



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

# **ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗ *SALVIA FRUTICOSA* MILL.**

## **ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

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

**ΙΩΑΝΝΑ ΔΑΣΕΝΑΚΗ**

**ΑΘΗΝΑ  
ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2016**



## **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**

**Κουλάδη Μαρία-Μαρίνα**

Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Βασίλειος Ρούσσης**

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Κουλάδη Μαρία-Μαρίνα**

Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Ευσταθία Ιωάννου**

Επίκ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος του είδους *Salvia fruticosa* Mill. Το φυτικό δείγμα συλλέχθηκε στη περιοχή Ριζόσκαρο Χανίων στην Κρήτη τον Μάρτιο του 2015.

Έπειτα από εκχύλιση του αποξηραμένου φυτικού υλικού με μείγμα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και  $\text{MeOH}$ , το οργανικό υπόλειμμα που παραλήφθηκε υποβλήθηκε σε σειρά χρωματογραφικών διαχωρισμών που οδήγησαν στην απομόνωση δέκα μεταβολιτών, των οποίων οι χημικές δομές ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS.

Συγκεκριμένα, απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ένα μονοτερπένιο (α-τερπινεόλη), δύο σεσκιτερπένια (σπαθουλενόλη, βιριντιφλορόλη), πέντε διτερπένια (μανοόλη, καρνοσόλη, ροσμανόλη, 7α-O-μεθυλοροσμανόλη, μεθίδιο Α της σατζεκινόνης), ένα *nor*-διτερπένιο (σατζεόνη) και ένα τριτερπένιο (ολεανολικό οξύ).



## ABSTRACT

In the framework of the present thesis the chemical composition of the organic extract obtained from the plant *Salvia fruticosa* Mill was investigated. The plant material was collected in the area of Risoscaro, in Chania, Crete in March of 2015.

Specimens of the dried aerial parts of the plant were exhaustively extracted with mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and MeOH and the crude organic extract was submitted to a series of chromatographic separations that led to the isolation and structure elucidation of ten metabolites. The structures and relative configurations of the isolated natural products were established by means of spectroscopic analyses, including 1D and 2D NMR experiments, as well as MS data.

The isolated secondary metabolites include one monoterpene ( $\alpha$ -terpineol), two sesquiterpenes (spathulenol, viridiflorol), five diterpenes (manool, carnosol, rosmanol, 7 $\alpha$ -*O*-methylosmanol, sagequinone methide A), one *nor*-diterpene (sageone) and one triterpene (oleanolic acid).



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαρία-Μαρίνα Κουλάδη, την Επίκουρη Καθηγήτρια Ευσταθία Ιωάννου και τον Καθηγητή Βασίλειο Ρούσση για την ανάθεση του θέματος, την υποστήριξη και την καθοδήγησή τους καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και για το χρόνο που διέθεσαν για την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου ως μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής.

Ευχαριστώ την Καθηγήτρια Όλγα Τζάκου για τη βοήθεια της όσες φορές χρειάστηκε να τη συμβουλευτώ.

Ευχαριστώ όλους τους μεταπτυχιακούς φοιτητές, υποψήφιους διδάκτορες, μεταδιδακτορικούς ερευνητές και τεχνικούς του εργαστηρίου μας για τη βοήθεια, τη συνεργασία και τη φιλία τους όλο αυτό το διάστημα.

Και τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την συμπαράσταση και την κατανόησή τους όλα τα χρόνια.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ                                                                                                                | i   |
| ABSTRACT                                                                                                                | iii |
| ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ                                                                                                             | v   |
| ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ                                                                                                             | vii |
| ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ                                                                                                          | ix  |
| 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ                                                                                                      | 1   |
| 1.1. Εισαγωγή                                                                                                           | 1   |
| 1.2. Οικογένεια Labiatae                                                                                                | 2   |
| 1.3. Γενος <i>Salvia</i>                                                                                                | 3   |
| 1.3.1. Γενικά                                                                                                           | 3   |
| 1.3.2. Ασφάλεια χρήσης – Τοξικότητα                                                                                     | 6   |
| 1.3.3. Είδη που φύονται ή καλλιεργούνται στην Ελλάδα                                                                    | 6   |
| 1.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες από είδη του γένους <i>Salvia</i>                                                        | 10  |
| 1.4.1. Μονοτερπένια και σесκιτερπένια                                                                                   | 10  |
| 1.4.2. Διτερπένια                                                                                                       | 11  |
| 1.4.3. Σεστερτερπένια                                                                                                   | 12  |
| 1.4.4. Τριτερπένια και στεροειδή                                                                                        | 12  |
| 1.4.5. Φαινολικά οξέα                                                                                                   | 13  |
| 1.4.6. Φλαβονοειδή                                                                                                      | 15  |
| 1.5. Βιολογικές δράσεις                                                                                                 | 15  |
| 1.6. Σκοπός της μελέτης                                                                                                 | 16  |
| 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ                                                                                                    | 17  |
| 2.1 Οργανολογία                                                                                                         | 17  |
| 2.2 Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια                                                                                   | 17  |
| 2.3 Συλλογή του οργανισμού                                                                                              | 18  |
| 2.4 Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από τον φυτικό οργανισμό <i>Salvia fruticosa</i> | 18  |
| 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ                                                                                            | 37  |
| 3.1. Μεταβολίτης 1                                                                                                      | 38  |
| 3.2. Μεταβολίτης 2                                                                                                      | 41  |
| 3.3. Μεταβολίτης 3                                                                                                      | 44  |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 3.4. Μεταβολίτης <b>4</b>   | 47 |
| 3.5. Μεταβολίτης <b>5</b>   | 50 |
| 3.6. Μεταβολίτης <b>6</b>   | 56 |
| 3.7. Μεταβολίτης <b>7</b>   | 61 |
| 3.8. Μεταβολίτης <b>8</b>   | 64 |
| 3.9. Μεταβολίτης <b>9</b>   | 67 |
| 3.10. Μεταβολίτης <b>10</b> | 72 |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ                | 75 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ                | 77 |

# ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

|                                      |                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1D NMR</b>                        | πείραμα NMR μίας διάστασης                                                                                                                                                                  |
| <b>2D NMR</b>                        | πείραμα NMR δύο διαστάσεων                                                                                                                                                                  |
| <b><sup>1</sup>H NMR</b>             | 1D-NMR πείραμα πυρήνων υδρογόνου (πρωτονίου)                                                                                                                                                |
| <b><sup>13</sup>C NMR</b>            | 1D-NMR πείραμα πυρήνων άνθρακα, με ευρεία ετεροπυρηνική αποσύζευξη (proton-noise decoupled)                                                                                                 |
| <b>br</b>                            | ευρεία (NMR)                                                                                                                                                                                |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>              | δευτεριωμένο χλωροφόρμιο                                                                                                                                                                    |
| <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>  | διχλωρομεθάνιο                                                                                                                                                                              |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>              | χλωροφόρμιο                                                                                                                                                                                 |
| <b>cHex</b>                          | κυκλοεξάνιο                                                                                                                                                                                 |
| <b>COSY</b>                          | 2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H για <sup>2</sup> J και <sup>3</sup> J ( <b>C</b> orrelated <b>S</b> pectroscopy)                                     |
| <b>d</b>                             | διπλή (NMR)                                                                                                                                                                                 |
| <b>EIMS</b>                          | φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων ( <b>E</b> lectron <b>I</b> mpact <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry)                                            |
| <b>Et<sub>2</sub>O</b>               | διαιθυλαιθέρας                                                                                                                                                                              |
| <b>EtOAc</b>                         | οξικός αιθυλεστέρας                                                                                                                                                                         |
| <b>HMBC</b>                          | 2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C για <sup>2</sup> J και <sup>3</sup> J ( <b>H</b> eteronuclear <b>M</b> ultiple- <b>B</b> ond <b>C</b> orrelation) |
| <b>HPLC</b>                          | υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ( <b>H</b> igh <b>P</b> erformance <b>L</b> iquid <b>C</b> hromatography)                                                                                |
| <b>HSQC</b>                          | 2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C για <sup>1</sup> J ( <b>H</b> eteronuclear <b>S</b> ingle <b>Q</b> uantum <b>C</b> oherence)                      |
| <b>J</b>                             | σταθερά σύζευξης (σε Hz) (NMR)                                                                                                                                                              |
| <b>m</b>                             | πολλαπλή (NMR)                                                                                                                                                                              |
| <b>Me<sub>2</sub>CO</b>              | ακετόνη                                                                                                                                                                                     |
| <b>MeOH</b>                          | μεθανόλη                                                                                                                                                                                    |
| <b>MeOH-d<sub>4</sub></b>            | δευτεριωμένη μεθανόλη                                                                                                                                                                       |
| <b>MePh</b>                          | τολουόλιο                                                                                                                                                                                   |
| <b>MS</b>                            | φασματομετρία μάζας ( <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry)                                                                                                                                    |
| <b>m/z</b>                           | λόγος μάζας προς φορτίο                                                                                                                                                                     |
| <b>n-C<sub>5</sub>H<sub>12</sub></b> | κανονικό πεντάνιο                                                                                                                                                                           |
| <b>n-Hex</b>                         | κανονικό εξάνιο                                                                                                                                                                             |
| <b>NMR</b>                           | φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( <b>N</b> uclear <b>M</b> agnetic <b>R</b> esonance)                                                                                        |
| <b>RI</b>                            | δείκτης διάθλασης ( <b>R</b> efractive <b>I</b> ndex)                                                                                                                                       |
| <b>q</b>                             | τετραπλή (NMR)                                                                                                                                                                              |
| <b>s</b>                             | απλή (NMR)                                                                                                                                                                                  |
| <b>sept</b>                          | επταπλή (NMR)                                                                                                                                                                               |
| <b>t</b>                             | τριπλή (NMR)                                                                                                                                                                                |
| <b>TLC</b>                           | χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας ( <b>T</b> hin <b>L</b> ayer <b>C</b> hromatography)                                                                                                         |
| <b>δ</b>                             | χημική μετατόπιση της απορρόφησης ενός πυρήνα σε σχέση με το τετραμεθυλοσιλάνιο (σε ppm) (NMR)                                                                                              |



# 1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## 1.1. Εισαγωγή

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σήμερα προέρχονται σε ποσοστό 40% από φυσικές πηγές. Στην πλειοψηφία τους είναι καθαρές ουσίες που απομονώνονται από διάφορους οργανισμούς και χρησιμοποιούνται είτε αυτούσιες είτε μετά από κατάλληλες χημικές μετατροπές.

Από πάντα τα βότανα κατείχαν σημαντική θέση στη ζωή του ανθρώπου και έπαιζαν σημαντικό ρόλο στην καθημερινότητά του. Οι θεραπευτικές τους ιδιότητες ήταν γνωστές από πολύ παλιά και είχαν γίνει αντικείμενο προς μελέτη για τον Θεόφραστο, τον Διοσκουρίδη καθώς και τον πατέρα της ιατρικής τον Ιπποκράτη. Την θεραπευτική τους αξία δεν είχαν αναγνωρίσει όμως μόνο οι Έλληνες αλλά και οι Σουμέριοι, οι Βαβυλώνιοι, οι Κινέζοι και οι Αιγύπτιοι.

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί η τάση για επιστροφή στη φύση. Η τάση αυτή έχει οδηγήσει σε μία παγκόσμια αύξηση της ζήτησης για φυσικά προϊόντα και κυρίως για τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά λόγω των ποικίλων χρήσεων τους (Σκουμπρής 1985).

Τα φαρμακευτικά φυτά δεν αποτελούν ταξινομική ομάδα φυτών, αλλά μία ομάδα που οριοθετείται ως προς την χρήση. Κάθε φυτό το οποίο χρησιμοποιείται στην φαρμακευτική ή στην ιατρική μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως φαρμακευτικό φυτό.

Αρωματικά φυτά είναι εκείνα που περιέχουν αιθέρια έλαια και έχουν αρωματικό χαρακτήρα. Αυτά μπορεί να είναι ή να μην είναι φαρμακευτικά. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organisation, WHO) έχει καταγράψει 20.000 φαρμακευτικά φυτά σε όλο τον κόσμο, ενώ άλλοι έχουν εκτιμήσει ότι ο αριθμός τους κυμαίνεται μεταξύ 35.000 και 70.000 (Bhattarai et al. 2004).

Οι κύριες χρήσεις των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και των αιθερίων ελαίων τους (ή άλλων βιοδραστικών συστατικών τους) περιλαμβάνουν:

- Απευθείας χρήση στη μαγειρική ως αρώματα και βότανα.
- Στην αρωματοποιία, σε καλλυντικά και προϊόντα προσωπικής υγιεινής, είτε απευθείας είτε ως πρώτες ύλες για τη σύνθεση ειδικών αρωματικών ουσιών.
- Στη ζαχαροπλαστική, τη βιομηχανία τροφίμων και ποτών ως αρωματικά και βελτιωτικά.

