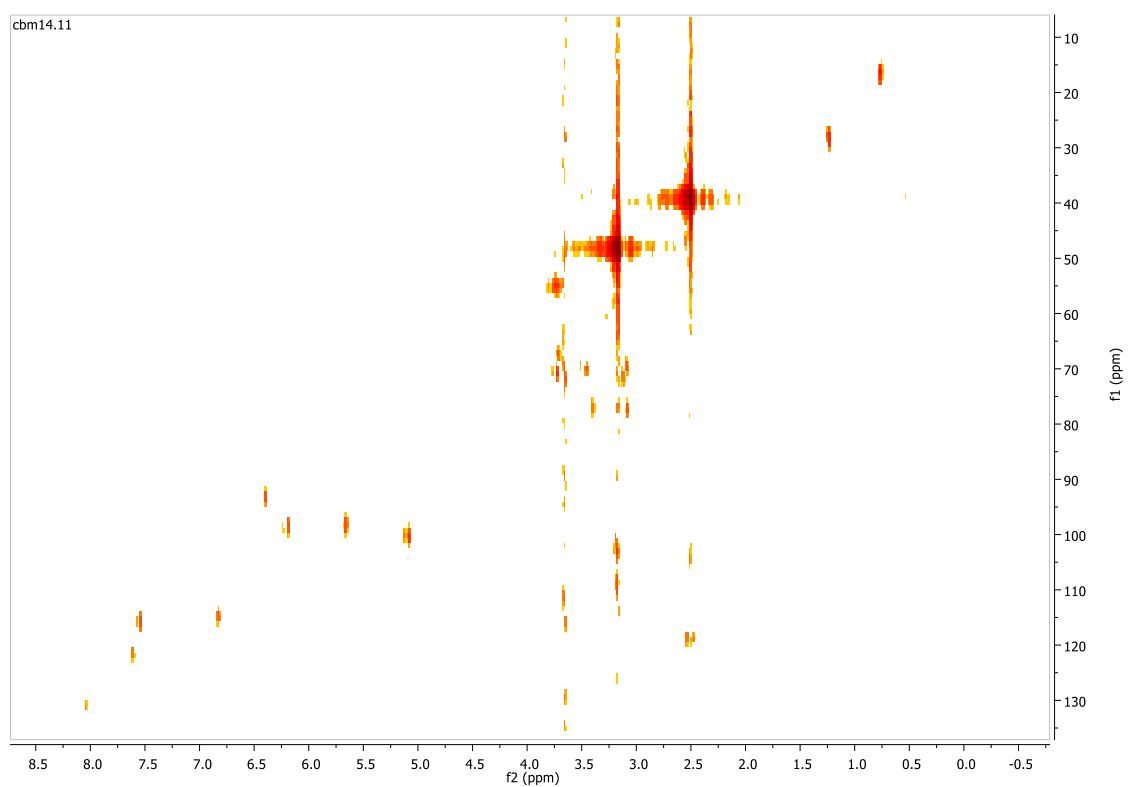
^1H -NMR Cbm 13.6 (DMSO):



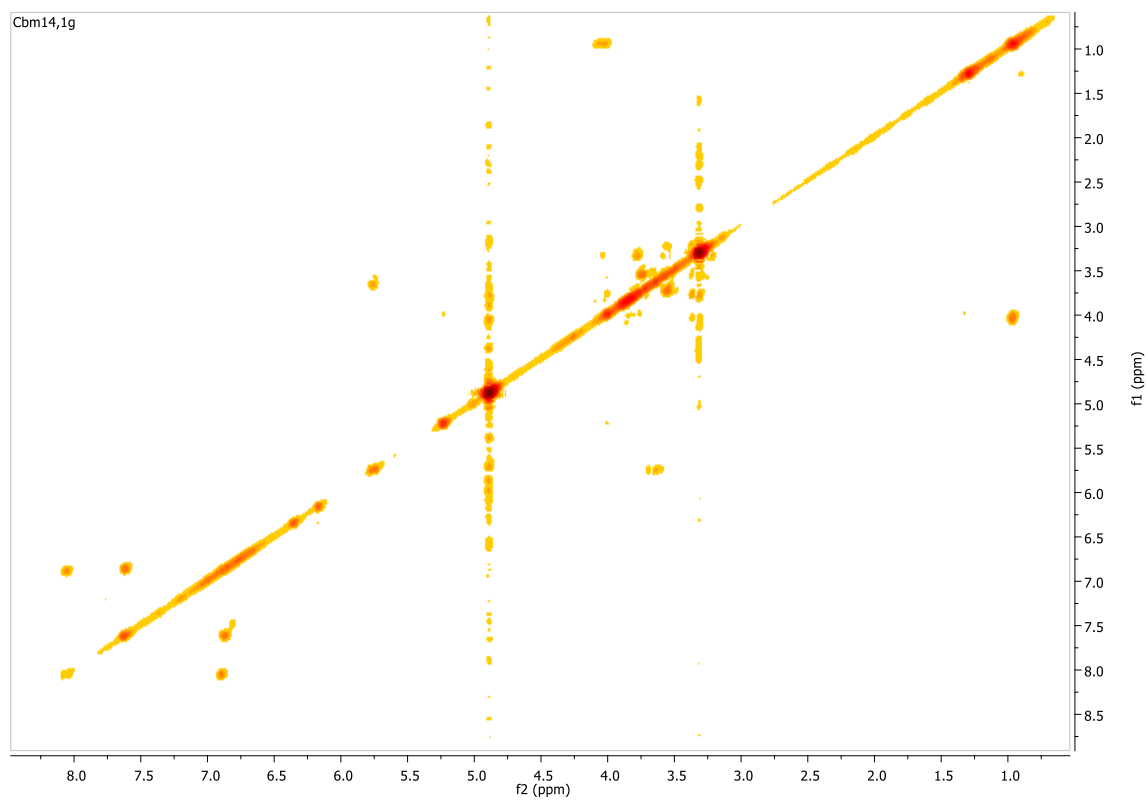
¹H-NMR Cb_m 14.1 (MeOD):



HMQC Cb_m 14.1 (DMSO):

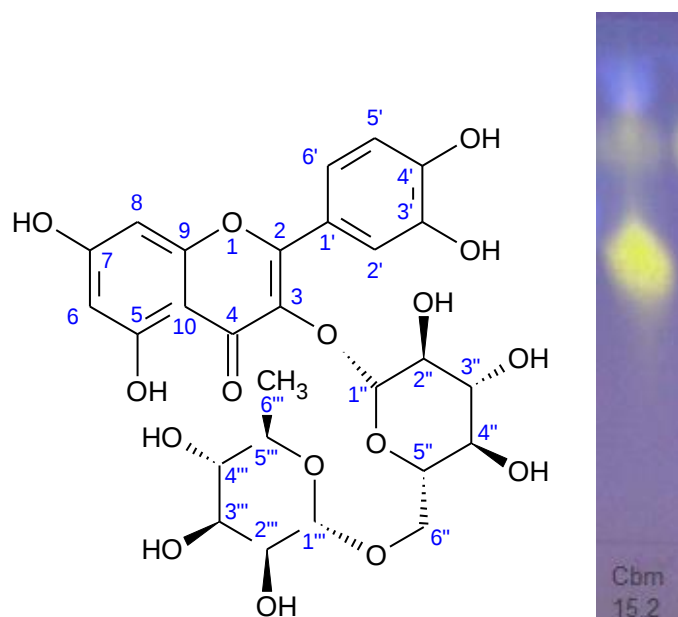


COSY Cb_m 14.1 (MeOD):



Οι δυο αυτοί δισακχαρίτες των φλαβονοειδών έχουν απομονωθεί ξανά από το είδος *Clitoria ternatea* (Fabaceae) (Kazuma et al., 2003), ενώ ο δισακχαρίτης της καιμπφερόλης έχει απομονωθεί από τα είδη *Crocus speciosus* και *C. antalyensis* (Iridaceae) (Norbaek et al., 1999), το είδος *Ginkgo biloba* (Ginkgoaceae), καθώς και από το *Smilax glycyphylla* της οικογένειας Smilacaceae. Ο δισακχαρίτης της κερκετίνης έχει απομονωθεί μεταξύ άλλων από το είδος *Calendula officinalis* (Asteraceae) και το *Costus spicatus* (Costaceae, da Silva et al., 2000). Στην οικογένεια Boraginaceae έχουν απομονωθεί και οι δύο ουσίες από το είδος *Echium plantagineum* (Moita E. et al, 2015) ενώ ο καιμπφέρολο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδης έχει απομονωθεί από το είδος *Echium vulgare* (Kuruuzum-Uz et al., 2004), και έχει ανιχνευθεί στο είδος *Glandora diffusa* (Ferrerres et al., 2012). Ως τώρα δεν υπάρχει κάποια αναφορά για ανίχνευση των ουσιών σε είδη του γένους *Cordia*. Ο κερκέτινο-3-O-(2''-O-α-L-ραμνοσυλ)-β-D-γλυκοσίδης έχει εμφανίσει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες (da Silva et al., 2000, Rivière et al., 2009), ενώ ο δισακχαρίτης της καιμπφερόλης έχει υπογλυκαιμική δράση (Cazarolli et al., 2006) και ήπια αντιοξειδωτική δράση (Rivière et al., 2009).

3.Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L-ραμνόςουλ)-β-D-γλυκοσίδη



Εικόνα 3.10: TLC Cbm15.2
(Cel. H₂O:AcOH 85:15)

Η ουσία Cbm15.2 απομονώθηκε ως κίτρινη κόνις έπειτα από παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας σε κυτταρίνη. Μετά τον ψεκασμό με αντιδραστήριο *Naturstoff* και θέρμανση δίνει έντονη κίτρινη χρώση.

Η φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε MeOD (¹H-, ¹³C-NMR, COSY, HMQC και HMBC) και η σύγκριση των φασμάτων με την βιβλιογραφία (Kazuma., 2003, Kuruüzüm-Uz *et al.*, 2013) οδήγησε στην ταυτοποίηση της ουσίας ως τον **κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L-ραμνόςουλ)-β-D- γλυκοσίδη** (κερκέτινο 3-O-ρουτινοσίδη).

Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρούνται μία διπλή κορυφή στα 7.66 ppm (H-2') με σταθερά σύζευξης $J = 2.2$ Hz και μία διπλή στα 6.87 ppm με $J = 8.5$ Hz (H-5') κάθε μία από τις οποίες ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο. Εμφανίζεται επίσης μια διπλή διπλής κορυφή στα 7.62 ppm με σταθερά σύζευξης $J = 2.2/8.5$ Hz και ολοκλήρωση για ένα πρωτόνιο. Τα στοιχεία αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα πως το μόριο φέρει έναν αρωματικό πυρήνα 1,3,4-*τρι*-υποκατεστημένο. Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων εντοπίζονται επίσης δυο διπλές κορυφές, μία στα 6.18 ppm (H-6) και μία στα 6.41 ppm (H-8) με ολοκλήρωση ένα πρωτόνιο η κάθε μία και $J = 2.0$ Hz, τιμή χαρακτηριστική της *μετα*-σύζευξης.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρήθηκε μία διπλή κορυφή με ολοκλήρωση για 1H στα 5.09 ppm με $J = 7.7$ Hz, τιμή χαρακτηριστική β-γλυκοζιτικού δεσμού (Teropno et al., 2006), η οποία αντιστοιχεί στο ανωμερικό H-1'' της γλυκόζης καθώς και μία διπλή κορυφή στα 4.51 ppm με $J = 1.5$ Hz η οποία ολοκληρώνει για 1H και αντιστοιχεί στο ανωμερικό H-1''' της ραμνόζης και είναι χαρακτηριστική α-γλυκοζιτικού δεσμού. Αξίζει να αναφερθεί πως τα πρωτόνια της θέσης 6'' της γλυκόζης, η οποία αποτελεί τη θέση πρόσδεσης με τη ραμνόζη εμφανίζονται ως δύο διπλές διπλών κορυφές στα 3.80 ppm και 3.38 ppm, με $J = 1.2/11.0$ Hz και $J = 6.1/11.0$ Hz αντίστοιχα, λόγω της σύζευξης που παρουσιάζει το καθένα από αυτά με το H-5', αλλά και αυτής που υπάρχει μεταξύ τους. Τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου εμφανίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.26-3.40 ppm η οποία ολοκληρώνει για 4 πρωτόνια. Από την περιοχή 3.27 ppm έως 3.62 ppm εντοπίζονται τα υπόλοιπα πρωτόνια της ραμνόζης, ενώ το H-6''' του μεθυλίου συντονίζει στα 1.11 ppm δίνοντας μια διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για 3H με σταθερά σύζευξης $J = 6.2$ Hz.

Τα φάσματα ^{13}C και HMQC επέτρεψαν την αντιστοίχιση των σημάτων των πρωτονίων με τους άνθρακες τους, όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Το φάσμα COSY υποδεικνύει την συσχέτιση του H-6 (6.21 ppm) με το H-8 (6.40 ppm) και του H-5' (6.87 ppm) με το H-6' (7.62 ppm) στον σκελετό του φλαβονοειδούς. Ακόμα στην γλυκόζη φαίνεται η συσχέτιση του H-1'' (5.10 ppm) με το H-2'' (3.46 ppm) και του H-6''a (3.80 ppm) με το H-6''b (3.38 ppm). Τέλος η σχέση που υπάρχει μεταξύ των σημάτων 4.51 ppm και 3.62 ppm αποδεικνύει την σχέση μεταξύ του H-1''' και του H-2''' της ραμνόζης και αντίστοιχα τα σήματα 3.44 ppm/1.11 ppm την σχέση των H-5'''/ H-6'''.

Πίνακας 3.17: Φασματοσκοπικά δεδομένα (^1H - NMR, CD_3OD) του 3-O- ρουτινοσίδης της κερκετίνης.

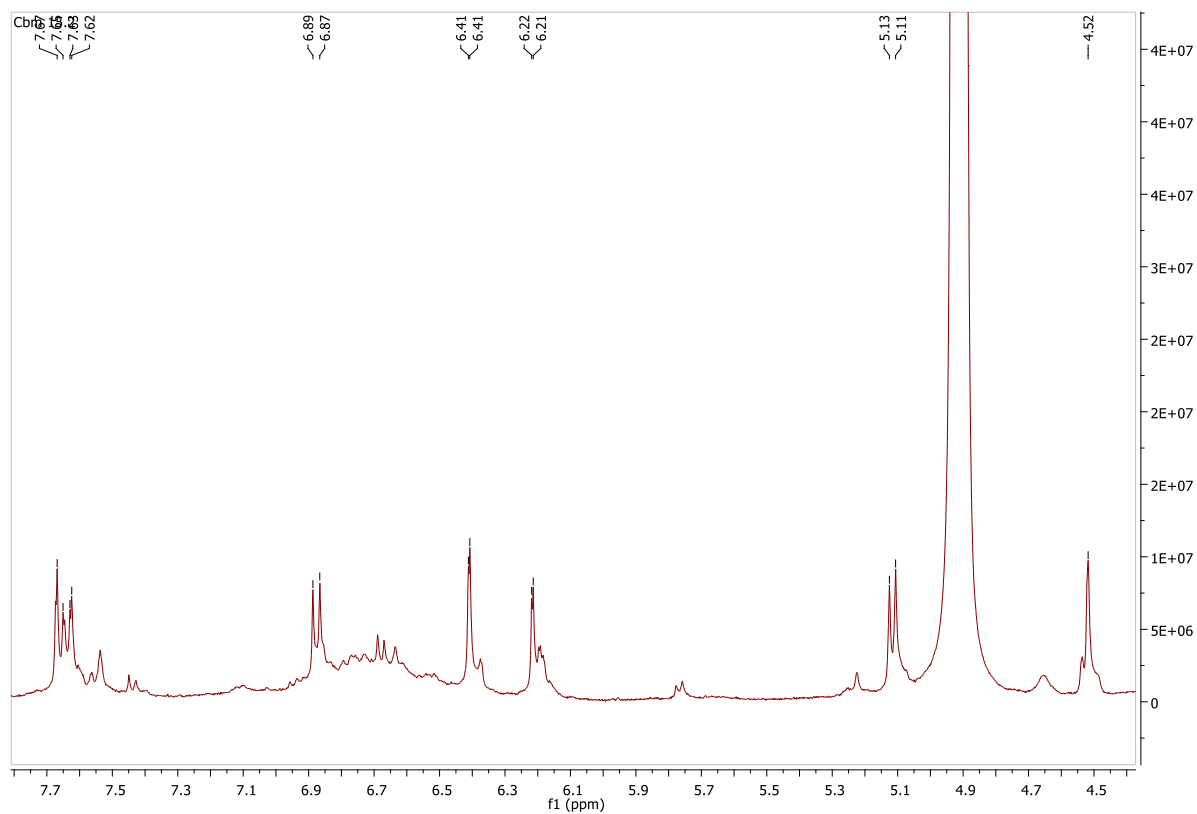
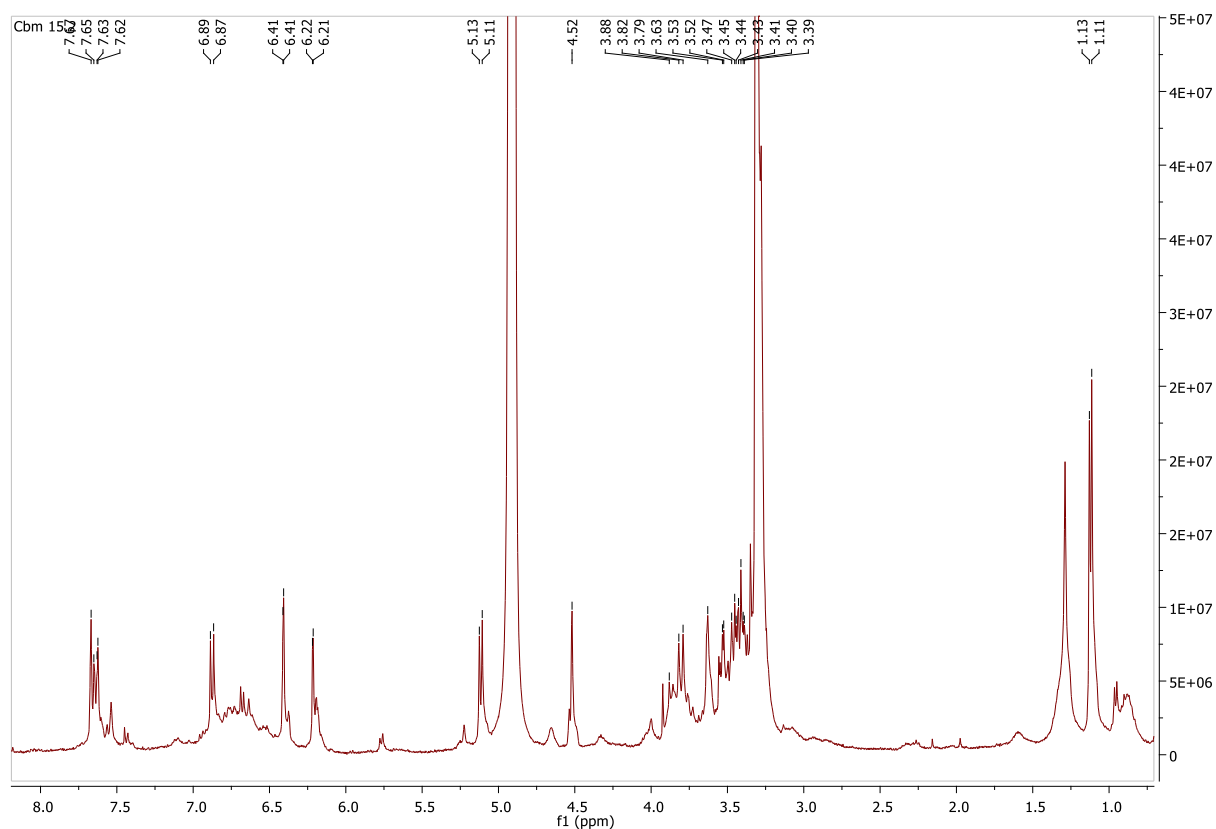
Θέση		Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
Άγλυκο				
H-6	6.21	1H	d	2.0
H-8	6.41	1H	d	2.0
H-2'	7.66	1H	d	2.2
H-5'	6.87	1H	d	8.5
H-6'	7.62	1H	dd	2.2/8.5
3-γλυκόζη				

H-1''	5.09	1H	d	7.7
H-2''- H-5''	3.26- 3.40	4H	m	
H-6''a	3.80	1H	dd	1.2/11.0
H-6''b	3.38	1H	dd	6.1/11.0
6''-ραμνόζη				
H-1'''	4.51	1H	d	1.5
H-2'''- H-5'''	3.27- 3.62	4H	m	
H-6'''	1.11	3H	d	6.2

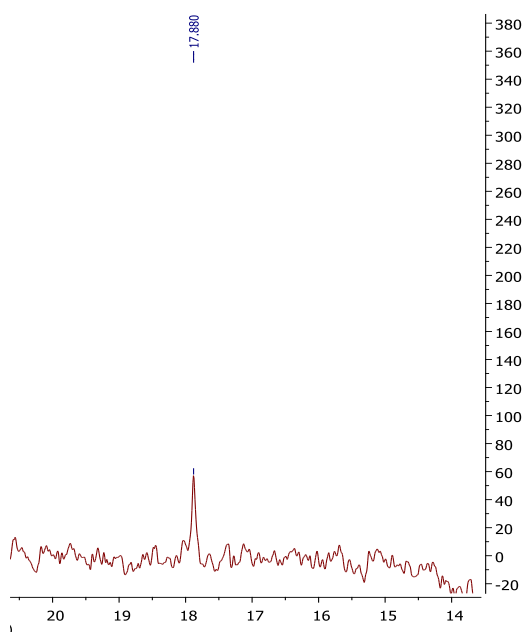
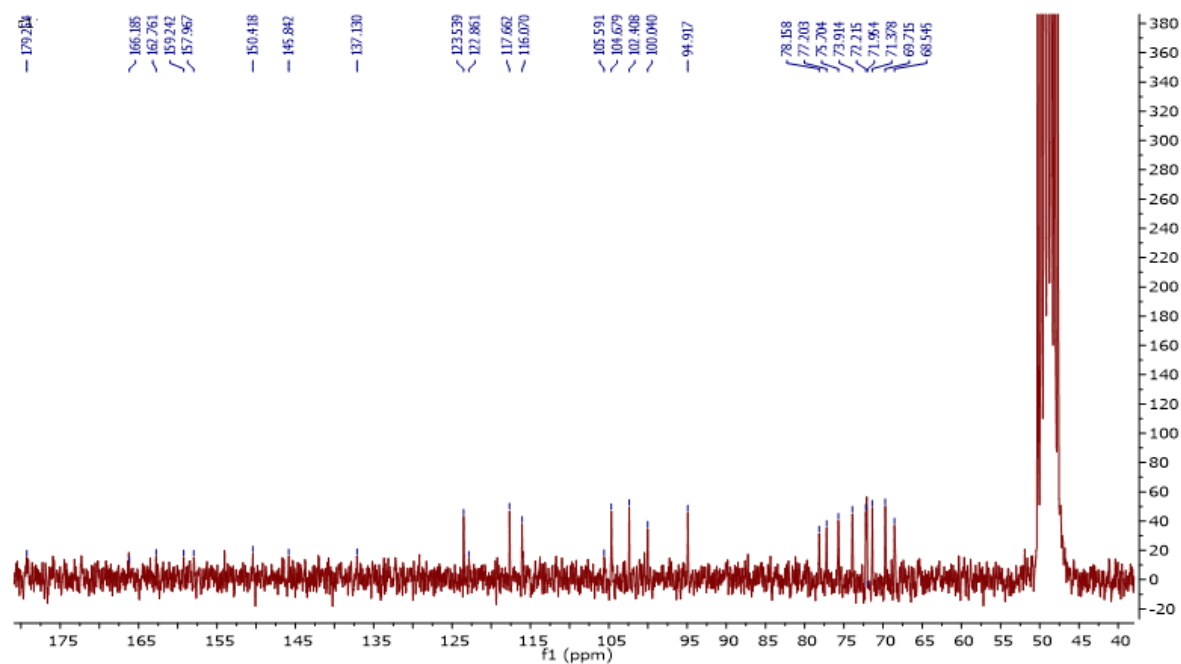
Πίνακας 3.18. Φασματοσκοπικά δεδομένα (^{13}C –NMR, CD_3OD) του 3-O- ρουτινοσίδης της κερκετίνης.

Θέση	^{13}C , δ (ppm)	Θέση	^{13}C , δ (ppm)
Άγλυκο		3-γλυκόζη	
C-2	158.0	C-1''	104.6
C-3	137.1	C-2''	75.7
C-4	179.2	C-3''	78.2
C-5	162.7	C-4''	71.4
C-6	100.0	C-5''	77.2
C-7	166.1	C-6''	68.5
C-8	94.9	6''-ραμνόζη	
C-9	159.2	C-1'''	102.4
C-10	105.6	C-2'''	72.2
C-1'	122.8	C-3'''	72.0
C-2'	117.6	C-4'''	73.9
C-3'	145.8	C-5'''	69.7
C-4'	150.4	C-6'''	17.9
C-5'	116.0		
C-6'	123.5		

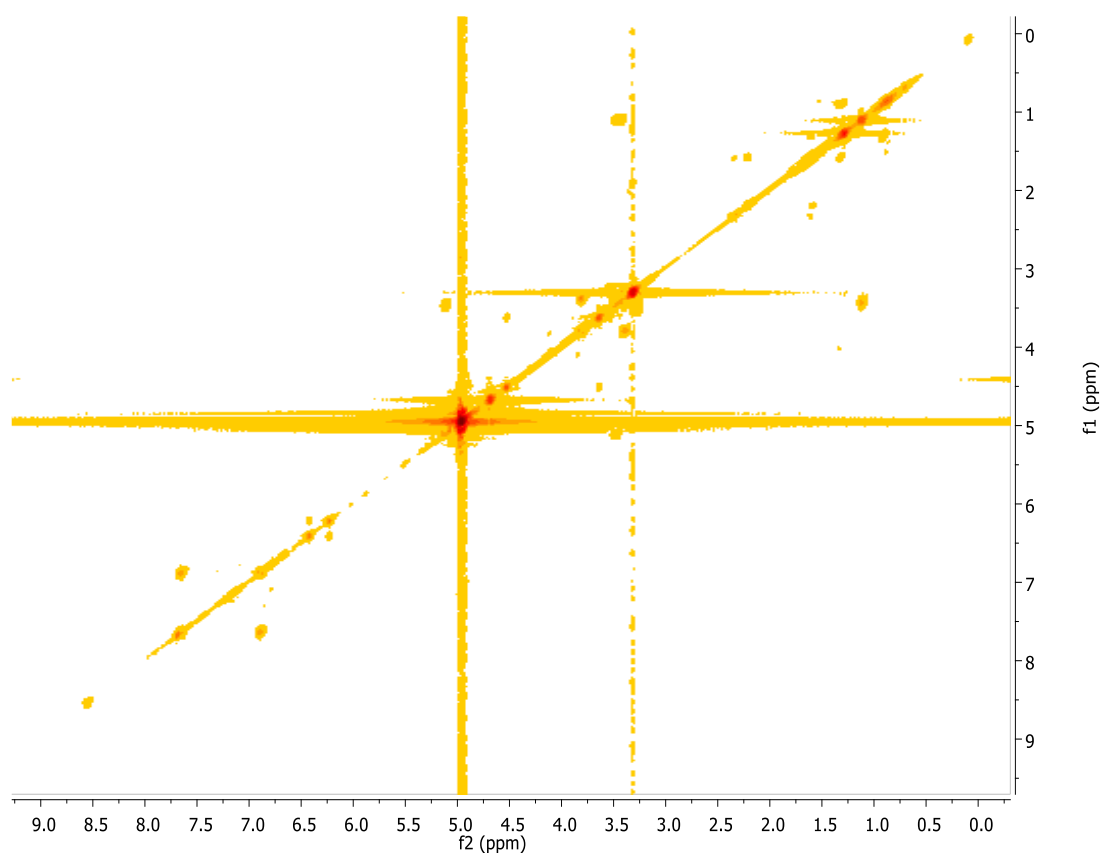
¹H-NMR



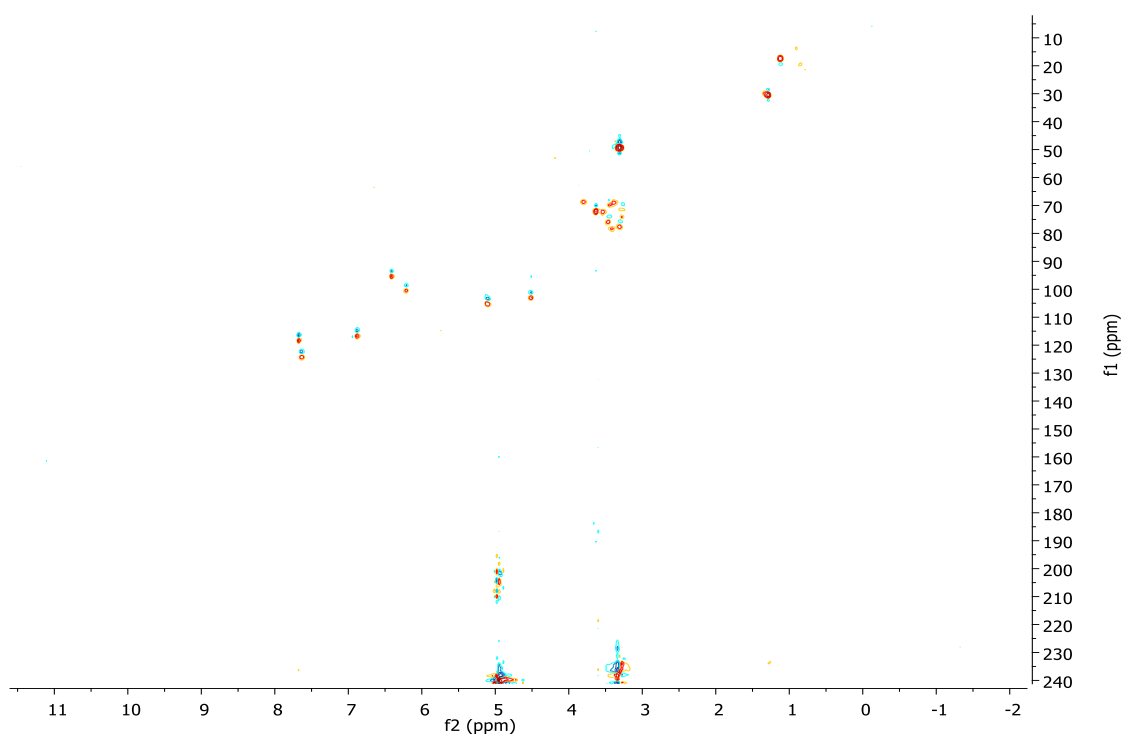
¹³C-NMR



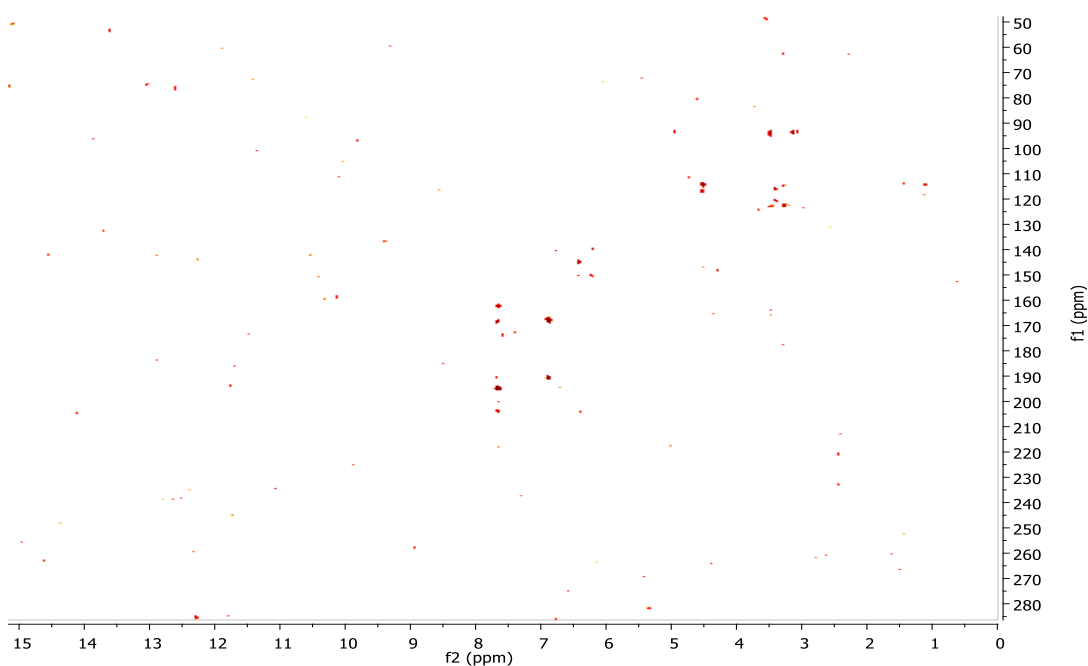
COSY



HMQC



HMBC

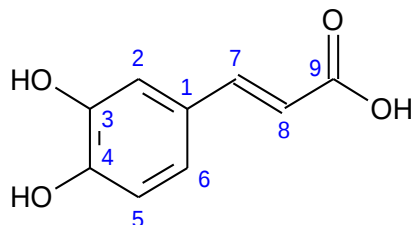


Το φλαβονοειδές κερκέτινο 3-O-(6''-O-α-L-ραμνόσυλ)-β-D-γλυκοσίδης (ρουτίνη) έχει απομονωθεί από μεγάλο αριθμό οικογενειών όπως στις Asteraceae (Lui *et al.*, 1993) , Erythroxylaceae (Raul *et al.*, 1985), Fabaceae (Wagner *et al.*, 1972), Rosaceae (Mullen *et al.* , 2003), Polygonaceae (Baumgertel *et al.*, 2003), Myrsinaceae (Arot *et al.*, 1997) και πιο πρόσφατα στην Gentianaceae (Neagu *et al.*, 2016). Επίσης έχει βρεθεί και σε αρκετά είδη της οικογένειας Solanaceae όπως στο *Solanum glaucophyllum* (Rappaport *et al.*, 1977), στο *Withania somnifera* (Kandil *et al.*, 1994) και *Agrobacterium tumefaciens* (Galis *et al.*, 2004). Τέλος, έχει εντοπιστεί και σε είδη της οικογένειας Boraginaceae όπως *Pulmonaria officinalis* (Neagu *et al.*, 2016), *Glandora diffusa* (Ferrerres *et al.*, 2013), *Borago officinalis* (Zemmouri *et al.*, 2014). αλλά και σε είδη του γένους *Cordia* όπως τα *Cordia dichotoma* (Sharma *et al.*, 2015), *Cordia verbenacea* (Matias *et al.*, 2013) και *Cordia americana* (Geller *et al.*, 2010).

Η ρουτίνη έχει έντονη αντιοξειδωτική δράση (Yang *et al.*, 2008) ενώ έχει επιδείξει και άλλες φαρμακολογικές ιδιότητες, όπως αντιαλλεργική (Rosane *et al.*, 2006), αντιφλεγμονώδη, αντιβακτηριακή, αντι-ιική και αντιπρωτοζωϊκή (Calabro *et al.*, 2005). Έχει μελετηθεί ακόμη και η αντιογκογόνος δράση και η χρήση της ως προ-φάρμακο κατά του ανθρώπινου νευροβλαστώματος (Chen *et al.*, 2013). Επιπλέον, λειτουργεί ως υπολιπιδαιμικό και κυτταροπροστατευτικό (Casa *et al.*, 2000) ενώ έχει βρεθεί ότι σε ζωικά μοντέλα εμποδίζει την εξέλιξη του γαστρικού βλεννογόνου (Barnaulow *et al.*, 1983) και μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του δέρματος λόγω των αντιοξειδωτικών της ιδιοτήτων (Dixit, 2014). Η υψηλή αντιοξειδωτική της δράση και ικανότητα παγίδευσης ελευθέρων ριζών συντελούν

ακόμη στην εμφάνιση αντιαιμοπεταλιακών, αντι-ιικών και αντιυπερτασικών ιδιοτήτων (Guo et al., 2007).

4. Φασματοσκοπική μελέτη του καφεϊκού οξέος



Η ουσία Cbm3.2 απομονώθηκε ως υποκίτρινο στερεό. Ψεκασμός με διάλυμα Naturstoff δίνει έντονο μπλε χρωματισμό.



Εικόνα 3.11: TLC Cb_m 3.2 (Cel. H₂O AcOH 85:15)

Φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε MeOD καθώς και η σύγκριση του φάσματος με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Jeong C. et al, 2011) οδήγησε στο συμπέρασμα πως πρόκειται για το φαινολοξύ καφεϊκό οξύ.

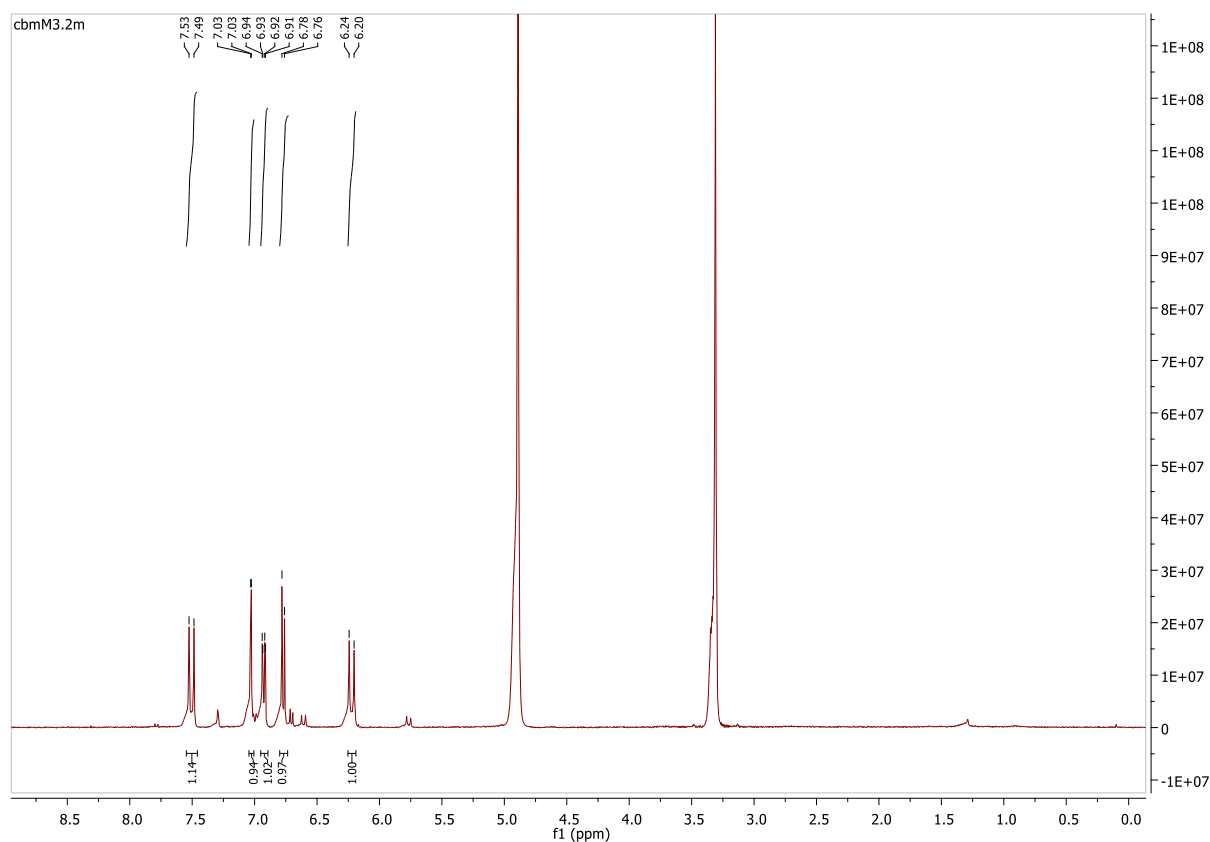
Στο φάσμα πρωτονίου παρατηρήθηκαν δύο διπλές κορυφές με ολοκλήρωση η κάθε μία για ένα πρωτόνιο, στα 7.49 ppm (H-1') και στα 6.22ppm (H-2'). Η σταθερά σύζευξης και των δύο ήταν 16 Hz κάτι που αποτελεί χαρακτηριστικό πρωτονίων που ανήκουν σε διπλό δεσμό με *trans* διαμόρφωση.