- Στην ιατρική και την κτηνιατρική ως συστατικά σκευασμάτων.
- Στη γεωργία ως φυσικά φυτοπροστατευτικά μέσα.
- Σε φαρμακευτικά σκευάσματα λόγω βιολογικής δραστηριότητας ή ως βελτιωτικά οσμής και γεύσης (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2010).

Όπως αναφέρθηκε και πριν στην Ελλάδα τα αυτοφυή αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά χρησιμοποιούνταν στην καθημερινότητα αλλά και στο εμπόριο από την αρχαιότητα. Οι εδαφοκλιματικές συνθήκες στη χώρα μας ευνοούν ιδιαίτερα την ανάπτυξή τους και δίνουν προϊόντα εξαιρετικής ποιότητας. Η ελληνική χλωρίδα είναι ιδιαίτερα πλούσια σε είδη και περιλαμβάνει έναν σημαντικό αριθμό σπάνιων ειδών που συναντώνται μόνο στον ελλαδικό χώρο (Σκουμπής 1985).

Συγκεκριμένα η χλωρίδα του Ελλαδικού χώρου περιλαμβάνει περίπου 6000 είδη ανώτερων φυτών από τα οποία τα 500 έως 600 χαρακτηρίζονται ως αρωματικά και φαρμακευτικά. Αυτό δείχνει πως σε σχέση με άλλες ευρωπαϊκές χώρες η Ελλάδα πλεονεκτεί στις συνθήκες παραγωγής αρωματικών φυτών (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2010).

Τα κυριότερα εμπορικά αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά στην Ελλάδα είναι το τσάι του βουνού, το φασκόμηλο, το χαμομήλι, η ρίγανη, ο γλυκάνισος, ο μάραθος, ο βασιλικός, η δάφνη, το κύμινο, το μελισσόχορτο κ.α. και τέλος τα τυπικά προϊόντα συγκεκριμένων περιοχών της Ελλάδας όπως η μαστίχα Χίου, ο κρόκος Κοζάνης και ο δίκταμος της Κρήτης (Σκουμπής 1985).

## **1.2. Οικογένεια Labiatae**

Η πλειοψηφία των ελληνικών αρωματικών φυτών ανήκει στις οικογένειες Apiaceae, Asteraceae, Labiateae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae. Πιο ενδιαφέρουσα από αυτές μπορεί να θεωρηθεί η οικογένεια Labiateae η οποία περιλαμβάνει 320 είδη στη Ελλάδα και πολλά μέλη της παράγουν αιθέρια έλαια. Αντιπρόσωποι των ειδών αυτών συναντώνται σε όλα τα είδη βλάστησης, σε περιοχές με κλιματικές διαφοροποιήσεις ενώ πολλά από αυτά είναι ενδημικά (Kokkini et al. 1994).

Τα φυτά της οικογένειας Labiateae είναι ποώδη, θαμνώδη ή δενδρώδη και φέρουν αδενώδεις τρίχες στα φύλλα και στους βλαστούς, οι οποίες εκκρίνουν αιθέρια έλαια. Οι βλαστοί τους είναι συνήθως τετράγωνοι. Φέρουν συνήθως σταυρωτά αντίθετα φύλλα ή κατά σπονδύλους, συνήθως απλά, χωρίς παράφυλλα. Τα άνθη φέρονται μεμονωμένα ή πολλά μαζί στις μασχάλες των φύλλων, συνήθως κατά επάκρια ή

διχάζια, κατά βότρες ή στάχεις. Τα άνθη είναι τέλεια, σπάνια δίκλινα, ζυγόμορφα ή ακτινόμορφα, με βράκτια ή χωρίς βράκτια. Ο κάλυκας είναι σωληνοειδής ή κωδωνοειδής, αποτελούμενος συνήθως από 5, σπάνια 4-12 δόντια ή είναι δίχειλος. Η στεφάνη είναι σωληνοειδής, συμπέταλη, αποτελούμενη από 4-5 λοβούς, δίχειλη, σπάνια μονόχειλη ή ακτινόμορφη. Το πάνω χείλος της στεφάνης είναι δυνατό να αποτελείται από 3, 1 ή καθόλου πέταλα και το κάτω από 2 ή 4 πέταλα. Οι στήμονες είναι 2-4 και συχνά σχηματίζουν ανισοϋπή ζεύγη. Συχνά στα άνθη παρατηρούνται στημονώδη. Η ωοθήκη είναι επιφυής, σύγκαρπη, 4λοβη, αποτελούμενη από 2 καρπόφυλλα, τα οποία σχηματίζουν 4 χώρους. Σε κάθε χώρο περιέχεται 1 ανάτροπη σπερμοβλάστη. Ο στύλος είναι απλός και καταλήγει σε ένα δισχιδές στίγμα. Ο καρπός είναι σχιζοκάρπιο και αποτελείται από 4 μονόσπερμα κάρυα (Βαρδαβάκη και Καββαδά 1994).

Η οικογένεια των Labiatae είναι γνωστή από την ολιγόκαινο περίοδο. Περιλαμβάνει φυτά αρωματικά, αρτυματικά, μελισσοκομικά που είναι πλούσια σε αιθέρια έλαια αλκοολικής, φαινολικής, τερπενικής, κετονικής ή αλδεϋδικής σύστασης. Γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται ως στομαχικά, αντισπασμωδικά, αντισπασμωδικά, διουρητικά ή καθαρτικά (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2010).

Στην οικογένεια Labiatae ταξινομούνται 200 γένη με 3200 περίπου είδη που εξαπλώνονται παγκοσμίως με επίκεντρο εξάπλωσης την περιοχή της Μεσογείου. Αντιπροσωπευτικά γένη για την Ελλάδα είναι τα *Teucrium*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Sideritis*, *Satureja*, *Thymus*, *Origanum* κ.α. (Στεφανάκη-Νικηφοράκη 1999).

### 1.3. Γένος *Salvia*

#### 1.3.1. Γενικά

Το γένος *Salvia* περιλαμβάνει μονοετείς, διετείς ή πολυετείς πόες, συχνά με αδενώδεις τρίχες. Τα άνθη τα συναντάμε συνήθως σε χαλαρούς και ολιγανθείς σπονδύλους. Ο κάλυκας είναι κωδωνοειδής ή σωληνοειδής, ευδιάκριτα δίχειλος. Το ανώτερο χείλος έχει 3 οδόντες, το κατώτερο 2. Η στεφάνη είναι δίχειλη, συνήθως μεγάλη. Το ανώτερο χείλος της είναι ευθύ η δρεπανοειδές, το κατώτερο τρίλοβο. Οι στήμονες είναι 2, ο καθένας με γόνιμο και άγονο μισό ανθήρα, συνεχείς, πολύ επιμηκυμένοι και περιστρεφόμενοι στο νήμα, με ρόλο μοχλού κατά την επικονίαση. Τα κάρυα είναι μικρά, ωοειδή, αμβλέα, γωνιώδη, λεία (Strid 1980).

Ο σκοπός της καλλιέργειας των φυτών του γένους *Salvia*, αλλά και γενικότερα

των αρωματικών και θεραπευτικών φυτών, είναι η παραγωγή αιθέριων ελαίων και ξηρής δρόγης. Οι χρήσεις των φυτών αυτών είναι ανάλογες με τα αιθέρια έλαια που περιέχουν, τα οποία χρησιμοποιούνται σήμερα σε ευρεία κλίμακα στη βιομηχανία σε αρώματα, καλλυντικά, τρόφιμα κ.α. καθώς και ως αρτύματα ή καρυκεύματα φαγητών όπως π.χ. η ρίγανη και η δάφνη (Λίτσο 2009).

Ως φασκόμηλο αναφέρονται όλα τα γνωστά αυτοφυή είδη του γένους *Salvia* (Σκουμπρής 1985). Είναι ιθαγενές φυτό της μεσογείου το οποίο πλέον καλλιεργείται σε Αλβανία, Τουρκία, Ελλάδα, Ιταλία, Γαλλία, Ηνωμένο Βασίλειο και ΗΠΑ. Η καλλιέργεια του στην βόρεια Ευρώπη χρονολογείται στον Μεσαίωνα. Στην νότια Αμερική παρουσιάστηκε κατά τη διάρκεια του 17<sup>ου</sup> αιώνα.

Το όνομα *Salvia* προέρχεται από το λατινικό *salvare* που σημαίνει «καλή υγεία» και αναφέρεται στις θεραπευτικές του ιδιότητες. Σε κάποιους θάμνους φασκόμηλου σχηματίζονται σκληρά, χνοώδη σφαιρίδια τα οποία οφείλονται σε προσβολή εντόμων. Αυτά μοιάζουν με καρπούς και αποκαλούνται «μήλα της φασκομηλιάς» και από εκεί πήρε και το φυτό το όνομά του (Pappa 2001).

Το γένος *Salvia* χρησιμοποιούνταν σε αρχαία Αιγυπτιακά, Ελληνικά και Ρωμαϊκά φάρμακα. Στην Αίγυπτο το χρησιμοποιούσαν ως φάρμακο για τη γονιμότητα, στην Ελλάδα ως αιμοστατικό, για καθαρισμό πληγών, και κατά του βήχα. Είχε επίσης αναφερθεί πως το φασκόμηλο βελτιώνει τη λειτουργία της μνήμης. Οι χρήσεις αυτές στη συνέχεια εξαπλώθηκαν και στην Ινδία.

Στη Γερμανία το φασκόμηλο έχει άδεια κυκλοφορίας ως τυποποιημένο τσάι για τη θεραπεία γαστρεντερικών προβλημάτων και της νυχτερινής εφίδρωσης. Το τσάι χρησιμοποιείται επίσης και με εξωτερική τοπική εφαρμογή για φλεγμονές. Εκχύλισμα, βάμμα και αιθέριο έλαιο φασκόμηλου χρησιμοποιούνται σε έτοιμα σκευάσματα για το στόμα και το λαιμό και ως γαστρεντερικά φάρμακα σε υγρή και στερεή μορφή (Blumenthal et al. 2000).

Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής το φασκόμηλο χρησιμοποιείται ως συστατικό σε συμπληρώματα διατροφής για παρόμοιες περιπτώσεις με αυτές που αναφέρθηκαν παραπάνω, συνήθως με τη μορφή υδατικών εκχυλισμάτων ή αλκοολικών βαμμάτων. Κάποιες φορές το ξηρό βότανο ή εκχύλισμα χρησιμοποιούνται σε κάψουλες ή ταμπλέτες. Από το 1840 έως το 1900 το χρησιμοποιούσαν επίσημα για τη φλεγμονή στον πονόλαιμο κάνοντας γαργάρες (Blumenthal et al. 2000).

Το 1997, το Εθνικό Ίδρυμα Φυτοθεραπευτών στο Ηνωμένο Βασίλειο έστειλε ένα ερωτηματολόγιο στα μέλη του σχετικά με την κλινική χρήση και την εμπειρία τους

με το φασκόμηλο. Από τους 49 που απάντησαν συνολικά, οι 47 χρησιμοποιούσαν το φασκόμηλο και οι 45 το συνταγογραφούσαν συγκεκριμένα για την εμμηνόπαυση. Σχεδόν όλοι ανέφεραν τη χρήση του για τις εξάψεις, τη νυχτερινή εφίδρωση, και την ικανότητά του να προκαλεί οίστρο. 43 μέλη επισήμαναν τη χρήση του για μολύνσεις, κυρίως της άνω αναπνευστικής οδού, 29 επισήμαναν τη χρήση του στον πονόλαιμο, και 15 τη χρήση του για φλεγμονές του στόματος και των ούλων στις οποίες περιπτώσεις χρησιμοποιείται με τη μορφή γαργάρων και στοματικών πλύσεων.

Όσον αφορά τη μορφή συνταγογράφησης, οι 37 το συνταγογραφούσαν ως τσάι, οι 30 ως αλκοολικό βάμμα,, οι 14 ως φρέσκο βάμμα, οι 2 ως αλκοολικό εκχύλισμα, οι 2 ως φρέσκο χυμό και 1 ως φρέσκο φύλλο (Beatty and Denham 1998).

Μία άλλη περιοχή στην οποία δόθηκε έμφαση ήταν η χρήση του ως γενικό τονωτικό για την κούραση, την νευρική εξάντληση, την εξασθένιση του ανοσοποιητικού συστήματος και την μνήμη και την κακή συγκέντρωση, σε όλες τις ηλικίες.

Στη λαϊκή φαρμακευτική για το γένος *Salvia* αναφέρονται οι παρακάτω ιδιότητες: διευκόλυνση πέψης, επιτάχυνση της κυκλοφορίας του αίματος, μετριασμός του ερεθισμού του νευρικού συστήματος, διουρητικό, αντισπασμωδικό, κατευναστικό, αντιαιμορραγικό, στυπτικό, αντιβηχικό, αντιαρθρικό κ.α. (Σκουμπρής 1985).

Στις μονογραφίες της EMEA (EMA/HMPC/330383/2008) για την *Salvia officinalis* L., αναγράφονται οι παρακάτω ενδείξεις για την παραδοσιακή της χρήση:

1. Συμπτωματική θεραπεία των ήπιων δυσπεσιών, συμπεριλαμβανόμενων της καούρας και του φουσκώματος.
2. Ανακούφιση της υπερβολικής εφίδρωσης.
3. Συμπτωματική θεραπεία των φλεγμονών στο στόμα και τον λαιμό.
4. Ανακούφιση δερματικών φλεγμονών.

Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων για την περιγραφή της δρόγης ανατρέχει στην Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία 6.0, όπου η δρόγη *Sage leaf* αποτελείται από ολόκληρα ή κονιορτοποιημένα αποξηραμένα φύλλα της *S. officinalis*, το αιθέριο έλαιο των οποίων είναι πλούσιο σε α- και β-θυμόνη. Αξιοσημείωτο είναι δε το γεγονός, ότι αναφέρεται και η ύπαρξη της μονογραφίας της *Salvia fruticosa* Mill. στην Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία 6.0. Επίσης προτείνει τη χρήση της *S. officinalis* συνδυαστικά με άλλες 38 φυτικές δρόγες, όπως για παράδειγμα *Tiliae flos*, *Chamomillae flos*, *Melissae folium*, *Thymi herba*, *Hyperici herba*, *Rosmarini folium*, *Salicis cortex*, *Menthae piperitae folium*, *Coriandri fructus*, *Taraxaci radix cum herba* και άλλα.

### 1.3.2. Ασφάλεια χρήσης - Τοξικότητα

Σύμφωνα με τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων η τοξικότητα του αιθερίου ελαίου της *S. officinalis* καθορίζεται σε κύριο βαθμό από την περιεχόμενη θυιόνη. Η μέγιστη ημερήσια δόση θυιόνης είναι 5 mg, πάνω από τη δόση αυτή η χορήγηση θα πρέπει να εκτιμηθεί με γνώμονα τον παράγοντα risk/benefit. Μεγάλες δόσεις θυιόνης είναι τοξικές και μπορεί να προκαλέσουν επιληπτικές κρίσεις, για το λόγο αυτό πρέπει πάντοτε οι εμπορικές-τυποποιημένες μορφές της δρόγης να συνοδεύονται με ανάλυση της περιεχόμενης θυιόνης (EMA/HMPC/330383/2008).

Ο EMA αναφέρει ότι η χρήση της δρόγης σε παιδιά κάτω των 12 ετών απαγορεύεται, ενώ η χρήση σε παιδιά μεταξύ 12-18 ετών διερευνάται (EMA/HMPC/330383/2008).

Έχει αναφερθεί από τους Newall et al. (1996) περιστατικό δηλητηρίασης μετά από κατάποση του ελαίου της δρόγης για θεραπεία κατά της ακμής. Το αιθέριο έλαιο είναι ερεθιστικό για το δέρμα και δεν ενδείκνυται η χρήση του στην αρωματοθεραπεία.

Τα αλκοολικά εκχυλίσματα και το αιθέριο έλαιο της δρόγης δεν πρέπει να χορηγούνται εσωτερικά κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης και της γαλουχίας (Blumenthal 2000).

Μία έρευνα έδειξε ότι η *S. lavandulaefolia* έχει παρόμοια σύσταση με την *S. officinalis* χωρίς την περιεκτικότητα σε θυιόνη. Αυτό την καθιστά πιο κατάλληλη για εκείνους που ανησυχούν για την υπερβολική χρήση φασκόμηλου ως θεραπεία (Hamidpour et al. 2014).

### 1.3.3. Είδη που φύονται ή καλλιεργούνται στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα υπάρχουν 23 αυτοφυή είδη του γένους. Από αυτά τρία είναι ενδημικά της Ελλάδας (*Salvia eichleriana* Halácsy, *S. pomifera* L. subsp. *pomifera* και *S. teddii* Turrill), ενώ τα περισσότερα αυτοφύονται σε βραχώδεις πλαγιές, σε ξηρούς βοσκότοπους, σε καλλιεργημένες περιοχές ή σε παρόμοια ενδιαιτήματα αυτού του τύπου. Πολλά μη ευρωπαϊκά είδη καλλιεργούνται ως καλλωπιστικά φυτά (Karousou et al. 2000).

Στην Ελλάδα, τα κύρια αρωματικά αυτοφυή φυτικά είδη *Salvia* είναι τα εξής: *S. fruticosa* Mill., *S. tomentosa* Mill., *S. pomifera* L. και *S. sclarea* L. (Kokkini et al. 2003).

### **Salvia officinalis**

Το είδος *S. officinalis* (Εικ. 1) είναι μικρός αειθαλής αρωματικός θάμνος. Ο βλαστός του είναι τετραγωνικός, πολύκλαδος, χνουδωτός, με ύψος 30-50 εκατοστά, φύλλα λογχοειδή ή προμήκη, οδοντωτά, χνουδωτά, πράσινα. Ευδοκίμει σε θερμές και σε ψυχρές περιοχές (νησιά, ηπειρωτική Ελλάδα) και σε χωράφια ασβεστούχα, μέτριας γονιμότητας, ξηρικά.



**Εικόνα 1.** *Salvia officinalis*.

Τα άνθη του είναι κυανοιώδη, ροδόχρωμα ή λευκά, ανά 5-10, σε αραιούς σπονδύλους (σχηματίζουν στενό, απλό βότρυ). Έχει βράκτια ωοειδή, βραχύτερα του κάλυκα τα οποία πέφτουν εύκολα. Ο κάλυκας έχει μήκος 1-1,4 cm και είναι δίχειλος, χνουδωτός, αδενώδης. Η στεφάνη είναι 2 με 3,5 cm, διπλάσια ή τριπλάσια του κάλυκα, με το ανώτερο χείλος σχεδόν ευθύ, επίπεδο. Ο σωλήνας έχει δακτύλιο εσωτερικά. Ανθίζει Μάιο με Αύγουστο.

Ο πολλαπλασιασμός τους γίνεται με σπόρο που σπέρνεται σε σπορείο ή απευθείας στο χωράφι με μοσχεύματα και με παραφυάδες. Η σπορά και η μεταφύτευση γίνονται το φθινόπωρο ή την άνοιξη σε αποστάσεις 40-50 επί 70-80 εκατοστά. Είναι φυτό αρωματικό, φαρμακευτικό και μελισσοτροφικό (Λίτσο 2009).

### **Salvia fruticosa (syn. S. triloba)**

Το είδος *S. fruticosa* (Εικ. 2) είναι θάμνος και ενδημικό φυτό της Ελλάδας και της Ανατολικής Μεσογείου. Είναι το πιο εξαπλωμένο είδος του γένους *Salvia* στην Ελλάδα και συναντάται σε περιοχές μακκί και φρύγανα, έως 700 m (Hedge 1982).

Η *S. fruticosa* είναι γνωστή και ως το ελληνικό φασκόμηλο αν και συχνά συγχέεται με την *S. officinalis*. Είναι όμως αρκετά πιο αρωματικό και είναι εξίσου αποδεκτό ως άρτυμα στην Ευρώπη.

Έχει αρκετά συνώνυμα όπως *S. libanotica* Boiss. and Gail, *S. lobryana* Aznav., *S. thomasi* Lacaita, *S. triloba* L. fil. (Karousou et al. 2000).



**Εικόνα 2.** *Salvia fruticosa*.

Φύεται κυρίως σε ξηρά, ηλιόλουστα και βραχώδη άγονα μέρη. Πρόκειται για πολυετές φυτό με πολλούς κλάδους έως 50 cm ύψος ή περισσότερο, ξυλώδες στη βάση του με μαλακούς βλαστούς. Τα φύλλα του είναι επιμήκη, οξύληκτα, χνοώδη και γκριζοπράσινα. Κάθε χειμώνα εμφανίζει νέους μαλακούς βλαστούς, ενώ στο τέλος της άνοιξης εμφανίζονται με χρώμα αχνοιώδες. Το αυτοφυές φασκόμηλο συλλέγεται από την εποχή της ανθοφορίας (Μάιος-Ιούνιος) μέχρι και το Σεπτέμβρη. Η καλύτερη εποχή για τη συλλογή του είναι όταν βρίσκεται σε στάδιο πλήρους άνθησης (Kokkini et al. 2003).

### **Salvia pomifera**

Το είδος *S. pomifera* (Εικ. 3) είναι θάμνος που φύεται στη Ν. Ελλάδα σε υψόμετρο 0-500 m., στην Δ. Κρήτη μέχρι τα 1200 m., σε πετρώδεις λοφοπλαγιές και είναι γνωστό ως πικρή φασκομηλιά.



**Εικόνα 3.** *Salvia pomifera*.

Έχει φύλλα απλά έμμισχα, ωοειδή, στρογγυλά ή καρδιοειδή στη βάση, τραχιά, με πυκνό βελουδένιο χνούδι. Ανθίζει από τον Μάιο έως τον Ιούνιο.

### **Salvia sclarea**

Το είδος *S. sclarea* (Εικ. 4) απαντάται σε πετρώδεις τόπους της Θράκης, της Μακεδονίας, της Ηπείρου, της Θεσσαλίας, της Πελοποννήσου και των Ιονίων νησιών.



**Εικόνα 4.** *Salvia sclarea*.

Τα φύλλα του είναι μεγάλα και ανωμάλως οδοντωτά, ενώ η κάτω επιφάνεια του διατρέχεται από πολλά νεύρα που προεξέχουν. Όλο το φυτό είναι χνουδωτό και κολλώδες λόγω της παρουσίας άφθονων αδενωδών τριχών, μέσα στις οποίες βρίσκεται το αιθέριο έλαιο του. Ανθίζει από τον Ιούνιο έως τον Αύγουστο.

#### **1.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες από είδη του γένους *Salvia***

Τα είδη του γένους *Salvia* χαρακτηρίζονται κυρίως από τη παρουσία πλήθους τερπενίων (μονο-, σεσκι-, δι-, σεστερ- και τριτερπένια) και πολυφαινολικών ουσιών (φαινολικά οξέα και παράγωγα αυτών και φλαβονοειδή).

##### **1.4.1. Μονοτερπένια και σεσκιτερπένια**

Το φύλλο της *S. officinalis* περιέχει 1,5% κατ' όγκο αιθέριο έλαιο πλούσιο σε θυιόνη και ακολουθούν η 1,8-κινεόλη και η καμφορά. Η  $\alpha$  και  $\beta$  θυιόνη μπορεί να φτάσουν μέχρι και το 50% του αιθέριου ελαίου και παρουσιάζουν σχετική τοξικότητα. Λόγω αυτού η λήψη του αιθέριου ελαίου για εσωτερική χρήση δεν συνιστάται.

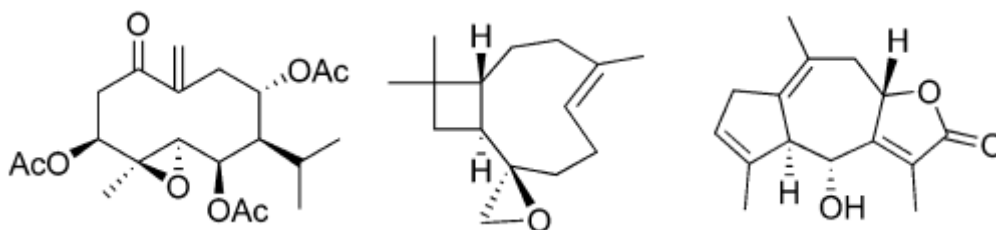
Η εμπορική αξία του αιθερίου ελαίου της *S. officinalis* καθορίζεται από τα ποσοστά της  $\alpha$ - και  $\beta$ -θυιόνης καθώς και της καμφοράς που περιέχει. Πιο εμπορεύσιμα αιθέρια έλαια θεωρούνται αυτά που έχουν περιεκτικότητα σε  $\alpha$ - και  $\beta$ -θυιόνη >30% και σε καμφορά <20% (Lawrence 1992).

Η χημική σύσταση καθώς και η απόδοση του αιθέριου ελαίου επηρεάζονται από διαφόρους παράγοντες, όπως η ποικιλία, η περίοδος οντογένεσης του φυτού, οι

καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται, διάφοροι οικολογικοί παράγοντες και οι συνθήκες παραλαβής του (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2010).