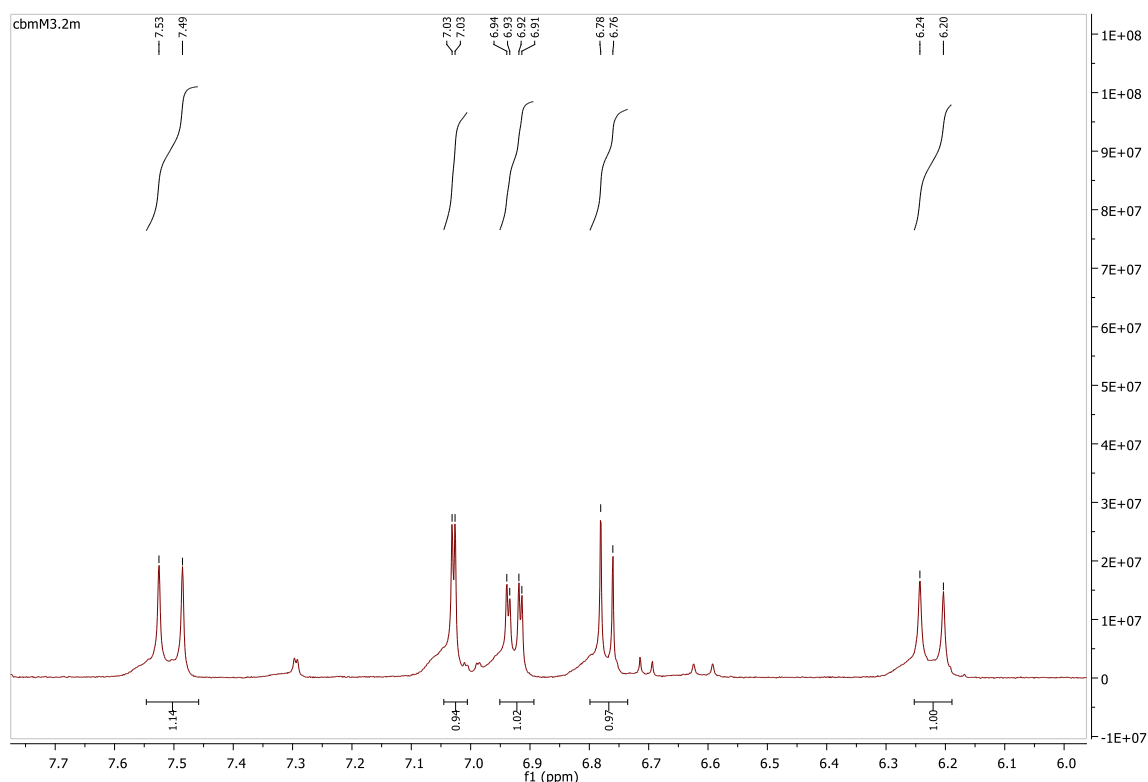
Στα 7.03 ppm παρατηρείται μία διπλή κορυφή (H-2) η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο με σταθερά σύζευξης 2.1 Hz τιμή χαρακτηριστική *πάρα*-σύζευξης, ενώ στα 6.77 ppm εντοπίζεται ακόμη μία διπλή κορυφή (H-5) η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και έχει σταθερά σύζευξης 8.3Hz, γεγονός που υποδηλώνει *μέτα*-σύζευξη. Τέλος, στα 6.92 ppm παρατηρήθηκε μία διπλή διπλών κορυφή (H-6) με σταθερά σύζευξης $J=2.1/8.3$ Hz (*παρα*- και *μέτα*-σύζευξη) που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο.

Πίνακας3.19: Φασματοσκοπικά δεδομένα του καφεϊκού οξέος

Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
1'	7.49	1^{H}	d	16.0
2'	6.22	1^{H}	d	16.0
2	7.03	1^{H}	d	2.1
5	6.77	1^{H}	d	8.3
6	6.92	1^{H}	dd	2.1/8.3

^1H -NMR

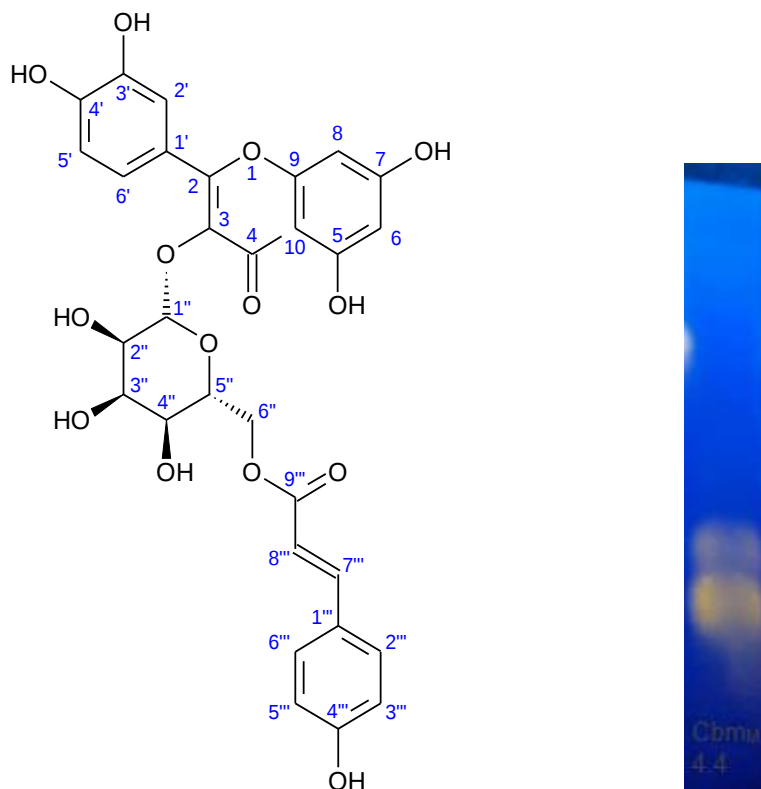




Το καφεϊκό οξύ αποτελεί ένα διαδεδομένο στη φύση φαινολικό οξύ. Έχει απομονωθεί από πολλά είδη και της οικογένειας Boraginaceae. Ενδεικτικά αναφέρονται τα ακόλουθα: *Tournefortia sarmentosa* (Chen et al., 2013), *Heliotropium strigosum* (Qayyum et al., 2016) και *Borago officinalis* (Thanina et al., 2014). Έχει απομονωθεί επίσης και από είδη του γένους *Cordia* όπως τα *Cordia francisci* (Ficarra et al., 1995), *C.macleodii* (El-Sayed et al., 1998), *C.martinicensis*, *C.myxa*, *C.polycephala*, *C.serratifolia* (Ficarra et al., 1995), *C.sebestena* (Dai et al., 2010), *C.sinensis* (Al-Musayeib et al., 2011) και *C. dichotoma* (Jamkhande et al., 2013).

Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί το καφεϊκό οξύ έχει επιδείξει ένα μεγάλο εύρος ιδιοτήτων όπως αντιοξειδωτική, νευροπροστατευτική (Jeong et al., 2011) αντιφλεγμονώδη, ανοσορυθμιστική αλλά και αντικαρκινική έναντι θετικού και αρνητικού ER καρκίνου του μαστού. Επιπρόσθετα, εξασθενεί την επαγόμενη από UV ηλιακή ακτινοβολία εμφάνιση καρκίνου του δέρματος άλλα και μειώνει τον κίνδυνο ηπατοκυτταρικού καρκινώματος που προκαλείται από τον ιό της ηπατίτιδας C. Παρόλο το εύρος των δράσεων του όμως, το χαμηλό ποσοστό απορρόφησης του από τον ανθρώπινο οργανισμό αλλά και η χαμηλή του σταθερότητα δεν έχουν επιτρέψει την αξιοποίηση του ως φαρμακευτικό προϊόν (Lu L. et al., 2015).

5. Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη



Εικόνα3.12 :TLC Cbm_M4.4
(Cel: H₂O:AcOH 85:15)

Η ουσία Cbm_M4.4 απομονώθηκε υπό τη μορφή κιτρινης κόνις. Μετά από ψεκασμό της με αντιδραστήριο Naturstoff εμφανίζει πορτοκαλοκίτρινη χρώση.

Φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε MeOD με φάσματα ¹H-NMR, ESI-MS και σύγκρισή τους με τη βιβλιογραφία (Alves et al., 2012, Aderogba et al., 2012, Baroso et al., 2014) οδήγησε στο συμπέρασμα πως πρόκειται για την ουσία του κερκέτινο 3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη (helichrysoside).

Μετά από φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης HRESIMS προσδιορίστηκε ο μοριακός τύπος της ένωσης C₃₀H₂₆O₁₄ (μονοϊσοτοπική μάζα ψευδομοριακού ιόντος [M-H]⁻ C₃₀H₂₅O₁₄, m/z 610,1249 Da, απόκλιση 0,162 ppm) και βαθμό ακορεστότητας RDB 18,5. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να αντιπαρατεθούν με εκείνα του μορίου κερκέτινο 3-O-(6''-trans-p-κουμαροϋλ)- γλυκοπυρανοσίδη (M.T. C₃₀H₂₆O₁₄, M.B 610.519 Da και RDB 18). Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε ένα σχετικά μεγάλο θραύσμα με M.B. 301,0275, RDB 12 και Μοριακό τύπο C₁₅H₉O₇, χαρακτηριστικά αντίστοιχα με εκείνα ανιόντος κερκετίνης. Τέλος, εντοπίζεται και ένα ιόν το οποίο

αντιστοιχίζεται σε θραύσμα με M B 464,0880, RDB 12.5 και MT C₂₁H₂₀O₁₂ και είναι δυνατόν να αποδοθεί ως κερκετίνο-3-γλυκοσίδης. Το θραύσμα με M.B 445.0773 πιθανόν αντιστοιχίζεται στην ίδια ουσία μετά από απώλεια ενός μορίου H₂O (M.B-18).

Στο φάσμα ¹H-NMR διακρίνονται μία διπλή κορυφή στα 7.59 ppm (H-2') με J= 2.1 Hz και μία διπλή διπλής κορυφή στα 7.57 ppm (H-6'), με J = 2.1/ 8.1 Hz και ολοκλήρωση για ένα πρωτόνιο η κάθε μία καθώς και μία διπλή κορυφή στα 6.80 με J = 8.1 Hz. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το μόριο φέρει ένα 1,3,4-τρι-υποκατεστημένο αρωματικό πυρήνα. Στα 6.12 ppm (H-6) και στα 6.30 ppm (H-8) εντοπίζονται δύο διπλές κορυφές, με ολοκλήρωση ένα πρωτόνιο για την κάθε μια, με J = 2.1Hz, τιμή χαρακτηριστική της *μετα*-σύζευξης.

Στην αρωματική περιοχή του φάσματος ¹H-NMR παρατηρούνται επίσης σήματα χαρακτηριστικά *trans* κουμαρικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα στα 7.32 ppm (H-2'''/H-6''') και στα 6.80 ppm (H-3'''/H-5''') εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές οι οποίες ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια η κάθε μία, με σταθερά σύζευξης J = 8.6Hz και 8.1Hz αντίστοιχα. Επιπροσθέτως εμφανίζονται τα *trans* ολεφινικά πρωτόνια H-7''' και H-8''' στα 7.40ppm και 6.09ppm, με σήματα που αντιστοιχούν σε διπλές κορυφές κάθε μία εκ των οποίων ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο με σταθερά σύζευξης 16Hz. Τα σήματα αυτά είναι χαρακτηριστικά πρωτονίων που συμμετέχουν σε διπλό δεσμό σε *trans* διαμόρφωση.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρείται μία διπλή κορυφή στα 5.25 ppm με J = 7.8Hz, τιμή χαρακτηριστική β γλυκοζιτικού δεσμού, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο του σακχάρου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πρωτόνια της θέσης 6 η χημική μετατόπιση των οποίων εντοπίζεται μετά τα 4ppm γεγονός που υποδεικνύει και τη θέση πρόσδεσης του κουμαρικού στο μόριο. Το H-6_a δίνει μία διπλή διπλής κορυφή στα 4.31ppm (J = 2.1/11.6), ενώ το H-6_b μία επίσης διπλή διπλής κορυφή στα 4.20ppm (J = 7/11.6) οι οποίες ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η κάθε μία. Τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου εμφανίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στην περιοχή 3.50-3.30ppm.

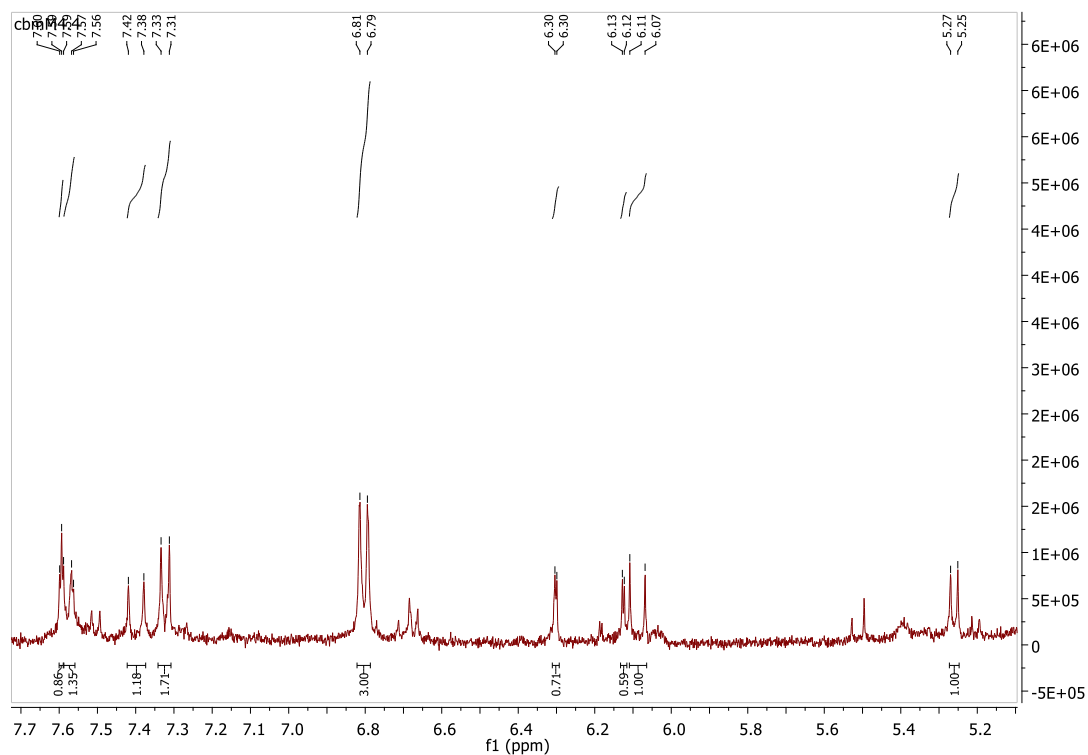
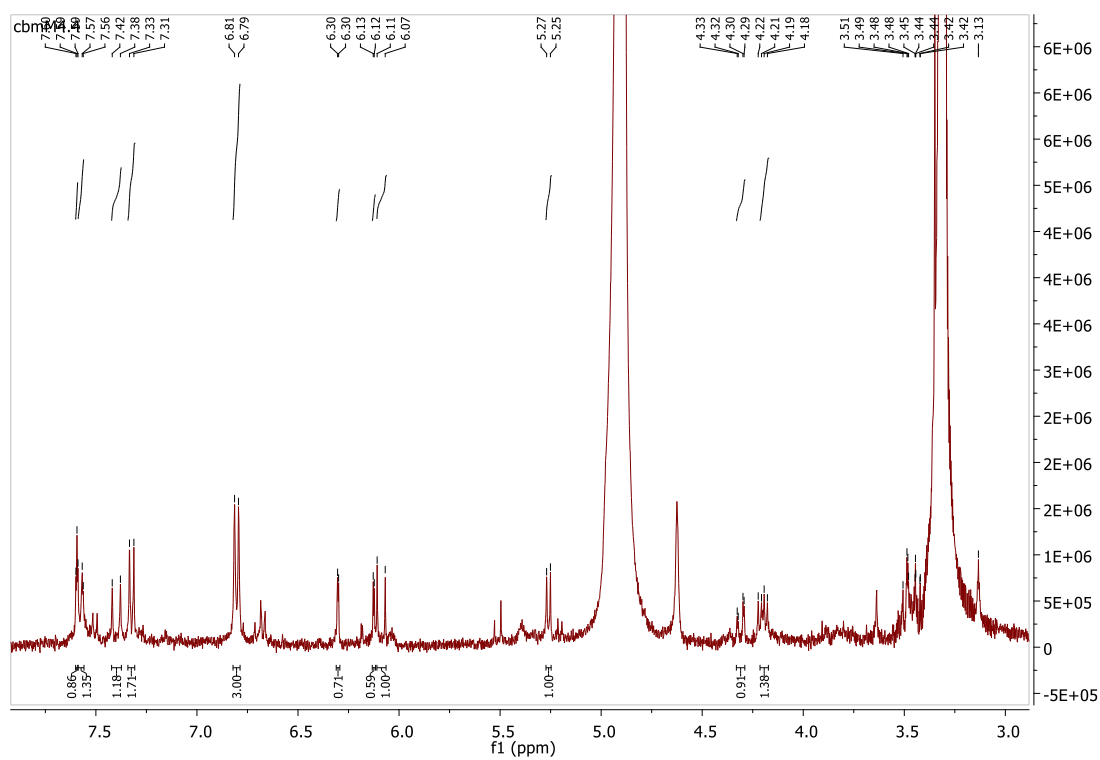
Στο φάσμα COSY παρατηρείται η συσχέτιση του H-6' (7.57ppm) με το H-5' (6.80ppm). Εντοπίζεται ακόμη η συσχέτιση του H-7''' (7.40 ppm) με το H-8''' (6.09 ppm) του κουμαρικού οξέος καθώς και εκείνη των H-2'''/6''' (7.32ppm) με τα H-3'''/5''' (6.80ppm). Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρείται η γειννίαση του ανωμερικού H-1''(5.26 ppm) της γλυκόζης με το H-2'' (3.49 ppm) καθώς και των πρωτονίων της θέσης 6'' μεταξύ τους (4.31και 4.20 ppm).

Από τα παραπάνω στοιχεία σε συνδυασμό με βιβλιογραφικά δεδομένα διαπιστώνεται ότι το προϊόν είναι μια φλαβονόλη τύπου κερκετίνης, με έναν *παρα*-υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο Β και φέρει στη θέση 3 υποκατάσταση έναν μονοσακχαρίτη, ένα μόριο γλυκόζης. Εκείνο με τη σειρά του στη θέση 6 φέρει ως υποκαταστάτη μία π-κουμαροϋλο-ομάδα συνθέτοντας το μόριο κερκέτινο 3-Ο-(6''-Ο-*trans*-ρ-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη.

Πίνακας 3.20: Φασματοσκοπικά δεδομένα του κερκέτινο 3-Ο-(6''-Ο-*trans*-ρ-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοσίδη

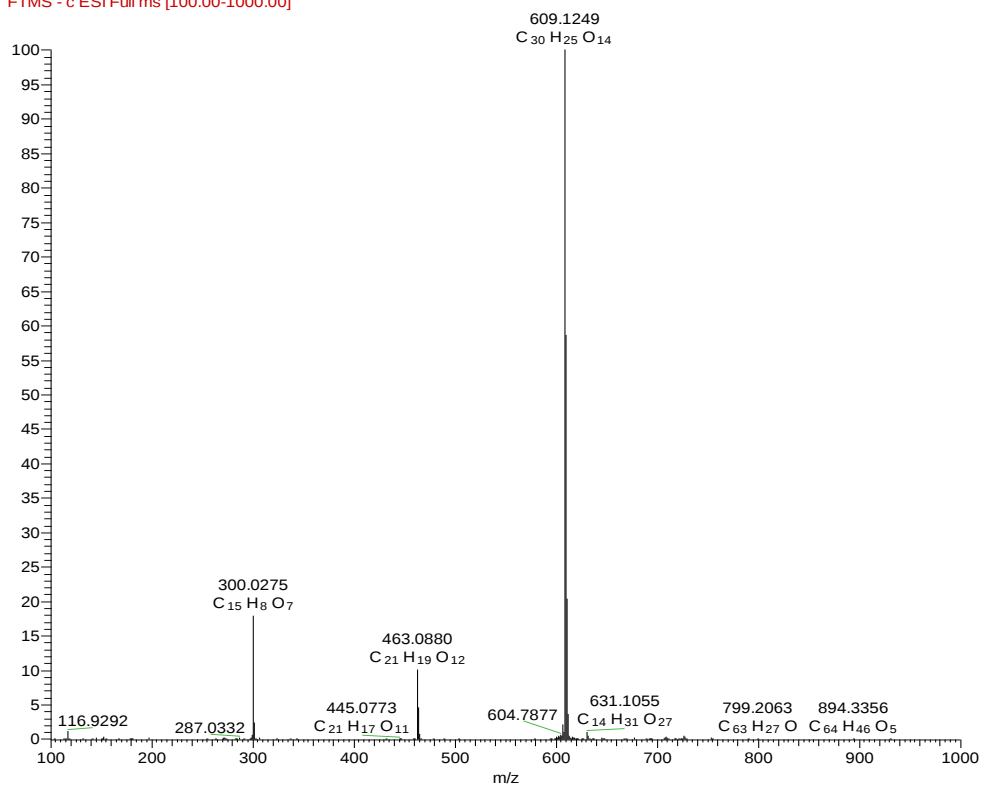
Θέση	¹ H, δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
άγλυκο				
6	6.12	1H	d	2.1
8	6.30	1H	d	2.1
2'	7.59	1H	d	2,1
6'	7.57	1H	dd	2.1/8.1
5'	6.80*	3H	brd	8.1
γλυκόζη				
1''	5.25	1H	d	7.8
6 _a ''	4.31	1H	dd	2.1/11.6
6 _b ''	4.20	1H	dd	7.0/11.6
2''- 5''	3.50-3.30	-	m	
π-κουμαροϋλο-ομάδα				
7'''	7.40	1H	d	16.2
2'''/6'''	7.32	2H	d	8.6
3'''/5'''	6.80*	3H	d	8.1
8'''	6.09	1H	d	16

*Στα 6.80 ppm έχει συμπίσει το σήμα που αντιστοιχεί στα πρωτόνια 3'''/5''' και 5' με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μια ευρεία διπλή κορυφή που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια.

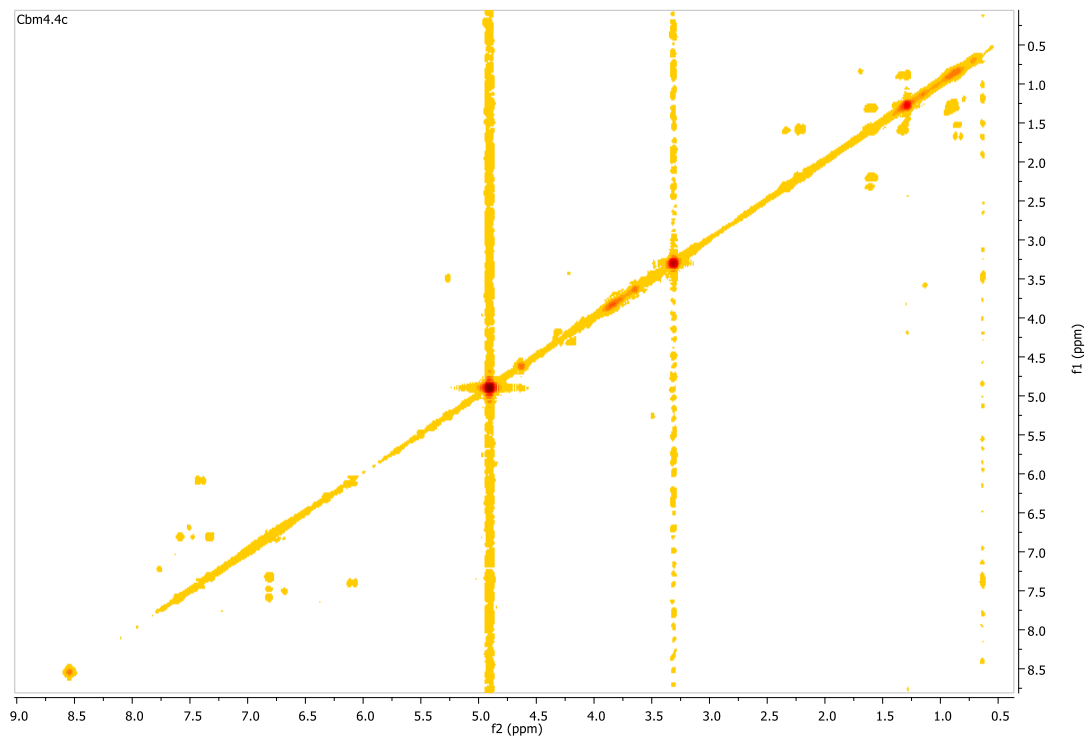
¹H-NMR

Φάσμα ESI- MS αρνητικού ιονισμού

CbmM4 #658 RT: 10.43 AV: 1 NL: 2.63E6
F: FTMS - c ESI Full ms [100.00-1000.00]

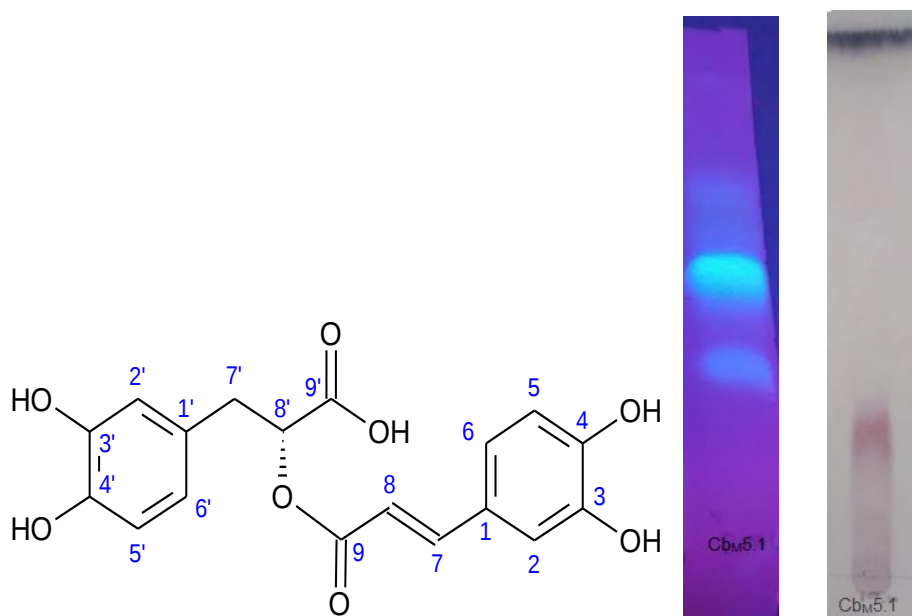


COSY



Η συγκεκριμένη ουσία είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από είδος της οικογένειας Boraginaceae, ενώ έχει βρεθεί σε είδη των οικογενειών Asteraceae (*Helichrysum stoechas*, Barroso et al., 2014, *Helichrysum kraussi*, Candy et al., 1975), Agavaceae (*Cordyline fruticosa*, Fouedjou et al., 2016) Iridaceae (*Crocus sativus*, Duke, 1992) Leguminasae (*Cenostigma macrophyllum*, Alves et al., 2012) και Lamiaceae (*Marrubium velutinum*, Karioti et al., 2007). Εμφανίζει αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Fouedjou et al., 2016) και μέτρια δράση ως αναστολέας τυροσινάσης (Karioti et al., 2007).

6.Φασματοσκοπική μελέτη του ροσμαρινικού οξέος



Εικόνα 3.13: TLC Cbm5.1
(Cel. H₂O:AcOH 85:15), (Sil .
DCM: MeOH 70:30

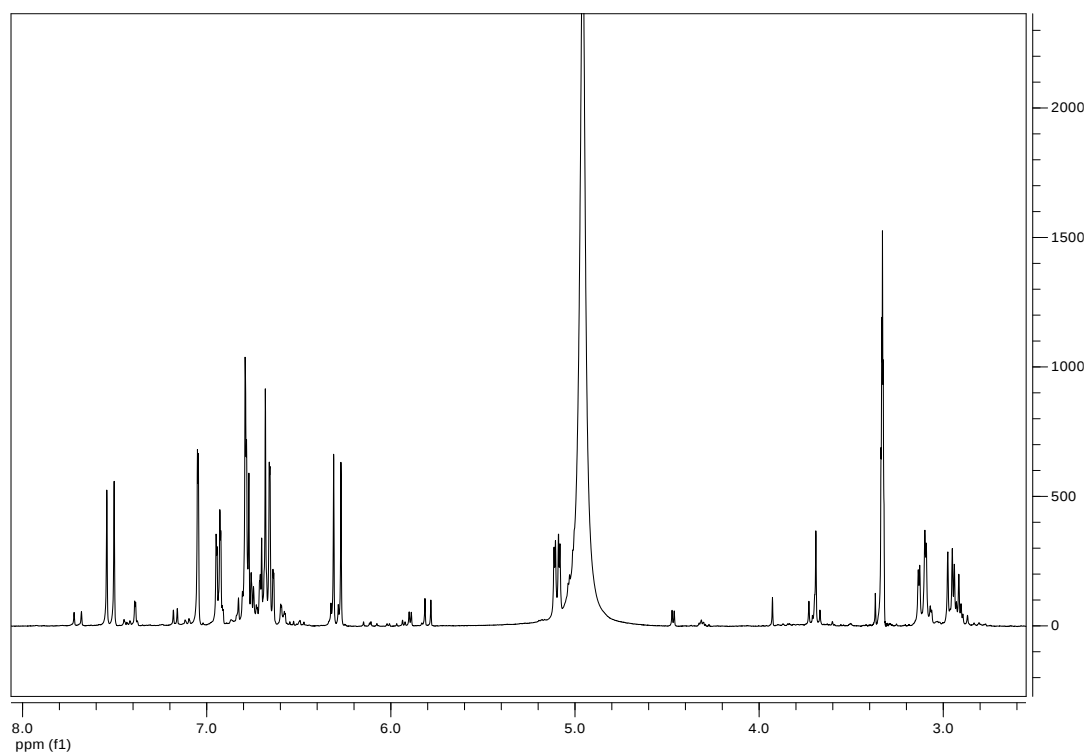
Το συστατικό παρελήφθη ως λευκοκίτρινο στερεό. Ψεκασμός της κηλίδας του σε TLC silica gel με διάλυμα θεικής βανιλίνης έδωσε ροζ χρώση, ενώ σε TLC κυτταρίνης εμφάνισε έντονο μπλε χρώμα.

Από τη φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε CD₃OD με ¹H-, ¹³C-NMR και σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Δαμιανάκος, 2011, Ly et al., 2006) προέκυψε ότι ταυτίζεται με το ροσμαρινικό οξύ.

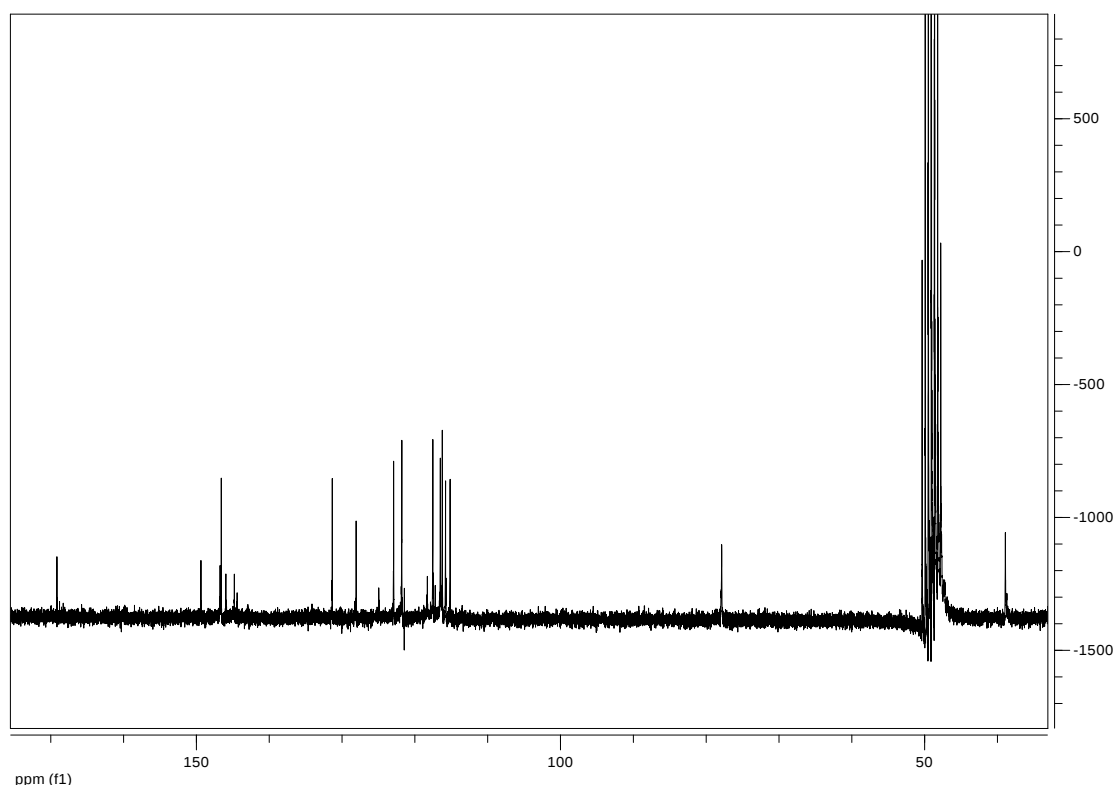
Πίνακας 3.21: Φασματοσκοπικά δεδομένα ροσμαρινικού οξέος

Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)	^{13}C , δ (ppm)
1					128.1
2	7.03	1H	s		115.2
3					146.7
4					149.4
5	6.77	1H	d	8.0	116.5
6	6.92	1H	d	8.0	122.9
7	7.50	1H	d	16.0	146.6
8	6.27	1H	d	16.0	115.8
9					169.2
1'					131.3
2'	6.76	1H	s		117.6
3'					146.0
4'					144.8
5'	6.67	1H	d	8.0	116.2
6'	6.63	1H	d	8.0	121.8
7'	2.93 3.09	1H	dd dd	9.4,14.6 2.8/14.4	38.9
8'	5.08	1H	dd	2.8/9.6	77.9
9'					177.7

^1H -NMR:



¹³C-NMR:

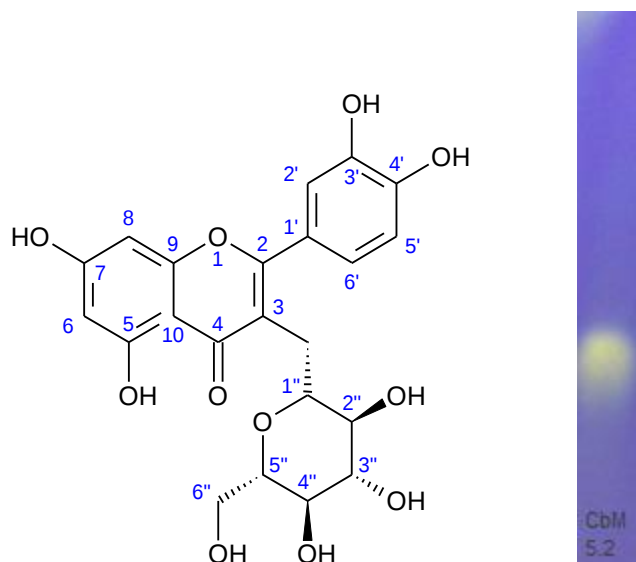


Το (+)-ροσμαρινικό οξύ έχει απομονωθεί και από άλλα είδη πολλά είδη της οικογένειας Lamiaceae, όπως *Rosmarinus officinalis* (δεντρολίβανο), από το οποίο έχει πάρει και το όνομά του (Bai et al., 2010), *Lavandula angustifolia*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Salvia amplexicaulis*, *S. officinalis*, *Thymus serpyllum* (Janicsák et al., 1999) και *Melissa officinalis* (Weitzel C. et al., 2011). Περιέχεται, επίσης σε είδη της οικογένειας *Boraginaceae*, όπως *Anchusa azurea* (Kuruezuem-Uz et al., 2010), *Symphytum officinale* (Grabias et al., 1998), *Borago officinalis* (Gutej et al., 1996) και *Cynoglossum columnae* L (Δαμιανάκος, 2011). Είδη του γένους *Cordia* στα οποία έχει απομονωθεί είναι τα *C. americana* (Fernández et al., 2013), *C. dentata* (Ferrari et al., 1997), *C. latifolia* (Begum et al., 2011), *C. sebestena* (Dai et al., 2010), *C. spinescens* (ως άλας Ca^{2+} και Mg^{2+}) (Lim et al., 1997) και *C. verbenacea* (Ticli et al., 2005).

Η συγκεκριμένη ουσία έχει επιδείξει ένα μεγάλο εύρος ιδιοτήτων σε διάφορες μελέτες όπως αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντι-ιική και αντιβακτηριακή δράση (Petersen et al., 2003, Swarup et al., 2007). Έχει ακόμη εμφανίσει ανασταλτική δράση έναντι της 5- λιποξυγενάσης, της 12 – λιποξυγενάσης καθώς και στην έκφραση των γονιδίων της 2- κυκλοξυγενάσης, γεγονός που υποστηρίζει τους ισχυρισμούς για την αντιφλεγμονώδη της δράση (Yamamoto et al., 1998, Psotova et al., 2003, Scheckel

et al., 2008). Τέλος, το ροσμαρινικό οξύ επιδεικνύει και αντιοφικές ιδιότητες καθώς λειτουργεί ως αναστολέας της φωσφολιπάσης A2, μειώνοντας το οίδημα που προκύπτει μετά από δάγκωμα του φιδιού *Bothrops jararacussu* (Ticli et al., 2005).

7. Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο 3-O-β-D-γλυκοσίδης



Εικόνα 3.14: TLC Cb_M5.2
(Cel. H₂O:AcOH 85:15)

Το συστατικό παρελήφθη ως κίτρινο στερεό. Ψεκασμός της κηλίδας του σε TLC κυτταρίνης με διάλυμα Naturstoff δίνει έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Από τη φασματοσκοπική μελέτη του διαλύματος της ουσίας Cbm5.2 σε CD₃OD με ¹H-, ¹³C-NMR και COSY και σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Kuruüzüm-Uz et al., 2013, Kazuma et al., 2003) το κλάσμα ταυτοποιήθηκε ως ο κερκέτινο 3-O-β-D-γλυκοσίδης.

Στο φάσμα ¹H-NMR εμφανίζεται μία διπλή διπλής κορυφή στα 7.59 ppm (H-6') με $J = 2.2/8.3$ Hz η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο καθώς και δύο διπλές κορυφές, μία στα 7.71 ppm (H-2') και μία στα 6.87 ppm (H-5'), με $J = 2.3$ Hz και $J = 8.3$ Hz αντίστοιχα ,που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το μόριο περιέχει έναν 1,3,4-*τρι*-υποκατεστημένο αρωματικό πυρήνα. Στα 6.20 ppm (H-6), και 6.40 ppm (H-8) παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές, οι οποίες ολοκληρώνονται για ένα πρωτόνιο η κάθε μία, με $J = 2.2$ Hz, τιμή χαρακτηριστική *μετα*-σύζευξης.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρείται μία διπλή κορυφή, με $J = 7.6$ Hz, στα 5.24 ppm, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, και αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόζης. Τα πρωτόνια της θέσης 6'' της γλυκόζης εμφανίζονται ως δύο διπλές διπλών κορυφές. Πιο συγκεκριμένα, το πρωτόνιο 6''_α συντονίζεται στα 3.72 ppm με $J = 1.8/12.0$ Hz και το πρωτόνιο 6''_β στα 3.56 ppm, με $J = 1.4/12.0$ Hz δίνοντας το καθένα μία διπλή διπλής κορυφή λόγω της σύζευξης που παρουσιάζει το καθένα από αυτά με το H-5'', αλλά και αυτής που υπάρχει μεταξύ τους. Τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου εμφανίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.35-3.50 ppm.

Το φάσμα COSY δείχνει την συσχέτιση του πρωτονίου H-6 (6.20 ppm) με το H-8 (6.40 ppm) καθώς και του H-6' (7.59 ppm) με το H-5' (6.87 ppm). Τέλος, είναι εμφανής και η γειτνίαση του ανωμερικού πρωτονίου H-1'' (5.24 ppm) με το H-2'' (3.47 ppm) της γλυκόζης.