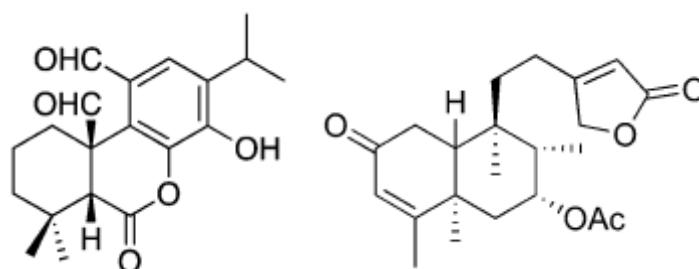
Το αιθέριο έλαιό της *S. fruticosa* χαρακτηρίζεται από μεγάλο ποσοστό 1,8-κινεόλης και μικρή περιεκτικότητα σε θιόνες (<5%). (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2010). Ακολουθούν η καμφορά, το *trans*-καρυοφυλλένιο και το  $\beta$ -πινένιο. Το μεγαλύτερο ποσοστό καταλαμβάνουν τα οξυγονωμένα μονοτερπένια, ενώ ακολουθούν τα μονοτερπένια, τα σесκιτερπένια, τα οξυγονωμένα σесκιτερπένια και τα διτερπένια (Πιταροκοίλη 2009).

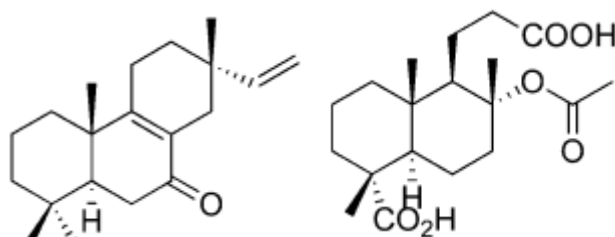
Ο αριθμός των φυσικών σесκιτερπενίων που έχουν απομονωθεί από τα είδη *Salvia* είχε καταμετρηθεί ως και τον Απρίλιο του 2010 σε 46, με κυριότερα τα γερμακράνια, καρυοφυλλάνια και γουαιάνια (Wu et al. 2012).



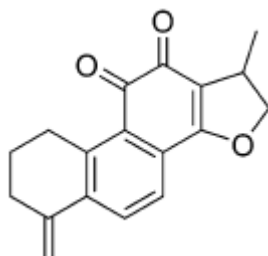
#### 1.4.2. Διτερπένια

Τα είδη *Salvia* περιέχουν κυρίως διτερπένια τύπου αβιετανίου, κλεροδανίου, πιμαρανίου και λαβδανίου (Wu et al. 2012). Με εξαίρεση τα αμερικάνικα είδη, πιο κοινά είναι τα διτερπένια τύπου αβιετανίου στις ρίζες τους, ενώ διτερπένια τύπου κλεροδανίου και λαβδανίου είναι αρκετά σπάνια. Στα αμερικάνικα είδη διτερπένια τύπου κλεροδανίου βρίσκονται στα εναέρια τμήματα ή σε ολόκληρο το φυτό (Πιταροκοίλη 2009).



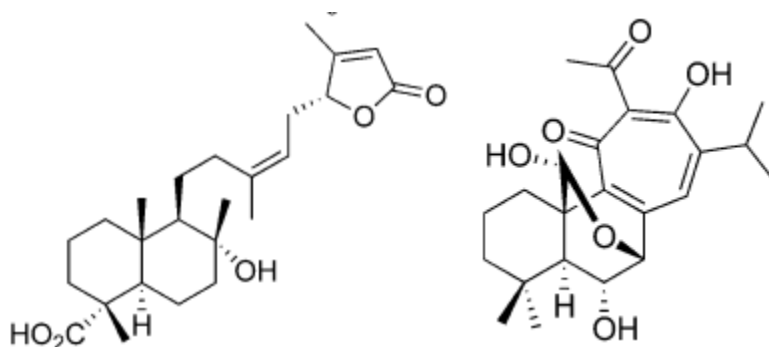


Οι τανσινόνες είναι αρκετά γνωστά διτερπένια τύπου αβιετανίου που απομονώθηκαν πρώτα από τη *S. miltiorrhiza*. Τα πρώτα διτερπένια που ανιχνεύθηκαν από το φυτό αυτό ήταν οι τανσινόνες I, II και III και αργότερα οι ισοτανσινόνες I και II, ισοκρυπτοτανσινόνη και κρυπτοτανσινόνη.



#### 1.4.3. Σεστερτερπένια

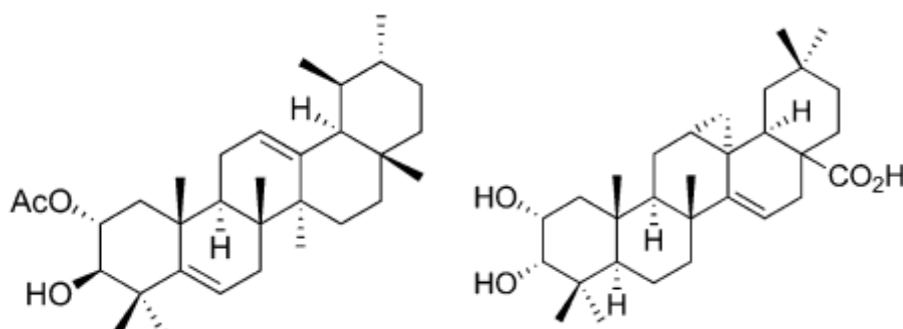
Διάφορα σεστερτερπένια έχουν απομονωθεί από τα υπέργεια τμήματα ειδών *Salvia*. Επιπλέον, έχουν απομονωθεί και C23 τερπένια με σκελετό απιανανίου (Wu et al. 2012).



#### 1.4.4. Τριτερπένια και στεροειδή

Τα πιο κοινά τριτερπένια που απαντώνται στα περισσότερα είδη *Salvia* είναι το ουρσολικό και ολεανολικό οξύ τα οποία απομονώθηκαν από την *S. officinalis*

(Brieskorn and Schlumprecht 1951), καθώς και πλήθος παραγώγων τους. Ακόμη, απομονώνονται παράγωγα λουπανίου και δαμμαρανίου.



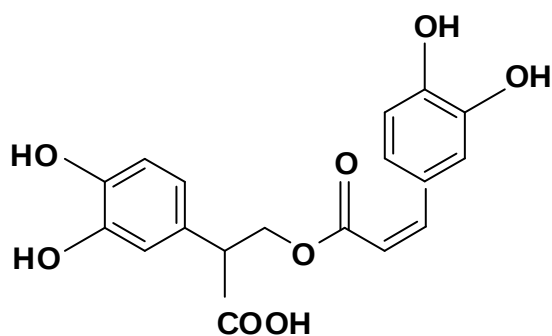
#### 1.4.5. Φαινολικά οξέα

Τα πολικά φαινολικά οξέα αποτελούν το κυριότερο μέρος των υδροδιαλυτών συστατικών του εκχυλίσματος της *Salvia*. Τα περισσότερα φαινολικά οξέα που έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι τώρα είναι από τα είδη *S. miltiorrhiza*, *S. chinensis* και *S. yunnanensis*.

Εκτός από μερικά απλά βενζοϊκά οξέα, όπως τα 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, 3,4-διδυδροξυβενζοϊκό οξύ, βανιλικό οξύ και 2,4-διμεθοξυβενζοϊκό οξύ, και δύο κουμαρίνες (τις 6,7-διδυδροξυκουμαρίνη και 7-μεθοξυκουμαρίνη), η πλειοψηφία των φαινολικών οξέων στα είδη *Salvia* είναι αποκλειστικά παράγωγα του καφεϊκού οξέος, τα οποία είναι μοναδικά στην *Salvia* εκτός από το ροσμαρινικό οξύ και το λιθοσπερμικό οξύ (Lu and Foo 2001).

Το φύλλο της *S. officinalis* περιέχει 3-8% συμπυκνωμένες ταννίνες κατεχινικού τύπου (σαλβιοταννίνη) και φαινολικά οξέα (ροσμαρινικό, καφεϊκό, φερουλικό κ.α).

Το καφεϊκό οξύ παίζει βασικό ρόλο στην βιοχημεία των Lamiaceae και εμφανίζεται κυρίως στη διμερή μορφή ως ροσμαρινικό οξύ (Gerhardt and Schroeter 1983).



Ροσμαρινικό οξύ

Στα είδη *Salvia* το καφεϊκό οξύ είναι ο δομικός λίθος αρκετών από τους μεταβολίτες του φυτού. Τα τριμερή και τετραμερή είναι πιο ενδιαφέροντα από θεραπευτικής πλευράς καθώς έχει βρεθεί πως κατέχουν σημαντικές βιολογικές ιδιότητες (Lu and Foo 2001).

#### Μονομερή του καφεϊκού οξέος

Τα μονομερή που είναι συχνά παρόντα στο γένος *Salvia* αντιπροσωπεύονται από το καφεϊκό οξύ και το 3-(3,4-διυδροξυφενυλικό)λακτικό οξύ. Άλλα μονομερικά παράγωγα που έχουν περιγραφεί ως συστατικά του φασκόμηλου είναι το φερουλικό οξύ, το ισοφερουλικό οξύ κ.α. (Lu and Foo 2001).

#### Διμερή του καφεϊκού οξέος

Το ροσμαρινικό οξύ είναι το πιο άφθονο διμερές του καφεϊκού οξέος στα είδη *Salvia* και έχει αναφερθεί πως είναι το βασικό φαινολικό συστατικό που είναι υπεύθυνο για την υψηλή αντιοξειδωτική τους δράση (Lu and Foo 2001).

#### Τριμερή του καφεϊκού οξέος

Τα τριμερή που προέρχονται από το καφεϊκό οξύ αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα μεταβολιτών στο γένος *Salvia*. Περιλαμβάνουν μίγματα όπως το λιθοσπερμικό οξύ, τα σαλβιανολικά οξέα H και K, την σαζεκουμαρίνη κ.α. (Lu and Foo 2001).

#### Τετραμερή του καφεϊκού οξέος

Τα τετραμερή του καφεϊκού οξέος είναι στην ουσία διμερισμένα ροσμαρινικά οξέα (Lu and Foo 2001).

#### Μεγαλύτερα oligομερή του καφεϊκού οξέος

Τα γιουνανεικά οξέα A και B που βρέθηκαν στην *S. yunnanensis* είναι τα μοναδικά γνωστά εξαμερή του καφεϊκού οξέος (Tanaka et al. 1996).

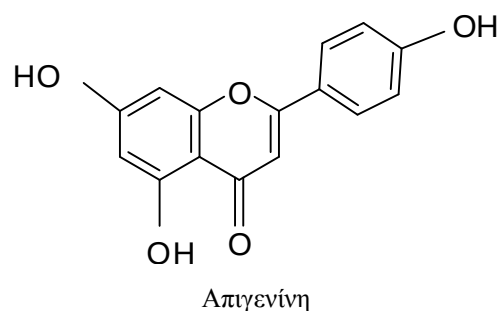
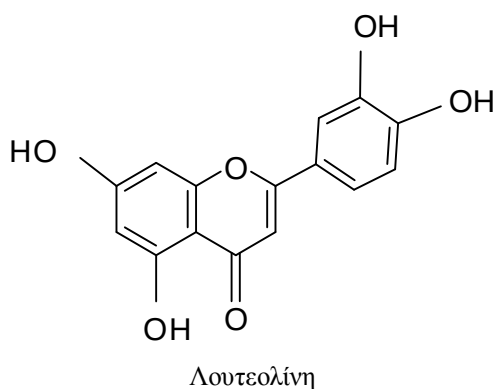
#### Φαινολικοί γλυκοσίδες

Γενικά δεν είναι πολύ κοινοί στο γένος *Salvia*. Ενδεικτικά αναφέρονται τα *cis*-π-κουμαρικό οξύ 4-O-(2'-O-β-D-απιοφουρανοσύν-)-β-D-γλυκοπυρανοσίδιο και *trans*-π-κουμαρικό οξύ 4-O-(2'-O-β-D-απιοφουρανοσύν-)-β-D-γλυκοπυρανοσίδιο (Lu and Foo 2000).

#### 1.4.6. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στο γένος *Salvia* και κυρίως οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι γλυκοσίδες αυτών. Έχει αναφερθεί ότι η παρουσία 6-υδροξυλιωμένων φλαβονών έχει ιδιαίτερη χημειοταξινομική σημασία για το γένος.

Το φύλλο της *S. officinalis* περιέχει 1-3% φλαβονοειδή (παράγωγα απιγενίνης και λουτεολίνης) (Blumenthal et al. 2000).



#### 1.5. Βιολογικές δράσεις

Τα αιθέρια έλαια, τα εκχυλίσματα ή απομονωμένοι μεταβολίτες διαφόρων ειδών του γένους *Salvia* έχουν επιδείξει μεταξύ άλλων αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή, αντιιική, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση.

Το αιθέριο έλαιο της *S. fruticosa*, αλλά και οι μεταβολίτες α, β-θουιόνη και 1,8-κινεόλη είχαν αντιβακτηριακή δράση έναντι οκτώ βακτηρίων (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Rhizobium leguminosarum* και *Bacillus subtilis*) (Sivropoulou et al. 1997). Το αιθέριο έλαιο της *S. officinalis* ήταν μέτρια αποτελεσματικό εναντίων των βακτηρίων *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium linens*, *Micrococcus luteus* και *Serratia marcescens*.

Ακόμη, το έλαιο της *S. officinalis* επέδειξε πολύ καλή δράση έναντι του φυτοπαθογόνου μύκητα *Botrytis cinerea*, ενώ βρέθηκε ανενεργό στους *Phytophthora cinnamomi*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Verticillium dahliae* και στα ανθρωποπαθογόνα *Candida albicans* και *Trichophyton mentagrophytes*.

Το αιθέριο έλαιο της *S. fruticosa* και τα κύρια συστατικά του, α- και β-θουιόνη, 1,8-κινεόλη και καμφορά είχαν υψηλή αντιϊκή δράση έναντι του Herpes Simplex Virus 1 (HSV1) (Sivropoulou et al. 1997). Επίσης, από εκχύλισμα της *S. officinalis* έχουν

απομονωθεί διτερπένια, τα οποία παρουσιάζουν αντιική δράση. Το σαφικινολίδιο ήταν δραστικό κατά του Vesicular Stomatitis Virus (VSV), ενώ η σατζεόνη έδειξε αντιική δράση κατά του HSV1.

Στην Κίνα οι ρίζες της *S. miltiorrhiza* χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενειών, όπως η καρδιοεγκεφαλική ισχαιμία και η θρόμβωση, καθώς και στην πρόληψη μυοκαρδιακού εμφράγματος λόγω του ότι είναι ικανά να μειώσουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων, να κινητοποιήσουν την κυκλοφορία του αίματος και να μειώσουν τη στάση του αίματος. Οι ρίζες της *S. miltiorrhiza* έχει αποδειχθεί ότι παρεμποδίζουν τη βιοσύνθεση κυτταρικής χοληστερόλης και ότι έχουν αγγειοδιασταλτικές, υποτασικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες. Είναι ευεργετικές σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Οι τανσινόνες έχει αναφερθεί ότι προστατεύουν το μυοκάρδιο από διαταραχές της καρδιακής λειτουργίας.

Οι μεταβολίτες καρνοσικό οξύ, καρνοσόλη, ροσμανόλη, επιροσμανόλη, 7-Ο-μεθυλο-επιροσμανόλη και ροσμαρινικό οξύ παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική δράση. Το ουρσολικό οξύ, έως 4% (σε ξηρό βάρος) στα φύλλα της *S. officinalis*, έχει αντιφλεγμονώδη δράση. Το σαλβιανολικό οξύ Α βρέθηκε ότι αναστέλλει γαστρικές αλλοιώσεις που οφείλονται σε στρες.

## 1.6. Σκοπός της μελέτης

Βασικός στόχος της έρευνας που σχετίζεται με τη χημεία φυσικών προϊόντων είναι η απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι θα παρουσιάζουν βιολογική δράση ή κάποια άλλη αξιόλογη εφαρμογή.

Για αυτό το λόγο επιλέχθηκε να μελετηθεί το φυτικό είδος *S. fruticosa*, το οποίο παραδοσιακά χρησιμοποιείται ως αφέψημα και για το οποίο δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα εκτενείς φυτοχημικές μελέτες από τον Ελλαδικό χώρο.

## 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 2.1. Οργανολογία

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους Bruker AC 200 και Bruker DRX 400. Τα 2D-NMR πειράματα πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τις τυποποιημένες ακολουθίες παλμών Bruker. Για τη λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκε  $\text{CDCl}_3$  ή  $\text{MeOH-d}_4$ . Οι  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR χημικές μετατοπίσεις δίνονται στη κλίμακα  $\delta$  (ppm) λαμβάνοντας ως αναφορά την κορυφή του  $\text{CHCl}_3$  στα 7.24 και 77.0 ppm ή της  $\text{MeOH}$  στα 3.31 και 49.0 ppm, αντίστοιχα, ενώ οι σταθερές σύζευξης  $J$  (Hz) δίνονται σε παρενθέσεις.

Τα φάσματα μάζας χαμηλής ευκρίνειας καταγράφηκαν σε φασματογράφο μάζας Hewlett-Packard 5973 ή σε φασματογράφο μάζας Thermo Electron Corporation DSQ με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων (EIMS).

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί HPLC πραγματοποιήθηκαν σε χρωματογράφο CECIL 1100 Series Liquid Chromatography Pump με μονή αντλία εισαγωγής του συστήματος διαλυτών και ανιχνευτή RI GBC LC-1240 ή σε χρωματογράφο Waters 600 με διπλή αντλία εισαγωγής του συστήματος διαλυτών και ανιχνευτή RI Waters 410.

Οι στήλες που χρησιμοποιήθηκαν στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC ήταν οι ακόλουθες: (i) στήλη κανονικής φάσης Supelco SPLC-Si (Supelcosil, 25cm x10 mm) και (ii) στήλη κανονικής φάσης Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm).

Η συμπύκνωση των υπολειμμάτων και των κλασμάτων υπό κενό έγινε σε συσκευή ταχείας εξάτμισης διαλύτη με μηχανικά περιστρεφόμενη φιάλη απόσταξης και εφαρμογή ελαττωμένης πίεσης τύπου BÜCHI Rotavapor R-200 σε θερμοκρασία έως 38°C.

### 2.2. Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί υγρής χρωματογραφίας με υποβοήθηση κενού πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης της στήλης γέλη πυριτίου κανονικής φάσης Kieselgel 60H της εταιρείας Merck.

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί υγρής χρωματογραφίας βαρύτητας πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης της στήλης γέλη πυριτίου

κανονικής φάσης Kieselgel 60A flash (35-70  $\mu\text{M}$ ) της εταιρείας Merck.

Οι χρωματογραφικοί προσδιορισμοί TLC πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας πλάκες αλουμινίου με επίστρωση Kieselgel 60 G/UV<sub>254</sub> (20 x 20 cm, πάχους 0.2 mm) της εταιρείας Macherey-Nagel. Μετά την ανάπτυξη τους σε κατάλληλο σύστημα διαλυτών, οι πλάκες ελέγχονταν σε λάμπα υπεριώδους φωτός (UV) στα 254 nm και 365 nm και οι κηλίδες ανιχνεύονταν ύστερα από ψεκασμό με διάλυμα 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  σε MeOH και θέρμανση της πλάκας στους 100°C για περίπου 2 min.

Οι διαλύτες cHex, EtOAc,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και MeOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences, οι οποίοι πριν από τη χρήση τους αποστάχθηκαν. Οι διαλύτες  $\text{CHCl}_3$ , MePh, *n*-Hex, *n*- $\text{C}_5\text{H}_{12}$  και  $\text{Et}_2\text{O}$  ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Ο διαλύτης  $\text{Me}_2\text{CO}$  ήταν καθαρότητας HPLC της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Όλοι οι διαλύτες πριν από τη χρήση τους σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν.

Για την λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκε  $\text{CDCl}_3$  ή  $\text{MeOH-d}_4$  χωρίς εσωτερικό πρότυπο των εταιρειών Deutero GmbH ή Aldrich-Sigma Chemical Company.

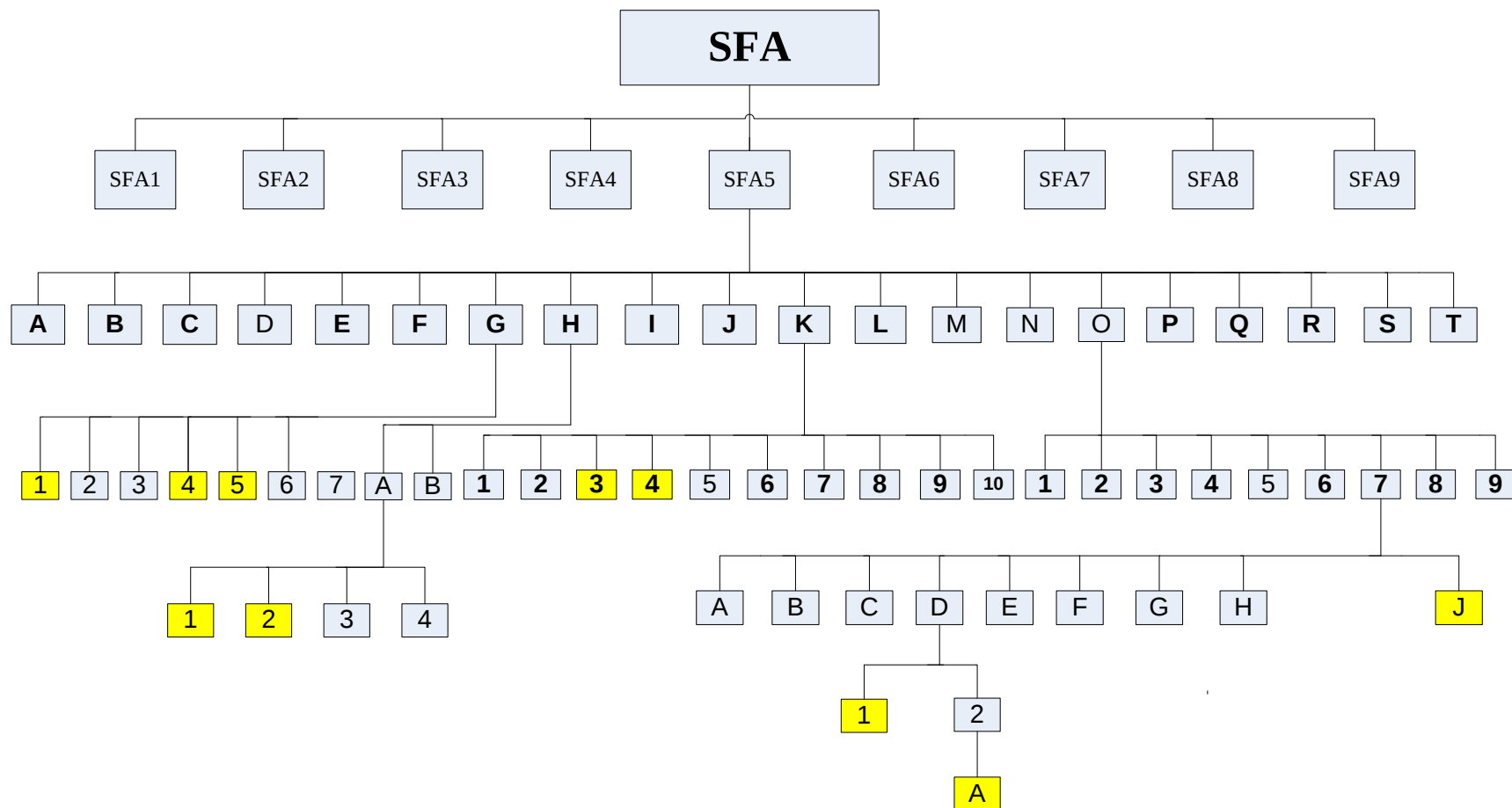
### 2.3. Συλλογή του οργανισμού

Δείγμα του φυτικού οργανισμού *S. fruticosa* συλλέχθηκε στο Ριζόσκαρο Χανίων τον Μάρτιο του 2015 και εν συνεχεία μεταφέρθηκε στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου και διατηρήθηκε σε συνθήκες περιβάλλοντος μέχρι την επεξεργασία του.