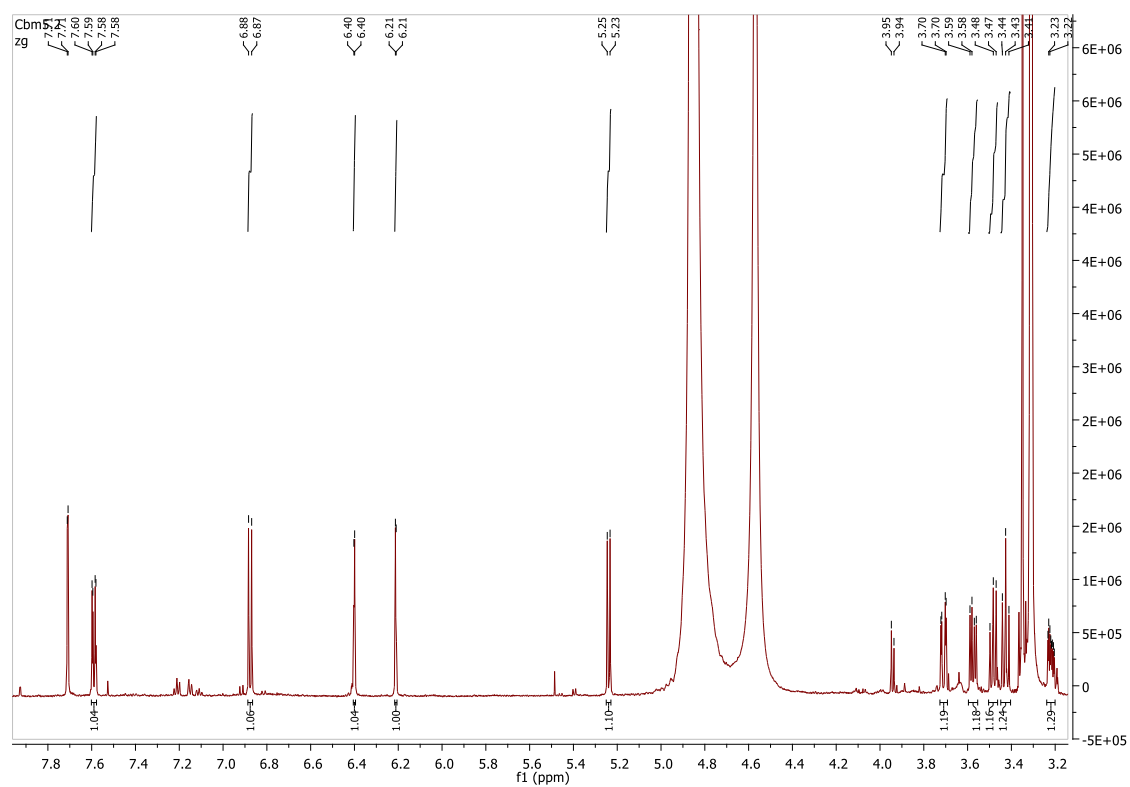
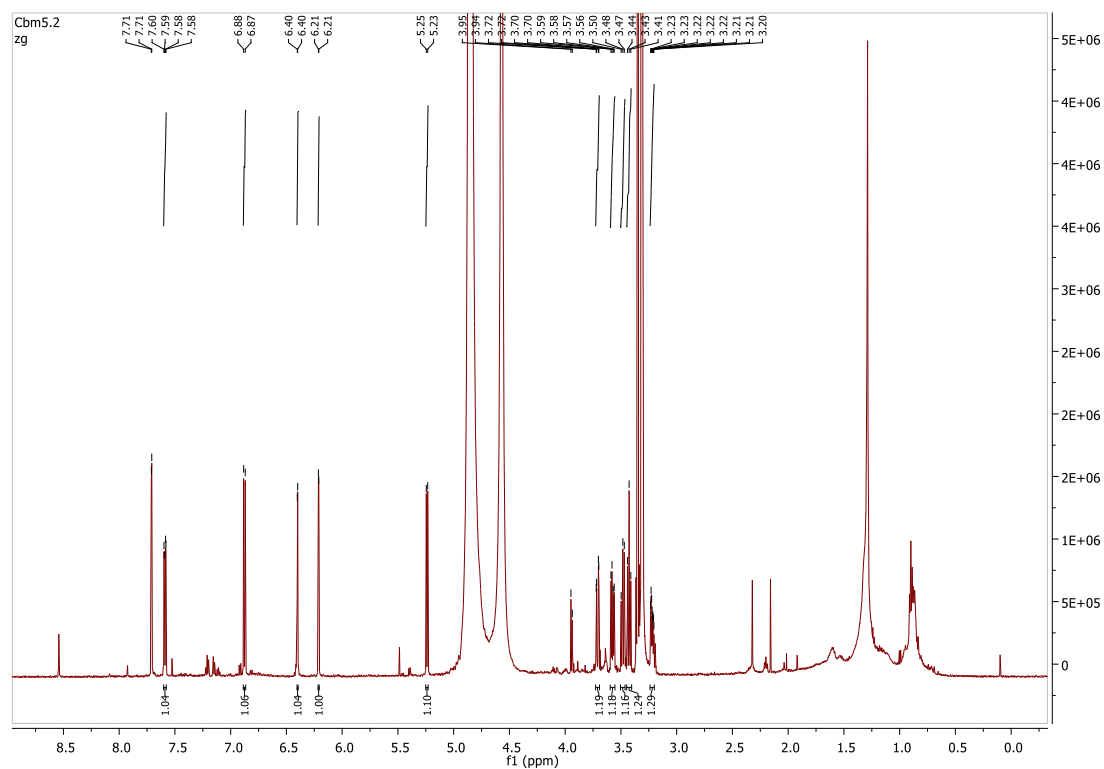
Πίνακας 3.22: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H του κερκέτινο 3-O- β-D- γλυκοσίδη

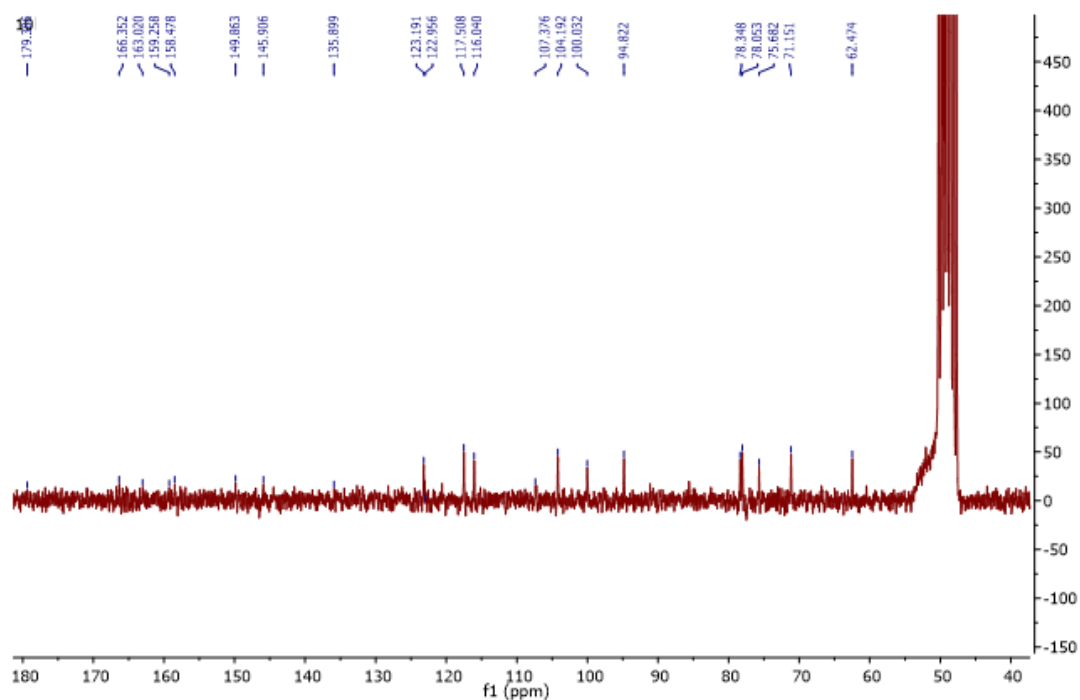
Θέση	¹ H, δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
Άγλυκο				
H-6	6.20	1H	D	2.2
H-8	6.40	1H	D	2.2
H-2'	7.71	1H	D	2.2
H-5'	6.87	1H	D	8.3
H-6'	7.59	1H	Dd	2.2, 8.3
Γλυκόζη				
H-1''	5.24	1H	D	7.6
H-2''- H-5''	3.35-3.50	4H	M	
H-6'' _a	3.70	1H	Dd	1,8/12.0
H-6'' _b	3.56	1H	Dd	1.4/12.0

Πίνακας 3.23: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C του κερκέτινο 3-O-β-D-γλυκοσίδη

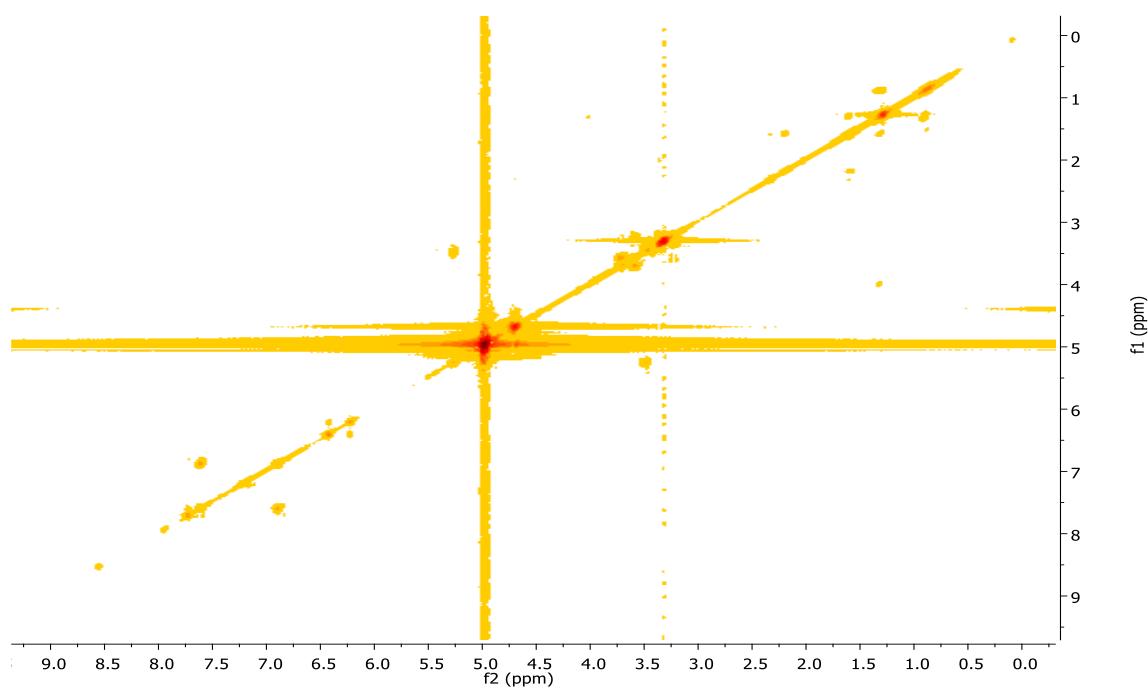
Θέση	^{13}C , δ (ppm)	Θέση	^{13}C , δ (ppm)
Άγλυκο		3-Γλυκόζη	
C-2	158.4	C-1''	104.2
C-3	135.8	C-2''	75.7
C-4	179.4	C-3''	78.1
C-5	163.0	C-4''	71.2
C-6	100.0	C-5''	78.4
C-7	166.3	C-6''	62.5
C-8	94.8		
C-9	159.2		
C-10	107.3		
C-1'	123.1		
C-2'	116.0		
C-3'	149.8		
C-4'	145.9		
C-5'	117.5		
C-6'	122.9		

^1H -NMR.





COSY

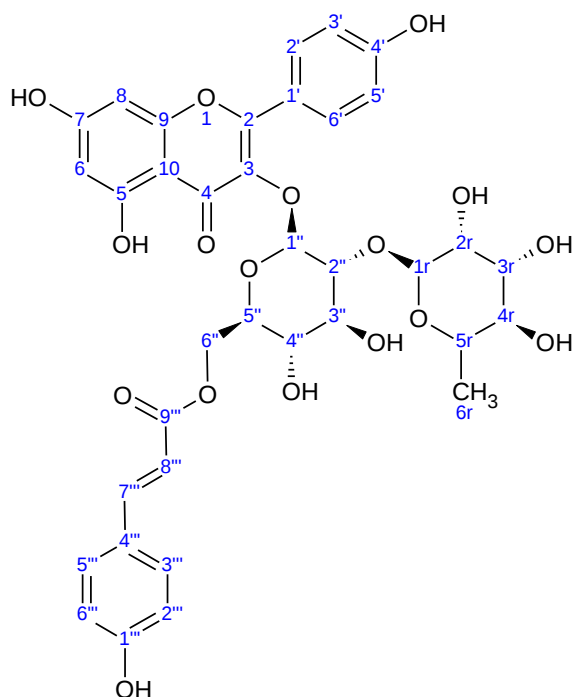


Ο κερκέτινο 3-O-β-γλυκοσίδης έχει απομονωθεί από είδη πολλών οικογενειών όπως το *Clitoria ternatea* (Fabaceae, Kazuma et al., 2003), το *Camelia sasaqua* (Theaceae, Sukito et al., 2014), το *Guarea macrophylla* (Meliaceae, Pereira et al., 2012), το *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae, Vitek et al., 2016) και το *Hypericum perforatum* (Hypericaceae, Tusevski et al., 2016). Εχει ακόμη απομονωθεί από πολλά μέλη της οικογένειας

Boraginaceae όπως στα είδη *Ehretia thyrsoiflora* (Li et al., 2009), *Borago officinalis* (Zemmouri et al., 2014) και *Anchusa azurea* (Kuruüzüm-Uz et al., 2013) ενώ στο γένος *Cordia* έχει απομονωθεί μόνο από το είδος *Cordia sinensis* (Al-Musayeib et al., 2011).

Η ισοκερκετίνη (κερκέτινο 3-O-β-γλυκοσίδης) εμφανίζει επουλωτικές (Bhatia et al., 2016) αντιπηκτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες (Choi et al., 2016). Έχει γίνει επίσης αναφορά στις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιυπερτασικές και αντιδιαβητικές της δράσεις. Κλινικές μελέτες υποστηρίζουν ακόμη πως οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες του μορίου έχουν προληπτική δράση καθώς και ότι εμφανίζει αντιογκογόνο δράση έναντι διαφόρων τύπων καρκίνου όπως του ήπατος, του παγκρέατος, του στήθους, του προστάτη και του παχέος εντέρου (Orfali et al., 2016).

8. Φασματοσκοπική μελέτη του καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L ραμνόσυλ)- (6''-O-*trans*- p- κουμαροϋλ) γλυκοπυρανοσίδη



Εικόνα3.14:TLC Cb_M6.18(Cel.
H₂O:AcOH 85:15)

Η ουσία απομονώθηκε ως πορτοκαλο-κίτρινο στερεό. Ψεκασμός σε TLC κυτταρίνης με διάλυμα Naturstoff δίνει έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Από τη φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε CD₃OD με φάσματα ¹H-NMR, COSY, HMBC, HMQC και LC-MS καθώς και σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Xu et al., 2009) ταυτοποιήθηκε η ουσία καιμπφέρολο 3-O-(2''-O-α-L ραμνόσυλ)- (6''-O- *trans*-p- κουμαροϋλ) γλυκοπυρανοσίδη.

Μετά από φασματομετρία μάζας υψηλής ανάλυσης HRESIMS προσδιορίστηκε ο μοριακός τύπος της ένωσης C₃₆H₃₆O₁₇ (μονοϊσοτοπική μάζα ψευδομοριακού ιόντος [M-H]⁻ C₃₆H₃₅O₁₇, **m/z 739,1873** Da, απόκλιση 0,964 ppm) και βαθμό ακορεστότητας RDB 19,5. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να αντιπαρατεθούν με εκείνα του μορίου καιμπφέρολο-3-O-β-(1'→2''ραμνόσυλ)- (6''*trans*-p-κουμαροϋλ)γλυκοπυρανοσίδη που έχει [M-H]⁻ C₃₆H₃₅O₁₇, m/z 739,1849. Παράλληλα, η λήψη του MS-MS φάσματος του ψευδομοριακού ιόντος 739,1873 μας παρέχει περισσότερες πληροφορίες για την σύνδεση των επιμέρους τμημάτων του μορίου μεταξύ τους. Πιο συγκεκριμένα, τα βασικότερα θραύσματα του ιόντος έχουν **m/z: 593,3008** [M-146 (γλυκόσυλ ή κουμαροϋλ) - H]⁻, **m/z: 575,2784** [M-146 (γλυκόσυλ ή κουμαροϋλ)-18(H₂O) - H]⁻, **m/z:**

429,3103 [M-146 (γλυκόσυλ ή κουμαροϋλ)-163 (ραμνόσυλ) - H]⁻ και **m/z: 284,1438** [M-146 (γλυκοσυλ ή κουμαροϋλ)-163 (ραμνόσυλ -146 (γλυκόσυλ ή κουμαροϋλ)- H]⁻ το οποίο αποδίδεται στο ανιόν της καιμπφερόλης

Στο φάσμα πρωτονίου παρατηρήθηκαν μία διπλή κορυφή στα 7.97 ppm (H-2'/H-6') με σταθερά σύζευξης $J = 8.2\text{Hz}$ και μία διπλή κορυφή στα 6.85 ppm με $J = 8.1\text{Hz}$ (H-3'/H-5'). Τα στοιχεία αυτά αποτελούν ένδειξη για την ύπαρξη ενός 1,4-δι-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα. Παράλληλα, στα 6.27 ppm (H-8) και στα 6.08 ppm (H-6) παρατηρούνται δυο διπλές κορυφές με μικρή σταθερά σύζευξης $J = 1.2\text{Hz}$, χαρακτηριστική των μέτα-σύζευξεων. Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν την ύπαρξη καιμπφερόλης.

Εντοπίζονται επίσης σήματα χαρακτηριστικά *trans* κουμαρικού οξέος. Στα 7.27 ppm (H-2'''/H-6''') και στα 6.80 ppm (H-3'''/H-5''') εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές με σταθερά σύζευξης $J = 8.6$ και 8.1Hz αντίστοιχα. Επιπροσθέτως εμφανίζονται τα *trans* ολεφινικά πρωτόνια H-7''' και H-8''' στα 7.34 ppm και 6.02ppm, με σήματα που αντιστοιχούν σε διπλές κορυφές και σταθερά σύζευξης 16.2Hz . Τα σήματα αυτά είναι χαρακτηριστικά πρωτονίων διπλού δεσμού σε *trans* διαμόρφωση.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρήθηκε μία διπλή κορυφή στα 5.67 ppm με $J = 7.8\text{Hz}$ (β-γλυκοσίδικός δεσμός) που αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόζης καθώς και μία απλή κορυφή (α-γλυκοσίδικός δεσμός) στα 5.24 ppm η οποία αντιστοιχίζεται στο ανωμερικό πρωτόνιο της ραμνόζης. Από την περιοχή 3.08 ppm έως 4.01 ppm εντοπίζονται τα πρωτόνια των σακχάρων (γλυκόζη και ραμνόζη) ενώ το μεθυλίο της ραμνόζης συντονίζεται στα 0.77 ppm δίνοντας μια διπλή κορυφή με $J = 6.5\text{Hz}$. Χαρακτηριστική είναι και η τιμή των πρωτονίων της θέσης 6 της γλυκόζης, η χημική μετατόπιση των οποίων εντοπίζεται μετά τα 4.0ppm γεγονός που υποδεικνύει τη θέση πρόσδεσης του κουμαρικού στο μόριο. Το H-6_a δίνει μία διπλή διπλής κορυφή στα 4.31ppm ($J = 2.1/11.6$), ενώ το H-6_b μία επίσης διπλή διπλής κορυφή στα 4.20ppm. Τέλος, η αποθωράκιση του ανωμερικού πρωτονίου της γλυκόζης στα 5.65 ppm υποδεικνύει πως η γλυκόζη συνδέεται απευθείας με το άγλυκο.

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζουν οι συσχετισμοί που προκύπτουν από τα φάσματα δυο διαστάσεων (COSY, HMQC και HMBC).

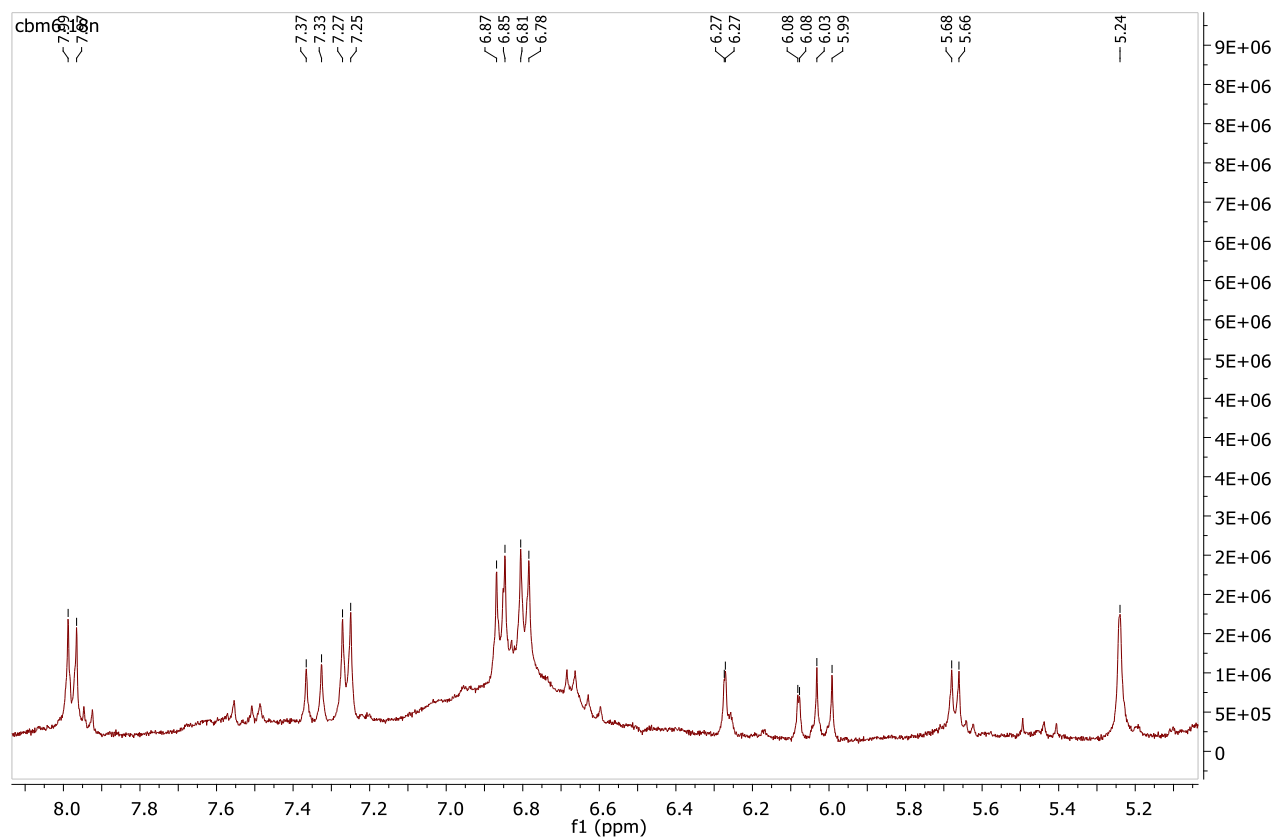
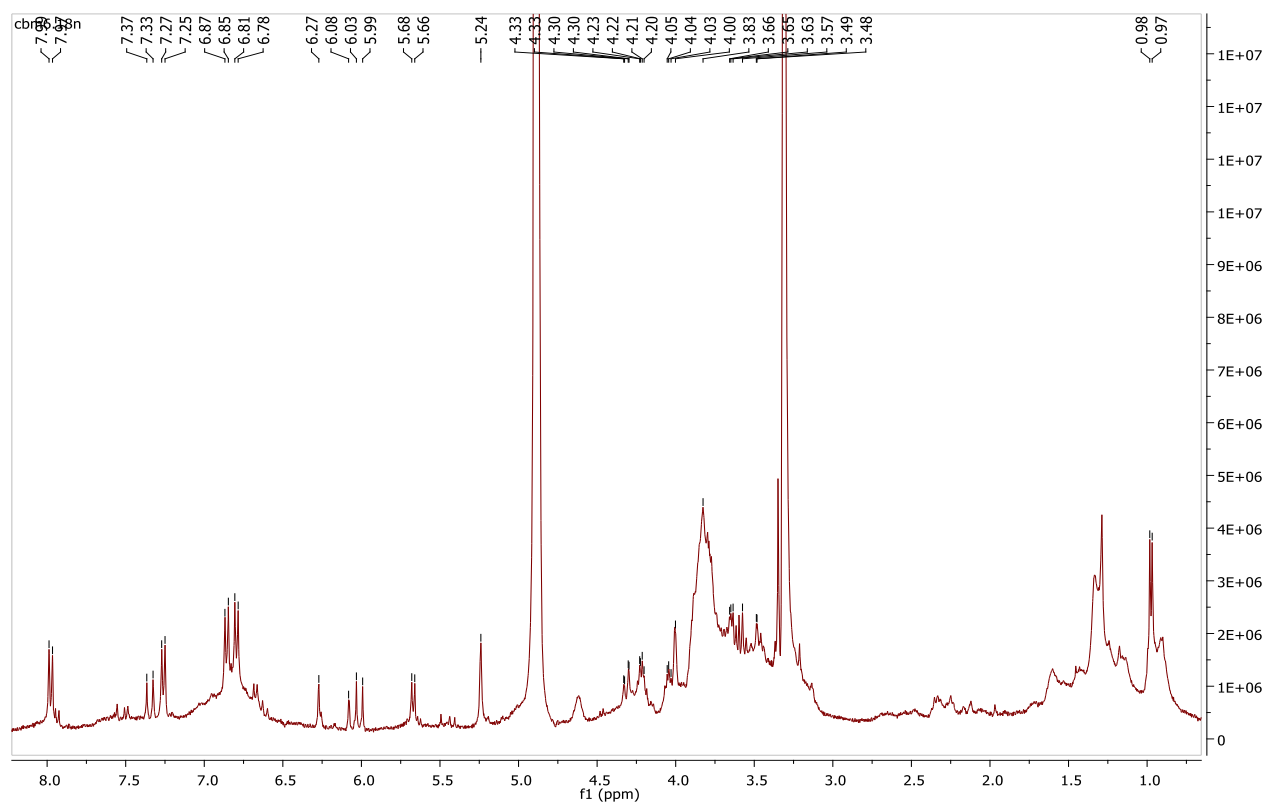
Πίνακας 3.24: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H του καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L ραμνοσυλ)- (6''-O- trans- p- κουμαροϋλ) γλυκοπυρανοσίδη

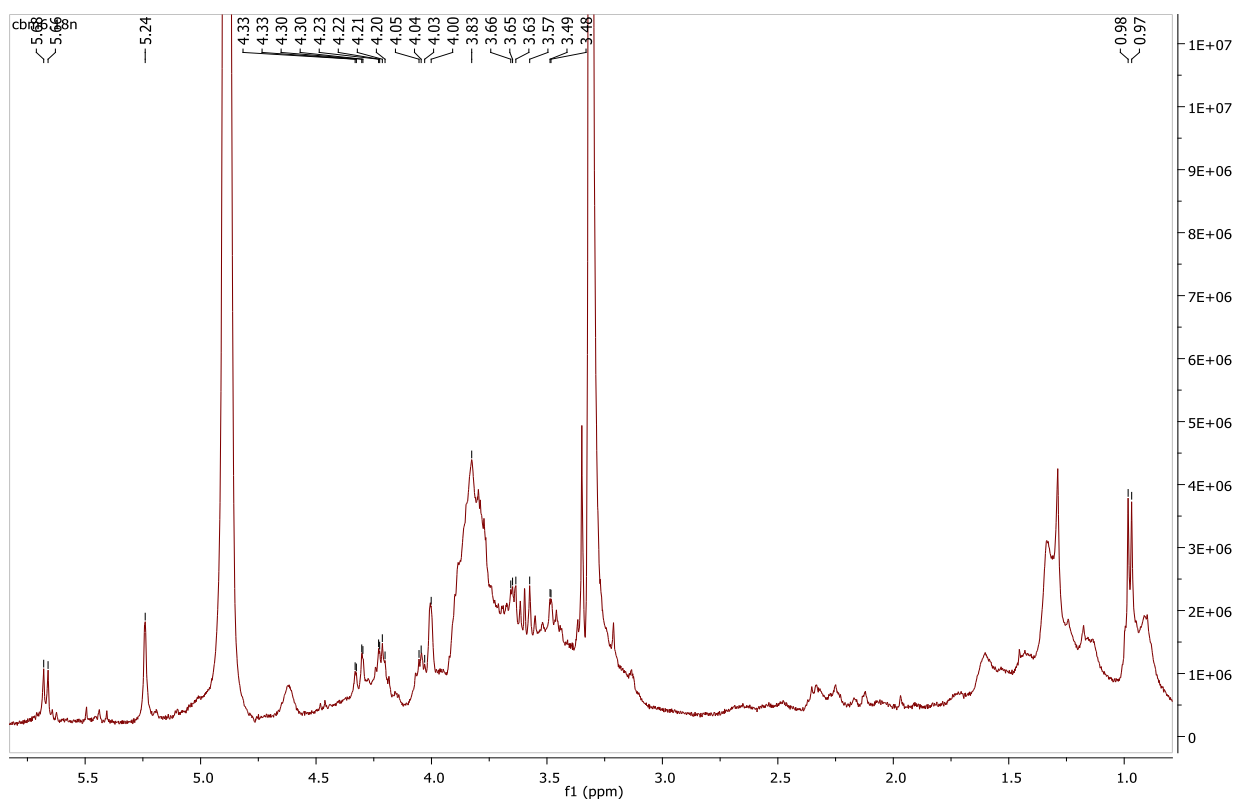
Θέση	¹ H, δ (ppm)	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
άγλυκο			
6	6.08	d	1.2
8	6.27	d	1.2
2'/6'	7.97	d	8.2
3'/5'	6.85	d	8.1
γλυκόζη			
1''	5.67	d	7.8
2''	3.64	t	8.7
5''	3.48	m	
6 _a ''	4.20	dd	2.1/11.6
6 _b ''	4.31	dd	7.0/11.6
3''- 4''	3.30-3.80		
ραμνόζη			
1 ^r	5.24	s	-
2 ^r	4.01	m	
5 ^r	4.05	m	
6 ^r	0.98	d	6.2
3 ^r - 4 ^r	3.30-3.80		
π-κουμαροϋλ-			
7'''	7.34	d	16.2
2'''/6'''	7.26	d	8.6
3'''/5'''	6.80	d	8.1
8'''	6.02	d	16.2

Πίνακας 3.25: COSY, HMQC και HMBC αλληλεπιδράσεις του καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L ραμνοσυλ)- (6''-O- trans- p- κουμαροϋλ) γλυκοπυρανοσίδη

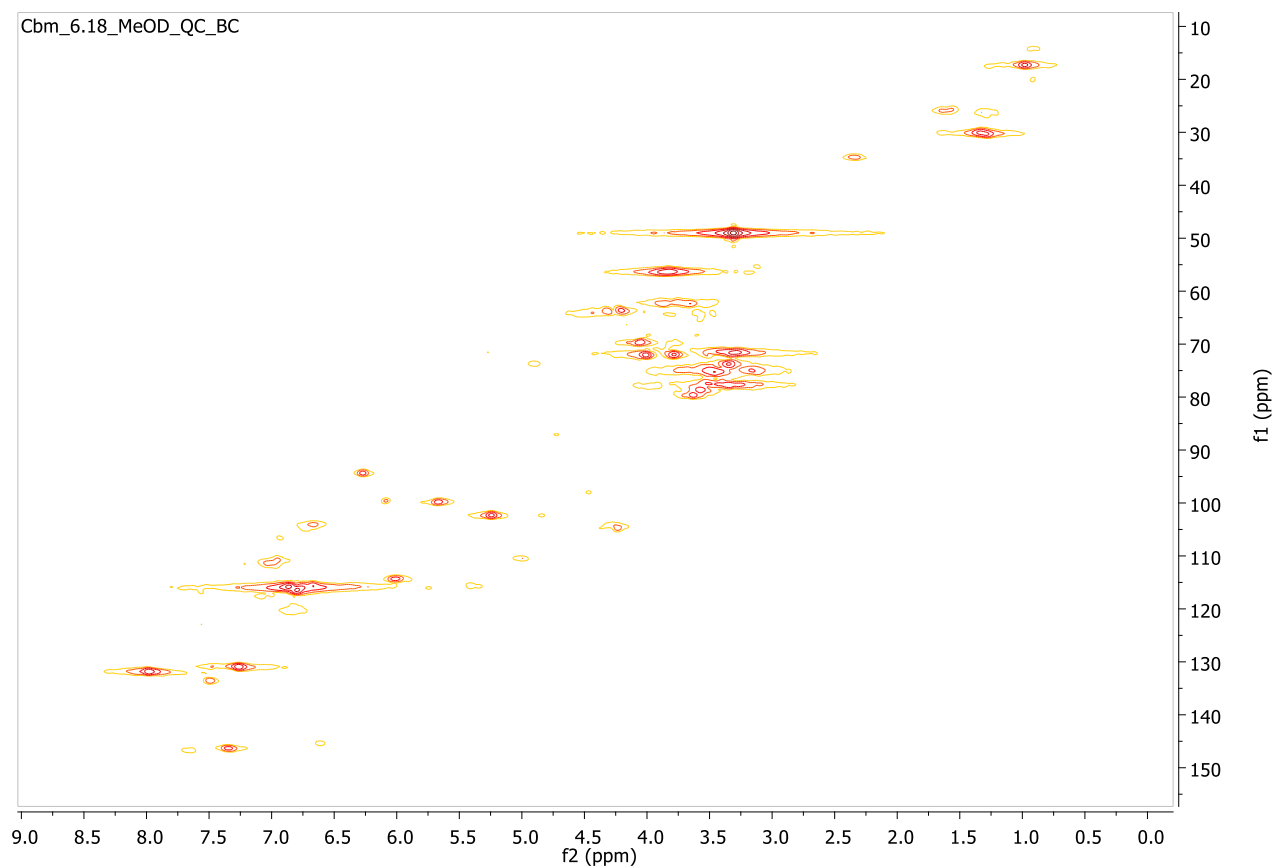
Θέση ¹ H	COSY	HMQC	HMBC
άγλυκο			
6	8	99.7	8
8	6	94.8	6,10
2'	3'	132.1	4',2'/6'
3'	2'	115.8	1',3'/5'
5'	6'	115.9	1',3'/5'
6'	5'	131.9	4',2'/6'
Γλυκόζη			
1''	2''	100.2	3''
2''	1''	79.5	
5''	6 _α ''	75.2	
6 _α ''	5''	63.8	
6 _β ''	6 _α ''	63.8	
Ραμνόζη			
1 ^r	2 ^r	102.6	2'', 3 ^r
2 ^r	1 ^r	72.1	
5 ^r	6 ^r	69.7	
6 ^r	5 ^r	17.84	4 ^r
π-κουμαροϋλ-			
2'''	3'''/5'''	131.7	6''',7'''
3'''	2'''/6'''	116.3	5''',7'''
5'''	2'''/6'''	116.4	3''',7'''
6'''	3'''/5'''	131.9	6''',7'''
7'''	8'''	147.1	9''',2'''/6'''
8'''	7'''	114.8	9'''

¹H-NMR

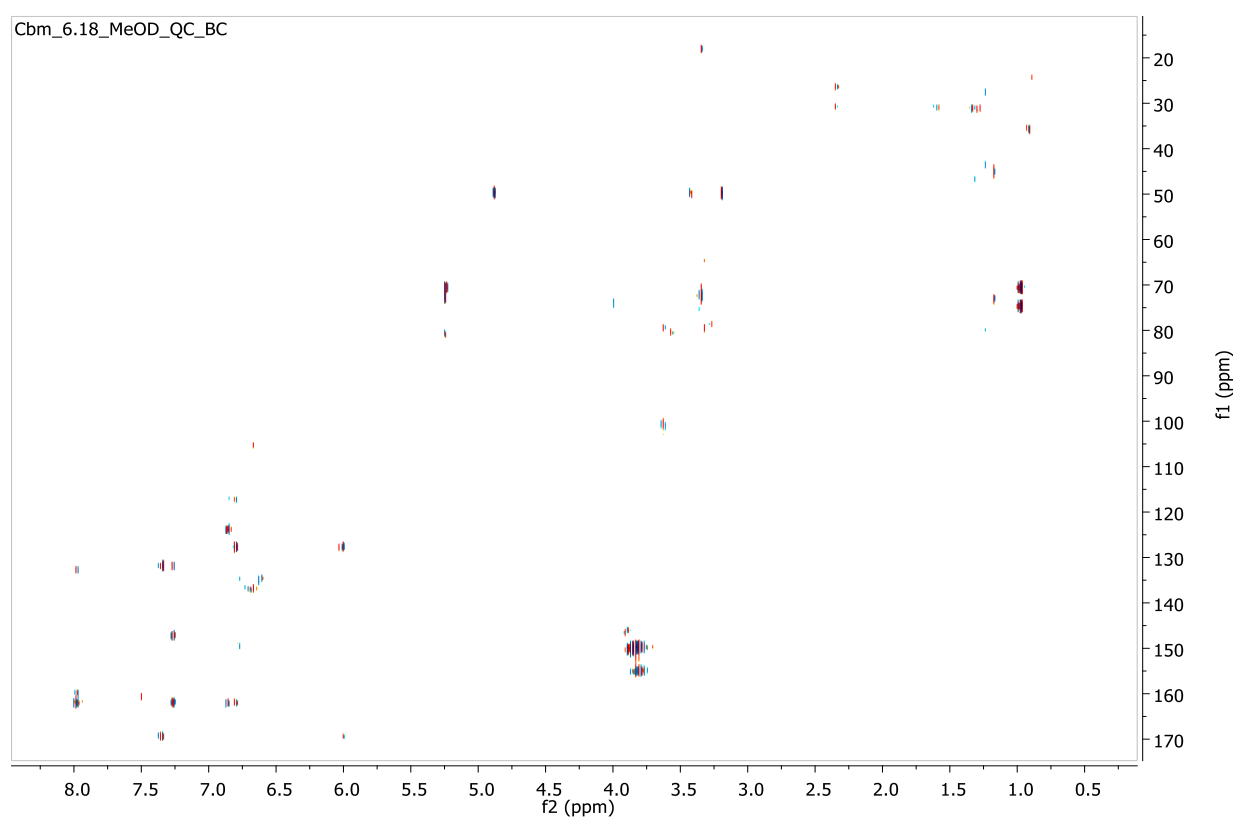




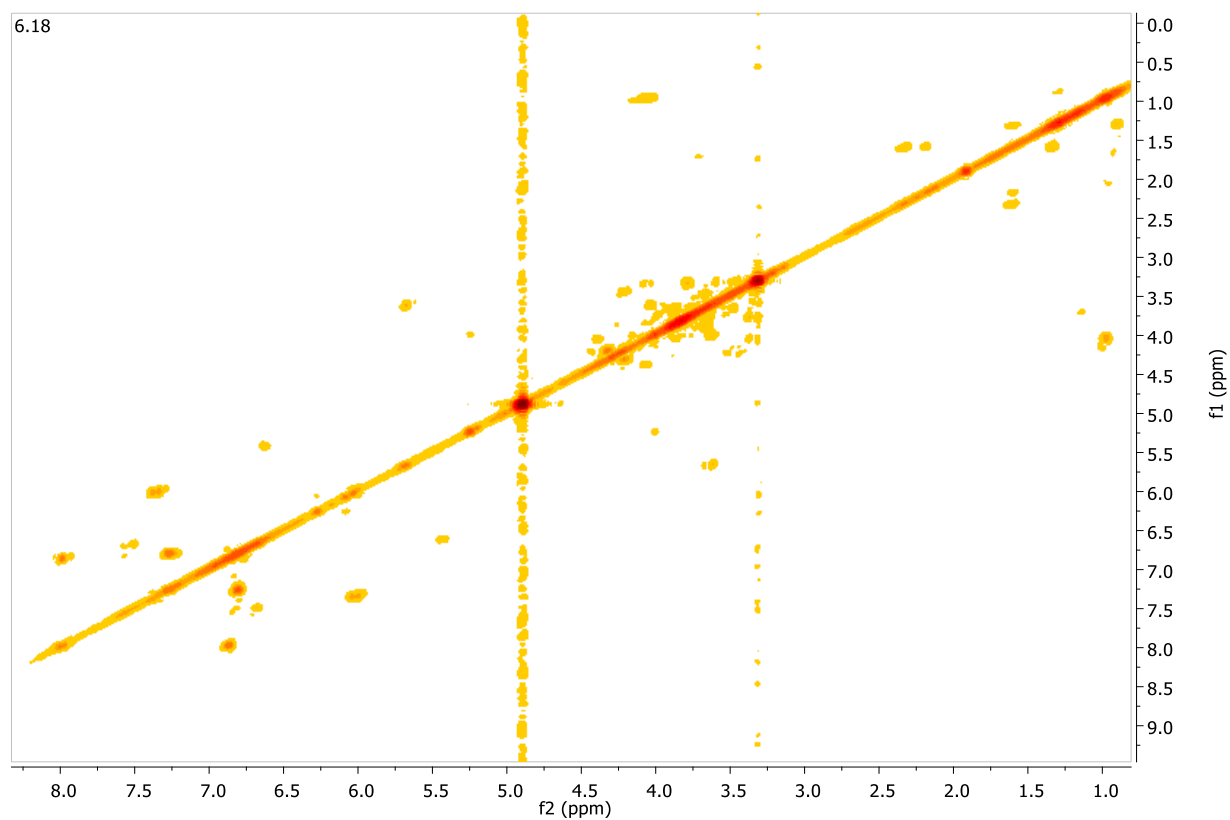
HMQC



HMBC

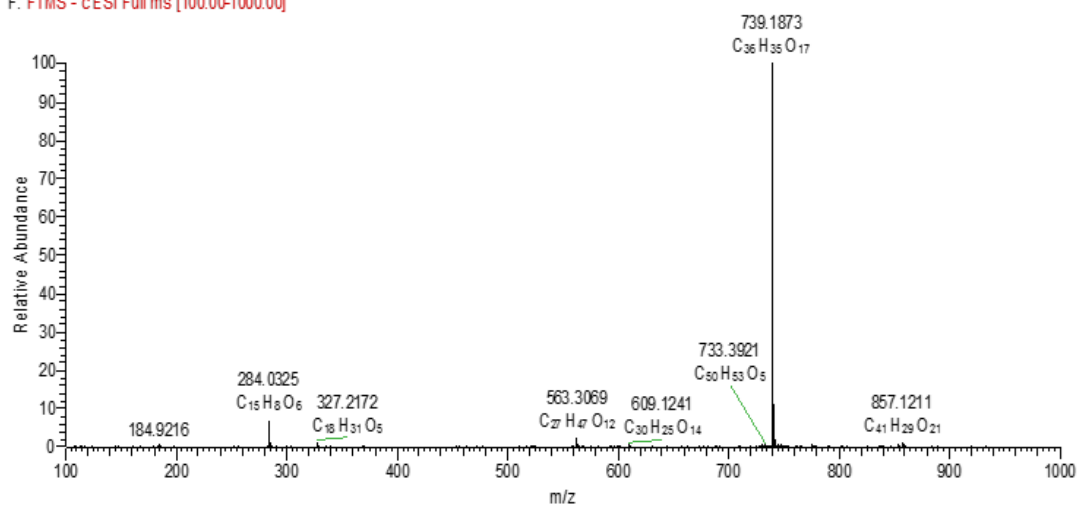


COSY



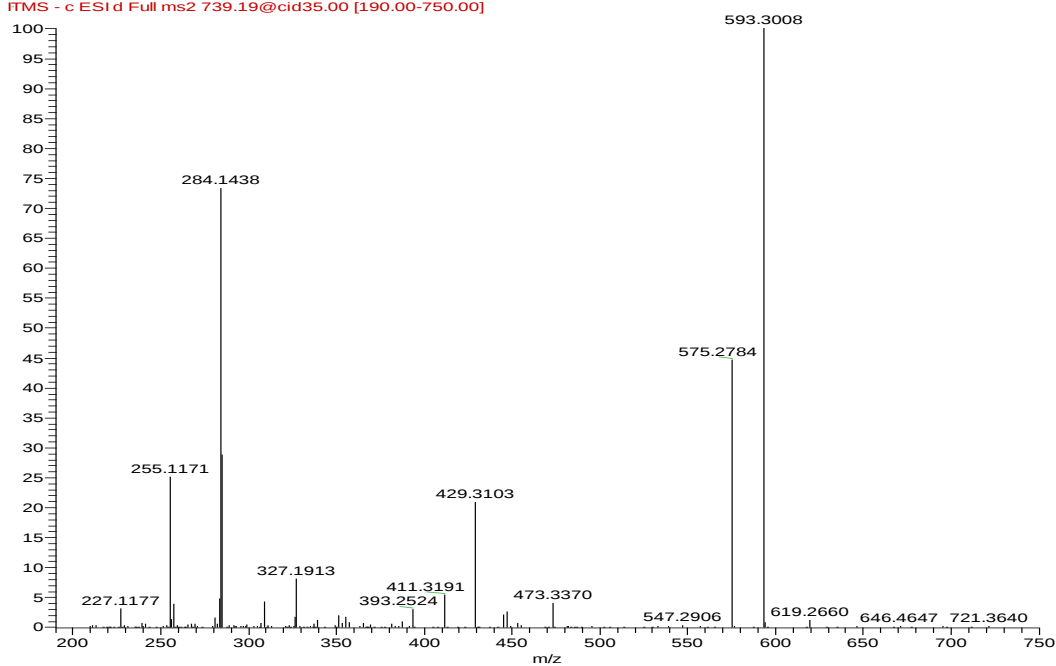
HR ESI MS

Cb1c6_18 #704 RT: 10.44 AV: 1 NL: 4.15E6
F: FTMS - c ESI Full ms [100.00-1000.00]



MS – MS

Cb1c6_18 #703 RT: 10.43 AV: 1 NL: 2.67E4
F: FTMS - c ESI d Full ms2 739.19@cid35.00 [190.00-750.00]



Η ουσία έχει απομονωθεί ξανά μόνο μία φορά και πιο συγκεκριμένα από το ενδημικό φυτό της Αμερικής *Gaura longiflora* της οικογένειας Onagraceae (Xu et al., 2009).