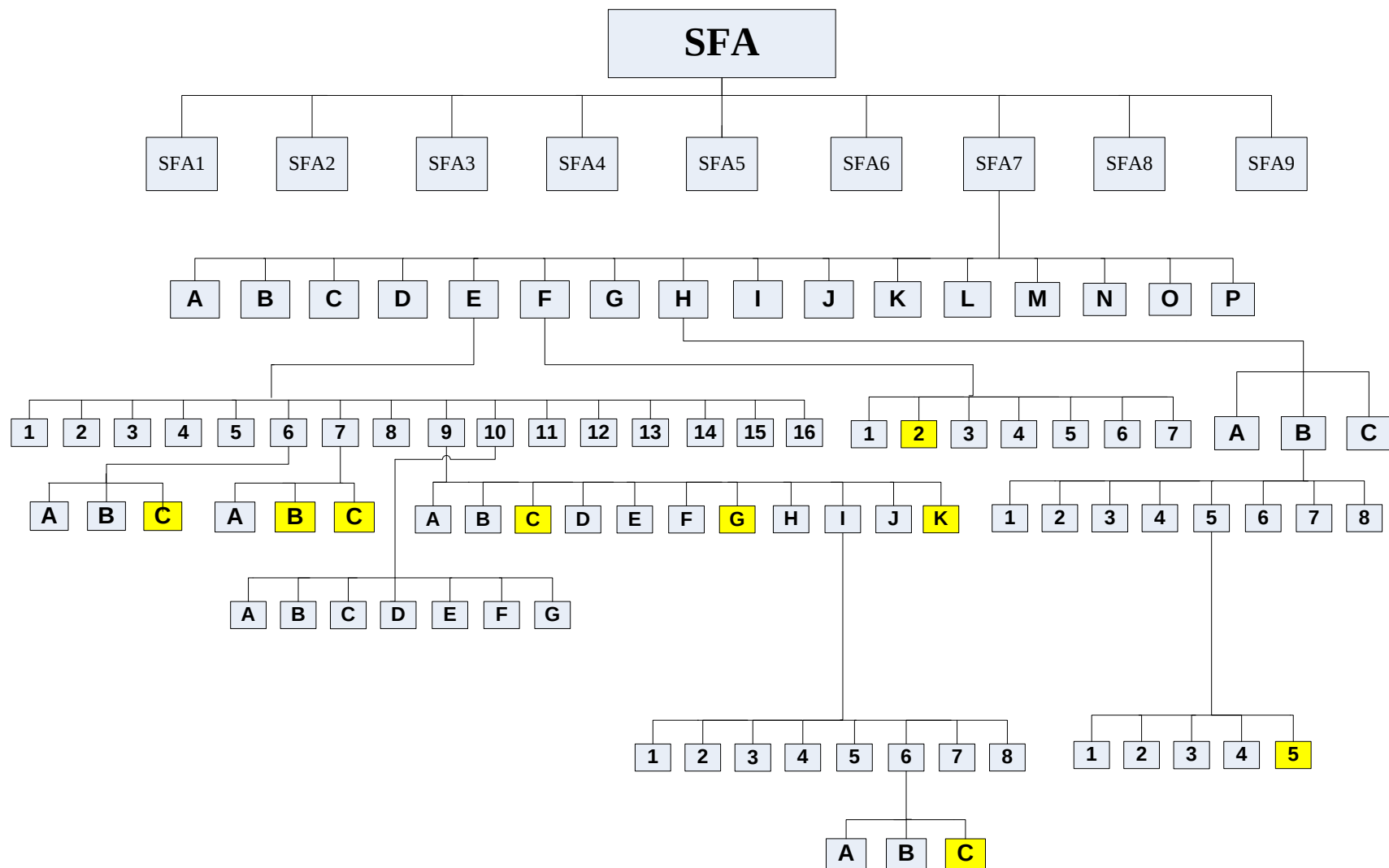
### 2.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από τον φυτικό οργανισμό *Salvia fruticosa*

Αποξηραμένο δείγμα από *S. fruticosa* υποβλήθηκε σε εξαντλητική εκχύλιση με μίγματα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  αναλογίας 100:0, 90:10 και 70:30. Μετά τη συνένωση των εκχυλισμάτων και τη συμπύκνωση τους υπό κενό προέκυψε υπόλειμμα πρασινοκίτρινου χρώματος και κολλώδους και ελαιώδους υφής.

Η συνολική πορεία απομόνωσης των δευτερογενών μεταβολιτών από το αρχικό εκχύλισμα του οργανισμού SFA παρουσιάζεται διαγραμματικά στις Εικ. 5 και 6, ενώ στη συνέχεια περιγράφονται λεπτομερώς όλα τα στάδια της.



**Εικόνα 5.** Πορεία χρωματογραφικών διαχωρισμών του αρχικού εκχυλίσματος, όπου με κίτρινο απεικονίζονται οι απομονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες (μέρος 1).



**Εικόνα 6.** Πορεία χρωματογραφικών διαχωρισμών του αρχικού εκχυλίσματος, όπου με κίτρινο απεικονίζονται οι απομονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες (μέρος 2).

Το αρχικό εκχύλισμα (65.9 g) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας από 100% cHex μέχρι 100% EtOAc και στη συνέχεια μίγμα EtOAc με MeOH μέχρι 100% MeOH. Συνολικά παρελήφθησαν 25 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 1).

**Πίνακας 1.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών   | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (g) |
|--------|--------------------|----------------------|----------|
| 1      | cHex (100%)        | SFA1                 | 1.66     |
| 2      | cHex/EtOAc (95:5)  |                      |          |
| 3      | cHex/EtOAc (95:5)  |                      |          |
| 4      | cHex/EtOAc (90:10) |                      |          |
| 5      | cHex/EtOAc (90:10) | SFA2                 | 0.19     |
| 6      | cHex/EtOAc (85:15) |                      |          |
| 7      | cHex/EtOAc (85:15) |                      |          |
| 8      | cHex/EtOAc (80:20) | SFA3                 | 3.03     |
| 9      | cHex/EtOAc (80:20) |                      |          |
| 10     | cHex/EtOAc (75:25) |                      |          |
| 11     | cHex/EtOAc (75:25) | SFA4                 | 1.65     |
| 12     | cHex/EtOAc (70:30) |                      |          |
| 13     | cHex/EtOAc (70:30) | SFA5                 | 4.71     |
| 14     | cHex/EtOAc (60:40) |                      |          |
| 15     | cHex/EtOAc (60:40) |                      |          |
| 16     | cHex/EtOAc (50:50) | SFA6                 | 4.31     |
| 17     | cHex/EtOAc (50:50) |                      |          |
| 18     | cHex/EtOAc (30:70) | SFA7                 | 7.11     |
| 19     | cHex/EtOAc (30:70) |                      |          |
| 20     | cHex/EtOAc (10:90) |                      |          |
| 21     | cHex/EtOAc (10:90) | SFA8                 | 3.59     |
| 22     | EtOAc (100%)       |                      |          |
| 23     | EtOAc/MeOH (90:10) |                      |          |
| 24     | EtOAc/MeOH (75:25) | SFA9                 | 4.57     |
| 25     | MeOH (100%)        |                      |          |

Το υπόλειμμα SFA7 (7.1 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης

αποτελούνταν από μίγματα cHex/EtOAc καθώς και EtOAc/MeOH βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Παρελήφθησαν 416 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 2) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 33 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 3).

**Πίνακας 2.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

| <b>Κλάσματα</b> | <b>Σύστημα διαλυτών</b> |
|-----------------|-------------------------|
| 1- 60           | cHex/EtOAc (85:15)      |
| 61-100          | cHex/EtOAc (83:17)      |
| 100 - 136       | cHex/EtOAc (82:18)      |
| 137 - 169       | cHex/EtOAc (81:19)      |
| 170 - 184       | cHex/EtOAc (80:20)      |
| 185 - 206       | cHex/EtOAc (78:22)      |
| 207 - 218       | cHex/EtOAc (76:24)      |
| 219 - 235       | cHex/EtOAc (74:26)      |
| 236 - 247       | cHex/EtOAc (72:28)      |
| 248 - 276       | cHex/EtOAc (70:30)      |
| 277 - 290       | cHex/EtOAc (68:32)      |
| 291 - 303       | cHex/EtOAc (65:35)      |
| 304 - 315       | cHex/EtOAc (60:40)      |
| 316 – 330       | cHex/EtOAc (55:45)      |
| 331 – 347       | cHex/EtOAc (50:50)      |
| 348 – 358       | cHex/EtOAc (40:60)      |
| 359 – 371       | cHex/EtOAc (30:70)      |
| 372 – 384       | cHex/EtOAc (20:80)      |
| 385 – 400       | cHex/EtOAc (10:90)      |
| 401 - 412       | EtOAc (100%)            |
| 413             | EtOAc/MeOH (90:10)      |
| 414             | EtOAc/MeOH (50:50)      |
| 415             | MeOH (100%)             |
| 416             | MeOH (100%)             |

**Πίνακας 3.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| <b>Συνενωμένα κλάσματα</b> | <b>Κωδικός υπολείμματος</b> | <b>Μάζα (mg)</b> |
|----------------------------|-----------------------------|------------------|
| 1-19                       | SFA7A                       | 34.0             |
| 20-35                      | SFA7B                       | 10.2             |
| 36-60                      | SFA7C                       | 31.0             |
| 61-69                      | SFA7D                       | 0.5              |
| 70-107                     | SFA7E                       | 1.044            |
| 108-128                    | SFA7F                       | 724.2            |
| 129-145                    | SFA7G                       | 525.0            |
| 146-185                    | SFA7H                       | 802.0            |
| 186-232                    | SFA7I                       | 394.0            |
| 233-236                    | SFA7J                       | 241.0            |

|         |       |       |
|---------|-------|-------|
| 264-341 | SFA7K | 264.0 |
| 342-357 | SFA7L | 20.8  |
| 358-382 | SFA7M | 96.0  |
| 383-412 | SFA7N | 43.0  |
| 413-414 | SFA7O | 113.0 |
| 415-416 | SFA7P | 607.0 |

Το υπόλειμμα SFA7E (1.0 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης αποτελούταν από μίγματα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  καθώς και  $\text{MeOH}$  βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Παρελήφθησαν 272 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 4) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 16 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 5).

**Πίνακας 4.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

| <b>Κλάσματα</b> | <b>Σύστημα διαλυτών</b>                       |
|-----------------|-----------------------------------------------|
| 1-19            | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (99:1)  |
| 20-30           | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (98:2)  |
| 31-43           | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (97:3)  |
| 44-66           | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (96:4)  |
| 67-82           | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (95:5)  |
| 83-98           | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (94:6)  |
| 99-115          | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (93:7)  |
| 116-130         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (92:8)  |
| 131-146         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (91:9)  |
| 147-163         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (90:10) |
| 164-179         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (88:12) |
| 180-195         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (85:15) |
| 196-212         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (82:18) |
| 213-228         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (75:25) |
| 229-245         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (70:30) |
| 246-262         | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (50:50) |
| 263-270         | $\text{EtOAc}$ (100%)                         |
| 271             | $\text{EtOAc}$ (100%)                         |
| 272             | $\text{MeOH}$ (100%)                          |

**Πίνακας 5.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| <b>Συνενωμένα κλάσματα</b> | <b>Κωδικός υπολείμματος</b> | <b>Μάζα (mg)</b> |
|----------------------------|-----------------------------|------------------|
| 1-31                       | SFA7E1                      | 13.7             |
| 32-55                      | SFA7E2                      | 3.0              |
| 56-72                      | SFA7E3                      | 7.0              |
| 73-91                      | SFA7E4                      | 84.0             |
| 92-97                      | SFA7E5                      | 4.6              |
| 98-112                     | SFA7E6                      | 80.7             |

|         |         |       |
|---------|---------|-------|
| 113-124 | SFA7E7  | 62.2  |
| 125     | SFA7E8  | 3.4   |
| 126-150 | SFA7E9  | 95.5  |
| 151-185 | SFA7E10 | 59.6  |
| 186-200 | SFA7E11 | 43.7  |
| 201-215 | SFA7E12 | 210.4 |
| 216-245 | SFA7E13 | 84.0  |
| 246-270 | SFA7E14 | 46.0  |
| 271     | SFA7E15 | 10.0  |
| 272     | SFA7E16 | 21.0  |

Το υπόλειμμα SFA7E6 (80.7 mg) διαλύθηκε σε 8 mL cHex/EtOAc (80:20) και στη συνέχεια υποβλήθηκε σε διήθηση μέσω ηθμού βαμβακιού. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA7E6B και SFA7E6C ήταν καθαρή ουσία (SF01) (Πίν. 6).

**Πίνακας 6.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Σύστημα διαλυτών                |
|-------------------|-----------|---------------------------------|
| SFA7E6A           | 45.0      | cHex/EtOAc (80:20)              |
| SFA7E6B           | 12.0      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100%) |
| SFA7E6C           | 18.5      | MeOH (100%)                     |

Το υπόλειμμα SFA7E7 (62.2 mg) διαλύθηκε σε 6 mL cHex/EtOAc (80:20) και στη συνέχεια υποβλήθηκε σε διήθηση μέσω ηθμού βαμβακιού. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA7E7B και SFA7E7C ήταν καθαρή ουσία (SF01) (Πίν. 7).

**Πίνακας 7.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Σύστημα διαλυτών                       |
|-------------------|-----------|----------------------------------------|
| SFA7E7A           | 40.0      | cHex/EtOAc (80:20)                     |
| SFA7E7B           | 9.3       | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH (80:20) |
| SFA7E7C           | 17.3      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH (20:80) |

Το υπόλειμμα SFA7E9 (95.5 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης αποτελούταν από μίγματα MePh/EtOAc βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Παρελήφθησαν 45 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 8) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 11 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA7E9C, SFA7E7G και SFA7E9K ήταν καθαρές ουσίες (SF10, SF08 και SF02, αντίστοιχα) (Πίν. 9).