3.4 *Cordia megalantha* S.F. Blake

3.4.1 Εκχυλίσσεις του φυτικού υλικού

Περίπου 250 gr κονιοποιημένων φύλλων του φυτού *Cordia megalantha* εκχυλίστηκαν με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: κυκλοεξάνιο, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη. Η εκχύλιση στον εκάστοτε διαλύτη επαναλήφθηκε τρεις φορές με εμβάπτιση του φυτικού υλικού σε περίπου 2.5 λίτρα διαλύτη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Τα εκχυλίσματα από κάθε διαλύτη συμπυκνώθηκαν με εξάτμιση υπό κενό μέχρι ξηρού και ζυγίσθηκαν. Το τελικό βάρος κάθε εκχυλίσματος ήταν το ακόλουθο:

Κυκλοεξανικό εκχύλισμα **Cb_{C6}**: 3.2 gr

Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα **Cb_{DCM}**: 1.5 gr

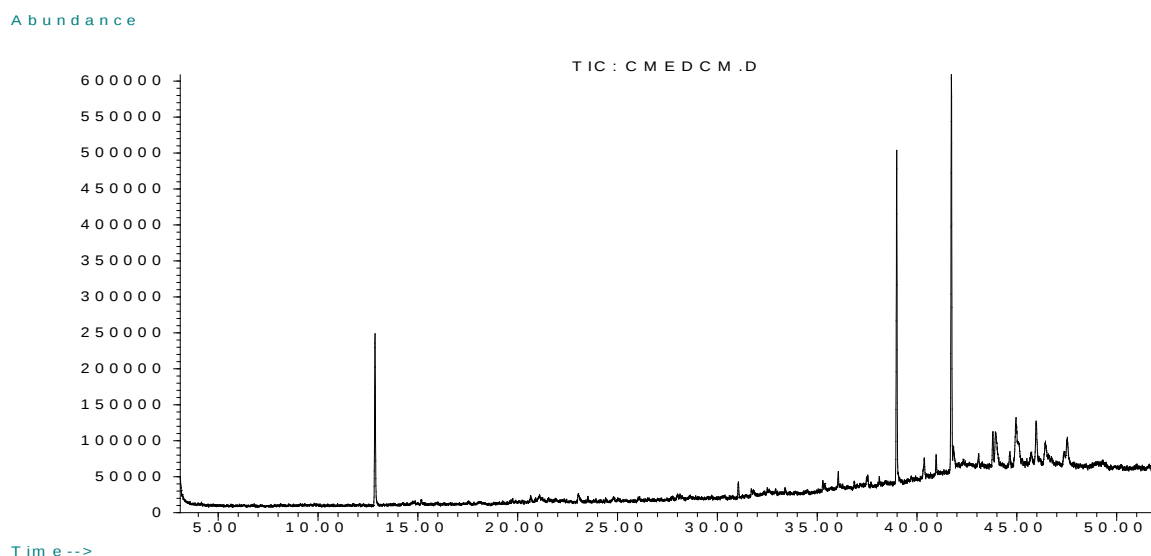
Μεθανολικό εκχύλισμα **Cb_{MeOH}**: 4.8 gr

3.4.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα **Cmeg_{DCM}**

Περίπου 100 mg από το σκούρο πράσινο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα της *Cordia megalantha* υπέστησαν την ίδια διαδικασία απομάκρυνσης χλωροφύλλης με Florisil που αναφέρεται και για το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα **Cb_{DCM}**. Παρατηρήθηκε και πάλι πως η στατική φάση απέκτησε σκούρο πράσινο χρώμα, ενώ η κινητή, η οποία συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε, είχε χρώμα κιτρινό.

Στη συνέχεια το εκχύλισμα υποβλήθηκε σε αέριο χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GC-MS, θερμοκρασιακό πρόγραμμα I). Από το χρωματογράφημα ανιχνεύθηκαν αλκάνια, καθώς και οι φυτοστερόλες β-σιτοστερόλη, σιτοστενόνη, το λιπαρό οξύ ολεϊκό οξύ και παράγωγα του, η τερπενική κετόνη εξαϋδρο- φαρνεσυλακετόνη και τα τριτερπένια λουπτεόλη και λουπτενόνη. Το σύνολο των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον πίνακα που ακολουθεί:

Χρωματογράφημα Cmeg DCM:

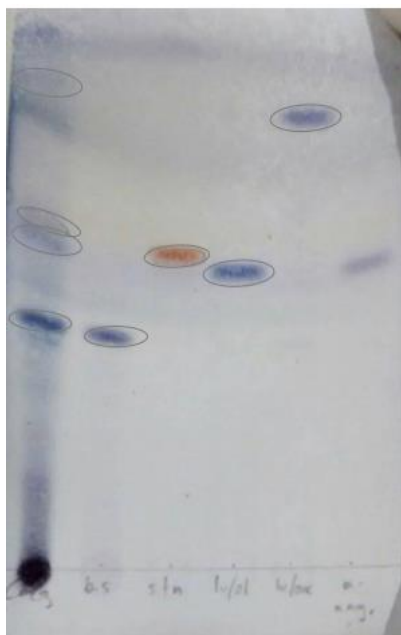


Πίνακας 3.27. :Αποτελέσματα GC-MS του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος της *Cordia megalantha* .

Ενώσεις	<i>C.megalantha</i> DCM	
	Retention time	% ολοκλήρωση
3- hydroxyl propyl ester of oleic acid	31.19	1.71
β-monoolein	31.31	2.52
oleic acid	31.98	1.83
heptacosane	35.57	0.59
nonacosane	38.52	13.25
eicosane	39.88	1.39
hentriacontane	41.27	17.54
β-sitosterol	43.29	4.62
nonacosane	44.96	1.08
lupenone	45.97	6.28
lupeol	45.43	2.98
sitostenone	47.53	1.80
Σύνολο:		55.61

Ακολούθησε συγχρωματογράφιση του εκχυλίσματος με πρότυπες ουσίες από την αρχαιοθήκη του εργαστηρίου μας με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες silica gel. Ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών C6-EtoAC 75:25. Οι πρότυπες ουσίες που επιλέχθηκαν αναφέρονται στην υποενότητα

3.3.2. Από τη διαδικασία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη των ενώσεων λουπενόνη, λουπεόλη, σιτοστενόνη και β-σιτοστερόλη.

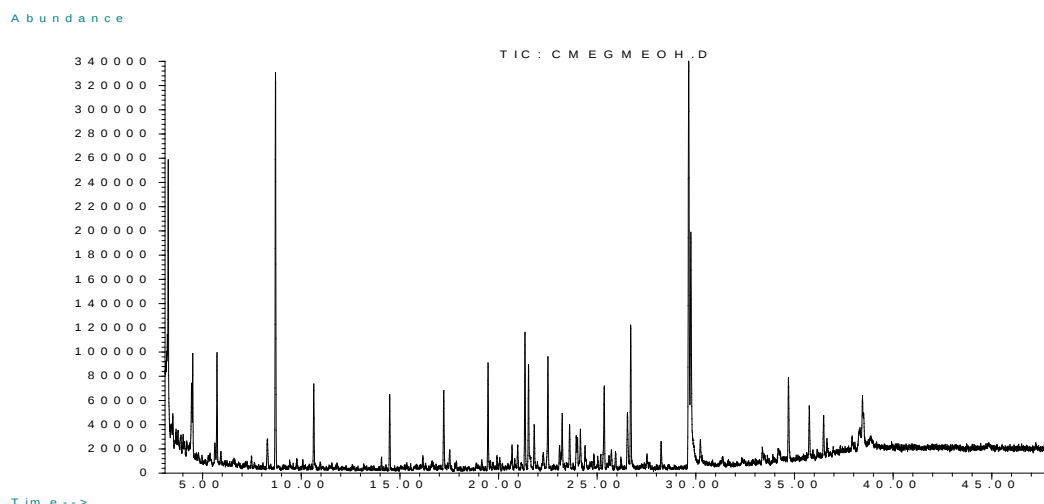


Εικόνα 3.16: TLC Cmeg_{DCM} με πρότυπες ουσίες

3.4.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Cmeg_M

Στο σκούρο καφέ-πράσινο μεθανολικό εκχύλισμα της *Cordia megalantha* πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσσεις με κυκλοεξάνιο προκειμένου να απομακρυνθεί η χλωροφύλλη με διαδικασία αντίστοιχη με εκείνη που περιγράφεται για το μεθανολικό εκχύλισμα Cbic_M. Μετά την τελευταία εκχύλιση η κυκλοεξανική φάση είχε αποκτήσει σκούρο πράσινο χρώμα και η μεθανολική βαθύ καστανό. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά έξι εκχυλίσσεις και η μεθανολική φάση συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε. Στη συνέχεια, μικρή ποσότητα του μεθανολικού εκχυλίσματος σιλυιώθηκε και υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS. Στο εκχύλισμα ανιχνεύτηκαν σιλυιωμένα παράγωγα σακχάρων, κορεσμένων λιπαρών οξέων (παλμιτικό, ολεικό, λινολεικό), ξυλιτόλης, καφεϊκού και 3,4-διυδροξυ βενζοϊκού οξέος. Ακολουθεί πίνακας που παρουσιάζει αναλυτικά τις ουσίες που ανιχνεύθηκαν:

Χρωματογράφημα CmegM:

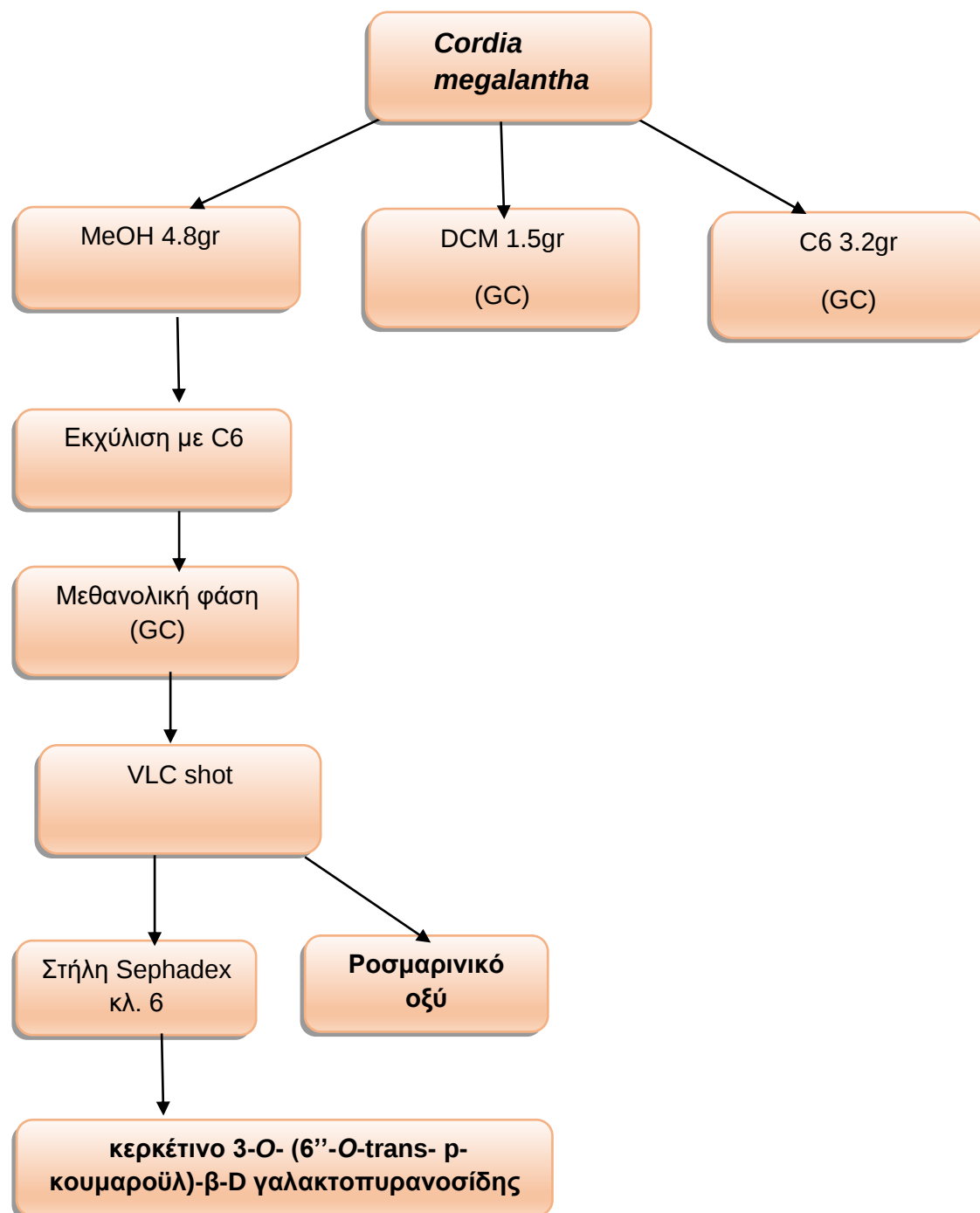


Πίνακας 3.28: . Αποτελέσματα GC-MS του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia megalantha*

Ενώσεις	<i>C.megalantha</i> MeOH	
	Retention time	% ολοκλήρωση
glycerol ether	8.69	10.74
xylitol	19.47	2.92
sugar	21.52	3.52
3,4 dihydroxybenzoic acid	21.81	1.25
sugar	23.98	0.98
palmitic acid	26.54	2.35
caffeic acid	28.23	0.75
linoleic acid	29.63	15.32
oleic acid	29.75	11.78
sugar	36.48	1.39
σύνολο:		50.3

Το μεθανολικό εκχύλισμα ελέγχθηκε σε διάφορα συστήματα ανάπτυξης με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και πραγματοποιήθηκαν χρωματογραφικοί διαχωρισμοί με σκοπό την απομόνωση καθαρών συστατικών.

Ακολουθεί διάγραμμα στο οποίο παρουσιάζονται αναλυτικά οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί που πραγματοποιήθηκαν στο μεθανολικό εκχύλισμα:



Αρχικά πραγματοποιήθηκε χρωματογραφικός διαχωρισμός βραχείας στήλης υπό κενό (VLC) κανονικής φάσης σε κλίνη διαμέτρου 9.5 cm και πορώδους 3. Χρησιμοποιήθηκαν 1.5gr από το ξηρό μεθανολικό εκχύλισμα ενώ ως πληρωτικό υλικό επιλέχθηκε silica gel 60H. Η ουσία τοποθετήθηκε υπό μορφή ξηρού ντεπό και άρχισε η διαδικασία της έκλουσης. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες DCM και MeOH, ενώ λαμβάνονταν κλάσματα όγκου περίπου 100ml. Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται τα στοιχεία της έκλουσης:

Πίνακας 3.29: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης VLC

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)
1	DCM	250
2-7	DCM-MeOH	700
8-9	DCM-MeOH	200
10-33	DCM-MeOH	1800
34-53	DCM-MeOH	1700
54-60	DCM-MeOH	600
61-66	DCM-MeOH	600
67-76	DCM-MeOH	800
77-80	DCM-MeOH	500
81-84	DCM-MeOH	400

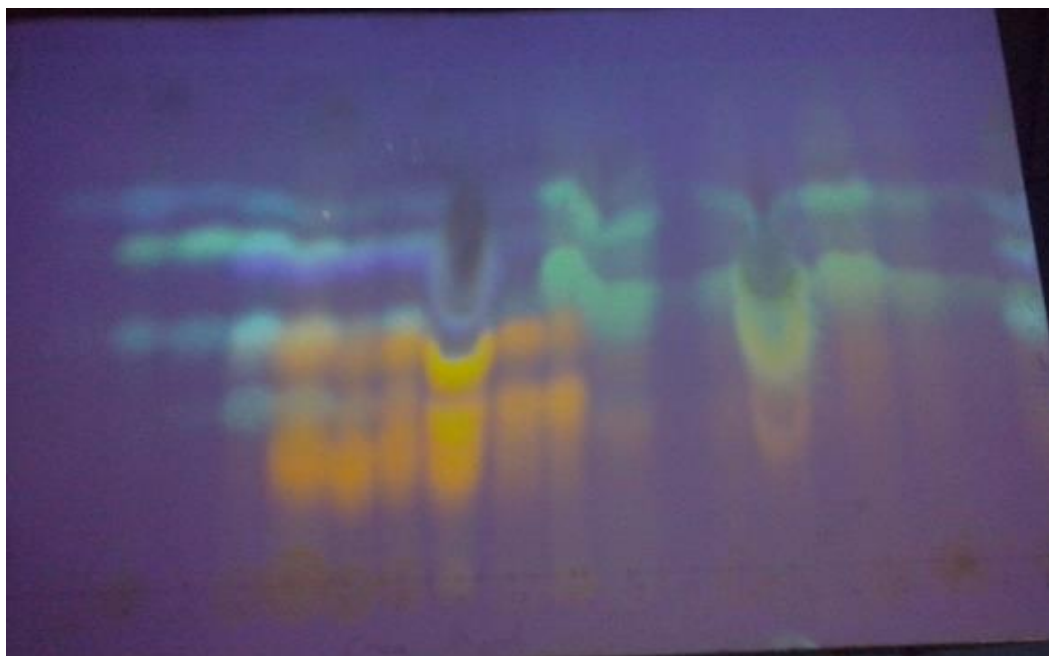
Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες κυτταρίνης. Ως συστήματα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν τα συστήματα διαλυτών H₂O:Acetic Acid 85:15, 80:20 και 70:30. Όσα κλάσματα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.30: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης VLC

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cmeg _M 1: 1-2	0.004
Cmeg _M 2: 3	0.012
Cmeg _M 3: 4	0.057
Cmeg _M 4: 5-7	0.021
Cmeg _M 5:8-12	0.040
Cmeg _M 6:13-14	0.039
Cmeg _M 7:15-16	0.034
Cmeg _M 8:17-20	0.027
Cmeg _M 9:21-26	0.048
Cmeg _M 10:27-30	0.017
Cmeg _M 11:31-38	0.176

Cmeg _M 12:39-46	0.267
Cmeg _M 13:47-50	0.064
Cmeg _M 14:51-54	0.058
Cmeg _M 15:55-62	0.121
Cmeg _M 16:63-67	0.052
Cmeg _M 17:68-71	0.034
Cmeg _M 18:72-73	0.024
Cmeg _M 19:74-76	0.015
Cmeg _M 20:77-78	0.012
Cmeg _M 21:79-80	0.028

Περαιτέρω μελετήθηκαν τα κλάσματα **Cmeg6 - Cmeg10**, τα οποία και συνενώθηκαν, καθώς και το κλάσμα **Cmeg14**.

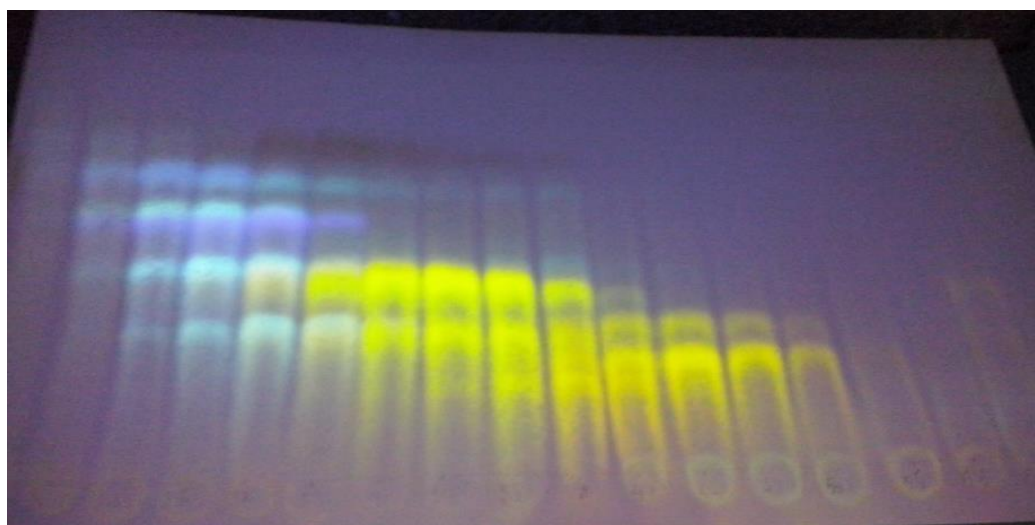


Εικόνα 3.17: Συνενωμένα κλάσματα στήλης VLC (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Τα κλάσματα **Cmeg6-Cmeg10** συνενώθηκαν προς τελικό όγκο ~165mg και υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης, διαμέτρου 2.1 cm, με στατική φάση Sephadex LH-20, ύψους περίπου 30 cm και πορώδους 1. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν 600ml MeOH για τα πρώτα 90 κλάσματα και στη συνέχεια η έκλουση των υπόλοιπων πραγματοποιήθηκε με 200ml συστήματος διαλυτών 80:20 MeOH:H₂O. Ο όγκος των συλλεγόμενων κλασμάτων κυμάνθηκε από 4-10ml. Συνολικά συλλέχθηκαν 110 κλάσματα τα οποία ελέγχθηκαν σε πλάκες κυτταρίνης με σύστημα διαλυτών H₂O:AcOH 85:15.. Όσα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.31: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης Sephadex

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cmeg _{M6} 1: 1-3	0.003
Cmeg _{M6} 2: 4-6	0.002
Cmeg _{M6} 3: 7-11	0.010
Cmeg _{M6} 4: 12-13	0.007
Cmeg _{M6} 5: 14-17	0.030
Cmeg _{M6} 6: 18-19	0.008
Cmeg _{M6} 7: 20-25	0.014
Cmeg _{M6} 8: 26-30	0.010
Cmeg _{M6} 9: 31-39	0.012
Cmeg _{M6} 10: 40-51	0.006
Cmeg _{M6} 11: 52-58	0.004
Cmeg _{M6} 12: 59-69	0.006
Cmeg _{M6} 13: 70-80	0.04
Cmeg _{M6} 14: 81-93	0.05
Cmeg _{M6} 15: 94-103	0.03
Cmeg _{M6} 16: 104-110	0.03



Εικόνα3.18 : Συνενωμένα κλάσματα στήλης Sephadex (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Πραγματοποιήθηκε συνένωση των κλασμάτων **Cmeg_{M6}10** και **Cmeg_{M6}11**. Μετά τη λήψη του φασμάτων ¹H NMR καθώς και των φασμάτων δύο διαστάσεων COSY, HMQC και HMBC ταυτοποιήθηκαν ως η ουσία **κερκέτινο-3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γαλακτοπυρανοσίδης** (7.5mg).

Το κλάσμα **Cmeg14** (βάρους 52mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης διαμέτρου 1cm. Το πληρωτικό υλικό ήταν κυτταρίνη και το ύψος του εντός της στήλης έφτανε τα 10cm. Ως διαλύτες έκλουσης χρησιμοποιήθηκαν H₂O και Acetic acid (AcOH) σε διάφορες αναλογίες και συνολικά παρελήφθησαν 60 κλάσματα. Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται τα στοιχεία έκλουσης.

Πίνακας 3.32: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης Cmeg14

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)
1-20	H ₂ O:AcOH	100
21-36	H ₂ O:AcOH	100
37-50	H ₂ O:AcOH	100
51-60	H ₂ O:AcOH	100

Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες τύπου κυτταρίνης. Τα κλάσματα που συνενώθηκαν, φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

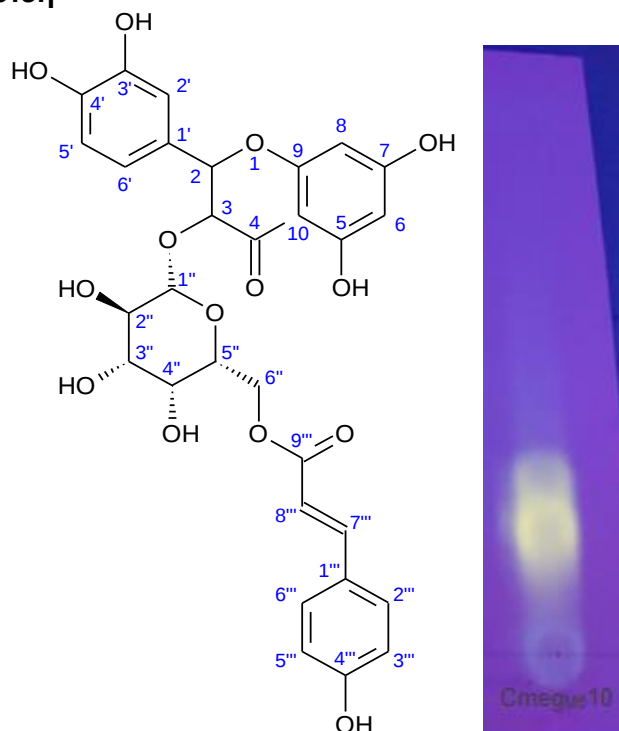
Πίνακας 3.33: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης Cmeg14

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cmeg _{M14} 1:1	0,002
Cmeg _{M14} 2:2	0,005
Cmeg _{M14} 3:3	0,020
Cmeg _{M14} 4:4	0,008
Cmeg _{M14} 5:5	0,005
Cmeg _{M14} 6:6-7	0,002
Cmeg _{M14} 7:8-10	0,005
Cmeg _{M14} 8:11-12	0,004
Cmeg _{M14} 9:13-16	0,002
Cmeg _{M14} 10:17-25	0,003
Cmeg _{M14} 11:26-35	0,004
Cmeg _{M14} 12:36-46	0,003
Cmeg _{M14} 13:47-60	0,004

Η συνένωση **Cmeg_{M14}3** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, με επίστρωση κυτταρίνης ενώ ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 85:15. Απομονώθηκε η ουσία Cmeg_{M14}3 (5 mg). Η ουσία αυτή ταυτοποιήθηκε μέσω ¹H-NMR και ¹³C-NMR ως το φαινολικό οξύ **ροσμαρινικό οξύ**, η φασματοσκοπική μελέτη του οποίου υπάρχει στην υποενότητα 3.3.4.6.

3.4.4 Φασματοσκοπική μελέτη των απομονωμένων ουσιών του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia megalantha*.

1.Φασματοσκοπική μελέτη του κερκέτινο-3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γαλακτοπυρανοσίδη



Εικόνα3.19: TLC C_{me}M₆10
(Cel. H₂O:AcOH 85:15)

Η ουσία C_{me}M₆10 απομονώθηκε ως άμορφο κίτρινο στερεό. Ψεκασμός της κηλίδας με αντιδραστήριο Naturstoff δίνει κίτρινη χρώση.

Η φασματοσκοπική ανάλυση της ουσίας σε MeOD με ¹H-NMR, φάσματα 2D (COSY, HMQC και HMBC) καθώς και η σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Jin et al., 1999, Teroppon et al., 2006) επέτρεψε την αντιστοίχιση των σημάτων ¹³C και ¹H και την απόδοση της δομής της ουσίας όπως φαίνεται παρακάτω:

Στο φάσμα ¹H-NMR διακρίνονται δύο διπλές κορυφές, μία στα 7.78 ppm (H-2') και μία στα 7.57 ppm (H-6'), με $J = 8.4$ Hz και $J = 2.0$ Hz αντίστοιχα καθώς και μία διπλή κορυφή στα 6.83 με $J = 8.1$ Hz. Οι κορυφές αυτές ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το μόριο φέρει ένα 1,3,4-τρι-υποκατεστημένο αρωματικό πυρήνα. Στα 6.14 ppm (H-6) και στα 6.31 ppm (H-8) εντοπίζονται δύο διπλές κορυφές με ολοκλήρωση ένα πρωτόνιο για την κάθε μια, με $J = 2.1$ Hz, τιμή χαρακτηριστική μέτα- σύζευξης.

Στην αρωματική περιοχή του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούνται επίσης σήματα χαρακτηριστικά *trans* κουμαρικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα στα 7.32 ppm ($\text{H-2}''''/\text{H-6}''''$) και στα 6.79 ppm ($\text{H-3}''''/\text{H-5}''''$) εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές οι οποίες ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια η κάθε μία, με σταθερά σύζευξης $J = 8.6\text{Hz}$ και 8.1Hz αντίστοιχα. Επιπροσθέτως εμφανίζονται τα *trans* ολεφινικά πρωτόνια $\text{H-7}''''$ και $\text{H-8}''''$ στα 7.39 ppm και 6.05ppm, με σήματα που αντιστοιχούν σε διπλές κορυφές κάθε μία εκ των οποίων ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο με σταθερά σύζευξης 16Hz . Τα σήματα αυτά είναι χαρακτηριστικά πρωτονίων που συμμετέχουν σε διπλό δεσμό με *trans* διαμόρφωση.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρείται μία διπλή κορυφή στα 5.15 ppm με $J = 7.8\text{Hz}$, τιμή χαρακτηριστική β σύζευξης, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα πρωτόνια της θέσης 6 του σακχάρου. Το H-6_a δίνει μία διπλή διπλής κορυφή στα 4.31ppm ($J = 4.1/11.6$) η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, ενώ το H-6_b μία επίσης διπλή διπλής κορυφή στα 4.20ppm ($J = 7/11.6$) η οποία ολοκληρώνει και εκείνη για ένα πρωτόνιο. Τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου εμφανίζονται ως μια πολλαπλή κορυφή στα 3.50-3.30ppm, η οποία ολοκληρώνει για 4 πρωτόνια.

Από το φάσμα HMBC φαίνεται η σύνδεση του ανωμερικού πρωτονίου της γλυκόζης με τον C-3 στον σκελετό του φλαβονοειδούς.

Από τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με την βιβλιογραφία διαπιστώνεται ότι το προϊόν είναι μια φλαβονόλη τύπου κερκετίνης, με έναν *πάρα*- υποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο B και φέρει στη θέση 3 ως υποκαταστάτη ένα μόριο γαλακτόζης, πάνω στο οποίο είναι συνδεδεμένο στη θέση 6'' μία π-κουμαροϋλο- ομάδα συνθέτοντας τον κερκέτινο-3-O-(6''-O-*trans*-p-κουμαροϋλ)- β -D-γαλακτοπυρανοσίδη.

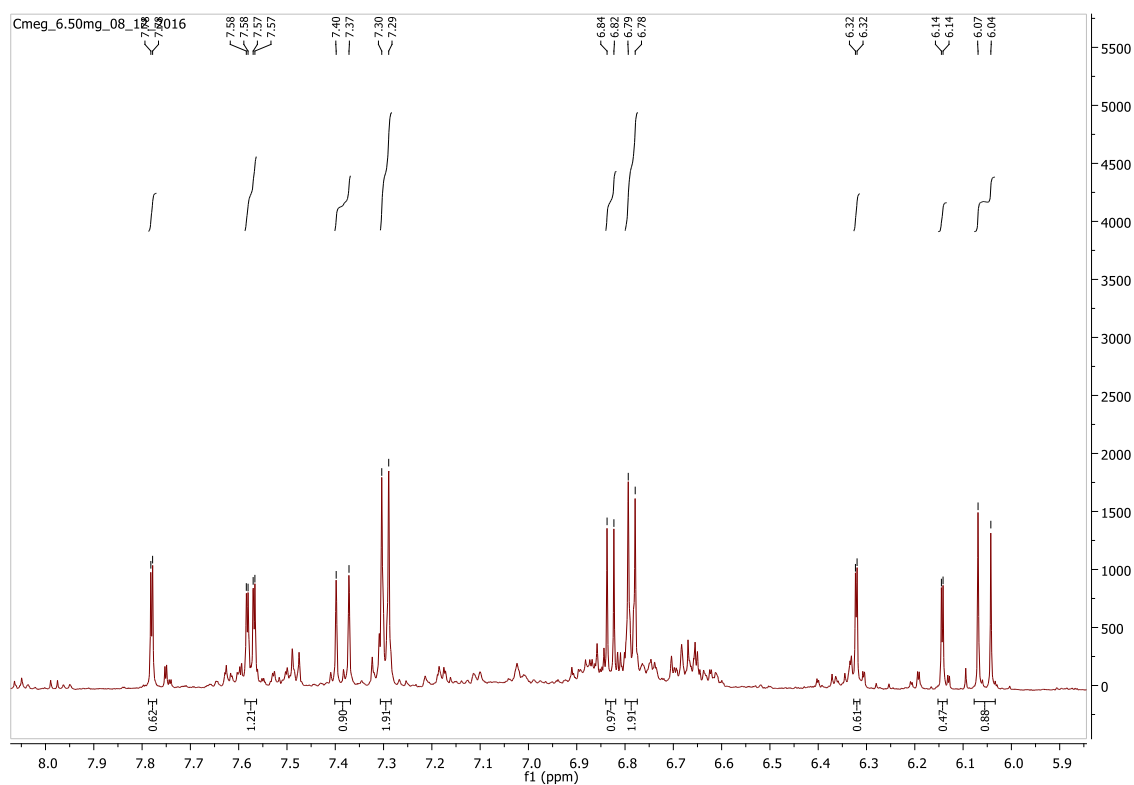
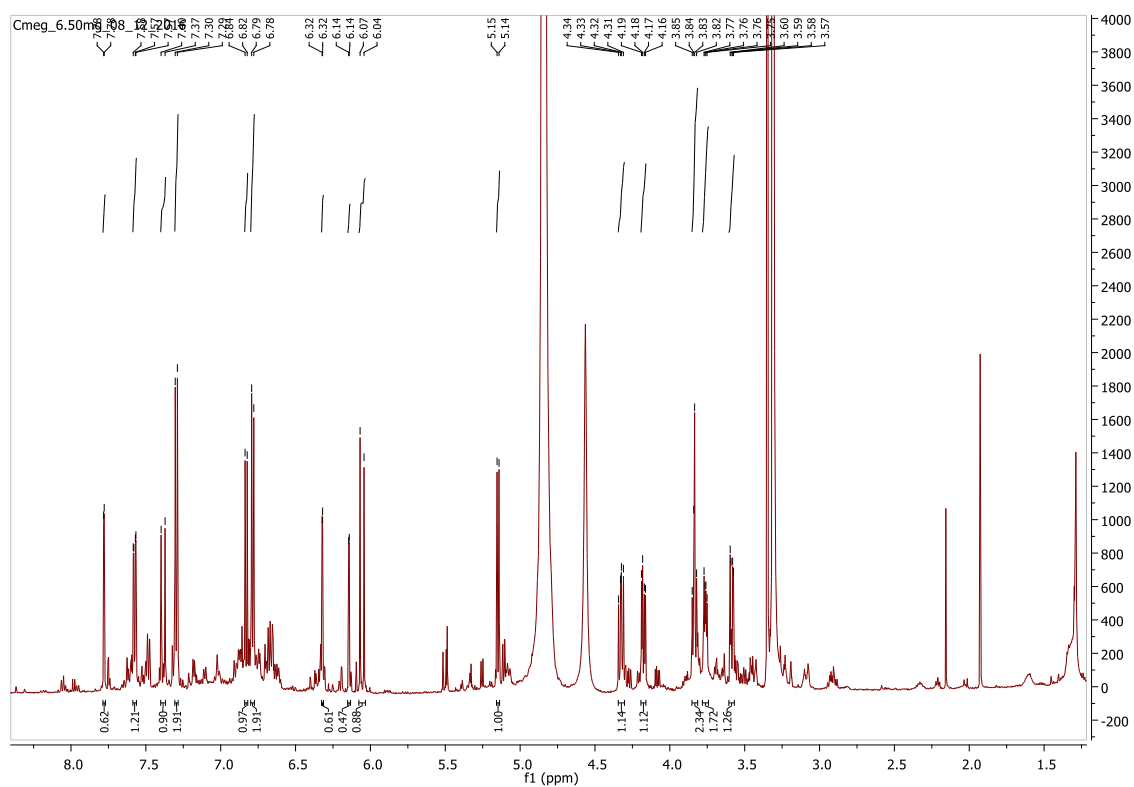
Πίνακας 3.34 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H και ^{13}C (από ^1H -NMR και HMQC) του κερκέτινο 3-O-β- (6'' trans- p- κουμαροϋλ- γαλακτοπυρανοσίδη)

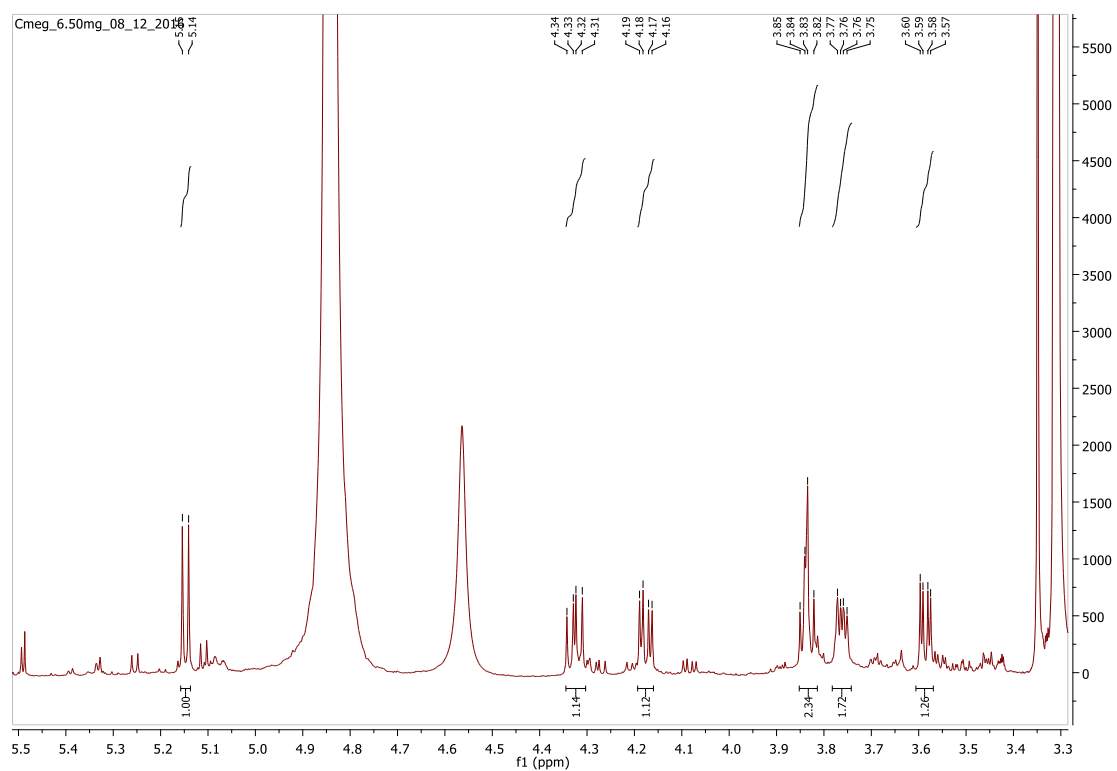
Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)	^{13}C , δ (ppm)
Άγλυκο					
6	6.14	1H	d	2.0	99.8
8	6.31	1H	d	2.1	94.6
2'	7.78	1 H	d	2.1	117.5
6'	7.57	1H	dd	8.5/2.1	122.8
5'	6.83	1H	d	8.4	116.1
γαλακτόζη					
1''	5.15	1H	d	7.7	104.5
6 _a ''	4.31	1H	dd	4.0/11.6	64.2
6 _b ''	4.17	1H	dd	8.0/11.2	64.2
2''- 5''	3.50-3.30	4H	m		
π-κουμαροϋλο-ομάδα					
7'''	7.39	1H	d	16.2	146.4
2'''/6'''	7.32	2H	d	8.6	131.1
3'''/5'''	6.79	2H	d	8.1	116.9
8'''	6.05	1H	d	16.2	114.2

Πίνακας 3.35: Φασματοσκοπικά δεδομένα ^{13}C και οι COSY, HMBC αλληλεπιδράσεις του κερκέτινο-3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ)-β-D-γαλακτοπυρανοσίδη

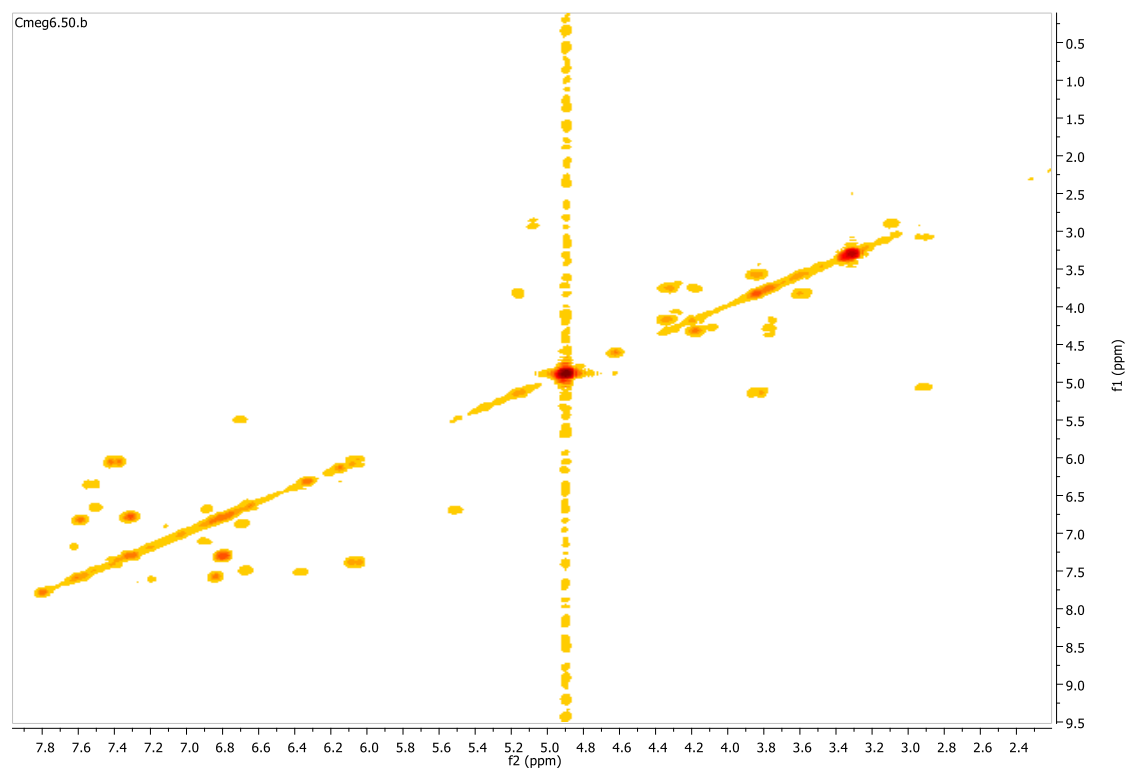
Θέση	^{13}C , δ (ppm)	COSY	HMBC ($^{13}\text{C} \rightarrow ^1\text{H}$)
άγλυκο			
2	158.3		2'
3	135.6		1''
5	162.8		6
6	99.8	8	8
7	166.1		8
8	94.6	6	6
9	157.9		8
10	105.1		6,8
1'	122.6		2',5'
2'	117.5	6'	6'
3'	145.7		2',5'
4'	149.5		2',5',6'
6'	122.8	5'	
5'	116.1	6'	
γαλακτόζη			
1''	104.5		
2''/5''			6''
4''	74.9		
6'' _a	64.2	6'' _b	6'',2''/5''
6'' _b	64.2	6'' _a	6'',2''/5''
π-κουμαροϋλο- ομάδα			
1'''	126.9		3'''/5''',8'''
7'''	146.4	8'''	2'''/6'''
2'''/6'''	131.1	3'''/5'''	2'''/6''',7'''
4'''	161.0		2'''/6''',3'''/5'''
3'''/5'''	116.9	2'''/6'''	3'''/5'''
8'''	114.2	7'''	7'''
9'''	168.2		7''',8''',6 _a '',6 _b ''

¹H-NMR:

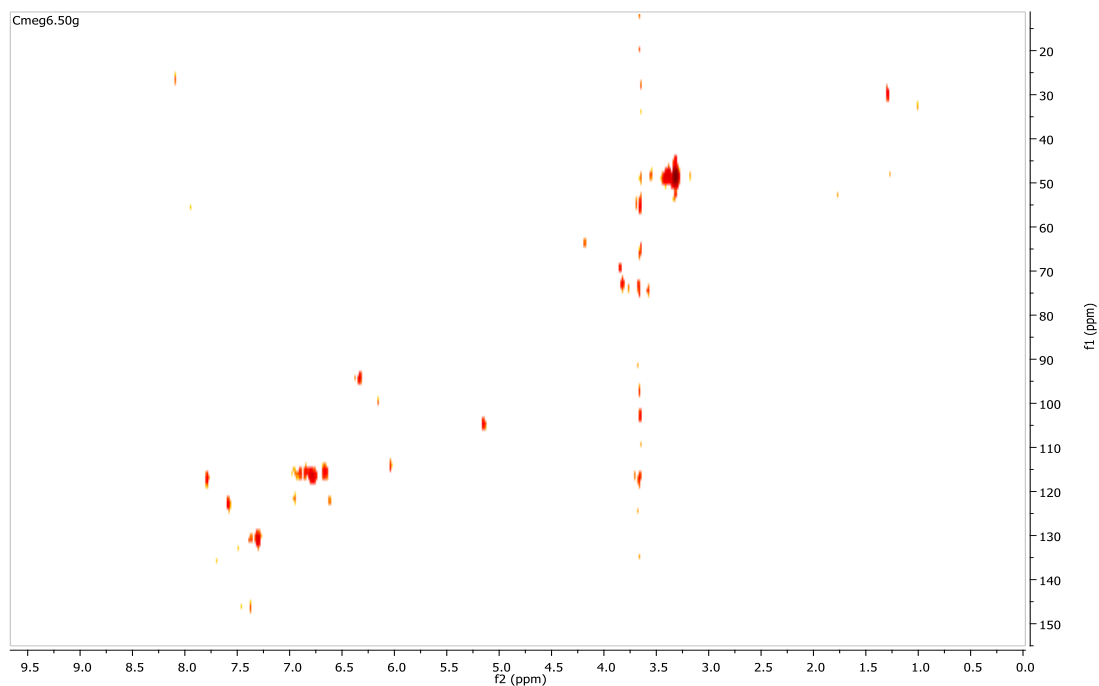




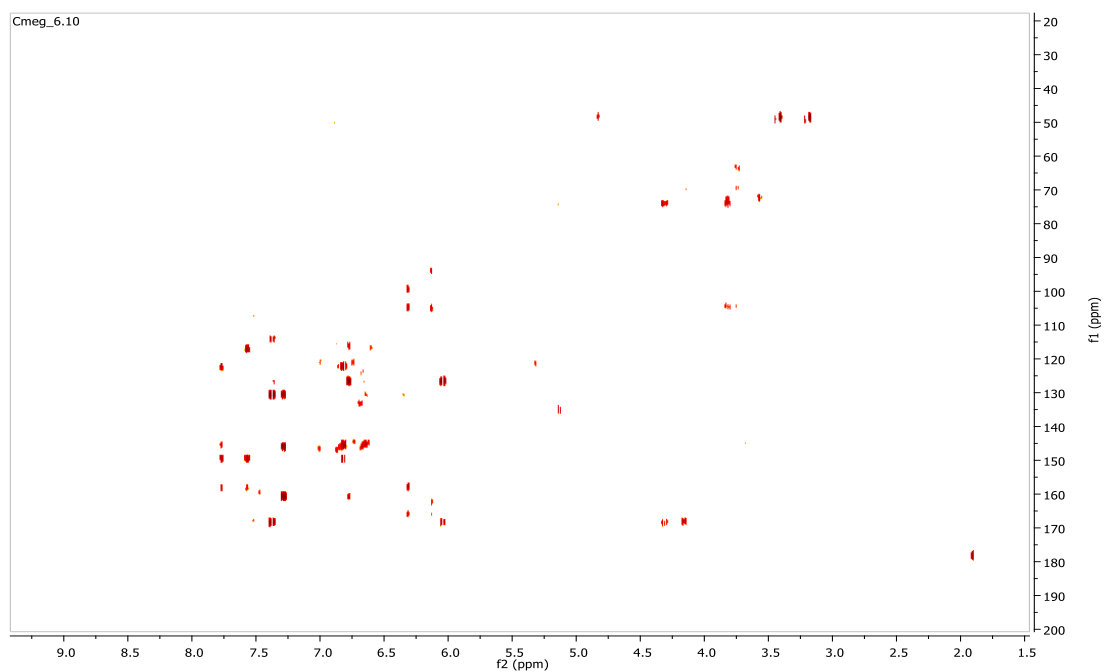
COSY



HMQC



HMBC



Η ουσία έχει απομονωθεί ξανά από τα είδη *Ledum palustre* (Ericaceae, Jin et al., 1999), *Rosa chinensis* (Rosaceae, Qing et al., 2012) *Vaccinium macrocarpon* (Ericaceae, Vvedenskaya et al., 2004) και *Dioscorea bulbifera* (Dioscoreaceae, Teroppon et al., 2006). Έχει αντιμυκητιασικές ιδιότητες (Jin et al., 1999), ενώ αναφέρεται για πρώτη φορά στο γένος *Cordia* αλλά και σε ολόκληρη την οικογένεια Boraginaceae.

3.5 *Cordia dentata* Poir.

3.5.1 Εκχυλίσσεις του φυτικού υλικού

Περίπου 78 gr κονιοποιημένων φύλλων του φυτού *Cordia dentata* εκχυλίστηκαν με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: κυκλοεξάνιο, διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη. Η εκχύλιση με τον εκάστοτε διαλύτη επαναλήφθηκε δύο φορές με εμβάπτιση του φυτικού υλικού σε περίπου 1000 ml διαλύτη για 24 ώρες, σε θερμοκρασία δωματίου.

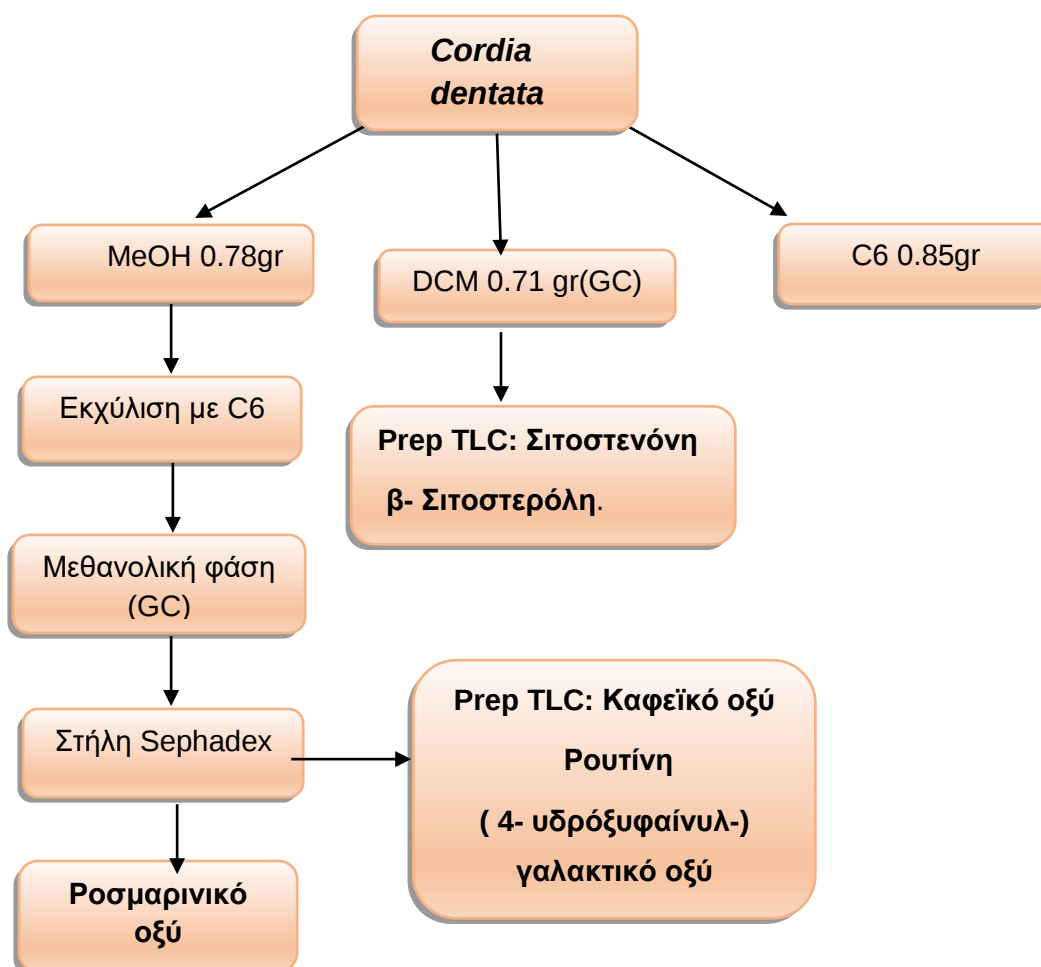
Τα εκχυλίσματα συμπυκνώθηκαν με εξάτμιση υπό κενό μέχρι ξηρού και ζυγίσθηκαν. Το τελικό βάρος κάθε εκχυλίσματος ήταν το ακόλουθο:

Κυκλοεξανικό εκχύλισμα **Cd_{C6}**: 0.85 gr

Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα **Cd_{DCM}**: 0.71gr

Μεθανολικό εκχύλισμα **Cd_{MeOH}**: 0.78 gr

Ακολουθεί διάγραμμα στο οποίο περιγράφονται οι διαδικασίες ανάλυσης των εκχυλισμάτων του φυτού:

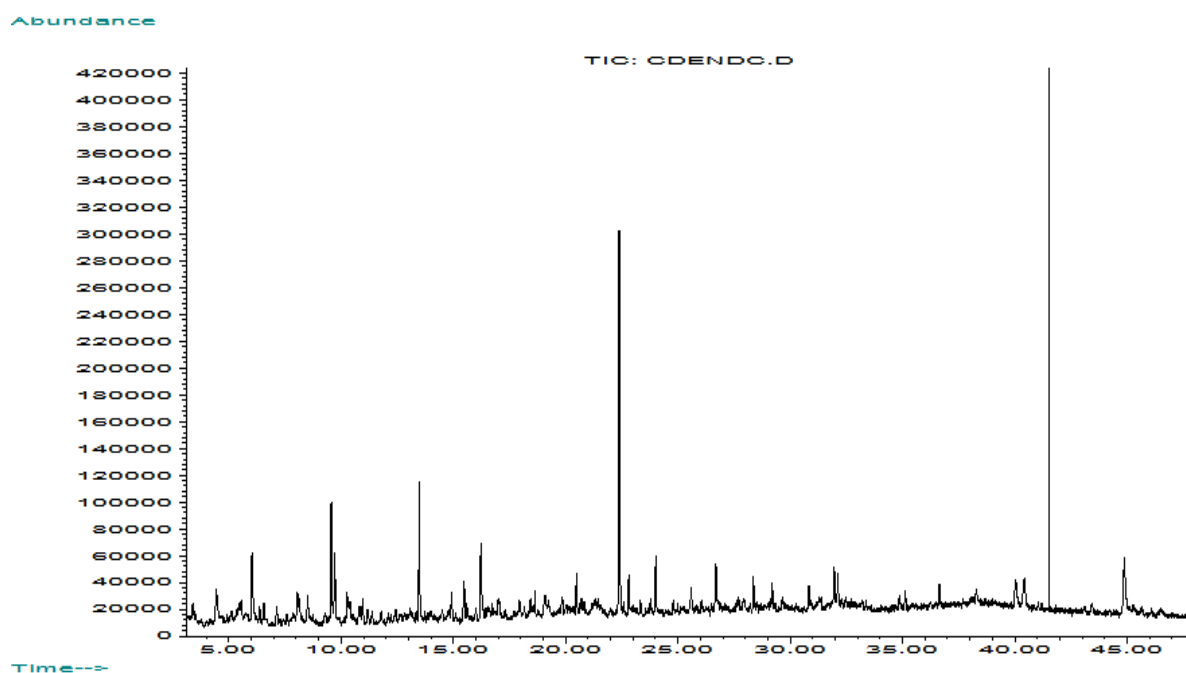


3.5.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cden_{DCM}

Περίπου 100 mg από το σκούρο πράσινο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα της *Cordia dentata* υπέστησαν τη διαδικασία απομάκρυνσης χλωροφύλλης με Florisil που αναφέρεται και για το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cbic_{DCM}.

Στη συνέχεια το εκχύλισμα υποβλήθηκε σε αέριο χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας (GC-MS) Από το χρωματογράφημα ανιχνεύθηκαν αλκάνια, η τερπενική κετόνη εξαϋδροξυ φαρνεσυλακετόνη καθώς και οι φυτοστερόλες β-σιτοστερόλη και σιτοστενόνη, τα τριτερπένια λουπεόλη και λουπενόνη και το λιπαρό οξύ παλμιτικό οξύ. Το σύνολο των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον πίνακα που ακολουθεί:

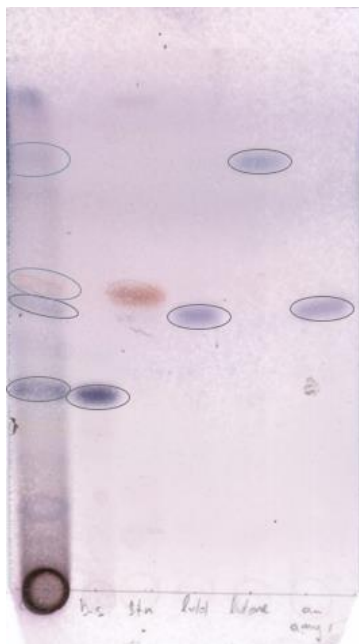
Χρωματογράφημα Cden_{DCM}



Πίνακας 3.36: Αποτελέσματα GC-MS του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος της *Cordia dentata*

Ενώσεις	<i>C.dentata</i> DCM	
	Retention time	% ολοκλήρωση
Hexadecane	13.48	8.83
Octadecane	21.52	2.86
Hexahydroxy farnesyl acetone	22.36	27.67
Palmitic acid	26.48	5.23
β -sitosterol	40.05	1.24
Sitostenone	41.3	1.07
Lupenone	44.7	1.44
Lupeol	45.02	0.75
ολικό		49.09

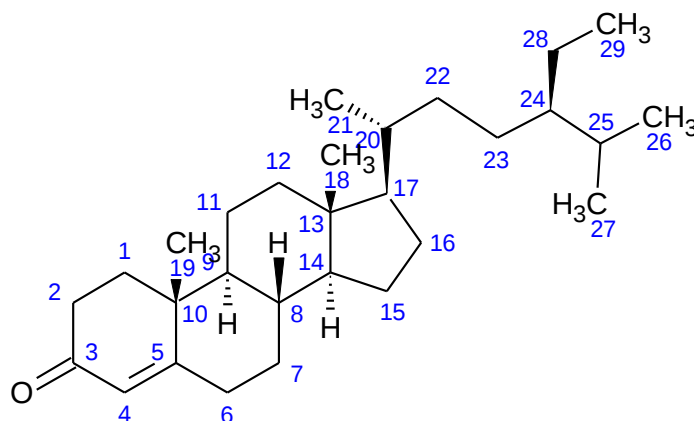
Ακολούθησε έλεγχος του εκχυλίσματος με πρότυπες ουσίες από την αρχειοθήκη του εργαστηρίου μας με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε πλάκες silica gel. Ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών C6- EtOAC 75:25. Οι πρότυπες ουσίες που επιλέχθηκαν αναφέρονται στην υποενότητα 3.3.2. Από τη διαδικασία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη των ενώσεων λουπενόνη, λουπεόλη, σιτοστενόνη και β -σιτοστερόλη.



Εικόνα 3.20: TLC Cden_{DCM} και πρότυπων ενώσεων

Στη συνέχεια, ποσότητα του απαλλαγμένου από χλωροφύλλη διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος (~28 mg) υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε γυάλινη πλάκα silica gel F254. Ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών 75:25 C6 – EtoAc. Προέκυψαν δύο κύριες ζώνες οι οποίες οδήγησαν στην απομόνωση των ουσιών Cden_D1 και Cden_D2. Οι ουσίες αυτές ταυτοποιήθηκαν μέσω ¹H-NMR ως οι φυτοστερόλες σιτοστενόνη (3.5 mg) και β-σιτοστερόλη (4.2 mg) αντίστοιχα.

1.Φασματοσκοπική μελέτη της σιτοστενόνης



Η ουσία Cdent 1 απομονώθηκε μετά από παρασκευαστική TLC ως άχρωμο συστατικό. Ψεκασμός της κηλίδας του σε TLC με διάλυμα θειικής βανιλίνης και θέρμανση έδωσε καφέ χρώση.



Εικόνα 3.21: TLC Cdent 1 (Sil. C6: EtoAc 75:25)

Η ουσία αναγνωρίστηκε ως η σιτοστενόνη (σιγμαστ-4-εν-3-όνη) με αεριοχρωματογραφική ανάλυση (GC-MS), αλλά και με τη φασματοσκοπική μελέτη

του διαλύματος της ουσίας σε CDCl₃ με ¹H-NMR και σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας.

Το φάσμα μάζας της ουσίας παραπέμπει στο φάσμα μάζας της β-σιτοστερόνης, σύμφωνα με την βιβλιοθήκη Wiley 275. Το μοριακό βάρος της είναι 412. Στο φάσμα μάζας E.I. παρατηρούνται τα εξής θραύσματα: 412 (M⁺), 397, 370, 289, 229, 124 (100%), 55, 43.

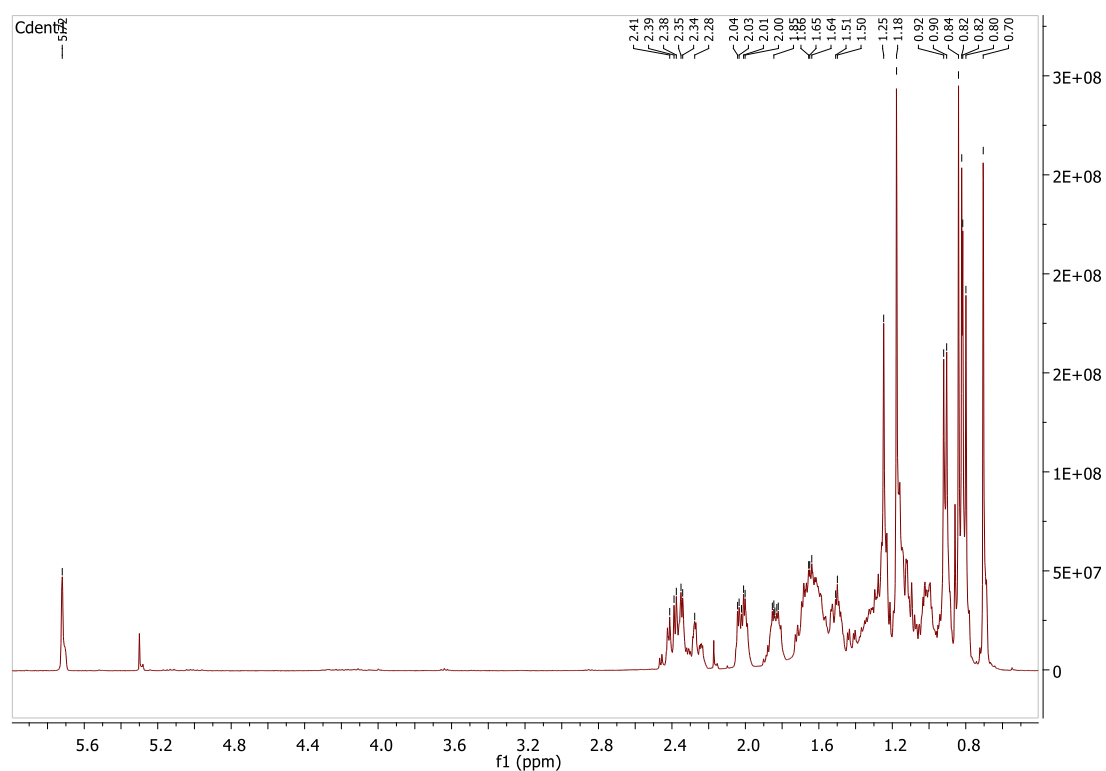
Στο φάσμα ¹H-NMR παρατηρούνται κορυφές στην αλειφατική περιοχή, οι οποίες αντιστοιχούν στα μεθύλια της σιτοστενόνης. Ο διπλός δεσμός υποδεικνύεται από την παρουσία μίας κορυφής, η οποία ολοκληρώνεται για ένα πρωτόνιο, συντονίζεται στα 5.72 ppm και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-4. Επίσης, στην περιοχή 2.22-2.33 ppm παρατηρείται μία πολλαπλή κορυφή, η οποία ολοκληρώνεται για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλενίου της θέσης 2, το οποίο είναι συνδεδεμένο με την καρβονυλομάδα.

Η απόδοση των ευκρινέστερων και σημαντικότερων κορυφών του φάσματος ¹H-NMR της σιτοστενόνης σε διαλύτη CDCl₃ παρουσιάζεται παρακάτω:

Πίνακας 3.37 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H της σιτοστενόνης

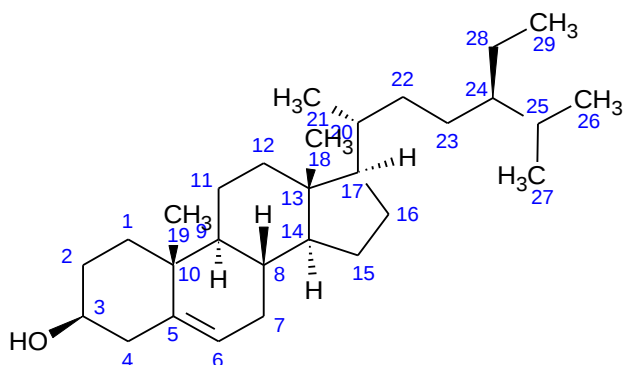
Θέση	¹ H, δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα
2	2.22-2.33	2H	m
4	5.72	1H	brs
18	0.70	3H,	s
19	1.18	3H,	s
21	0.87	3H,	s
26	0.83	3H,	s
27	0.78	3H,	s
29	1.00	3H,	s

¹H- NMR



Με βάση τα παραπάνω φασματοσκοπικά δεδομένα και τη σύγκρισή τους με τα αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Gaspar et al., 1993; Greca et al., 1990) διαπιστώθηκε ότι η ουσία αυτή αντιστοιχεί στο γνωστό φυσικό προϊόν σιτοστενόνη (στιγμαστ-4-εν-3-όνη). Η στιγμαστ-4-εν-3-όνη έχει απομονωθεί ξανά από άλλα φυτά της οικογένειας Boraginaceae, όπως από τα *Cynoglossum gansuense* (Jin et al., 2007), *Lappula anocarpa* (Jin et al., 2004), και *Cordia panamensis*, *C. collococa* και *C. megalantha* (Φουσέκη et al., 2015).

2. Φασματοσκοπική μελέτη της β-σιτοστερόλης



Η ουσία Cdent 2 απομονώθηκε έπειτα από παρασκευαστική TLC ως άχρωμο συστατικό. Ψεκασμός της κηλίδας του σε TLC με διάλυμα θειικής βανιλίνης και θέρμανση έδωσε μωβ χρώση.



Εικόνα 3.22: TLC Cdent 2 (Sil. C6: EtoAc 75:25)

Η ουσία αναγνωρίστηκε με ανάλυση GC-MS, αλλά και με τη φασματοσκοπική μελέτη του διαλύματος της ουσίας σε CDCl_3 με $^1\text{H-NMR}$ και σύγκριση των φασμάτων με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας.

Το φάσμα μάζας της ουσίας παραπέμπει στο φάσμα μάζας της β-σιτοστερόλης, σύμφωνα με την βιβλιοθήκη Wiley 275. Το μοριακό βάρος της είναι 414. Στο φάσμα μάζας E.I. παρατηρούνται τα εξής θραύσματα: 414 (M^+), 396, 381, 329, 303 (100%), 255, 231, 145.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούνται κορυφές στην αλειφατική περιοχή, οι οποίες αντιστοιχούν στα μεθύλια της β-σιτοστερόλης. Ο διπλός δεσμός υποδεικνύεται από

την παρουσία μίας κορυφής, η οποία συντονίζεται στα 5.38 ppm και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6. Η παρουσία του β-υδροξυλίου στη θέση 3 διαπιστώνεται από την ύπαρξη μίας κορυφής στην οξυγονωμένη περιοχή, και πιο συγκεκριμένα στα 3.54 ppm, η οποία αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3.

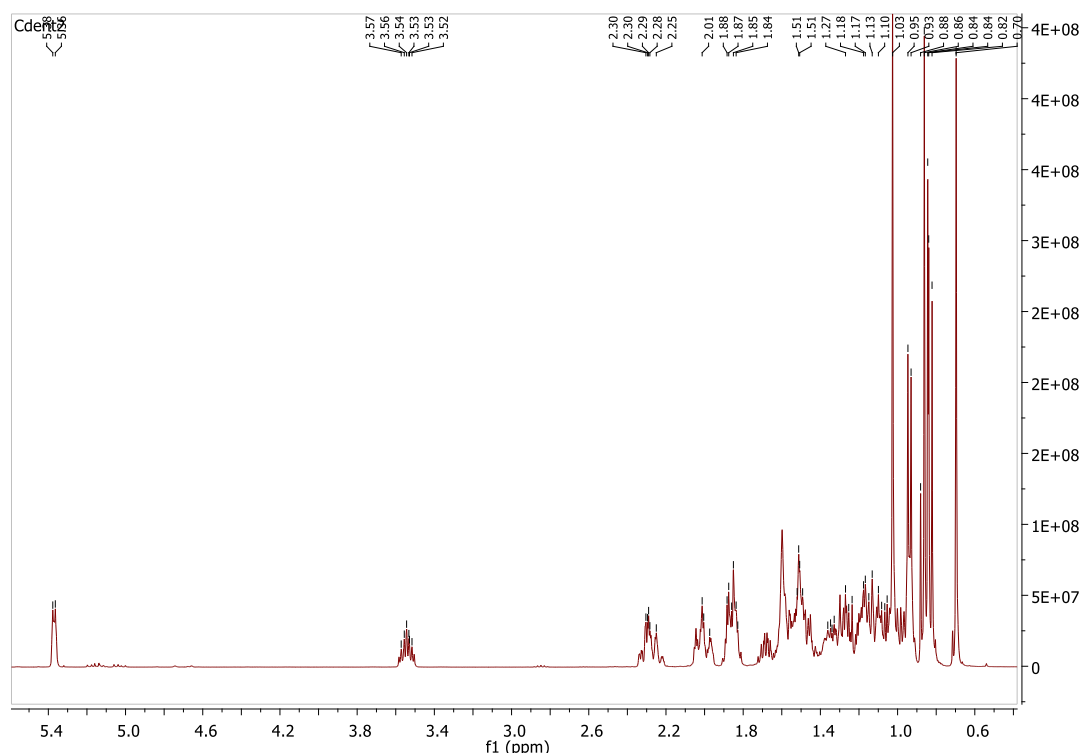
Η πλήρης απόδοση του φάσματος ^1H -NMR σε διαλύτη CDCl_3 φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.38 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H της β-σιτοστερόλης

Θέση	^1H , δ (ppm) (ολοκλήρωση, πολλαπλότητα, J (Hz))
1	1.09 (1H, m)
	1.86 (1H, m)
2	1.83 (1H, m)
	1.51 (1H, m)
3	3.54 (1H, m)
4	2.28 (2H, m)
6	5.38 (1H, d, J = 5.0 Hz)
7	1.51 (2H, m)
8	1.96 (1H, m)
9	0.97 (1H, m)
11	1.51 (2H, m)
12	1.20 (1H, m)
	2.01 (1H, m)
14	0.99 (1H, d, J = 7.0 Hz)
15	1.09 (1H, m)
	1.56 (1H, m)
16	1.34 (1H, m)
	1.88 (1H, m)
17	1.13 (1H, m)
18	0.70 (3H, s)
19	1.03 (3H, s)
20	1.36 (1H, m)
21	0.94 (3H, d, J = 7.0 Hz)
22	1.05 (1H, m)
	1.31 (1H, m)
23	1.19 (2H, m)
24	0.97 (1H, m)

25	1.67 (1H, m)
26	0.85 (3H, d, J = 7.0 Hz)
27	0.82 (3H, d, J = 7.0 Hz)
28	1.26 (2H, m)
29	0.86 (3H, t, J = 7.0 Hz)

1H- NMR



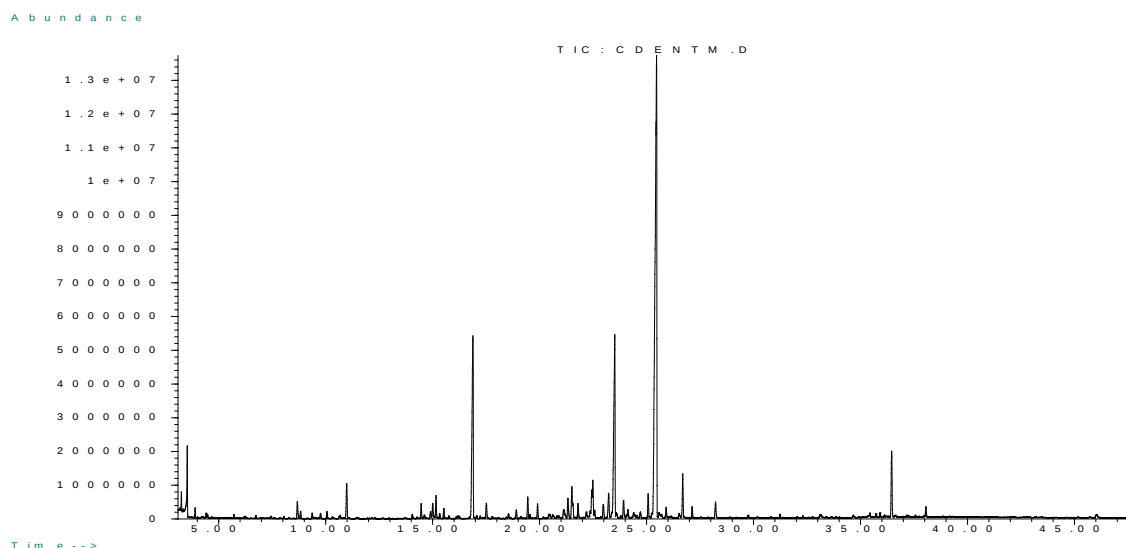
Με βάση τα παραπάνω φασματοσκοπικά δεδομένα, καθώς και με μελέτη της βιβλιογραφίας (De-Eknamkul & Potduang, 2003; Sun et al., 2003; Μέλλιου, 2005) διαπιστώθηκε ότι η ουσία αυτή αντιστοιχεί στη β -σιτοστερόλη, μία κοινή στερόλη του φυτικού βασιλείου, η οποία έχει απομονωθεί ξανά από το γένος *Cordia*, από τα είδη *C. americana* (Geller et al., 2010), *C. exaltata* (Nogueira et al., 2013), *C. millennii* (Tapondjou et al., 2005), *C. rufescens* (Vale et al., 2012), *C. trichotoma* (Menezes et al., 2001), *Cordia panamensis*, *C. collococa* και *C. megalantha* (Φουσέκη et al., 2015). Η φυτοστερόλη αυτή έχει απομονωθεί και από πολλά άλλα φυτά της οικογένειας Boraginaceae, όπως από τα είδη *Arnebia euchroma* (Damianakos et al., 2012), *Onosma limitaneum* (Ahmad et al., 2005), *O. kaherei* (Ορφανού, 2014), *Thyrocarpus glochidiatus* (Luo et al., 2006) και *Echium wildpretii* (Santana et al., 2012).

3.5.4 Μεθανολικό εκχύλισμα Cden_M

Στο σκούρο καφέ - πράσινο μεθανολικό εκχύλισμα της *Cordia denata* πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσσεις με κυκλοεξάνιο, προκειμένου να απομακρυνθεί η χλωροφύλλη με διαδικασία αντίστοιχη με εκείνη που περιγράφεται για το μεθανολικό εκχύλισμα Cbic_M. Μετά την τελευταία εκχύλιση η κυκλοεξανική φάση είχε αποκτήσει σκούρο πράσινο χρώμα και η μεθανολική βαθύ καστανό. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις εκχυλίσσεις και η μεθανολική φάση συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε.

Στη συνέχεια, μικρή ποσότητα του μεθανολικού εκχυλίσματος σιλυλιώθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που έχει προαναφερθεί και υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS. Στο εκχύλισμα ανιχνεύτηκαν σιλυλιωμένα παράγωγα σακχάρων, πολυολών, του αμινοξέος λ-προλινη, του 5-υδρόξυ πιπτεκολικού οξέος, του 4- υδρόξυ και του 3,4 διυδρόξυ βενζοϊκού οξέος και των φαινολοξέων καφεϊκό και 4- υδρόξυφαινυλ-γαλακτικό οξύ. Ακολουθεί πίνακας που παρουσιάζει αναλυτικά τις ουσίες που ανιχνεύθηκαν:

Χρωματογράφημα Cden_{MeOH}



Πίνακας 3.39: Αποτελέσματα GC-MS του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia dentata* (TSM-παράγωγα).

Ενώσεις	<i>C.dentata</i> MeOH	
	Retention time	% ολοκλήρωση
2-piperidine carboxylic acid	10.98	1.70
erythritol	14.47	0.58
5-hydroxypipericolic acid	16.89	12.30
4-hydroxybenzoic acid	17.51	0.73
Xylitol	19.451	0.89
3,4- dihydroxybenzoic acid	21.79	0.69
4-hydroxyphenyllactic acid	23.53	13.16
sugars	23.93-27.13	2.47
Caffeic acid	28.22	0.81
sugar	36.46	3.27
ολικό		36.58

Το μεθανολικό εκχύλισμα ελέγχθηκε σε διάφορα συστήματα ανάπτυξης με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) και πραγματοποιήθηκαν χρωματογραφικοί διαχωρισμοί με σκοπό την απομόνωση καθαρών συστατικών.

Περίπου 0.72 mg του μεθανολικού εκχυλίσματος της *C. dentata* υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης, διαμέτρου 3.5 cm, με στατική φάση Sephadex LH-20, ύψους περίπου 25 cm. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν 1000ml MeOH και συνολικά συνελέγησαν 310 κλάσματα όγκου 3-4 ml.

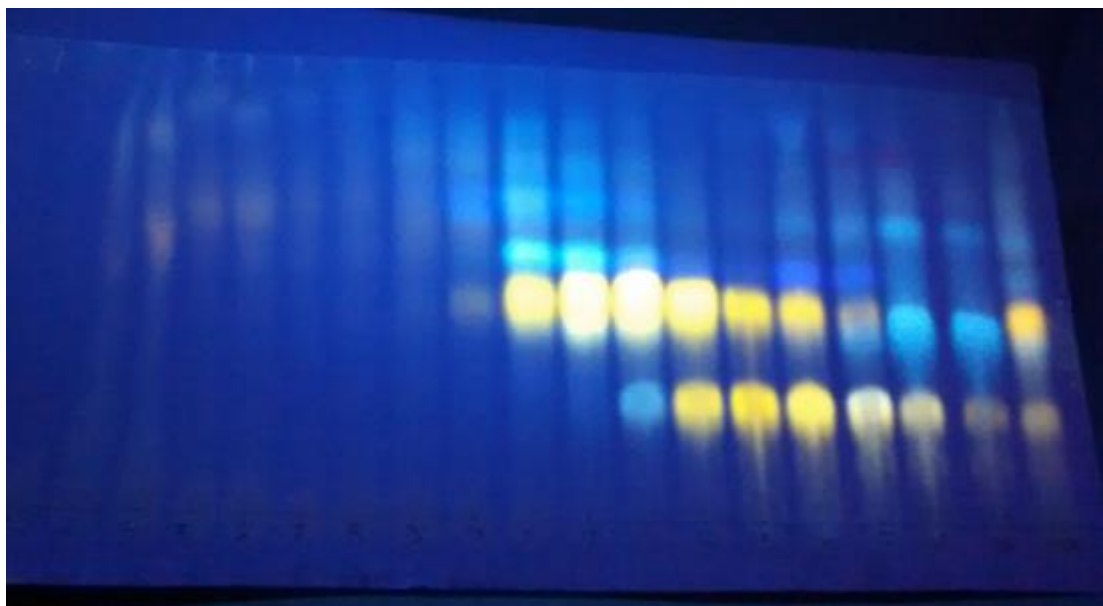
Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες κυτταρίνης. Ως συστήματα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκαν τα συστήματα διαλυτών H₂O:Acetic Acid 85:15 και 80:20. Όσα κλάσματα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.40: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης Cdent_M

Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)	Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Cdent _M 1:	0.010	Cdent _M 16:	0.0307
Cdent _M 2:	0.0229	Cdent _M 17:	0.0502
Cdent _M 3:	0.0306	Cdent _M 18:	0.0211

Cdent _M 4:	0.0498	Cdent _M 19:	0.0152
Cdent _M 5:	0.0413	Cdent _M 20:	0.0089
Cdent _M 6:	0.0553	Cdent _M 21:	0.0070
Cdent _M 7:	0.0782	Cdent _M 22:	0.0090
Cdent _M 8:	0.0330	Cdent _M 23:	0.0040
Cdent _M 9:	0.0126	Cdent _M 24:	0.0030
Cdent _M 10:	0.0099	Cdent _M 25:	0.0035
Cdent _M 11:	0.0308	Cdent _M 26:	0.0052
Cdent _M 12:	0.0272	Cdent _M 27:	0.0041
Cdent _M 13:	0.0163	Cdent _M 28:	0.0045
Cdent _M 14:	0.0345	Cdent _M 29:	0.003
Cdent _M 15:	0.0316		

Περαιτέρω μελετήθηκαν τα κλάσματα **Cdent_M13**, **Cdent_M14**, καθώς και **Cdent_M20**.