**Πίνακας 8.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

| Κλάσματα | Σύστημα διαλυτών   |
|----------|--------------------|
| 1-22     | MePh/EtOAc (95:5)  |
| 23-39    | MePh/EtOAc (92:8)  |
| 40-44    | MePh/EtOAc (90:10) |
| 45       | MePh/EtOAc (50:50) |

**Πίνακας 9.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| Συνενωμένα κλάσματα | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|---------------------|----------------------|-----------|
| 1-4                 | SFA7E9A              | 0.7       |
| 5-7                 | SFA7E9B              | 1.1       |
| 8-12                | SFA7E9C              | 7.6       |
| 13-17               | SFA7E9D              | 1.5       |
| 18-22               | SFA7E9E              | 0.8       |
| 23-26               | SFA7E9F              | 1.3       |
| 27-29               | SFA7E9G              | 8.7       |
| 30                  | SFA7E9H              | 1.7       |
| 31-39               | SFA7E9I              | 38.0      |
| 40-44               | SFA7E9J              | 6.5       |
| 45                  | SFA7E9K              | 7.4       |

Το υπόλειμμα SFA7E9I (38.0 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης αποτελούταν από μίγματα MePh/EtOAc βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Παρελήφθησαν 35 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 10) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA7E9I4 ήταν καθαρή ουσία (SF08) (Πίν. 11).

**Πίνακας 10.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

| Κλάσματα | Σύστημα διαλυτών  |
|----------|-------------------|
| 1-23     | MePh/EtOAc (95:5) |
| 23-35    | MePh/EtOAc (93:7) |

**Πίνακας 11.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| Συνενωμένα κλάσματα | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|---------------------|----------------------|-----------|
| 1-4                 | SFA7E9I1             | 2.4       |
| 5-9                 | SFA7E9I2             | 2.3       |
| 10-12               | SFA7E9I3             | 0.9       |
| 13                  | SFA7E9I4             | 1.4       |
| 14                  | SFA7E9I5             | 0.9       |
| 15-17               | SFA7E9I6             | 17.5      |
| 18-19               | SFA7E9I7             | 1.7       |
| 20-23               | SFA7E9I8             | 0.0       |
| 24-35               | SFA7E9I9             | 1.0       |

Το υπόλειμμα SFA7E9I6 (17.5 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA7E9I6C ήταν καθαρή ουσία (SF11) (Πίν. 12).

**Πίνακας 12.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                           |
|-------------------------|-------------------------------------------|
| Στήλη                   | Supelco SPLC-Si (Supelcosil, 25cm x10 mm) |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/EtOAc (83:17)                        |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                      |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA7E9I6A         | 1.9       | 14.2                  |
| SFA7E9I6B         | 3.8       | 17.7                  |
| SFA7E9I6C         | 2.5       | 18.7                  |

Το υπόλειμμα SFA7E10 (59.6 mg) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας από 100% MePh μέχρι 18% EtOAc. Συνολικά παρελήφθησαν 10 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 7 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 13).

**Πίνακας 13.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών   | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|--------|--------------------|----------------------|-----------|
| 1      | MePh (100%)        | SFA7E10A             | 1.0       |
| 2      | MePh/EtOAc (98:2)  |                      |           |
| 3      | MePh/EtOAc (96:4)  |                      |           |
| 4      | MePh/EtOAc (94:6)  | SFA7E10B             | 1.6       |
| 5      | MePh/EtOAc (92:8)  | SFA7E10C             | 2.3       |
| 6      | MePh/EtOAc (90:10) | SFA7E10D             | 3.9       |
| 7      | MePh/EtOAc (88:12) | SFA7E10E             | 12.1      |
| 8      | MePh/EtOAc (86:14) | SFA7E10F             | 7.7       |
| 9      | MePh/EtOAc (84:16) | SFA7E10G             | 11.5      |
| 10     | MePh/EtOAc (82:18) |                      |           |

Το υπόλειμμα SFA7E10G (11.5 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με ισοκρατικό σύστημα MePh/EtOAc (85:15) ως διαλύτη έκλουσης. Παρελήφθησαν 22 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 5 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA7E10G3 ήταν καθαρή ουσία (SF02) (Πίν. 14).

**Πίνακας 14.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| Συνενωμένα κλάσματα | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|---------------------|----------------------|-----------|
| 1-5                 | SFA7E10G1            | 3.2       |
| 6                   | SFA7E10G2            | 1.9       |
| 7-8                 | SFA7E10G3            | 8.9       |
| 9-14                | SFA7E10G4            | 2.7       |
| 15-22               | SFA7E10G5            | 9.0       |

Το υπόλειμμα SFA7F (484.0 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με ισοκρατικό σύστημα  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (50:50) ως διαλύτη έκλουσης. Συνολικά παρελήφθησαν 7 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC και φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA7F2 ήταν καθαρή ουσία (SF09) (Πίν. 15).

**Πίνακας 15.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|----------------------|-----------|
| SFA7F1               | 57.9      |
| SFA7F2               | 6.0       |
| SFA7F3               | 136.3     |

|        |       |
|--------|-------|
| SFA7F4 | 174.9 |
| SFA7F5 | 113.3 |
| SFA7F6 | 35.0  |
| SFA7F7 | 2.7   |

Το υπόλειμμα SFA7H (800.0 mg) υποβλήθηκε σε διήθηση μέσω ηθμού βαμβακιού. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 16).

**Πίνακας 16.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Σύστημα διαλυτών                |
|-------------------|-----------|---------------------------------|
| SFA7HA            | 213.0     | cHex (100%)                     |
| SFA7HB            | 500.0     | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100%) |
| SFA7HC            | 14.0      | EtOAc (100%)                    |

Το υπόλειμμα SFA7HB (500.0 mg) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας από 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  μέχρι 100% EtOAc και στη συνέχεια μίγμα EtOAc με MeOH. Συνολικά παρελήφθησαν 9 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 8 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 17).

**Πίνακας 17.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών                              | Κωδικός υπολλείματος | Μάζα (mg) |
|--------|-----------------------------------------------|----------------------|-----------|
| 1      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100%)               | SFA7HB1              | 7.2       |
| 2      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (98:2)  | SFA7HB2              | 17.7      |
| 3      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (96:4)  |                      |           |
| 4      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (94:6)  | SFA7HB3              | 42.5      |
| 5      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (92:8)  | SFA7HB4              | 41.5      |
| 6      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (90:10) | SFA7HB5              | 68.6      |
| 7      | $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (85:15) | SFA7HB6              | 32.1      |
| 8      | EtOAc (100%)                                  | SFA7HB7              | 379.7     |
| 9      | EtOAc/MeOH (95:5)                             | SFA7HB8              | 25.6      |

Το υπόλειμμα SFA7HB5 (68.6 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 5 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA7HB5E ήταν καθαρή ουσία (SF02) (Πίν. 18).

**Πίνακας 18.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                           |  |
|-------------------------|-------------------------------------------|--|
| Στήλη                   | Supelco SPLC-Si (Supelcosil, 25cm x10 mm) |  |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/Me <sub>2</sub> CO (75:25)           |  |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                |  |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                      |  |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA7HB5A          | 0.8       | 11.3                  |
| SFA7HB5B          | 2.0       | 12.2                  |
| SFA7HB5C          | 10.4      | 13.3                  |
| SFA7HB5D          | 14.9      | 14.7                  |
| SFA7HB5E          | 27.0      | 16.3                  |

Το υπόλειμμα SFA5 (4.712 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης αποτελούταν από μίγματα cHex/EtOAc, καθώς και EtOAc/MeOH βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Παρελήφθησαν 173 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 19) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 20 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 20).

**Πίνακας 19.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

| Κλάσματα | Σύστημα διαλυτών   |
|----------|--------------------|
| 0-6      | cHex/EtOAc (95:5)  |
| 7-11     | cHex/EtOAc (94:6)  |
| 12-22    | cHex/EtOAc (93:7)  |
| 23-38    | cHex/EtOAc (92:8)  |
| 39-43    | cHex/EtOAc (91:9)  |
| 44-54    | cHex/EtOAc (90:10) |
| 55-65    | cHex/EtOAc (88:12) |
| 66-76    | cHex/EtOAc (86:14) |
| 77-87    | cHex/EtOAc (84:16) |
| 88-98    | cHex/EtOAc (82:18) |
| 99-110   | cHex/EtOAc (80:20) |

|         |                    |
|---------|--------------------|
| 111-121 | cHex/EtOAc (75:25) |
| 122-131 | cHex/EtOAc (70:30) |
| 132-141 | cHex/EtOAc (65:35) |
| 142-152 | cHex/EtOAc (60:40) |
| 153-164 | cHex/EtOAc (50:50) |
| 165-168 | cHex/EtOAc (20:80) |
| 169-172 | EtOAc (100%)       |
| 173     | EtOAc/MeOH (95:5)  |

**Πίνακας 20.** Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

| Συνενωμένα κλάσματα | Κωδικός υπολείμματος | Μάζα (mg) |
|---------------------|----------------------|-----------|
| 0-3                 | SFA5A                | 2.0       |
| 4-6                 | SFA5B                | 3.0       |
| 7-11                | SFA5C                | 3.0       |
| 12-14               | SFA5D                | 3.0       |
| 15-17               | SFA5E                | 1.0       |
| 18-23               | SFA5F                | 28.0      |
| 24-29               | SFA5G                | 49.0      |
| 30-33               | SFA5H                | 156.0     |
| 34-37               | SFA5I                | 78.0      |
| 38-42               | SFA5J                | 20.0      |
| 43-48               | SFA5K                | 175.0     |
| 49-54               | SFA5L                | 149.0     |
| 55-64               | SFA5M                | 91.0      |
| 65-72               | SFA5N                | 198.0     |
| 73-101              | SFA5O                | 1146.0    |
| 102-137             | SFA5P                | 1043.0    |
| 138-151             | SFA5Q                | 133.0     |
| 152-163             | SFA5R                | 54.0      |
| 164-166             | SFA5S                | 8.0       |
| 167-173             | SFA5T                | 10.0      |

Το υπόλειμμα SFA5G (49.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 7 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA5G1, καθώς και SFA5G4 και SFA5G5 ήταν καθαρές ουσίες (SF06 και SF07, αντίστοιχα). (Πίν. 21).

**Πίνακας 21.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                            |
|-------------------------|--------------------------------------------|
| Στήλη                   | Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm) |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/EtOAc (92:8)                          |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                 |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                       |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA5G1            | 2.6       | 14.5                  |
| SFA5G2            | 4.4       | 15.8                  |
| SFA5G3            | 3.9       | 17.3                  |
| SFA5G4            | 3.6       | 18.7                  |
| SFA5G5            | 1.7       | 19.5                  |
| SFA5G6            | 13.2      | 21.0                  |
| SFA5G7            | 5.8       | 22.2                  |

Το υπόλειμμα SFA5H (156.0 mg) υποβλήθηκε σε διήθηση μέσω ηθμού βαμβακιού. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 22).

**Πίνακας 22.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Σύστημα διαλυτών                |
|-------------------|-----------|---------------------------------|
| SFA5HA            | 138.0     | cHex/EtOAc (94:6)               |
| SFA5HB            | 7.5       | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100%) |

Το υπόλειμμα SFA5HA (138.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA5HA1 και SFA5HA2 ήταν καθαρές ουσίες (SF04 και SF05, αντίστοιχα) (Πίν. 23).

**Πίνακας 23.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                            |
|-------------------------|--------------------------------------------|
| Στήλη                   | Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm) |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/EtOAc (94:6)                          |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                 |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                       |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA5HA1           | 3.1       | 25.7                  |
| SFA5HA2           | 32.8      | 26.5                  |
| SFA5HA3           | 28.6      | 28.0                  |
| SFA5HA4           | 47.5      | 28.8                  |

Το υπόλειμμα SFA5K (175.0 mg) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης

πολικότητας από 98% *n*-Hex μέχρι 10% EtOAc. Συνολικά παρελήφθησαν 10 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC και στη συνέχεια φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 24). οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα SFA5K3 και SFA5K4 ήταν καθαρή ουσία (SF03).

**Πίνακας 24.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών            | Κωδικός υπολλείματος | Μάζα (mg) |
|--------|-----------------------------|----------------------|-----------|
| 1      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (98:2)  | SFA5K1               | 2.2       |
| 2      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (98:2)  | SFA5K2               | 1.0       |
| 3      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (96:4)  | SFA5K3               | 11.1      |
| 4      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (96:4)  | SFA5K4               | 44.6      |
| 5      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (94:6)  | SFA5K5               | 20.7      |
| 6      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (94:6)  | SFA5K6               | 32.4      |
| 7      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (92:8)  | SFA5K7               | 24.1      |
| 8      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (92:8)  | SFA5K8               | 4.2       |
| 9      | <i>n</i> -Hex/EtOAc (90:10) | SFA5K9               | 6.0       |
| 10     | <i>n</i> -Hex/EtOAc (90:10) | SFA5K10              | 2.1       |

Το υπόλειμμα SFA5O (1146.0 g) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας από 98% *c*Hex μέχρι 100%  $\text{Me}_2\text{CO}$ . Συνολικά παρελήφθησαν 13 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR (Πίν. 25).