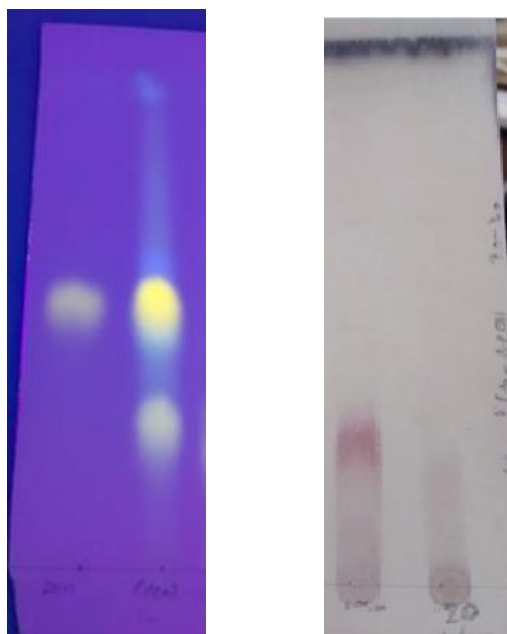
Εικόνα 3.22: Συνενωμένα κλάσματα στήλης Sephadex (κυτ H₂O:AcOH 85:15)

Το κλάσμα **Cdent_M12** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 85:15. Πραγματοποιήθηκε απόξεση της ζώνης Cdent_M12.1, η οποία ταυτοποιήθηκε το **καφεϊκό οξύ**, (4.5mg), η φασματοσκοπική μελέτη του οποίου έχει πραγματοποιηθεί στην υποενότητα 3.3.4.3.

Το κλάσμα **Cdent_M13** υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS και ακολούθησε λήψη του ¹H-NMR φάσματος του. Η σύγκρισή του με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας οδήγησε στην ταυτοποίηση της ουσίας ως το **4-υδρόξυφαινυλ-γαλακτικό οξύ** (16mg).

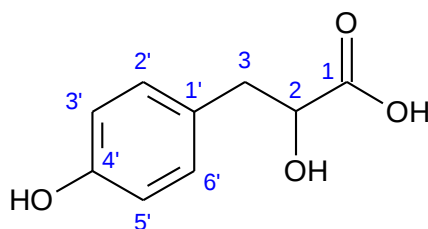
Η συνένωση **Cdent_M14** υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Ως σύστημα ανάπτυξης χρησιμοποιήθηκε το σύστημα διαλυτών H₂O:Acetic acid 85:15. Πραγματοποιήθηκε απόξεση της ζώνης Cdent_M14.1, Η οποία ταυτοποιήθηκε ως ο **κερκέτινο 3-O-α-L-ραμνόσυλ-(1→6)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης** (ρουτίνη) (4mg), η φασματοσκοπική μελέτη του οποίου έχει πραγματοποιηθεί στην υποενότητα 3.3.4.3.

Το κλάσμα **Cdent_M20** (6mg) υποβλήθηκε σε συγχρωματογράφηση με πρότυπο ροσμαρινικό οξύ και ακολούθησε λήψη του ¹H NMR φάσματος του. Η σύγκρισή οδήγησε στην ταυτοποίηση της ουσίας ως το **ροσμαρινικό οξύ**, η φασματοσκοπική μελέτη του οποίου έχει πραγματοποιηθεί στην υποενότητα 3.3.4.6.



Εικόνα 3.23: Συγχρωματογράφηση κλάσμάτων Cdent_M14 με ρουτίνη και Cdent_M20 με ροσμαρινικό οξύ.

1.Φασματοσκοπική μελέτη του (4-υδρόξυφαινυλ)–γαλακτικού οξέος



Η συνένωση Cdent 13 απομονώθηκε ως άμορφο καφέ πορτοκαλί στερεό . Ψεκάσμός της κηλίδας της σε silica TLC με αντιδραστήριο θειικής βανιλίνης δίνει πορτοκαλί χρώση.



Εικόνα 3.24: TLC Cdent 13 (Sil. DCM: MeOH 70:30)

Η φασματοσκοπική ανάλυση της ουσίας σε D₂O με φάσμα ¹H-NMR, καθώς και η σύγκριση του φάσματος με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (www.hmdb.ca/spectra/nmr_one_d/1524) οδήγησε στην απόδοση της δομής της ουσίας **(4-υδρόξυφαινυλ)–γαλακτικό οξύ** :

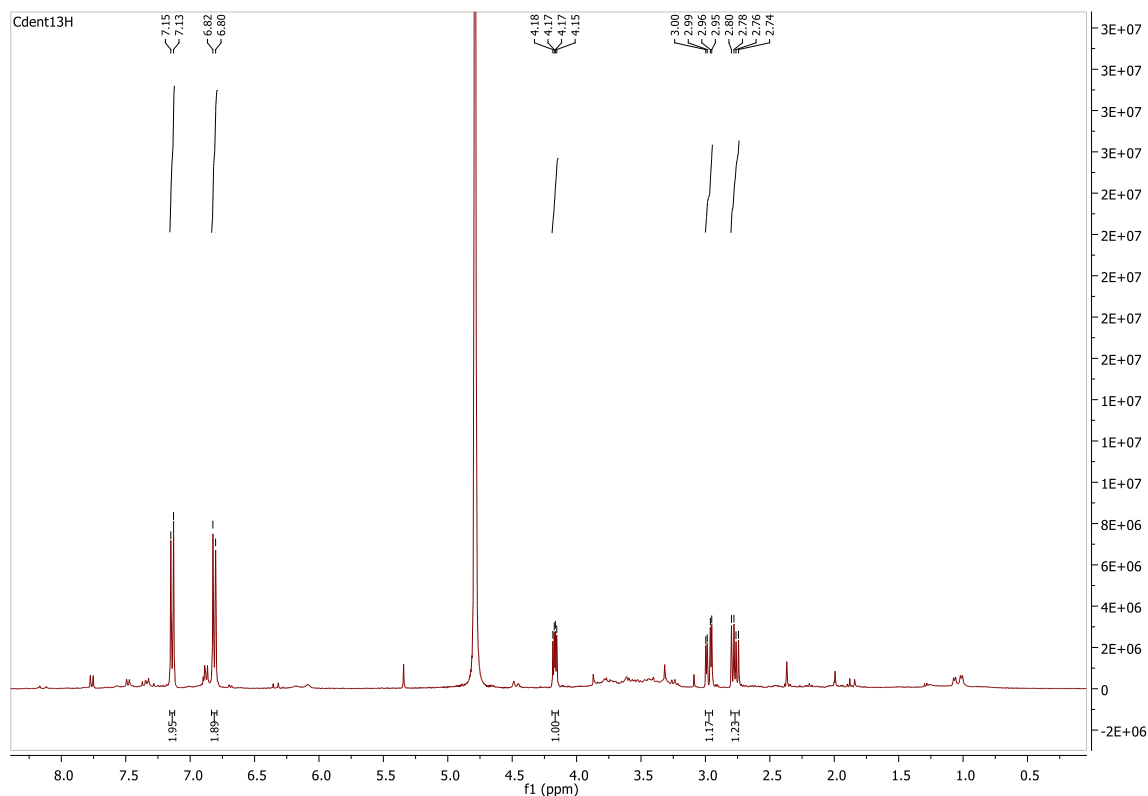
Στο φάσμα ¹H NMR παρατηρείται μια διπλή κορυφή στα 7.14ppm που ολοκληρώνει για δυο πρωτόνια (H-2'/6') με σταθερά σύζευξης $J = 7.9$ Hz καθώς και μία διπλή κορυφή στα 6.81 ppm (H- 3'/5') με ολοκλήρωση για 1H και $J = 7.9$ Hz. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη ενός *πάρα*-μονοϋποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα. Εντοπίζονται επίσης μία διπλή διπλής κορυφή στα 4.18ppm (H-2) με ολοκλήρωση για ένα πρωτόνιο και $J = 3.5/8.1$ Hz καθώς και δύο διπλές διπλών

κορυφές στα 3.04 και 2.87 ppm (H-3) με ολοκλήρωση για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και $J = 3.1/14.1\text{Hz}$ και $J = 8.2/14.1\text{Hz}$

Πίνακας 3.41 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H του (4-υδρόξυφαινυλ) –γαλακτικού οξέος

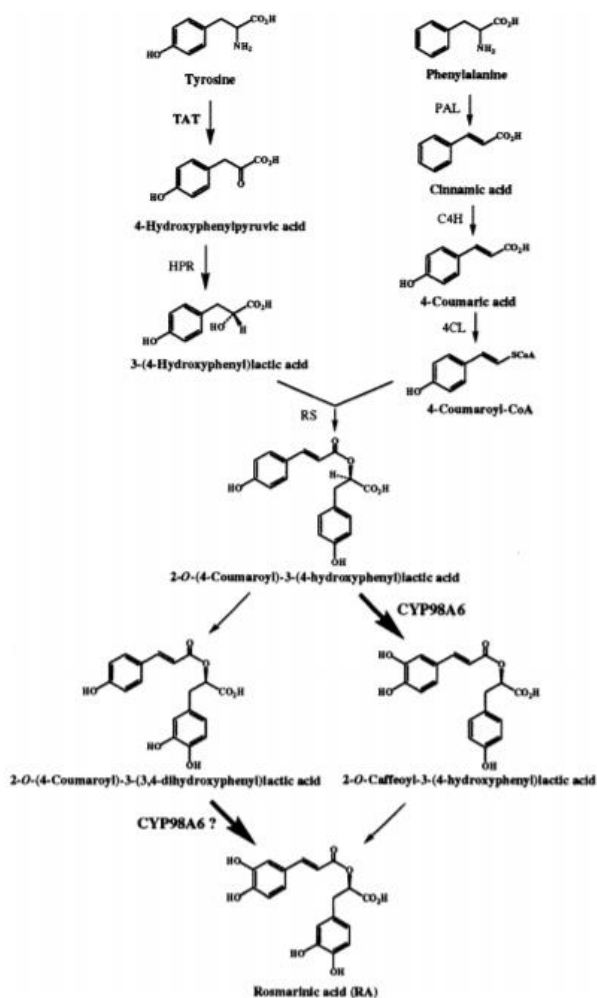
Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
2'/6'	7.14	2H	d	7.9
3'/5'	6.81	2H	d	7.9
2	4.18	1H	dd	3.5/8.1
3a	2.98	1H	dd	3.1/14.1
3b	2.77	1H	dd	8.2/14.1

^1H NMR:



Το (4-υδρόξυφαινυλ)-γαλακτικό οξύ είναι ένας μεταβολίτης τυροσίνης. Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο φυτό *Lithospermum erythrorhizon* (Boraginaceae) απέδειξαν πως συμμετέχει στη σύνθεση του ροσμαρινικού οξέος καθώς η συνθάση του ροσμαρινικού οξέος πραγματοποιεί την συνένωση του με το 4- κουμαρικό CoA προς παραγωγή α-O- 4- κουμαρόυλ- CoA (CPHL). Στη συνέχεια το (CPHL)

μετατρέπεται σε ροσμαρινικό οξύ μέσω δύο διαδοχικών αντιδράσεων υδροξυλίωσης.
(Matsuno et al., 2002)



Εικόνα 3.25: Πορεία σύνθεσης ροσμαρινικού οξέος

Η ουσία έχει επιδείξει αντιμυκητιασικές ιδιότητες (Axel et al., 2016). Έχει ανιχνευθεί μεταξύ άλλων από τα *Lithospermum erythrorhizon* (Boraginaceae), *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae, Gubiana et al., 2016), *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae, Landmann et al., 2011) και *Melissa officinalis* (Lamiaceae, Weitzel C. et al., 2011). Τέλος, έχει ανιχνευθεί και απομονωθεί ξανά από είδη του γένους *Cordia* και πιο συγκεκριμένα από τα *Cordia rothii* (Firdous et al., 2014), *Cordia macleodii* (Thuripathi et al., 2008, El- Sayed et al., 1998) και *Cordia sinensis* (Firdous et al., 2014).

3.6 *Cordia linnaei* Stearn

3.6.1 Εκχυλίσσεις του φυτικού υλικού

Περίπου 10 gr κονιοποιημένων φύλλων του φυτού *Cordia linnaei* εκχυλίστηκαν με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη. Η εκχύλιση στον εκάστοτε διαλύτη επαναλήφθηκε δύο φορές με εμβάπτιση του φυτικού υλικού σε περίπου 200 ml διαλύτη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

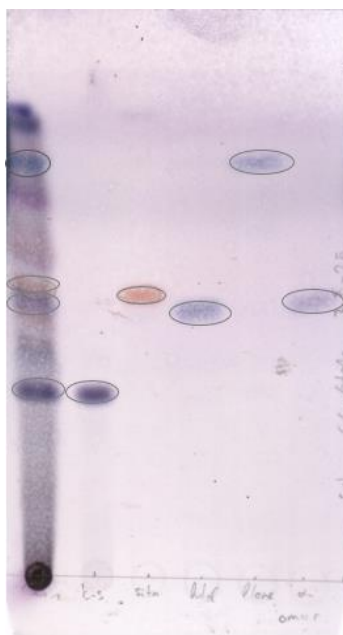
Τα εκχυλίσματα κάθε διαλύτη συμπυκνώθηκαν με εξάτμιση υπό κενό μέχρι ξηρού και ζυγίσθηκαν. Το τελικό βάρος κάθε εκχυλίσματος ήταν το ακόλουθο:

Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cl_{inDCM} : 0.350 gr

Μεθανολικό εκχύλισμα Cl_{inMeOH} : 0.190 gr

3.6.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα Cl_{inDCM}

Πραγματοποιήθηκε συγχρωματογράφιση του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος σε TLC σε πλάκες silica gel (C6- EtOAC 75:25) με τις πρότυπες ουσίες β- σιτοστερόλη, σιτοστενόνη, α αμυρίνη, λουπεόλη και λουπενόνη από την αρχειοθήκη του εργαστηρίου μας. Από τη διαδικασία επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη των ενώσεων β- σιτοστερόλη, σιτοστενόνη, α αμυρίνη, λουπεόλη και λουπενόνη.



Εικόνα 3.26: TLC C_{inDCM} και πρότυπων ενώσεων

Από το ξηρό διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (Clin_{DCM}) λήφθηκαν 270 mg τα οποία υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης (διαμέτρου 1.5 cm) με στατική φάση flash silica gel (0.040-0.063 mm). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε σύστημα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας. Συνολικά παρελήφθησαν 520 κλάσματα όγκου 5-10ml. Τα στοιχεία της έκλουσης παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.42: Στοιχεία έκλουσης από τη χρωματογραφία στήλης Clin_{DCM}

Κλάσματα	Συστήματα διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)
1-20	Cyclohexane 100%	200
20-75	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 90/10	250
76-95	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 80/20	200
96-145	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 70/30	400
146-183	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 60/40	400
184-216	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 50/50	500
217-230	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 40/60	200
231-260	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 30/70	300
261-303	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 20/80	300
305-340	Cyclohexane/CH ₂ Cl ₂ 10/90	400
341-375	CH ₂ Cl ₂ 100	300
375-442	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 98/2	400
443-469	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 95/5	200
470-492	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 90/10	200
593-520	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 80/20	200

Όλα τα κλάσματα, ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκες τύπου silica gel F₂₅₄. Όσα κλάσματα εμφάνισαν την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώθηκαν, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.43: Συνενώσεις κλασμάτων στήλης Clin_{DCM}

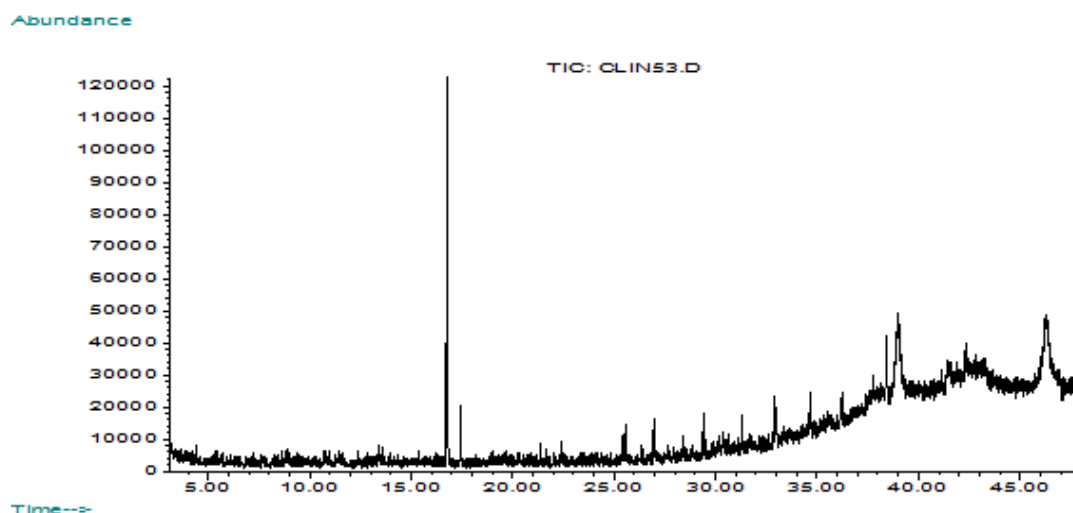
Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)	Συνενώσεις κλασμάτων	Βάρος (g)
Clin _D 1: 1-15	0.004	Clin _D 16: 209-235	0.004
Clin _D 2: 16-26	0.012	Clin _D 17: 236-261	0.004
Clin _D 3: 27-31	0.003	Clin _D 18: 262-285	0.003
Clin _D 4: 32-38	0.004	Clin _D 19: 286-307	0.005
Clin _D 5: 39-49	0.004	Clin _D 20: 308-335	0.004
Clin _D 6: 50-68	0.003	Clin _D 21: 336-343	0.023
Clin _D 7: 69-76	0.005	Clin _D 22: 344-351	0.015
Clin _D 8: 77-86	0.004	Clin _D 23: 352-370	0.008

Clin _D 9: 87-97	0.002	Clin _D 24: 371-387	0.016
Clin _D 10: 98-108	0.007	Clin _D 25: 388-409	0.014
Clin _D 11: 109-116	0.004	Clin _D 26: 410-438	0.025
Clin _D 12: 117-134	0.003	Clin _D 27: 439-462	0.009
Clin _D 13: 135-150	0.005	Clin _D 28: 463-490	0.013
Clin _D 14: 151-165	0.006	Clin _D 29: 491-505	0.007
Clin _D 15: 166-208	0.006	Clin _D 30: 506-520	0.006

Περαιτέρω μελετήθηκαν οι συνενώσεις Clin_D7, Clin_D13, Clin_D14 και Clin_D16.

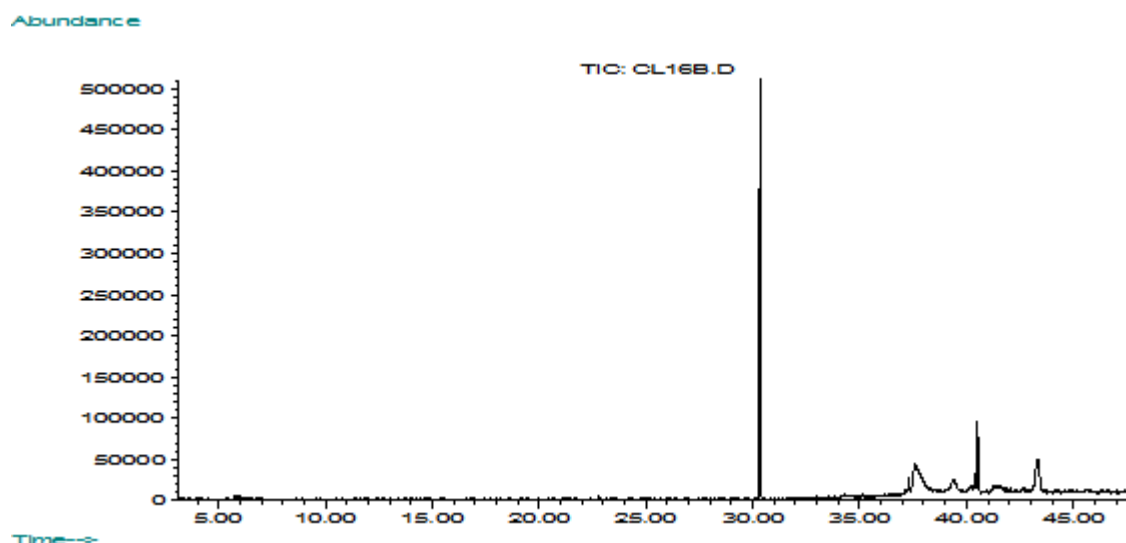
Η συνένωση **Clin_D7** υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS. Στο χρωματογράφημα εμφανίστηκε μία κορυφή με χρόνο ανάλυσης Rt: 16.77 min. Συγκρίνοντας το φάσμα μάζας της συγκεκριμένης κορυφής με βιβλιογραφικά δεδομένα παρατηρήθηκε η ταύτιση του με εκείνο του σεσκιτερπενίου **οξειδίου του καρυοφυλλενίου** (caryophyllene oxide).

Χρωματογράφημα Clin_D7:



Αντίστοιχα σε χρωματογραφία GC-MS υποβλήθηκε και το κλάσμα **Clin_D16**. Στο χρωματογράφημά του οι κορυφές με χρόνο ανάλυσης Rt: 37.6min και 43.3min ταυτοποιήθηκαν ως οι φυτοστερόλες **β- σιτοστερόλη** και **σιτοστενόνη**.

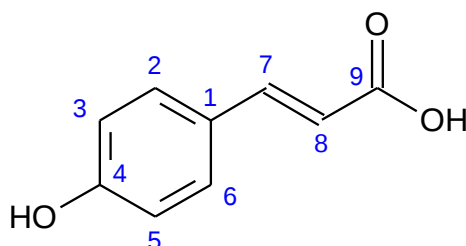
Χρωματογράφημα Clin_D16:



Η συνένωση **Clin_D13** (5 mg) υποβλήθηκε σε ¹H-NMR. Ανάλυση του φάσματος και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα οδήγησε στη ταυτοποίηση της ουσίας ως το φαινολικό οξύ **παρα- κουμαρικό οξύ**.

Ομοίως, σε ¹H-NMR υποβλήθηκε και η συνένωση **Clin_D14** (6 mg). Ανάλυση του φάσματος της και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα οδήγησε στο συμπέρασμα πως πρόκειται για μίγμα του φλαβονοειδούς **καιμπφερόλη** με το **παρα- κουμαρικό οξύ**.

1. Φασματοσκοπική μελέτη του παρα- κουμαρικού οξέος



Η συνένωση Clin_D13 απομονώθηκε ως άμορφο καφέ πορτοκαλί στερεό . Η φασματοσκοπική ανάλυση της ουσίας με φάσμα ¹H-NMR (CDCl₃), και η σύγκριση με την βιβλιογραφία (Yi et al., 2010) οδήγησε στην απόδοση της δομής ως **παρα- κουμαρικό οξύ**.

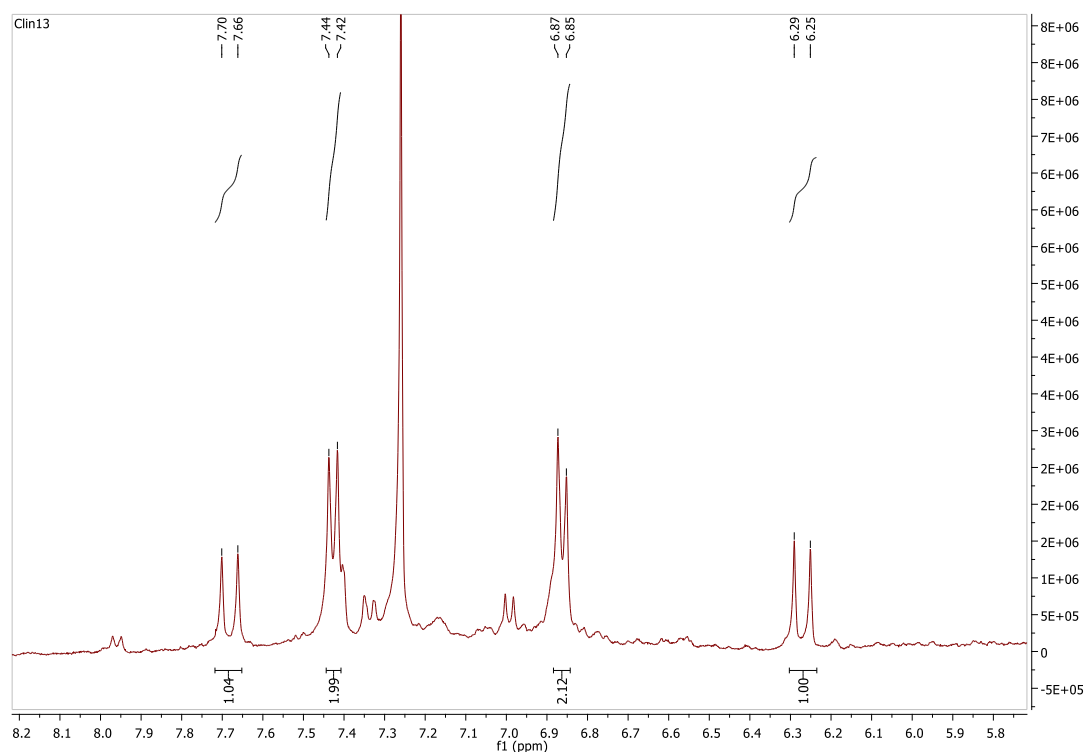
Στο φάσμα ¹H NMR παρατηρείται μια διπλή κορυφή στα 7.34ppm που ολοκληρώνει για δυο πρωτόνια (H-2'/6') με σταθερά σύζευξης $J = 8.1$ Hz καθώς και μία διπλή

κορυφή στα 6.86 ppm (H- 3'/5') με ολοκλήρωση για 2H και $J = 7.9$ Hz. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη ενός *πάρα*-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα. Εντοπίζονται επίσης δύο διπλές κορυφές στα 7.67 ppm (H-7) και 6.27 ppm (H-8) με ολοκλήρωση για ένα πρωτόνιο η καθεμία και σταθερά σύζευξης $J = 15.6$ Hz, που είναι χαρακτηριστική ενός *trans* διπλού δεσμού.

Πίνακας 3.44 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H του *παρα*- κουμαρικού οξέος.

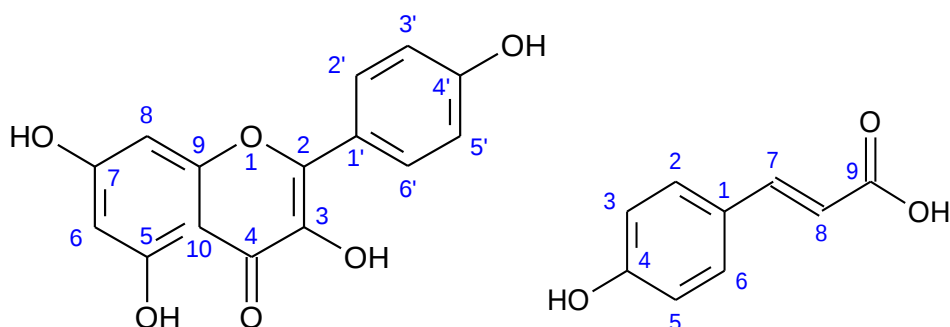
Θέση	^1H , δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
2/6	7.43	2H	d	8.1
3/5	6.86	2H	d	7.9
7	7.67	1H	d	15.6
8	6.27	1H	d	15.6

^1H NMR:



Το *παρα*-κουμαρικό οξύ έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Kilic et al., 2013) και πιστεύεται ότι ελατώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του στομάχου (Ferguson et al., 2005) με τη μείωση του σχηματισμού καρκινογόνων νιτροζαμινών (Kikugawa et al., 1983). Καταδεικνύει επίσης αντι-φλεγμονώδη και ανοσορρυθμιστική δράση (Pragasam et al., 2013).

2.Φασματοσκοπική μελέτη του μίγματος καιμπφερόλης, *p*-κουμαρικού οξέος



Η συνένωση Clitoria₁₄ απομονώθηκε ως άμορφο κίτρινο στερεό . Ψεκασμός της κηλίδας της σε silica TLC με αντιδραστήριο θειικής βανιλίνης δίνει κίτρινο και γκρί χρώση.

Η φασματοσκοπική ανάλυση της ουσίας σε CDCl₃ με φάσμα ¹H-NMR, καθώς και η σύγκρισή του φάσματος με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Aderogba et al., 2012, Li et al., 2008, Yi et al., 2010) οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για μίγμα του φλαβονοειδούς καιμπφερόλη με το *para*- κουμαρικό οξύ.

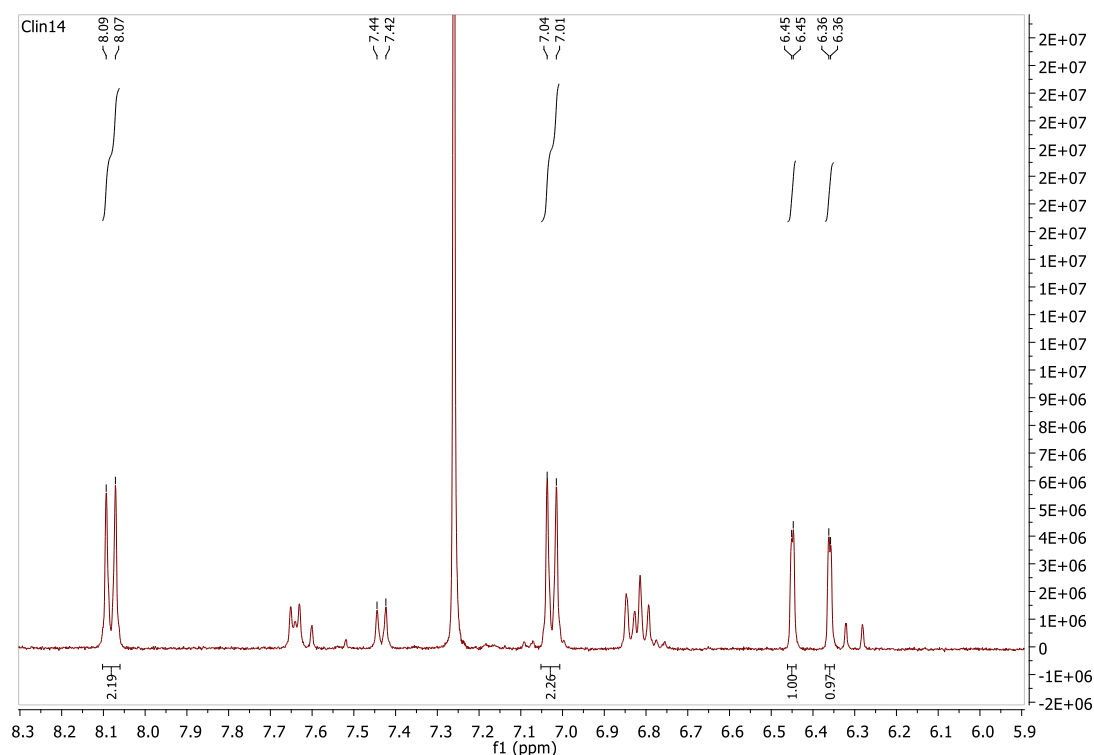
Στο φάσμα ¹H NMR παρατηρείται μια διπλή κορυφή στα 8.08ppm (H-2'/H-6') με σταθερά συζευξης $J = 8.7\text{Hz}$ και μία διπλή κορυφή στα 7.02 ppm (H-3'/ H-5') με $J = 8.7\text{Hz}$ με που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια η καθεμία. Τα στοιχεία αυτά αποτελούν ένδειξη για την ύπαρξη ενός πάρα-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα. Επιπλέον στα 6.45 ppm (H-6) και στα 6.36 ppm (H-2) παρατηρούνται δυο διπλές κορυφές με σταθερά σύζευξης $J = 2.1\text{ Hz}$, χαρακτηριστική τιμή μετα-σύζευξης.

Παρατηρούνται ακόμη σε μικρότερη ένταση τα χαρακτηριστικά σήματα που αποδίδονται στο *para* - κουμαρικό οξύ: 7.67ppm (d, $J = 16\text{ Hz}$, H-7), 7.43ppm (d, $J = 8\text{Hz}$, H-2/H-6), 6.86ppm (d, $J = 8\text{Hz}$, H-3/H-5), 6.27ppm (d, $J = 16\text{ Hz}$,H-8).

Πίνακας 3.45 : Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H της καιμπφερόλης.

Θέση	¹ H, δ (ppm)	Ολοκλήρωση	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
2'/6'	8.08	2 ^H	d	8.7
3'/5'	7.02	2H	d	8.7
2	6.45	1 ^H	d	2.1
6	6.36	1H	d	2.1

¹H NMR:



3.6.3 Μεθανολικό εκχύλισμα Clin_{MeOH}

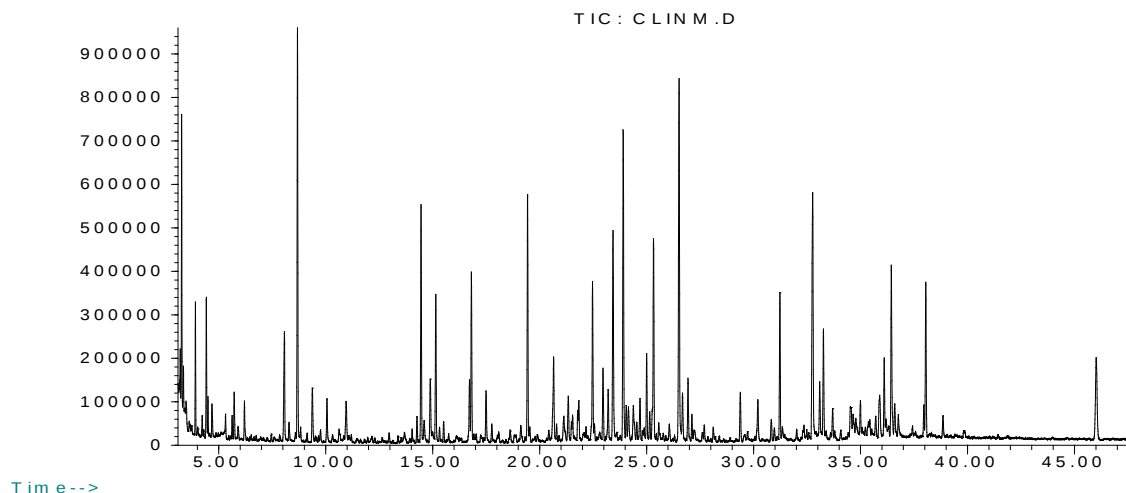
Στο σκούρο καφέ - πράσινο μεθανολικό εκχύλισμα της *Cordia linnaei* πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσες με κυκλοεξάνιο για την απομάκρυνση της χλωροφύλλης με διαδικασία αντίστοιχη εκείνης που περιγράφεται για το μεθανολικό εκχύλισμα CbicM. Μετά την τελευταία εκχύλιση η κυκλοεξανική φάση είχε αποκτήσει σκούρο πράσινο χρώμα και η μεθανολική σκούρο καστανό. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τέσσερις εκχυλίσες και η μεθανολική φάση συλλέχθηκε και συμπυκνώθηκε.

Στη συνέχεια, μικρή ποσότητα του μεθανολικού εκχυλίσματος σιλυλιώθηκε και υποβλήθηκε σε χρωματογραφία GC-MS. Στο εκχύλισμα ανιχνεύτηκαν σιλυλιωμένα παράγωγα σακχάρων, πολυολών (ερυθριτόλη, γλυκικόλη, ξυλιτόλη, μυοινοσιτόλη), λιπαρών οξέων (γαλακτικό, παλμιτικό, στεατικό), φαινολοξέων (καφεϊκό, κινναμικό, 4-υδροξυφαινυλ- γαλακτικό οξύ), του αμινοξέος λ-προλινη, του 5-υδρόξυ πιπτεκολικού οξέος καθώς και ουρίας και 4- υδροξυβενζοϊκού οξέος.

Ακολουθεί πίνακας που παρουσιάζει αναλυτικά τις ουσίες που ανιχνεύθηκαν:

Χρωματογράφημα Clin_{MeOH}

Abundance



Πίνακας 3.46: Αποτελέσματα GC-MS του μεθανολικού εκχυλίσματος της *Cordia linnaei*:

Ενώσεις	<i>C.linnaei</i> MeOH	
	Retention time	% ολοκλήρωση
lactic acid	4.42	1.92
urea	8.06	2.44
pelargonic acid	10.94	0.87
sugar(polyol)	14.46	3.73
l-proline	14.88	1.11
5-hydroxyproline	16.72	1.08
4-hydroxybenzoic acid	17.50	0.91
sugar(polyol)	19.43	3.63
3,4-dihydroxybenzoic acid	21.17	0.40
sugar	23.20	0.93
4-hydroxyphenyllactic acid	23.43	4.01
sugar	24.05	0.64
palmitic acid methyl ester	24.15	0.76
p-cinnamic acid	24.39	1.03
sugar	25.00	1.38
palmitic acid	26.51	7.13
sugar(polyol)	27.12	0.37
stearic acid	30.20	0.95
sugar	36.42	3.23
ολικό:		35.56

3.7 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

3.7.1 Περιγραφή μεθόδου

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu αποτελεί μία φωτομετρική μέθοδο η οποία αναπτύχθηκε αρχικά για τον προσδιορισμό πρωτεϊνών το 1927. Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται αντιδρά με το φαινολικό δακτύλιο της τυροσίνης σχηματίζοντας έγχρωμο προϊόν (Folin et al., 1927). Στη συνέχεια οι Singleton και Rossi βελτίωσαν τη μέθοδο και τη χρησιμοποίησαν για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών στο κρασί (Singleton et al., 1965). Η μέθοδος έγινε πολύ δημοφιλής και έκτοτε χρησιμοποιείται ευρέως για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών διαφόρων φυσικών προϊόντων.

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu είναι μίγμα μολυβδαινικού νατρίου (Na_2MoO_4), βολφραμικού νατρίου (Na_2WO_4), και φωσφορικού οξέος (H_3PO_4). Παρασκευάζεται με ανάμιξη $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, π.ΗCl, 85% H_3PO_4 σε ύδωρ και βράσιμο για 10 ώρες. Κατόπιν προστίθεται $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ που του δίνει ένα χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα. Σχηματίζονται $3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 13\text{WO}_3 \cdot 5\text{MoO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ και $3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 14\text{WO}_3 \cdot 4\text{MoO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ και η αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η αναγωγή του Mo(VI) σε Mo(V) με μεταφορά ενός ηλεκτρονίου (Singleton et al., 1965). Προκαλείται οξείδωση των φαινολικών ενώσεων με ταυτόχρονη αναγωγή των οξέων. Οι φαινολικές ενώσεις για να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu απαιτούν βασικό περιβάλλον, γι' αυτό πριν από την προσθήκη του αντιδραστήριου το pH του δείγματος πρέπει να γίνεται βασικό (pH=10) με την προσθήκη διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3). Η απόσπαση ενός φαινολικού πρωτονίου οδηγεί στο σχηματισμό ενός φαινολικού ανιόντος, που ανάγει το αντιδραστήριο, σχηματίζοντας ένα βαθύ μπλε σύμπλοκο μολυβδαινίου–βολφραμίου, που απορροφά στο ορατό σε μήκος κύματος 725-750 nm (Singleton et al., 1965). Στην πραγματικότητα, λοιπόν, προσδιορίζεται η αναγωγική ικανότητα του δείγματος, αφού η αντίδραση που πραγματοποιείται είναι μια οξειδοαναγωγή (Gutfinger, 1981). Η αντίδραση αυτή βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων, και για αυτό το λόγο το πολυφαινολικό προφίλ που προσδιορίζεται με τη μέθοδο F-C παρουσιάζει πολύ καλή γραμμική συσχέτιση με την αντιοξειδωτική ικανότητα που προσδιορίζεται με άλλες αντιοξειδωτικές μεθόδους που περιλαμβάνουν μεταφορά ηλεκτρονίων.

Η μέθοδος τροποποιήθηκε και ως εσωτερικό πρότυπο για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το καφεϊκό οξύ, ενώ οι μετρήσεις έγιναν στα 725 nm.

3.7.2 Οργανολογία

- Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού UV-1700 series Pharmaspec της εταιρίας Shimadzu, ρυθμισμένο στα 725nm (Gutfinger, 1981). Οι λάμπες του οργάνου ήταν μια λάμπα αλογόνου (Halogen WI) και μια λάμπα δευτερίου (Deuterium D2).
- Κυψελίδες μιας χρήσης, πλάτους 1 cm.
- Πιπέτες ακριβείας των 100μL και των 1000μL της εταιρείας Gilson.
- Συσκευή μηχανικής ανάδευσης (Vortex)
- Σωληνάκια Eppendorf

3.7.3 Διαδικασία

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τα μεθανολικά εκχυλίσματα των *C. bicolor*, *C.megalantha*, *C.dentata* και *C.linnaei*. Αρχικά κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη αναφοράς του καφεϊκού οξέος, ενώ ακολούθως πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για πυκνά και για αραιά διαλύματα των εκχυλισμάτων. Οι τιμές που ελήφθησαν στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis ήταν διπλές ώστε να επιτευχθεί η εξασφάλιση της επαναληψιμότητας και της ακρίβειας και εκφράζονται σε ισοδύναμα καφεϊκού οξέος (Caffeic Acid Equivalents, CAE)/g εκχυλίσματος.

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Για το stock solution του καφεϊκού διαλύθηκαν 10 mg καφεϊκό οξύ σε 1 mL μεθανόλης. Το αραιό stock solution φτιάχτηκε αραιώνοντας 25μL από το stock solution του καφεϊκού οξέος σε 975 μL μεθανόλης. Τα δείγματα του καφεϊκού οξέος παρασκευάστηκαν όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί. Εν συνεχεία τα δείγματα φυλάχτηκαν σε σκοτεινό μέρος για 1 h. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε, ως προς το τυφλό δείγμα, στα 725 nm. Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται επακριβώς οι ποσότητες για κάθε αντιδραστήριο:

Πίνακας 3.47: Ποσότητες για την ετοιμασία δειγμάτων για την καμπύλη αναφοράς

	Καφεϊκό οξύ (μg)	αραιό δ/μα καφεϊκού οξέος (μL)	dd H ₂ O (μL)	F-C (μL)	Na ₂ CO ₃ (μL)
τυφλό	0	0	600	60	120
1a/1b	1	4	596	60	120
2a/2b	2	8	592	60	120
3a/3b	4	16	584	60	120
4a/4b	6	24	576	60	120
5a/5b	8	32	568	60	120
6a/6b	10	40	560	60	120
7a/7b	12	48	552	60	120

Ετοιμασία δειγμάτων

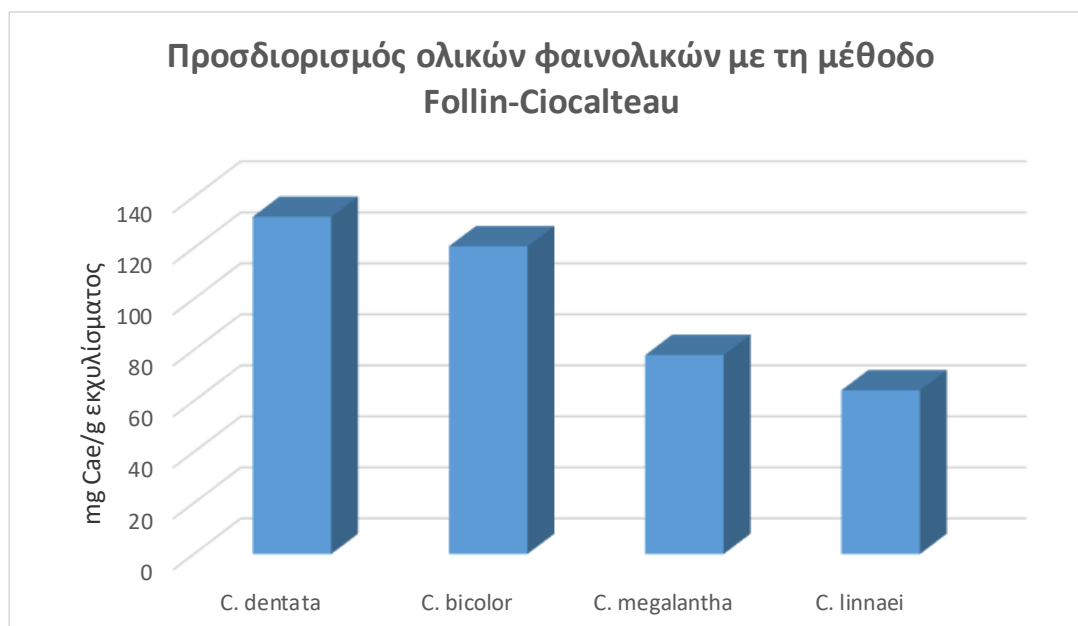
Ο προσδιορισμός των ολικών φαινολών έγινε στα μεθανολικά εκχυλίσματα. Ζυγίστηκαν 10 mg εκχυλίσματος για κάθε φυτό και διαλύθηκαν σε 1 mL MeOH για να φτιαχτεί το "πυκνό" δείγμα. Κατόπιν το δείγμα αυτό αραιώθηκε 10 φορές, δηλαδή στα 100 μL πυκνού δείγματος προστέθηκαν 900 μL MeOH. Για κάθε εκχύλισμα, ετοιμάστηκαν δύο πυκνά δείγματα, καθώς και δύο αραιά δείγματα, ώστε η φωτομέτρηση να είναι όσο το δυνατόν ακριβέστερη. Η διαδικασία για την ετοιμασία των δειγμάτων είναι ίδια με την προηγούμενη. τα δείγματα φυλάχθηκαν σε ηρεμία για 1 ώρα. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρήθηκε στα 725 nm.

3.7.4 Αποτελέσματα προσδιορισμού ολικών φαινολικών

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τον προσδιορισμό των ολικών φαινολικών σε όλα τα μεθανολικά εκχυλίσματα με την τροποποιημένη μέθοδο Folin-Ciocalteu, εκφρασμένα σε mg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος (caffeic acid equivalents, CAE)/g εκχυλίσματος.

Πίνακας 3.48: Αποτελέσματα προσδιορισμού ολικών φαινολικών σε εκχυλίσματα Cordia

Μεθανολικό εκχύλισμα	mg CAE/g εκχυλίσματος
<i>C. bicolor</i>	120.6
<i>C. megalantha</i>	78
<i>C. dentata</i>	132.2
<i>C. linnaei</i>	64.5



Τα αποτελέσματα της μεθόδου φανερώνουν πως τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ολικών φαινολικών ανά γραμμάριο εκχυλίσματος επιδεικνύουν τα φύλλα της *C. dentata* (132 mg CAE/g εκχυλίσματος). Ακολουθεί η *C. bicolor* (120.6 mg CAE/g εκχυλίσματος) ενώ αρκετά χαμηλότερη συγκέντρωση εμφανίζουν τα φύλλα των *C. megalantha* και *C. linnaei* (78 και 64 mg CAE/g εκχυλίσματος αντίστοιχα).

3.8 Ανίχνευση αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης

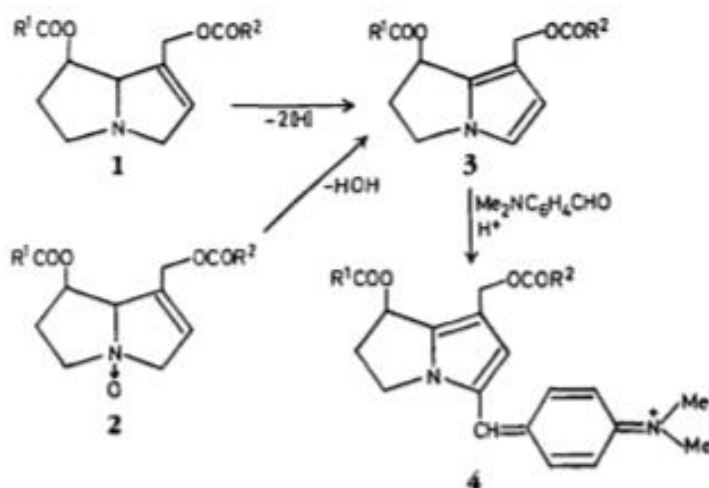
3.8.1 Περιγραφή μεθόδου

Η ύπαρξη τοξικών αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης αποτελεί χαρακτηριστικό των φυτών της οικογένειας Boraginaceae και παρόλο που ως τώρα έχουν αναφερθεί μόνο δύο φορές σε είδη του γένους *Cordia* κρίθηκε σκόπιμο να πραγματοποιηθεί μία μελέτη σε αρχικό δείγμα των φυτών.

Η μέθοδος που επιλέχθηκε αποτελεί ένα ποσοτικό τεστ ανίχνευσης ακόρεστων αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (pyrrolizidine alkaloids PAs) καθώς και των N- οξειδίων τους. Είναι ικανή να ανιχνεύσει όλα τα ηπατοτοξικά PAs εκτός από εκείνα που έχουν ως βάση τους την οτονεκίνη, ενώ δεν αποκρίνεται στα περισσότερα κορεσμένα αλκαλοειδή. Το τεστ αυτό έχει επιβεβαιώσει την ύπαρξη αλκαλοειδών τόσο σε φρέσκα όσο και σε αποξηραμένα φύλλα, ρίζες, ξύλινα υλικά, καρπούς και τρόφιμα

προερχόμενα από φυτά όπως το αλεύρι.βιβλιογραφία Υψηλά επίπεδα N- οξειδικών PAs εντοπίστηκαν ακόμη και σε αποξηραμένα φυτικά υλικά ηλικίας άνω των είκοσι ετών.

Κατά τη διάρκεια της μεθόδου τόσο τα αλκαλοειδή όσο και τα N- οξείδια τους μετατρέπονται σε πυρρολικά παράγωγα τα οποία κατόπιν αντιδρούν με το αντιδραστήριο Ehrlich εμφανίζοντας έντονη μωβ - κόκκινη χρώση (magenta). Τα N-οξείδια μετατρέπονται σε πυρρόλες χρησιμοποιώντας σύμπλοκα ιόντων, ενώ τα βασικά αλκαλοειδή υφίστανται αφυδρογόνωση προς τις αντίστοιχες πυρρόλες μέσω του αντιδραστηρίου o-chloranil. Δεδομένου ότι τα περισσότερα ηπατοτοξικά πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή είναι άκωστα ο συγκεκριμένος τρόπος ανίχνευσης εντοπίζει τα περισσότερα τοξικά αλκαλοειδή, με μοναδική εξαίρεση τους εστέρες της ονονεκίνης, όπως η σενκιρκίνη και η πετασιτενίνη.



Εικόνα 3.28: Αφυδρογόνωση ενός αλκαλοειδούς πυρρολιζιδίνης (1) ή αφυδάτωση ενός πυρρολιζιδινικού N- οξειδίου (2) προς σχηματισμό μίας διύδρο- πυρρολιζιδινικής (πυρρολίκης) ένωσης, η οποία δίνει ένα μωβ- κόκκινο παράγωγο με προσθήκη του αντιδραστηρίου Ehrlich

3.8.2 Αντιδραστήρια

Για την περάτωση του πειράματος απαραίτητα ήταν και τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

- Μεθανόλη περιέχουσα αιθυλενογλυκόλη σε αναλογία 5% v/v (MeOH: ethylene glycol 5% v/v)
- N- hexane
- FeSO₄ (2% w/v) σε MeOH (διάρκεια ζωής 8 ώρες)

- o- Chloranil (0.5% w/v) σε ακετονιτρίλιο (διάρκεια ζωής 8 ώρες)
- Διάλυμα ασκορβικού οξέος κορεσμένου σε μεθανόλη (διάρκεια ζωής 24 ώρες)
- Αντιδραστήριο Ehrlich (βλ. εν. 3.1)

3.8.3 Διαδικασία

Ο έλεγχος ανίχνευσης τοξικών πυρρολιζιδινικών αλκαλοειδών πραγματοποιήθηκε στα ακόλουθα δέκα είδη της οικογένεια Boraginaceae: *Cordia alliodora* (ρίζες), *C. bicolor* (φύλλα), *C. collococca* (φύλλα), *C. dentata* (φύλλα), *C. linnaei* (φύλλα), *C. megalantha* (φύλλα), *C. panamensis* (φύλλα), *Heliotropium indicum* (υπέργειο), *H. procumbens* (υπέργειο) και *Tournefortia angustiflora* (φύλλα). Η διαδικασία που περιγράφεται παρακάτω ακολουθήθηκε για όλα τα φυτά εκτός της *C. alliodora*. Στο συγκεκριμένο φυτό δε χρειάστηκε να γίνουν οι ενέργειες απομάκρυνσης χλωροφύλλης δεδομένου ότι εξετάστηκαν ρίζες. Για την επιβεβαίωση της ορθότητας της πρακτικής ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε στο φυτό *Onosma kaherei* (υπέργειο τμήμα) το οποίο είναι γνωστό ότι περιέχει N-οξειδα PAs (Ορφανού, 2014).

Περίπου ένα γραμμάριο φυτικού υλικού αναμιγνύεται στο γουδί με μικρή ποσότητα καθαρής άμμου και 8ml διαλύματος MeOH/glycol και αναδεύεται με προσοχή. Η εκχύλιση των αλκαλοειδών από το αποξηραμένο υλικό βελτιώνεται σημαντικά εάν το δείγμα παραμείνει σε επαφή με τον διαλύτη τουλάχιστον πέντε λεπτά πριν την εκχύλιση.

Το μίγμα διηθείται υπό κενό με το διήθημα να συλλέγεται και να μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη στην οποία προστίθεται και ίσος όγκος n- hexane. Ακολουθεί εκχύλιση προκειμένου να απομακρυνθεί από τη μεθανολική φάση η χλωροφύλλη. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται τόσες φορές (συνήθως τρεις) όσες είναι απαραίτητο ώστε το μεγαλύτερο ποσοστό χλωροφύλλης να έχει μετακινηθεί προς την εξανική (άνω)φάση.

Η μεθανολική φάση διαιρείται σε τρεις ίσες ποσότητες οι οποίες μεταγγίζονται σε τρεις δοκιμαστικούς σωλήνες. (Α: τυφλό, Β: για βασικά, C: N- οξειδία). Στον δοκιμαστικό σωλήνα Β προστίθενται 0.1 με 0.2 ml αντιδραστήριου o-Chloranil, ενώ στον C προστίθενται 0.1 με 0.2 ml αντιδραστήριου FeSO₄. Σε περίπτωση εμφάνισης πράσινου ιζήματος προστίθεται περισσότερο FeSO₄ (έως 1ml). Ακολουθεί θέρμανση τους για ένα λεπτό στους 70-80 °C. Για να απομακρυνθεί το πορτοκαλί χρώμα από τον δοκιμαστικό σωλήνα Β προστίθενται μερικές σταγόνες μεθανολικού ASC.

Ακολουθεί η προσθήκη ενός ml από το αντιδραστήριο Ehrlich σε καθέναν από τους δοκιμαστικούς και περαιτέρω θέρμανση για ένα λεπτό. Η εμφάνιση μωβ κόκκινου χρώματος στον δεύτερο δοκιμαστικό υποδεικνύει την ύπαρξη ακόρεστων βασικών PAs. Αντίστοιχα, η χρώση του τρίτου δοκιμαστικού σωλήνα με μωβ κόκκινο χρώμα είναι ένδειξη ύπαρξης ακόρεστων N- οξειδίων των PAs.

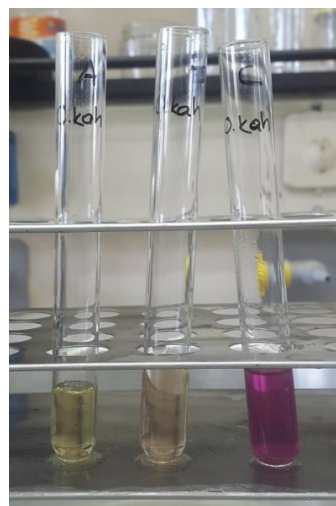
3.8.3 Αποτελέσματα

Από όλα τα εξεταζόμενα φυτά PAs ανιχνεύτηκαν στο *H.indicum* (Βασικά PAs)καθώς και στο φυτό το οποίο εξετάστηκε προκειμένου να ελεγχθεί η ορθότητα της μεθόδου, την *O. kaherei* (N- οξείδια PAs) .

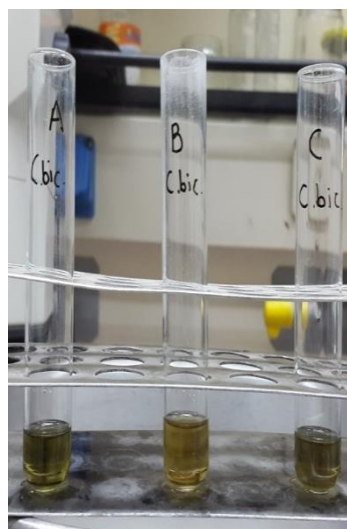
Στις παρακάτω εικόνες η πρώτη αντιστοιχεί στους δοκιμαστικούς σωλήνες μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου Chloranil στο B και του FeSO_4 στο C. Η δεύτερη εικόνα αντιστοιχεί στα σωληνάκια αφότου έχει προστεθεί το αντιδραστήριο Ehrlich και έχουν θερμανθεί. Η εμφάνιση μοβ-κόκκινου (magenta) χρώματος δείχνει την παρουσία ελεύθερων ριζών στο B και N-οξειδίων στο C.



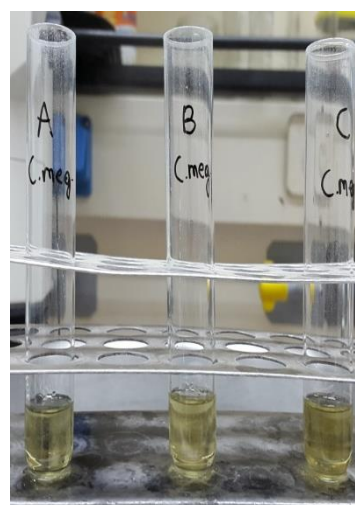
Εικόνα 3.29: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα του *Heliotropium indicum* όπου ανιχνεύονται βασικά αλκαλοειδή



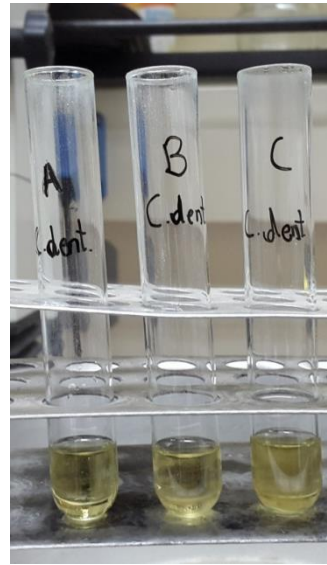
Εικόνα 3.30: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα *Onosma kahereii* όπου ανιχνεύονται Ν-οξείδια αλκαλοειδών.



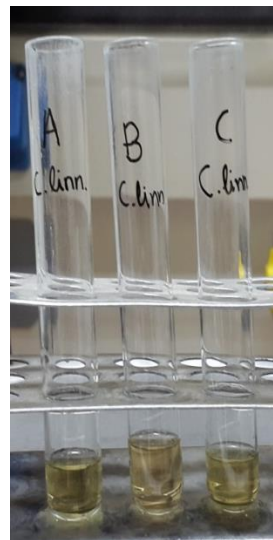
Εικόνα 3.31: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα *Cordia bicolor*.



Εικόνα 3.32: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα *Cordia megalantha*.



Εικόνα 3.33: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα *Cordia dentata*.



Εικόνα 3.34: Αποτελέσματα μεθόδου σε φύλλα *Cordia linnaei*

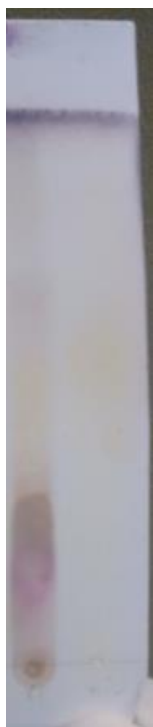
3.9 Ανίχνευση αλλαντοΐνης σε εκχυλίσματα *Cordia*

Το ουρεΐδιο αλλαντοΐνη έχει ανιχνευθεί σε πολλά φυτά της οικογένειας Boraginaceae και του γένους *Cordia* και αποτελεί μία ουσία η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στη κοσμετολογία λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων της για το δέρμα (βλ. υπ. 3.3.4.1). Στην παρούσα διπλωματική εργασία ανιχνεύθηκε από το μεθανολικό εκχύλισμα φύλλων του φυτού *Cordia bicolor*.

Πιο συγκεκριμένα, το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού υποβλήθηκε σε στήλη ρητίνης στην οποία πραγματοποιήθηκε έκλουση με μεθανόλη και νερό. Η ουσία ανιχνεύθηκε στο υδατικό κλάσμα της στήλης (C.b_{M-Y}). Με τον ίδιο τρόπο η ουσία είχε απομονωθεί ξανά στο εργαστήριο μας από το μεθανολικό εκχύλισμα ριζών του φυτού *C.alliodora* (Φουσέκη, 2015). Αξίζει να αναφερθεί πως και στις δύο περιπτώσεις η ουσία δεν ανιχνεύονταν μέσω GC-MS στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα, ενώ μετά από την κατεργασία με ρητίνη εμφανίζονταν στο χρωματογράφημα του υδατικού κλάσματος.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με νερό σε 1gr από έξι φυτά του γένους *Cordia*. (*Cordia bicolor*, *Cordia dentata*, *Cordia megalantha*, *Cordia linnaei*, *Cordia collococca* και *Cordia panamensis*). Πιο συγκεκριμένα σε 1gr φύλλων από κάθε είδος προστέθηκαν περίπου 30 ml διαλύτη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε δύο φορές. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση υπό κενό και συμπύκνωση του διηθήματος. Τα υδατικά εκχυλίσματα συγχρωματογραφήθηκαν με πρότυπη αλλαντοΐνη σε silica TLC με σύστημα ανάπτυξης DCM: MeOH 70:30. Η χαρακτηριστική κηλίδα της αλλαντοΐνης δεν εμφανίστηκε σε κανένα από τα δείγματα, συμπεριλαμβανομένης και της *Cordia bicolor*.

Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την ανίχνευση της ουσίας στο υδατικό κλάσμα μετά απο επεξεργασία του μεθανολικού εκχυλίσματος σε στήλη ρητίνης, οδηγεί στο συμπέρασμα πως η επεξεργασία αυτή είναι απαραίτητο να προηγείται της διαδικασίας ανίχνευσης της αλλαντοΐνης, προκειμένου να έχουμε αξιόπιστα αποτελέσματα



Εικόνα 3.35: Cb_{M-Y} και αλλαντοΐνη



Εικόνα 3.36: Cb_Y, Cb_M, Cb_{M-Y} και αλλαντοΐνη



Εικόνα 3.37: Υδατικά κλάσματα από 6 φυτά του γένους Cordia και αλλαντοΐνη

3.10 Βιολογικοί έλεγχοι μεθανολικών εκχυλισμάτων (prof.Zengin, Selçuk Univ.)

Αντιοξειδωτικοί έλεγχοι	<i>C. linnaei</i>	<i>C.dentata</i>	<i>C. megalantha</i>	<i>C. bicolor</i>
Total flavonoid content (mgRE/g extract)	5.36±0.03	21.56±0.64	34.68±0.24	40.81±0.45
Phosphomolybdenum assay (mmolTE/g extract)	1.01±0.14	1.35±0.09	3.28±0.22	2.08±0.15
DPPH (mgTE/g extract)	13.65±0.33	101.42±2.13	195.68±0.30	166.83±1.59
ABTS (mgTE/g extract)	38.39±0.93	152.45±1.06	476.78±1.26	268.70±10.65
CUPRAC (mgTE/g extract)	38.04±2.21	229.82±5.30	661.82±8.13	378.88±8.12
FRAP (mgTE/g extract)	22.18±0.30	129.20±4.68	370.46±9.06	242.36±9.67
Chelating activity (mgEDTA/g extract)	20.23±0.03	14.31±0.86	14.98±0.04	4.15±0.09

RE: Rutin equivalents; TE: Trolox equivalents; EDTAE: EDTA equivalents. na: not active *Data from three repetitions, with mean ± standard deviation

Έλεγχοι αναστολής ενζύμων	<i>C. linnaei</i>	<i>C.dentata</i>	<i>C. megalantha</i>	<i>C. bicolor</i>
AChE Inhibition (mgGALAE/g extract)	2.12±0.40*	1.96±0.09	2.12±0.06	1.65±0.04
BChE Inhibition (mgGALAE/g extract)	2.41±0.38	1.10±0.08	na	3.63±0.47
Amylase Inhibition (mmolACAE/g extract)	4.01±0.04	3.27±0.08	3.46±0.11	3.17±0.09
Glucosidase Inhibition (mmolACAE/g extract)	2.75±0.06	11.89±2.07	32.16±0.70	15.40±1.23

GALAE: galantamine equivalents; ACAE: acarbose equivalents; na: not active. *Data from three repetitions, with mean ± standard deviation

Συμπεράσματα

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσε η μελέτη τεσσάρων τροπικών φυτών του Παναμά του γένους *Cordia* της οικογένειας *Boraginaceae*. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν φύλλα από τα είδη *Cordia bicolor*, *Cordia megalantha*, *Cordia dentata* και *Cordia linnaei*. Είναι η πρώτη φορά που μελετώνται τα φυτά *C. bicolor* και *C. megalantha*, αλλά και τα φύλλα των *C. dentata* και *C. linnaei*.

Πραγματοποιήθηκαν διαδικασίες απομόνωσης των χημικών συστατικών των φυτών και καθορισμός της δομής τους με σύγχρονες φασματοσκοπικές μεθόδους. Συγκεκριμένα υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς το μεθανολικό εκχύλισμα των *C. bicolor* και *C. megalantha*, το διχλωρομεθανικό και το μεθανολικό εκχύλισμα της *C. dentata*, καθώς και το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα της *C. linnaei*, ενώ συνολικά απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν 16 φυσικά προϊόντα. Επίσης, εκχυλίσματα, κλάσματα και καθαρές ουσίες υποβλήθηκαν σε αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας, τα αποτελέσματα της οποίας χρησιμοποιήθηκαν ως γνώμονας για τις επακόλουθες απομονώσεις και συνεπικούρησαν στην ταυτοποίηση της δομής των ουσιών.

Πιο αναλυτικά, από την *C. bicolor* απομονώθηκαν 10 συστατικά: το ουρεΐδιο αλλαντοΐνη, τα φαινολικά οξέα ροσμαρινικό οξύ, καφεϊκό οξύ και υδρόξυ-προπανοϊκό οξύ, ο φαινολικός δισακχαρίτης ρουτίνη και ο φαινολικός μονοσακχαρίτης ισοκερκετίνη, τα οποία αναφέρονται για πρώτη φορά στο είδος. Ακόμη, οι φαινολικοί δισακχαρίτες κερκέτινο 3-O-β-D-νεοεσπεριδοσίδης και καιμπφέρολο 3-O-β-D-νεοεσπεριδοσίδης, οι οποίοι απομονώνονται πρώτη φορά από το γένος αλλά και τα φλαβονοειδή κερκέτινο 3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ-) β-D-γλυκοπυρανοσίδης και καιμπφέρολο 3-O- (2''-O-α-L- ραμνόσυλ- (6''-O-trans- p-κουμαροϋλ)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης τα οποία είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται τόσο από το γένος, όσο και από την οικογένεια *Boraginaceae*.

Από το μεθανολικό εκχύλισμα της *C. megalantha* απομονώθηκε το φαινολικό οξύ ροσμαρινικό οξύ, ενώ για πρώτη φορά από το γένος και την οικογένεια πραγματοποιήθηκε η απομόνωση του φλαβονοειδούς κερκέτινο 3-O-(6''-O-trans-p-κουμαροϋλ-) γαλακτοπυρανοσίδης.

Επεξεργασία του μεθανολικού εκχυλίσματος των φύλλων του φυτού *C. dentata* οδήγησε στην απομόνωση από το συγκεκριμένο τμήμα του φυτού για πρώτη φορά ροσμαρινικού οξέος και ρουτίνης, ενώ πρώτη φορά στο είδος απομονώθηκαν τα

φαινολικά οξέα καφεϊκό οξύ και 4- υδροξυφαινυλ-γαλακτικό οξύ. Επεξεργασία του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος οδήγησε στην απομόνωση από το είδος για πρώτη φορά των φυτοστερολών β- σιτοστερόλη και σιτοστενόνη.

Στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα της *C. linnaei* για πρώτη φορά από το είδος απομονώνεται *παρα*- κουμαρικό οξύ, και ανιχνεύεται το φλαβονοειδές καιμπφερόλη.

Κοινό χαρακτηριστικό των τριών μεθανολικών εκχυλισμάτων που μελετήθηκαν αποτελεί το γεγονός ότι περιέχουν διάφορα φαινολικά παράγωγα. Σημαντικό ακόμη γνώρισμα είναι η ύπαρξη του καφεϊκού οξέος και της ρουτίνης στη *C. bicolor* και στη *C. dentata* αλλά και του ροσμαρινικού οξέος και στα τρία εκχυλίσματα. Το συγκεκριμένο μάλιστα φαινολικό οξύ ανιχνεύεται σε μεγάλο αριθμό φυτών Boraginaceae αποτελώντας χαρακτηριστικό δευτερογενή μεταβολίτη της οικογένειας.

Προτείνεται επιπλέον ως μέθοδος ανίχνευσης της αλλαντοΐνης η προεργασία του μεθανολικού εκχυλίσματος με στήλη ρητίνης με νερό και μεθανόλη και κατόπιν ανίχνευση με αέρια χρωματογραφία της αλλαντοΐνης στο υδατικό κλάσμα.

Πραγματοποιήθηκε ακόμη ένα ποιοτικό τεστ ανίχνευσης ακόρεστων αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (pyrrolizidine alkaloids PAs) καθώς και των N- οξειδίων τους σε δέκα φυτά της οικογένειας Boraginaceae: *Cordia alliodora* (ρίζες), *C. bicolor* (φύλλα), *C.collococca* (φύλλα), *C. dentata* (φύλλα), *C. linnaei* (φύλλα), *C. megalantha* (φύλλα), *C. panamensis* (φύλλα), *Heliotropium indicum* (υπέργειο), *H. procumbens* (υπέργειο) και *Tournefortia angustiflora* (φύλλα). Με τη διαδικασία αυτή δεν ανιχνεύτηκε η ύπαρξη αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης σε κάποιο από τα είδη *Cordia*, επιβεβαιώνοντας τα βιβλιογραφικά δεδομένα σύμφωνα με τα οποία το γένος *Cordia* δε βιοσυνθέτει ηπατοτοξικά PAs (Wassel et al., 1987). Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί μόνο δύο μη τοξικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης (macrophylline από την *C. Myxa* και floridanine από την *C.sinensis*) (Wassel et al., 1987). Βασικά PAs ανιχνεύτηκαν μόνο στο *H.indicum*.

Τέλος, έγινε προσδιορισμός των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu σε όλα τα μεθανολικά εκχυλίσματα των φυτών. Τα δείγματα τα οποία εμφάνισαν υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών ήταν εκείνα των *C. dentata* και *C. bicolor*, ενώ η συγκέντρωση των εκχυλισμάτων των *C. linnaei* και *C. megalantha* κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα.

Βιβλιογραφία

- ❖ Aderogba M.A., Kgatle D.T., McGaw L.J., Eloff J.N., Isolation of antioxidant constituents from *Combretum apiculatum* subsp. *apiculatum*, *South. Afri. J. Botany*, **2012**, 79: 125-131
- ❖ Aderogbaab M.A., McGawc L.J., Bezabihb M., Abegazb B.M., Isolation and characterisation of novel antioxidant constituents of *Croton zambesicus* leaf extract, *Nat. Prod. Res.*, **2011**, 25(13):1224-1233
- ❖ Acevado- Rodriguez P. Strong M. T., Catalogue of seed plants of the west Indies, *Smithsonian Contributions to Botany*, **2012**, (98):162,172
- ❖ Al-Musayeib, N., Perveen, S., Fatima, I., Nasir, M., Hussain, A., Antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from *Cordia sinensis*, *Molecules*, **2011**, 16: 10214-10226
- ❖ Al-snafi, A.E., The pharmacological and therapeutic importance of *Cordia myxa*- A review, *IOSR J. Pharm.*, **2016**, 6(6): 47-57
- ❖ Alves C., David J.M., David J.P., Villareal C.F., Soares M.B.P., Queiroz L.P., Aguiar R.M., Flavonoids and other bioactive phenolics isolated from *Cenostigma macrophyllum* (Leguminosae), *Quim. Nova*, **2012**, 35(6): 1137-1140
- ❖ Alves, R., Stehmann, J., Isaías, R., Brandão, M., Caracterizac, ão botânica equímica de *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth. (Rubiaceae), *Brazil J. Pharmacogn.*, **2004**, 14: 49–56.
- ❖ Amudha, M., Rani S., Evaluation of In Vitro Antioxidant Potential of *Cordia retusa*, *Indian J. Pharm. Scie*, **2016**, 78(1): 80-86
- ❖ Araújo L. U., Grabe-Guimarães II A., Mosqueira V. C. F., Carneiro C. M., Silva-Barcellos M., Profile of wound healing process induced by allantoin, *Acta Cirúrgica Brasileira*, **2010**, 25(5): 460- 466
- ❖ Arboretum A., *J Arnold Arbor*, **1949**, 21:347-350, 30:124-125, 52:621-631
- ❖ Arot, L.O.M., Williams, L.A.D., A flavonol glycoside from *Embelia schimperi* leaves, *Phytochemistry*, . **1997**, 44(7), 1397-1398.
- ❖ Axel C., Brid B., Zannini E., Peyer L. C, Furey A., Aidan C., Elke K. A., Antifungal activities of three different *Lactobacillus* species and their production of antifungal carboxylic acids in wheat sourdough, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2016**, 100(4): 1701-1711
- ❖ Barrett, B., Herbs and healing on Nicaragua's coast, *HerbalGram*, **1998**, 41: 35-47

- ❖ Baumgertel, A., Grimm, R., Eisenbei, W., Kreis, W., Purification and characterization of a flavonol 3-O-bheterodisaccharidase from the dried herb of *Fagopyrum esculentum* Moench, *Phytochemistry*, 64, **2003**, 411–418.
- ❖ Barnaulow O.D., Machineva O.A., Kamissarenko N.F. ,Comparative evaluation of the effect of some flavonoids on change in the gastric wall of reserpine treated or immobilized mice, *Khimiko-Farmatserticheskii Zhurnal*, **1983**, 17:946–951
- ❖ Barosso M.R., Barros L., Duenas M., Carvalho A. M., Buelga C. S., Fernandes I., Barreiro M., Ferreira I., Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer, *Industr. Crops Prod.*, **2014**, 53:330-336
- ❖ Bayeux, M.C., Fernandes, A.T., Foglio, M.A., Carvalho, J.E., Evaluation of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* D.C., *Brazil Jour .Med. Biol. Res.*, **2002**, 35: 1229-1232
- ❖ Begum, S., Perwaiz, S., Siddiqui, B.S., Khan, S., Fayyaz, S., Ramzan, M., Chemical constituents of *Cordia latifolia* and their nematidical activity, *Chem. & Biodivers.*, **2011**, 8:850-861
- ❖ Bieber, L.W., Messana, I., Lins, S.C.N., da Silva Filho, A.A., Chippeta, A.A., de Mélllo, J.F., Meroterpenoid naphthoquinones from *Cordia corymbosa*, *Phytochemistry*, **1990**, 29(6): 1955-1959
- ❖ Bieber, L.W., Krebs, H.C., Schäfer, W., Further meroterpenoid naphthoquinones from *Cordia corymbosa*, *Phytochemistry*, **1994**, 35(4): 1027-1028
- ❖ Bossu, J.,Potentiel de Bagassa guianensis et *Cordia alliodora* pour la plantation en zone tropicale. Description d'une stratégie de croissance optimale alliant vitesse de croissance et qualité du bois, Διδακτορική διατριβή, Guyane,**2015**
- ❖ Calabrò M.L., Tommasini S., Donato P., Stancanelli R., Raneri D., Catania S., Therutin/ β -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: Spectroscopic studiesand biological assays, *Jour Pharm Biomed Anal*, **2005**, 35: 1019–1027
- ❖ Cardozo S., De Bona L. R., Andreolla L. T. B., Boeck R., Vieira V., Frantz M. A., Hypolipidemic activity of *Cordia salicifolia* extract in mice on a hyperlipidemic diet, *Artigos Originais*, **2008**, 52 (3): 182-186
- ❖ Cazarolli L.H., Zanatta L.,Jorge A.P., de Sousa E., Horst H., Woehl V.M., Pizzolatti M.G., Szpoganicz B., Silva F.R., Follow-up studies on glycosylated

- flavonoids and their complexes with vanadium: their anti-hyperglycemic potential role in diabetes, *Chem-Biol. Inte.*, **2006**, 163(3):177-191
- ❖ Casa C.L., Villegas I., de la Lastra C. A., Motilva V., Calero M.J., Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions, *J. Ethnopharmacol.*, **2000**, 71: 45–53
 - ❖ Chaubey, O.N., Upadhyay, R., Tripathi, N.K., Ranjan, A., Phytochemical analysis, Phenolic and flavonoids content of *Cordia makleodii* Hook leaves and Bark, *International J. Phytomed.*, **2015**, 7:231-234
 - ❖ Chauhan, J.S., Srivastava, S.K., Sultan, M., Hesperetin 7-rhamnoside from *Cordia obliqua*, *Phytochemistry*, **1978i**, 17: 334
 - ❖ Chauhan, J.S., Srivastava, S.K., Lupa-20,29-ene-3-O- β -D-maltoside from the roots of *Cordia obliqua*, *Phytochemistry*, **1978ii**, 17: 1005-1006
 - ❖ Chauhan M.G., Chavan S. S., Pharmacognosy and biological activity of *Cordia rothii*, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, **2009**, 8(4): 598-601
 - ❖ Chen, T.K., Ales, D.C., Baenziger, N.C., Wiemer, D.F., Ant-repellent triterpenoids from *Cordia alliodora*, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48(20): 3525-3531
 - ❖ Chen H., Miao Q., Geng M., Liu J.,¹ Hu Y., Tian L., Pan J., Yang Y., Anti-Tumor Effect of Rutin on Human Neuroblastoma Cell Lines through Inducing G2/M Cell Cycle Arrest and Promoting Apoptosis, *Scie. World J.*, **2013**, 1-9
 - ❖ Chen M., Wu S., Tsai T., Wang L., Chou W., Tsai F., Effect of aqueous extract of *Tournefortia sarmentosa* on the regulation of macrophage immune response, *Int. Immunopharmacol.*, **2013**, 17(4):1002-1008
 - ❖ Costa J. F. O., David J. P.L., David J. M., Giulietti A. M., Queiroz L. P., Santos R. R., Soares M. B., Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian Semi-arid, *Brazil. J.Pharmacogn.*, **2008**, 18(1): 11-15
 - ❖ Da Silva B. P., Bernardo R.R, Parente J.P., Flavonol glycosides from *Costus spicatus*, *Phytochemistry*, **2000**, 53 (1): 87–92
 - ❖ Dai, J., Sorribas, A., Yoshida, W., Williams, P.W., Sebestenoids A-D, BACE1 inhibitors from *Cordia sebestena*, *Phytochemistry*, **2010**, 71: 2168-3173
 - ❖ Davis, P.H, Cullen, J., Coode, M. J. E., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1978, 6: 246
 - ❖ Dettrakul, S., Surerum, S., Rajviroongit, S., Kittakoo, P., Biomimetic transformation and biological activities of globiferin, a terpene benzoquinone from *Cordia globifera*, *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72(5): 861-865

- ❖ Diniz, J.C., Viana, F.A., Oliveira, O.F., Maciel, M.A.M, Torres, M.C.M., Braz-Filho, R., Silveira, E.R., Pessoa, O.D., ¹H and ¹³C NMR assignments for two new cordiaquinones from roots of *Cordia leucocephala*, *Magn. Reson. Chem.*, **2009**, 47: 190-193
- ❖ Diniz, C.,J., Viana, F., A., Torres, M., M., Braz-Filho, R., Silveira, E., R., Pessoa O., An Uncommon Naphthaquinoid and a New Lignan Derivative from the Roots of *Cordia leucocephala* Moric, *J. Brazil. Chem. Soci.*, 2016, 26(2):325-330
- ❖ Dixit S., Anticancer Effect of Rutin Isolated from the Methanolic Extract of *Triticum aestivum* Straw in Mice, *Medi. Scie.*, **2014**, 2: 153- 160
- ❖ Domínguez, X.A., Escarria, S., Butruille, D., Dimethyl-3,4'-kaempferol de *Cordia boissieri*, *Phytochemistry*, **1973**, 12: 724-725
- ❖ Dutra, R.C., Campos, M.M., Santos, A.R.S., Calixto, J.B., Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery,challenges and perspectives, *Pharmacol. Res.*, **2016**,112(1): 4-29
- ❖ El-Newary S.A., Sulieman A.M., El-Attar S.R., Sitohy M.Z., Hypolipidemic and antioxidant activity of the aqueous extract from the uneaten pulp of the fruit from *Cordia dichotoma* in healthy and hyperlipidemic Wistar albino rats., *J. Nat. Med.*, **2016**, 70(3): 539-53
- ❖ El-Sayed, N.H., Aboutabl, S.A., Moharram, F.A.K, Abdel-Allim, M.A., Mabry, T.J., Phenolics and flavonoids of *Cordia macleodii*, *Rev. Latinoamericana Quím.*, **1998**, 26(1): 30-35
- ❖ Fell, K.R., Peck, J.M., Phytochemical investigations of some species of the Boraginaceae, *Planta Medica*, **1968**, 16: 411-420
- ❖ Ferguson L.R., Zhu S.T., Harris P.J.,Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cells, *Mol.Nutr. \Food Res.*, **2005**, 49(6):585-593.
- ❖ Fernández, L.R., Ciriglioano, A., Fabani, M.P., Lima, B., Alberti, S., Kramer, F., Tapia, A.A., Cabrera, G., Palermo, J.A., Sánchez, M., Antioxidant neolignans from *Cordia americana*, *Planta Med.*, **2013**, 79: 1724-1729
- ❖ Ferrari, F., Monache, F. D., Compagnone, R., Oliveri, M. C., Chemical constituents of *Cordia dentata* flowers, *Fitoterapia*, **1997**, 68: 88
- ❖ Ferreres F., Vinholes J., Gil- Izquierdo A., Valentao P., Concalves R.F., Andrade P., *In vitro* studies of α-glucosidase inhibitors and antiradical constituents of *Glandora diffusa* (Lag.) D.C. Thomas infusion, *Food chem.*, **2013**, 136:1390-1398

- ❖ Ficarra, R., Ficarra, P., Tommasini, S., Calabro, M.L., Ragusa, S., Barbera, R., Rapisarda, A., Leaf extracts of some *Cordia* species: Analgetic and antiinflammatory activities as well as their chromatographic analysis, *Farmaco*, **1995**, 50(4): 245-56
- ❖ Filho, A.A., Correa Lima, R.M.O., Nascimento, S.C., Silva, E.C., Biological activity of cordiaquinones A and B, isolated from *Cordia corymbosa*, *Fitoterapia*, **1993**, 64(1): 78-80
- ❖ Firdous, S., Khan, K., Zikr-Ur-Rehman, S., Ali, Z., Soomro, S., Ahmad, V.U., Rasheed, M., Mesaik, M.A., Faizi, S., Isolation of phytochemicals from *Cordia rothii* (Boraginaceae) and evaluation of their immunomodulatory properties, *Rec. Nat.Prod.*, **2014**, 8(1): 51-54
- ❖ Fouseki, M.M., Damianakos, H., Karikas, G.A., Roussakis, C.P., Gupta, M., Chinou, I., Chemical constituents from *Cordia alliodora* and *C. collococa* (Boraginaceae) and their biological activities, *Fitoterapia*, **2016**, 115: 9-14
- ❖ Fouedjou R. T., Mbuyo E. P., Ponou B. K., Nguelefack T. B., Barboni ., Tapondjou L. A., Antioxidant Activities and Chemical Constituents of Extracts from *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. (Agavaceae) an *Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl, (Rosaceae), *Pharmacologia*, **2016**, 7(2-3): 103-113
- ❖ Freitas, H.P.S., Maia, A.I.V., Silveira, E.R., Filho, J.D.B.M., Moraes, M.O., Pessoa, C., Lotufo, L.V.C., Pessoa, O.D.L., Cytotoxic cordiaquinones from the roots of *Cordia polycephala*, *J. Braz. Chem. Society*, **2012**, 23(8): 1558-1562
- ❖ Fu, P.P., Xia, Q., Lin, G. & Chou, M.W. Pyrrolizidine alkaloids-genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms, *Drug Metabol. Rev.*, **2004**, 36: 1-55
- ❖ Galis, I., Kakiuchi, Y., Simek, P., Wabiko, H., *Agrobacterium tumefaciens* AK-6b gene modulates phenolic compound metabolism in tobacco, *Phytochemistry* 65, **2004**, 169–179.
- ❖ Ganjare, A.B., Nirmal, S.A., Patil, A.N., Use of apigenin from *Cordia dichotoma* in the treatment of colitis, *Fitoterapia*, **2011**, 82: 1052-1056
- ❖ Gaspar, E.M.M, Neves, H.J.C., Steroidal constituents from mature wheat straw, *Phytochemistry*, **1993**, 34(2): 523-527
- ❖ Ge-ling, Z., Riedl, H., Kamelin, R., *Flora of China*, **1995**, 16: 329
- ❖ Geller, F., Schmidt, C., Göttert, M., Fronza, M., Schattel, V., Heinzmann, B., Werz, O., Flores, E.M.M., Merfort, I., Laufer, S., Identification of rosmarinic acid as the major active constituent in *Cordia americana*, *J. Ethnopharmacol.*, **2010**, 128: 561-566

- ❖ Ghori, V.P., Gatecha, H.N., Desai, T.R., Pandya, D.J., Pharmacognostic Study of Leaves of *Cordia rothii* Linn., *Pharmacogn. J.*, **2011**, 3(22): 35-38
- ❖ Grandtner, M.M., Chevrette, J., Dictionary of Trees, South America: Nomenclature, Taxonomy and Ecology, Academic Press, Canada, **2013**, 2: 159-162
- ❖ Gubiana J.R., Habecka T.R., Chaplab V. M., Silvac G. H., Bolzania V. S., Araujo A. R., One Strain-Many Compounds (OSMAC) Method For Production Of Phenolic Compounds Using *Camarops* sp., An Endophytic Fungus From *Alibertia macrophylla* (Rubiaceae), *Quimica Nova*, **2016**, 39(10): 1221-1224
- ❖ Guimaraes, L.G., Cardoso, M., Lucas, E.M.F., Freitas, M.P., Francisco, W., Nelson D.L., Structural Elucidation of a New Sesquiterpene Alcohol by Comparative NMR Studies, *Rec. Nat. Prod.*, **2015**, 9 (2): 201-207
- ❖ Guo R., Wei P., Liu W., Combined antioxidant effects of rutin and Vitamin C in Triton X-100 micelles, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2007**, 43 : 1580–1586
- ❖ Hoogenboom, L., Mulder, P.P.J., Zeilmaker MJ., van den Top HJ, Remmelink, GJ. et al. Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. *Food Add. Contam.*, **2011**, 28(3): 359- 372
- ❖ Ioset, J.R., Marston, A., Gupta, M.P., Hostettmann, K., Antifungal and larvicidal meroterpenoid naphthoquinones and a naphthoxirene from the roots of *Cordia linnaei*, *Phytochemistry*, **1998**, 47(5): 729-734
- ❖ Ioset, J.R., Wolfender, J.L., Marston, A., Gupta, M.P., Hostettmann, K., Identification of two isomeric meroterpenoid naphthoquinones from *Cordia linnaei* by liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Phytochemical anal.*, **1999**, 10: 137-142
- ❖ Ioset, J.R., Marston, A., Gupta, M.P., Hostettmann, K., Antifungal and larvicidal compounds from root bark of *Cordia alliodora*, *J. Nat.Prod.*, **2000i**, 63(3): 424-426
- ❖ Ioset, J.R., Marston, A., Gupta, M.P., Hostettmann, K., Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*, *Phytochemistry*, **2000ii**, 53: 613-617
- ❖ Isa A. I., Saleh M. I. A., Abubakar A., Dzoyem J. P., Adebayo S. A., Musa I., Sani U. F., Daru P. A., Evaluation of anti-inflammatory, antibacterial and cytotoxic activities of *Cordia africana* leaf and stem bark extracts, *Bayer. J. Pure Appl. Scie.*, **2016**, 9(1):228:235

- ❖ Jamkhande, P., Barde, S., Patwekar, S., Tidke, P., Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Cordia dichotoma* (Indian cherry): A review, *Asian Pacif. J.Trop.Biomed.***2013**, 3(12): 1009-1012
- ❖ Jasiem, T.M., Al-mugdadi S.F.H., Aljubory I.S., Latef, Q.N., Phytochemical Study and Antibacterial Activity of Crude Alkaloids and Mucilage of *Cordia myxa* in Iraq, *International J. Pharm. Scie. Rev. Res.*, **2016**,39(1): 232-236
- ❖ Jeong C. H., Jeong H. R., Choi G. M., Kim D., Lee U., Heo H. J., Neuroprotective and anti-oxidant effects of caffeic acid isolated from *Erigeron annuus* leaf, *Chin. Med.*, **2011**, 6 (25):1-9
- ❖ Jin, C., Strembiski, W., Kulchytska, Y., Micetich, R. G., Daneshtalab, M. Flavonoid glycosides from *Ledum palustre* L.subsp.decumbens (Ait) Hulton. Daru, *J.Facul. Pharm.*, **1999**, 7: 5-8.
- ❖ Joly, L.G., Guerra, S., Septimo, R., Solis, P.N., Correa, M.D., Gupta, M.P., Levy, S., Sandberg, F., Perera, P., Ethnobotanical Inventory of Medicinal Plants Used by the Guaymi Indians in Western Panama, Part II, *J. Ethnopharmacol.*, **1990**, 28: 191-206
- ❖ Kand'ár R, Záková P., Allantoin as a marker of oxidative stress in human erythrocytes, *Clin. Chem. Labor. med.*, **2008**, 46 (9): 1270–1274
- ❖ Kandil F.E., El-Sayed, N.H., Abou-Douh, A.M., Ishak, M.S., Mabry, T.J., Flavonol glycosides and phenolics from *Withania somnifera*, *Phytochemistry*, **1994**, 37(4), 1215-1216.
- ❖ Karioti A., Protopappa A., Megoulas N., Skaltsa H., Identification of tyrosinase inhibitors from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cylleneum*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15: 2708–2714
- ❖ Kazuma K., Noda N., Suzuki M., Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*, *Phytochemistry*, 2003, 62 (2): 229-237
- ❖ Khan K., Firdous S., Ahmad A., Fayyaz N., Nadir M., Rasheed M., Faizi S., GC-MS profile of antimicrobial and antioxidant fractions from *Cordia rothii* roots., *Pharm. Biol.*,**2016**, 54(11): 2597-2605
- ❖ Kikugawa K., Hakamada T., Hasunuma M., Kurechi T., Reaction of p-Hydroxycinnamic Acid Derivatives with Nitrite and Its Relevance to Nitrosamine Formation,*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1983**, 31: 780-785
- ❖ Kiliç I., Yeşiloğlu Y., Spectroscopic studies on the antioxidant activity of p-coumaric acid, *Mol. Biomol. Spectros.*,**2013**, 115:719- 724
- ❖ Kumari R M., Thapa N., Gupta N.,Kumar A., Nimesh S., Antibacterial and photocatalytic degradation efficacy of silver nanoparticles biosynthesized

- using *Cordia dichotoma* leaf extract, *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, **2016**, 7: 1-8
- ❖ Kuppasta, I.J., Nayak, P.V., Antihelminthic activity of fruits of *Cordia dichotoma*, *Indian J. Nat. Prod.*, **2003**, 19(3):27-29
 - ❖ Kuppasta, I.J., Nayak, P.V., Wound healing activity of *Cordia dichotoma* Forst. fruits, *Nat. Prod. Radi.*, **2006**, 5:103-107
 - ❖ Kuroyanagi, M., Seki, T., Hayashi, T., Nagashima, Y., Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M., Anti-androgenic triterpenoids from the Brazilian medical plant, *Cordia multispicata*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2001**, 49(8):954-957
 - ❖ Kuroyanagi, M., Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M., Hayashi, T., Takase, Y., Masuda, K., Dammarane-type triterpenes from the Brazilian medicinal plant *Cordia multispicata*, *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66(10): 1307-1312
 - ❖ Kuruuzum-Uz A., Guvenalp Z., Stroch K., Demirezer L. O., Zeeck A., Phytochemical and antimicrobial investigation of *Echium vulgare* growing in Turkey, *Biochem. System. Ecol.*, **2004**, 32: 833-836
 - ❖ Kuruüzüm-Uz, A., Güvenalp, Z., Kazaz, C., L. Demirezer, L.O., Phenolic compounds from the roots of *Anchusa azurea* var. *azurea*, *Turk J Pharm Sci* 10(2), **2013**, 177-184.
 - ❖ Landmann C, Hücherig S., Fink B., Hoffmann T., Dittlein D., Coiner H. A., Schwab W., Substrate promiscuity of a rosmarinic acid synthase from lavender (*Lavandula angustifolia* L.), *Planta*, **2011**, 234(2): 305-320
 - ❖ Li Y.L., Li J., Wang N. L., Yao X.S., Flavonoids and a New Polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd, *Molecules*, **2008**, 13: 1931-1941
 - ❖ Lim, Y.A., Kojima, S., Nakamura, N., Miyashiro, H., Fushimi, H., Komatsu, K., Hattori, M., Shimotohno, K., Gupta, M.P., Correa, M., Inhibitory effects of *Cordia spinencens* extracts and their constituents on reverse transcriptase and protease from human immunodeficiency virus, *Phytother. Res.*, **1997**, 11(7): 490-495
 - ❖ Liu, Y.L., Timmermann, B.N., Hoffmann, J.J., McLaughlin, S.P., A flavonol triglycoside from *Baccharis thesioides*, *Phytochemistry* 33(6), **1993**, 1549 - 1551
 - ❖ Lu L., Guo Y. Xu L., Qi T., Jin L., Xu L., Xiao M., Galactosylation of caffeic acid by an engineered β -galactosidase, *Drug Discov. & Therap.*, **2015**, 9(2):123-128
 - ❖ Ma Y., Mani A., Cai Y., Thomson J., Ma J., Peudru F., Chen S., Luo M., Zhang J., Chapma R. G., Shi Z. An effective identification and quantification

- method for *Ginkgo biloba* flavonol glycosides with targeted evaluation of adulterated products, *Phytomedicine*, **2016**, 23(4): 377-387
- ❖ Manners, G.D., Jurd L., The hydroquinone terpenoids of *Cordia alliodora*, *J.C.S. Perkin I*, **1976**, 405-410
 - ❖ Marinho-Filho, J.D., Bezerra, D.P., Araújo, A.J., Montenegro, R.C., Pessoa, C., Diniz, J.C., Viana, F.A., Pessoa, O.D., Silveira, E.R., Moraes, M.O., Costa-Lotufo, L.V., Oxidative stress induction by (+)-cordiaquinone J triggers both mitochondria-dependent apoptosis and necrosis in leukemia cells, *Chem. – Biol. Interact.*, **2010**, 183 (3): 369-379
 - ❖ Marston, A., Zagorski, M.G., Hostettmann, K., Antifungal polyphenols from *Cordia goetzei* Gürke, *Helv. Chim. Acta*, **1988**, 71: 1210-1219
 - ❖ Matias, E.F.F., Alves, E.F., Santos, B.S., Sobral De Souza, C.E., Alencar Ferreira, J.V.D., Santos De Lavor, A.K.L., Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**, ArticleID: 164215, 1-7
 - ❖ Matias, E.F.F., Alves, E., Silva, M., Carvalho, V., Coutinho, H., da Costa, J., The genus *Cordia*: botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects, *Brazil. J. Pharmacogn.*, **2015i**, 25:542-552
 - ❖ Matias, E.F.F., Alves, E., Silva, M., Carvalho, V., Medeiros R.C., Santos, F.A.V., Bitu, V., Souza, C., Figuerado, F.G., Menezes I.R.A., Coutinho, H., Ferreira J.V.A., Lima, L.F., Costa, J.G.M., Phytochemical characterization by HPLC and evaluation of antibacterial and aminoglycoside resistance-modifying activity of chloroform fractions of *Cordia verbenacea* DC leaf extracts, *Eur. J. Integr. Med.*, **2015ii**, 7: 251-257
 - ❖ Matias, E.F.F., Alves, E.F., Silva, M., Carvalho, V., Figuerado F.G., Ferreira, J., Coutinho, H., Silva, J.M., Ribeiro-Filho, J., Costa J., Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene, *Industr. Crops Prod.*, **2016i**, 87:45-53
 - ❖ Matias, E.F.F., Alves, E.F., Silva, M., Carvalho, V., Medeiros, C.R., Santos F., Bitu V.C.N., Souza, C., Figuerado, F.G., Boligon, A., Athayde, M., Costa, J., Coutinho H.D.M, Potentiation of antibiotic activity of aminoglycosides by natural products from *Cordia verbenacea* DC, *Microb. Pathogen.*, **2016ii**, 95:111-116
 - ❖ Matsuno M., Nagatsu A., Ogihara Y., Ellis B. E., Mizukami H., CYP98A6 from *Lithospermum erythrorhizon* encodes 4-coumaroyl-4P-hydroxyphenyllactic

- acid 3-hydroxylase involved in rosmarinic acid biosynthesis, *Feder. Eur. Biochem. Soc.*, **2002**, 514:219-224
- ❖ Mattocks, A.R., Toxicity of pyrrolizidine alkaloids, *Nature*, **1968**, 217(5130): 723-728
 - ❖ Mattocks, A.R., Jukes R., Improved field tests for toxic pyrrolizidine alkaloids, *Journal of Natural Products*, **1987**, 50 (2): 161-166
 - ❖ Mehreen A., Waheed M., Liaqat I., Arshad N., Phytochemical, Antimicrobial, and Toxicological Evaluation of Traditional Herbs Used to Treat Sore Throat, *BioMed Res. Intern.*, **2016**, 2016: 1-9
 - ❖ Menezes, J.E.S.A., Lemos, T.L.G., Silveira, E.R., Braz-Filho, R., Pessoa, O.D.L., Trichotomol, a new cadinenediol from *Cordia trichotoma*, *J. Brazil. Chem. Soc.*, **2001**, 12: 787-790
 - ❖ Menezes, J.E.S.A., Machado, F.E.A., Lemos, T.L.G., Silveira, E.R., Braz-Filho, R., Pessoa, O.D.L., Sesquiterpenes and a phenylpropanoid from *Cordia trichotoma*, *Zeitschri. Naturforsch.*, **2004**, 59(1-2): 19-22
 - ❖ Menezes, J.E.S.A., Lemos, T.L.G., Pessoa, O.D.L., Braz-Filho, R., Montenegro, R.C., Wilke, D.V., Costa-Lotufo L.V., Pessoa, C., Moraes, M.O., Silveira, E. R., A cytotoxic meroterpenoid benzoquinone from roots of *Cordia globosa*, *Planta Medica*, **2005**, 71: 54-58
 - ❖ Miller, J.S., Revision of Panamian Boraginaceae, *Annals Missouri Botan. Garden*, **1988**, 75(2): 463-497
 - ❖ Miller, J.S., Notes on the *Cordia panamensis* Complex (Boraginaceae) and a New Species from Colombia, *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **1989**, 76: 593-595
 - ❖ Miller, J.S., New Boraginaceae from Tropical America 4: Three new species of *Cordia* from South America, *Novon*, **2001**, 11: 421-428
 - ❖ Moir, M., Thomson, R.H., Naturally occurring quinones. Part XXII. Terpenoid quinones in *Cordia* spp., *J.C.S. Perkin I*, **1973i**, 1352-1357
 - ❖ Moir, M., Thomson, R.H., A new cinnamaldehyde from *Patagonula americana*, *Phytochemistry*, **1973ii**, 12: 2501-2503
 - ❖ Morton, J.F., Atlas of Medical Plants of Middle America; Charles C. Thomas: Springfield IL, **1981**, 711-712
 - ❖ Moita E., Effects of *Echium plantagineum* L. bee pollen on macrophages and basophils: metabolic profile vs inflammatory mediators, degranulation and oxidative stress, Thesis for Doctor Degree, Porto, **2005**

- ❖ Mullen, W., Yokota, T., Lean, M.E.J., Crozier, A., Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC–MS, *Phytochemistry*, **2003**, 64: 617–624.
- ❖ Muthaura C. N. , Keriko J. M. , Mutai C. , Yenesew A. , Gathirwa J. W. , Irungu B. N., Nyangacha R. , Mungai G. M. ,Derese S., Antiplasmodial Potential of Traditional Phytotherapy of Some Remedies Used in Treatment of Malaria in Meru-Tharaka Nithi County of Kenya, *J. Ethnopharmacol.*, **2015**, 175(4): 315- 323
- ❖ Nakamura, N., Kojima, S., Lim, Y.A., Meselhy, M.R., Hattori, M., Gupta, M.P., Correa, M., Dammarane-type triterpenes from *Cordia spinescens*, *Phytochemistry*, **1997**, 46(6): 1139-1141
- ❖ Nariya, P.B., Bhalodia, N.R., Shuckla, V.J., Acharya, R.N., Antimicrobial and antifungal activities of *Cordia dichotoma* (Forster F.) bark extracts, *Pharmacol. Res.*, **2011**, 32(4): 585-589
- ❖ Nazim, H., Kakoti, B.B., Review on ethnobotany and phytopharmacology of *Cordia dichotoma*, *J. Drug Deliv.& Therap.*, **2013**, 3(1): 110-113
- ❖ Neagu, E., Radu, G.L., Albu, C., Paun, G., Antioxidant activity, acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of *Pulmonaria officinalis* and *Centarium umbellatum* extracts, *Saudi J Biol Sci*, **2016**, In Press
- ❖ Neuman, M.G., Steenkamp, V., Toxicity Profile of Pyrrolizidine Alkaloid-Containing Medicinal Plants: Emphasis on *Senecio* Species, *Inter. J. Biomed.Pharm. Scie.*,**2009**, 3(1): 104-107
- ❖ Nogueira, T.B.S.S. , Nogueira, R.B.S.S., Silva, D.A., Tavares, J.F., Lima, E.O., Pereira, F.O., Fernandes, M.M.M.S., Medeiros, F.A., Sarquis, R.S.F.R. , Braz Filho, R., Maciel, J.K.S., Souza, M.F.V.S., First chemical constituents from *Cordia exaltata* Lam and antimicrobial activity of two neolignans, *Molecules*, **2013**, 18: 11086-1109
- ❖ Norbaek R., Kondo T., Flavonol glycosides from flowers of *Crocus speciosus* and *C. antalyensis*, *Phytochemistry*, **1999**, 51(8) :1113- 1119
- ❖ Okusa P.N. Penge O., Devleeschouwer M., Duez P., Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae), *J.Ethnopharmacol.*, **2007**,112(3):476-81.
- ❖ Oliviera, D.M.C., Luchini, A.C., Seito, L.N., Gomes, J.C., Crespo-López, M.E., Di Stati, L.C., *Cordia verbenacea* and secretion of mast cells in different animal species, *J. Ethnopharmacol.*, **2011**, 135: 463-468

- ❖ Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A., Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0, **2009**
- ❖ Osuka, P.N., Penge, O., Devleeschouwer, M., Duez, P., Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gilletti* De wild (Boraginaceae), *J.Ethnopharmacol.*, **2007**, 112: 476-481
- ❖ Osuka, P.N., Stévigny, C., Névrumont, M., Gelbcke, M., Van antwerpen, P., Braekman, J.C., Duez, P., Ferulaldehyde and lupeol as direct and indirect antimicrobial compounds from *Cordia gilletii* (Boraginaceae) root barks, *Nat. Prod. Commun.*, **2014**, 9(5): 619-622
- ❖ Owis A., Composition of essential oil from flowers of *Cordia Boissieri* A.DC and revision on the use of sesquiterpenes as taxonomic markers for genus *Cordia*, *World J. Pharm. Pharmaceut. Scie.*, **2014**, 3(3): 133-141
- ❖ Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N., Couladouros, E. A., Hepworth, D., Nicolaou, K. C., The chemistry and biology of alkannin, shikonin and related naphthazarin natural products", *Angewandte Chemie. Intern. Ed.*, **1999**, 38: 270-300
- ❖ Parisotto, E.B., Michielin, E.M.Z., Biscaro, F., Ferreira, S.R.S., Filho, D.W., Pedrosa, R.C., The antitumor activity of extracts from *Cordia verbenacea* DC. obtained by supercritical fluid extraction, *J.Supercritical Fluids*, **2012**, 61: 101-107
- ❖ Parks, J., Gyeltshen, T., Prachyawarakorn, V., Mahidol, C., Ruchirawat, S., Kittakoop, P., Glutarimide alkaloids and a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*, *J.Nat. Prod.*, **2010**, 73(5): 992-994
- ❖ Passos, G.F., Fernandes, E.S., Da-Cunha, F.M., Ferreira, J., Pianowski, L.F., Campos, M.M., Calixto, J.B., Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*, *J. Ethnopharmacol.*, **2007**, 110: 323-333
- ❖ Pereira C., Barreto C., Kuster R. M., Flavonoids and a neolignan glucoside from *Guarea macrophylla* (Meliaceae), *Quimica Nova*, **2012**, 35 (6): 1123-1126
- ❖ Perini, J.A., Angeli-Gamba, T., Perini, J.A., Ferreira, L.C., Nasciutti, L.E., Machado, D.E., Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study, *BMC Complement. Altern. Med.*, **2015**, 15(203):1-8
- ❖ Pinhol L., Souzal P. N. S., Sobrinhol E. M., de Almeida A. C., Martins E. R., Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree,

- barbatimão and erva baleeira leaves and from pequi peel meal, *Ciência Rural*, **2012**, 42(2): 326-331
- ❖ Pragasam S.J., Venkatesan V., Rasool M., Immunomodulatory and anti-inflammatory effect of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol on experimental inflammation in rats, *Inflammation.*, **2013**, 36 (1):169-176
 - ❖ Prakash, A. S., Pereira, T. N., Reilly, P. E., Seawright, A. A., Pyrrolizidine alkaloids in human diet, *Mutation Research*, **1999**, 443(1-2): 53-67
 - ❖ Psotova J., Kolar M., Sousek J., Svagera Z., Vicar J., Ulrichova J., Biological activities of *Prunella vulgaris* extract, *Phytotherapy Research*, **2003**, 9:1082-1087
 - ❖ Qayyum A., Sarfraz R., Ashraf A., Adil S., Phenolic Composition And Biological (Anti Diabetic And Antioxidant) Activities Of Different Solvent Extracts Of An Endemic Plant (*Heliotropium Strigosum*), *J. Chil. Chem.Soc.*, 2016, 61(2): 2903-2906
 - ❖ Qing L., Xuea Y., Zhangb J.Z., Zhangb Z.F., Lianga J., Jianga Y., Liuc Y., Liao X., Identification of flavonoid glycosides in *Rosa chinensis* flowers by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in combination with ¹³C nuclear magnetic resonance, *J. Chromatography A*, **2012**, 1249: 130-137
 - ❖ Quattrochi U. CRC World Dictionary of Plant Names: A-C. CRC Press, **1999** : 612–613
 - ❖ Qureshi, N.N., Kuchekar, B.S. Logade, N.A., Haleem, M.A., Antioxidant and hepatoprotective activity of *Cordia macleodii* leaves, *Saudi Pharm. J.*, **2009**, 17: 299-302
 - ❖ Rahman, A., Hussain, A., Anticancer activity and apoptosis inducing effect of methanolic extract of *Cordia dichotoma* against human cancer cell line, *Banglad. J. Pharmacol.*, **2015**, 10: 27-34
 - ❖ Ramandi, N., Ghassempour, A., Najafi N.M., Ghasemi, E., Optimization of ultrasonic assisted extraction of fatty acids from *Borago Officinalis* L. flower by central composite design, *Arab. J. chem.*, **2017**, 10(1): S23-S27
 - ❖ Ranjbar, M.M., Assadolahi, V., Yazdani, M., Nikaein, D., Rashidieh, B., Virtual dual inhibition of COX-2/ 5-LOX enzymes based on binding properties of alpha amyrins, the anti-inflammatory compound as a promising anti-cancer drug, *EXCLI Journal*, **2016**, 15: 238-245
 - ❖ Rappaport, I., Giacobello, D., Seldes, A.M., Blanco, M.C., Deulofeu, V., Phenolic glycosides from *Solanum glaucophyllum* : A new quercetin triglycoside containing D-apiose, *Phytochemistry*, **1977**, 16, 115-1116

- ❖ Raul P. A.I., Pomilio, A.B., Flavonoils from *Erythroxylon argentinum*, *Phytochemistry*, **1985**, 24(2), 347-349
- ❖ Rivière C., Thi Hong V.N., Pieters L., Dejaegher B , Heyden Y. V., Van M. C., Quetin-Leclercq J., Polyphenols isolated from antiradical extracts of *Mallotus metcalfianus*, *Phytochemistry*, **2009**, 70:91-99
- ❖ Roeder, E., Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids, *Pharmazie*, **1995**, 50: 83-98.
- ❖ Roldao, E.F, Witaicenis A, Seito L. N., Hiruma-Lima C.A., Di Stasi L.C., Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). *J. Ethnopharmacol.*, **2008**,119:94- 98
- ❖ Romussi, G., Cafaggi, S., Mosti, L., Flavonoid compounds and allantoin from *Anchusa officinalis* L., *Pharmazie*, **1979**, 34: 751-752.
- ❖ Rosane W.I., Oliveira Z.D., Fernandes S.C., Vieira I.C., Development of a biosensor based on gilo peroxidase immobilized on chitosan chemically crosslinked with epichlorohydrin for determination of rutin, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2006**, 41: 366–372
- ❖ Salazar-Aranda, R., Pérez-Lopez, L.A., Lopez-Arroyo, J., Alanís-Garza, B.A., Waksmande Torres, N., Antimicrobial and antioxidant activities of plants from north-east of Mexico, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*,**2011**, 1: 1–6.
- ❖ Santos, R.P., Viana, F.A., Lemos, T.L.G., Silveira, E.R., Braz-Filho, R., Pessoa, O.D.L., Structure elucidation and total assignment of ¹H and ¹³C NMR data for a new bisdesmoside saponin from *Cordia piauhiensis*, *Magn. Reson.Chem.*, **2003**, 41: 735-738
- ❖ Santos, R.P., Silveira, E.R., Lemos, T.L.G., Viana, F.A., Braz-Filho, R., Pessoa, O.D.L., Characterization of two minor saponins from *Cordia piauhiensis* by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy, *Magn. Reson. Chem.*, **2005**, 43: 494-496
- ❖ Sharma, P., Manjusha., Rani, S., Malhotra, H., Nitesh., Deswal, S., Singh, S., Antifertility potential of hydroalcoholic extract of *Cordia dichotoma* G Forst. leaves: A folklore medicine used by Meena community in Rajasthan state in India, *Asian Pac J Reprod*, **2015**, 4(2): 100-105.
- ❖ Scheckel K. Degner S., Romagnolo D., Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1-dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines, *J. Nutri.*, **2008**, 138(11): 2098-2105

- ❖ Seikel, M.K., Rowe, J.W., Eudesmol isomers from *Cordia trichotoma*, *Phytochemistry*, **1964**, 3: 27-32
- ❖ Sertié, J.A.A., Woisky, R.G., Wiezel, G., Rodrigues, M., Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract, *Phytomedicine*, **2005**, 12: 338-344
- ❖ Siddiqui, B.S., Perwaiz, S., Begum, S., Studies on the chemical constituents of the fruits of *Cordia latifolia*, *Natur. Prod. Res.*, **2006i**, 20 (2):131-137
- ❖ Siddiqui, B.S., Perwaiz, S., Begum, S., Two new abietane diterpenes from *Cordia latifolia*, *Tetrahedron*, **2006ii**, 62:10087-10090
- ❖ Siddiqui, B.S., Perwaiz, S., Begum, S., Ali, S.T., Three new constituents, latifolinal, latifolidin and cordicinol, from the fruits and leaves of *f*, *Nat. Prod.Res.*, **2010**, 24(2):160-166
- ❖ Silva, S.A.S., Rodrigues, M.S.L., Agra, M.F., Da-Cunha, E.V.L., Barbosa-Filho, J.M., Silva, M.S., Flavonoids from *Cordia globosa*, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2004i**, 32: 359–361
- ❖ Silva, S.A.S., Souto, A.L., Agra, M.F., Da- Cunha, E.V.L., Barbosa-Filho, J.M., Silva, M.S., Braz-Filho, R., A new aryl-naphthalene type lignan from *Cordia rufescens* A.DC. (Boraginaceae), *Arkivoc*, **2004ii**, VI: 54-58
- ❖ Silva, K.O., Oliveira, A.L., Pinto, F., Lima, K., Braz-Filho, R., Silveira, E.R., Pessoa, O., Meroterpenoid Hydroquinones from *Cordia globosa*, *J. Brazil.Chem. Soc.*, **2016**, 27(3): 510-514
- ❖ Silva, S.A.S., Rodrigues, M.S.L., Agra, M.F., Da-Cunha, E.V.L., Barbosa-Filho, J.M., Silva, M.S., Flavonoids from *Cordia globosa*, *Biochem. System. Ecol.*, **2004i**, 32: 359–361
- ❖ Silva, S.A.S., Souto, A.L., Agra, M.F., Da- Cunha, E.V.L., Barbosa-Filho, J.M., Silva, M.S., Braz-Filho, R., A new aryl-naphthalene type lignan from *Cordia rufescens* A.DC. (Boraginaceae), *Arkivoc*, **2004ii**, VI: 54-58
- ❖ Southwell, C.R., Bullman, J.D., Marine Borer Resistance of Untreated Woods Over Long Periods of Immersion in Tropical Waters, *Biotropica*, **1971**, 3: 81-107
- ❖ Srivastava, S.K., Srivastava, S.D., Taxifolin 3,5-dirhamnoside from the seeds of *Cordia obliqua*, *Phytochemistry*, **1979**, 18: 2058-2059
- ❖ Standley, P. C., Williams L. O., *Flora of Guatemala*, - Part IX, Numbers 1 and 2., **1970**, 24(9/1–2): 111–167.
- ❖ Stevens K.L., Jurd, L., Manners, G., Alliodorin, a phenolic terpenoid from *Cordia alliodora*, *Tetrahedr. Lett.*, **1973**, 31: 2955-2958

- ❖ Sukito A, Tachibana S., Isolation of hyperoside and isoquercitrin from *Camellia sasanqua* as antioxidant agents., *Pakistan J. boil. Scie.*, **2014**, 17(8): 999-1006
- ❖ Sun, H., Zhang, J., Ye, Y., Pan, Y., Shen, Y., Cytotoxic pentacyclic triterpenoids from the rhizome of *Astilbe chinensis*, *Helvetica Chimica Acta*, **2003**, 86: 2414-2423.
- ❖ Swarup V., Ghosh J., Ghosh S., Saxena A., Basu A., Antiviral and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid in an experimental murine model of Japanese encephalitis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 53:3367-3370
- ❖ Tapondjou, L.A., Mitaine-Offer, A.C., Sautour, M., Miyamoto, T., Lacaille-Dubois, M.A., Sphingolipids and other constituents from *Cordia platythyrsa*, *Biochem. System. Ecol.*, **2005**, 33: 1293-1297
- ❖ Teponno R.B., Tapondjou A.I., Djoukeng J.D., Mansour E.A., Tabacci R., Tane P., Lontsi D., Park H.J., Isolation and NMR assignment of a Pennogenin Glucoside from *Dioscorea bulbifera* L., var *sativa*, *Nat.l Prod. Scie.*, **2006**, 12(1):62-66
- ❖ Thanina A.C., Karim A., Mourad B., Phytochemical screening of Algerian *Borago officinalis* L. And evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities against respiratory pathogens, *Int. j. Phytomed.*, **2014**, 6(3): 369-376
- ❖ Thirupathi, K., Sathesh Kumar, S., Raju, V.S., Ravikumar, B., Krishna, D.R., Krishna Mohan, G., A review of medical plants of the genus *Cordia*: Their chemistry and pharmacological uses, *J.Nat. Remed.* **2008**, 8(1): 1-10
- ❖ Ticli, F.K., Hage, L.I., Cambraia, R.S., Pereira, P.S., Magro, A.J., Fontes, M.R., Stábeli, R.G., Giglio, J.R., França, S.C., Soares, A.M., Sampaio, S.V., Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and molecular interaction, *Toxicon*, **2005**, 46(3): 318-327
- ❖ Triantafyllidis J. K., Triantafyllidi K., Vagianos C., Papalois A. Favorable results from the use of herbal and plant products in inflammatory bowel disease: evidence from experimental animal studies, *Annals Gastroenterol.*, **2016**, 29(3): 268-281
- ❖ Tusevski, O., Vinterhalter, B., Krstić Milošević, D., Soković, M., Ćirić, A., Vinterhalter, D., Zdravković Korać, S., Petreska Stanoeva, J., Stefova, M., Gadzovska Simic, S. Production of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activities in hairy root and shoot cultures of *Hypericum perforatum* L., *Plant Cell, Tissue Organ Cult.*, **2016**, 1-17, IN PRESS

- ❖ Yamamoto H., Sakakibara J., Nagatsu A., Sekiya K., Inhibitors of arachidonate lipoxygenase from defatted Perilla seed, *J. Agricult. Food Chem.*, **1998**, 46: 862-865
- ❖ Yang J., Guoa J., , Yuan J., In vitro antioxidant properties of rutin, *LWT - Food Scie. Technol.*, **2008**, 41(6): 1060-1066
- ❖ Yi B., Hu L. , Mei W., Zhou K. , Wang H., Luo Y., Wei X., Dai H., Antioxidant Phenolic Compounds of Cassava (*Manihot esculenta*) from Hainan, *Molecules*, **2010**, 16: 10157-10167
- ❖ Vale, A.E., David, J.M., Santos, E.O., David, J.P., Silva, L.C.R.C., Bahia, M.V., Brandão H.N., An unusual caffeic acid derived bicyclic [2.2.2] octane lignan and other constituents from *Cordia rufescens*, *Phytochemistry*, **2012**, 76: 158-161
- ❖ Vvedenskaya I.O., Rosen R. T., Guido J. E., Russell D. J., Mills K. A., Vorsa N., Characterization of Flavonols in Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) Powder, *J.Agricult.Food Chem.*, **2004**, 52 (2): 188–195
- ❖ Velde, V.V., Lavie, D., Cordialin A and B, two new triterpenes from *Cordia verbenacea*, *J.C.S. Perkin I*, **1982**, 2697-2700
- ❖ Vitek, R., de Novais, L.M.R., Torquato, H.F.V., Paredes-Gamero, E.J., de Carvalho, M.G., de Sousa, P.T., Jr., Jacinto, M.J., da Silva, V.C., Chemical constituents and antileukemic activity of *Eugenia dysenterica* ,*Nat. Prod.Res.*, **2016**, 1-5
- ❖ Wang, Y., Ohtani, K., Kasai, R., Yamasaki, K., Flavonol glycosides and phenolics from leaves of *Cordia dichotoma*, *Natural Medicines*, **1996**, 50: 367
- ❖ Wassel, G., El-Menshaw, B., Saeed, A., Mahran, G., Reisch, J., New sources of pyrrolizidine alkaloids: Genus *Cordia* (Ehretiaceae) and *Schismus* (Gramineae), *Scientia Pharm.*, **1987**, 55:1633-166
- ❖ Weitzel C., Petersen M., Cloning and characterisation of rosmarinic acid synthase from *Melissa officinalis* L., *Phytochemistry*, **2011**, 72(7): 572-578
- ❖ Xu, W.H., Jacob, M.R., Agarwal, A.K., Clark, A.M., Liang, Z. S., Li, X. C., Flavonol glycosides from the native American plant *Gaura longiflora*, *Heterocycles*, **2009**, 78(10): 2541-2548
- ❖ Zemouri, H., Ammar, S., Boumendjel, A., Messarah, M., El Feki, A., Bouaziz, M., Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria, *Arab J Chem*, **2014**.

Ελληνική βιβλιογραφία:

- ❖ Δαμιανάκος, Χ., Φυτοχημική μελέτη (απομόνωση και καθορισμός χημικής δομής) ουσιών και αναλόγων τους από Ελληνικά φυτά (οικογένειες Boraginaceae, Myrtaceae, Runicaceae και Lamiaceae) και Βιολογικές δράσεις, Διδακτορική διατριβή, Αθήνα, **2011**
- ❖ Καββάδας Δ.Σ., Εικονογραφημένον Βοτανικόν-Φυτολογικόν Λεξικόν, Αθήνα, **1956i**, Τόμος Β, 927-930
- ❖ Καββάδας Δ.Σ., Εικονογραφημένον Βοτανικόν-Φυτολογικόν Λεξικόν, Αθήνα, **1956ii**, Τόμος Ε, 2060-2061
- ❖ Κρέτση, Ο., Μέρος Α: Βιοτεχνολογική παραγωγή δευτερογενών μεταβολιτών *Eucalyptus camaldulensis*. Μελέτη πτητικών συστατικών: καρπών και ανώριμων άνθων-Αντιμικροβιακές δράσεις. Μέρος Β: Μελέτη χημικών συστατικών υπέργειων τμημάτων του φυτού *Onosma leptantha* Heldr. (Boraginaceae), Μεταπτυχιακή εργασία, **2002**, Αθήνα
- ❖ Ορφανού, Ι.Μ., Φυτοχημική μελέτη (απομόνωση και καθορισμός χημικής δομής) φυσικών προϊόντων από το Ελληνικό ενδημικό φυτό *Onosma kaheirei* Terper (Boraginaceae), Μεταπτυχιακή εργασία, Αθήνα, **2014**
- ❖ Σουλελής Χ. Ν., Φαρμακογνωσία, Θεσσαλονίκη, **2000**, 449-470.
- ❖ Φουσέκη, Μ.Μ., Φυτοχημική μελέτη (απομόνωση και καθορισμός χημικής δομής) σε επιλεγμένα φυτά του τροπικού γένους *Cordia* L. (οικ. Boraginaceae), Μεταπτυχιακή εργασία, Αθήνα, **2015**

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία:

- ❖ http://www.hmdb.ca/spectra/nmr_one_d/1524
- ❖ http://www.valentine.gr/Rodos-tropica_gr.php
- ❖ http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Cordia_alliodora.pdf
- ❖ <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php>
- ❖ <http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/15593>
- ❖ <http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/15573>
- ❖ <http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/15582>
- ❖ <http://biogeodb.stri.si.edu/herbarium/species/15591>
- ❖ http://www.acguanacaste.ac.cr/paginas_especie/plantae_online/magnoliophyta/boraginaceae/cordia_linnaei/cordia_linnaei17mayo2000/c_linnaei17mayo2000.html