**Πίνακας 25.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών                             | Κωδικός υπολλείματος | Μάζα (mg) |
|--------|----------------------------------------------|----------------------|-----------|
| 1      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (98:2)  | SFA5O1               | 1.3       |
| 2      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (96:4)  |                      |           |
| 3      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (94:6)  |                      |           |
| 4      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (92:8)  | SFA5O2               | 2.5       |
| 5      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (90:10) |                      |           |
| 6      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (88:12) | SFA5O3               | 32.4      |
| 7      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (86:14) | SFA5O4               | 189.5     |
| 8      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (84:16) | SFA5O5               | 259.6     |
| 9      | <i>c</i> Hex/ $\text{Me}_2\text{CO}$ (82:18) | SFA5O6               | 271.4     |

|    |                                  |        |       |
|----|----------------------------------|--------|-------|
| 10 | cHex/ Me <sub>2</sub> CO (80:20) | SFA5O7 | 155.8 |
| 11 | cHex/ Me <sub>2</sub> CO (75:25) | SFA5O8 | 97.8  |
| 12 | cHex/ Me <sub>2</sub> CO (70:30) |        |       |
| 13 | cHex/ Me <sub>2</sub> CO (70:30) | SFA5O9 | 39    |

Το υπόλειμμα SFA5O7 (156.0 mg) διαλύθηκε σε 8 mL *n*-C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O (80:20) και στη συνέχεια υποβλήθηκε σε διήθηση μέσω ηθμού βαμβακιού. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με <sup>1</sup>H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA5O7J ήταν καθαρή ουσία (SF01) (Πίν. 26).

**Πίνακας 26.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Σύστημα διαλυτών                                                    |
|-------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------|
| SFA5O7            | 126.0     | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (80:20) |
| SFA5O7J           | 30.0      | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (100%)                              |

Το υπόλειμμα SFA5O7 (126.0 mg) υπέστη χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας από 80% *n*-C<sub>5</sub>H<sub>12</sub> μέχρι 60% Et<sub>2</sub>O και στη συνέχεια EtOAc και MeOH. Συνολικά παρελήφθησαν 11 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με <sup>1</sup>H NMR (Πίν. 27).

**Πίνακας 27.** Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης και οι μάζες αυτών.

| Κλάσμα | Σύστημα διαλυτών                                                    | Κωδικός υπολλείματος | Μάζα (mg) |
|--------|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------|
| 1      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (80:20) | SFA5O7A              | 3.0       |
| 2      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (75:25) |                      |           |
| 3      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (70:30) |                      |           |
| 4      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (65:35) | SFA5O7B              | 2.0       |
| 5      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (60:40) | SFA5O7C              | 25.1      |
| 6      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (55:45) | SFA5O7D              | 38.2      |
| 7      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (50:50) | SFA5O7E              | 19.6      |
| 8      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (45:55) | SFA5O7F              | 7.2       |
| 9      | <i>n</i> -C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> /Et <sub>2</sub> O (40:60) | SFA5O7G              | 5.1       |
| 10     | EtOAc (100%)                                                        | SFA5O7H              | 8.3       |
| 11     | MeOH (100%)                                                         | SFA5O7I              | 10.1      |

Το υπόλειμμα SFA5O7C (25.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA5O7C2 ήταν καθαρή ουσία (SF08) (Πίν. 28).

**Πίνακας 28.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                            |  |
|-------------------------|--------------------------------------------|--|
| Στήλη                   | Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm) |  |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/Me <sub>2</sub> CO (80:20)            |  |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                 |  |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                       |  |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA5O7C1          | 2.8       | 21.5                  |
| SFA5O7C2          | 2.4       | 22.5                  |
| SFA5O7C3          | 1.2       | 24.6                  |

Το υπόλειμμα SFA5O7D (38.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA5O7D1 ήταν καθαρή ουσία (SF01) (Πίν. 29).

**Πίνακας 29.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| Συνθήκες χρωματογραφίας |                                            |  |
|-------------------------|--------------------------------------------|--|
| Στήλη                   | Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm) |  |
| Διαλύτης έκλουσης       | cHex/Me <sub>2</sub> CO (82:18)            |  |
| Ροή διαλύτη             | 1.5 mL/min                                 |  |
| Ανιχνευτής              | R.I.                                       |  |

| Κωδικός κλάσματος | Μάζα (mg) | Χρόνος έκλουσης (min) |
|-------------------|-----------|-----------------------|
| SFA5O7D1          | 6.0       | 23.4                  |
| SFA5O7D2          | 12.4      | 24.7                  |

Το υπόλειμμα SFA5O7D2 (12.4 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθη 1 κλάσμα, το οποίο ζυγίστηκε και ελέγχθηκε φασματοσκοπικά με  $^1\text{H}$  NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα SFA5O7D2A ήταν καθαρή ουσία (SF08) (Πίν. 30).

**Πίνακας 30.** Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

| <b>Συνθήκες χρωματογραφίας</b> |                                            |  |
|--------------------------------|--------------------------------------------|--|
| <b>Στήλη</b>                   | Econosphere silica (Grace, 250 mm x 10 mm) |  |
| <b>Διαλύτης έκλουσης</b>       | cHex/EtOAc (82:18)                         |  |
| <b>Ροή διαλύτη</b>             | 1.5 mL/min                                 |  |
| <b>Ανιχνευτής</b>              | R.I.                                       |  |

|                          |                  |                              |
|--------------------------|------------------|------------------------------|
| <b>Κωδικός κλάσματος</b> | <b>Μάζα (mg)</b> | <b>Χρόνος έκλουσης (min)</b> |
| SFA5O7D2A                | 3.0              | 21.1                         |

Συνολικά απομονώθηκαν 11 μεταβολίτες, οι οποίοι παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 31.

**Πίνακας 31.** Απομονωμένοι μεταβολίτες και μάζες αυτών.

| <b>Μεταβολίτης</b> | <b>Κωδικός</b> | <b>Κλάσματα</b>                                       | <b>Μάζα (mg)</b> |
|--------------------|----------------|-------------------------------------------------------|------------------|
| <b>1</b>           | SF03           | SFA5K3, SFA5K4                                        | 55.0             |
| <b>2</b>           | SF04           | SFA5HA1                                               | 3.1              |
| <b>3</b>           | SF05           | SFA5HA2, SFA5G6                                       | 46.0             |
| <b>4</b>           | SF06           | SFA5G1                                                | 2.6              |
| <b>5</b>           | SF01           | SFA5O7D1, SFA5O7J, SFA7E6B, SFA7E6C, SFA7E7B, SFA7E7C | 122.1            |
| <b>6</b>           | SF02           | SFA7E10G3, SFA7HB5E, SFA7HB5K5                        | 37.3             |
| <b>7</b>           | SF08           | SFA5O7C2, SFA5O7D2A, SFA7E9G, SFA7E9D4                | 16.5             |
| <b>8</b>           | SF10           | SFA7E9C                                               | 7.6              |
| <b>9</b>           | SF07           | SFA5G4, SFA5G5                                        | 5.3              |
| <b>10</b>          | SF09           | SFA7F2                                                | 3.3              |
|                    | SF11           | SFA7E9I6C                                             | 2.5              |



### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

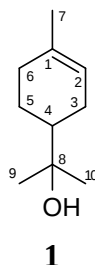
Δείγμα της *Salvia fruticosa* συλλέχθηκε στο Ριζόσκαρο Χανίων στο χωριό Χορδάκι. Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με μίγματα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και MeOH και το οργανικό εκχύλισμα που προέκυψε υποβλήθηκε σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς με αποτέλεσμα την απομόνωση έντεκα δευτερογενών μεταβολιτών, εκ των οποίων μέχρι στιγμής έχουν ταυτοποιηθεί οι δέκα (**1–10**).

Η ταυτοποίηση των απομονωμένων μεταβολιτών βασίστηκε στην ανάλυση των φασματοσκοπικών τους δεδομένων (NMR και MS) και στη σύγκρισή τους με τα δεδομένα ανάλογων δομών της βιβλιογραφίας.

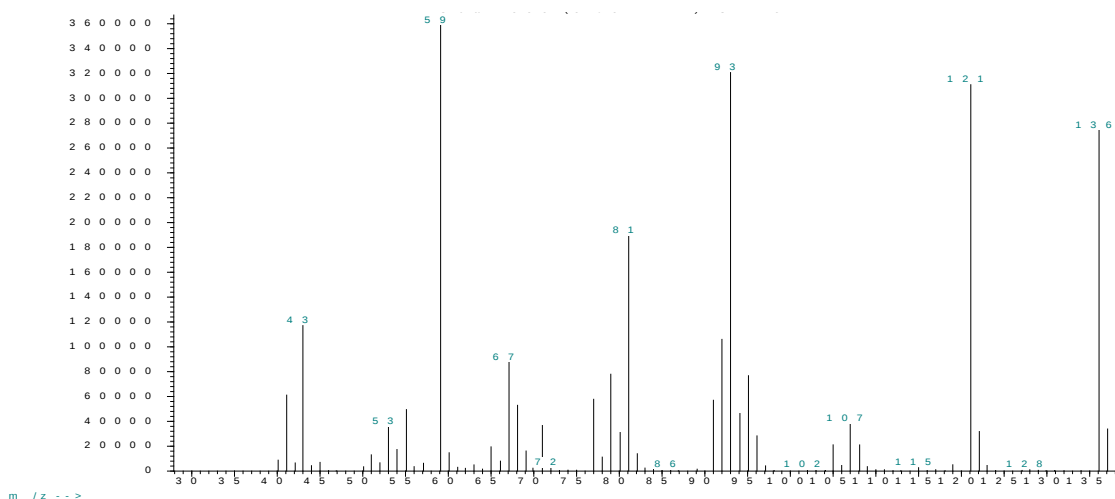
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα των δευτερογενών μεταβολιτών **1–10** και περιγράφεται ο καθορισμός της χημικής τους δομής.

### 3.1. Μεταβολίτης 1

Ο μεταβολίτης **1** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως υποκίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 55 mg.



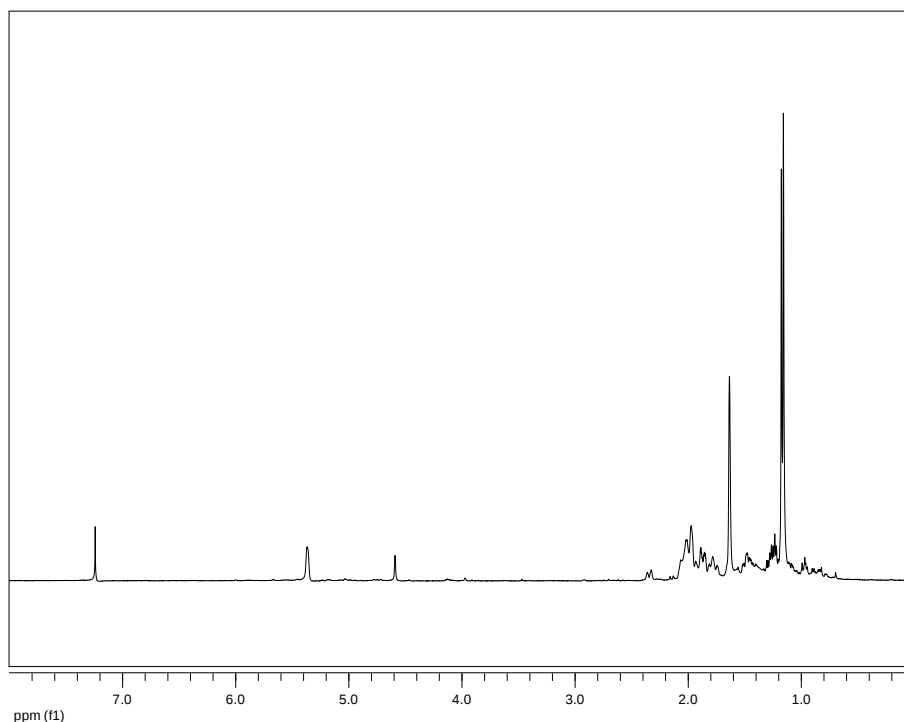
Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **1** (Εικ. 7) εμφάνισε θραύσμα  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  136.



**Εικόνα 7.** Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **1**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη **1** (Εικ. 8) παρατηρήθηκαν:

- Τρεις απλές κορυφές σε  $\delta$  1.15, 1.17, και 1.63, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών και ενός βινυλικού μεθυλίου σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε  $\delta$  5.36, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα ολεφινικό μεθίνιο.



**Εικόνα 8.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **1**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **1** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας δύο. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα, το μόριο έπρεπε να είναι μονοκυκλικό.

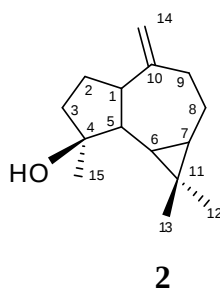
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **1** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν α-τερπινεόλη, το οποίο έχει απομονωθεί από πλήθος οργανισμών στο παρελθόν και έχει πιθανή αντικαρκινική δράση (Hassan et al. 2010). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **1** παρατίθενται στον Πίνακα 32.

**Πίνακας 32.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **1** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

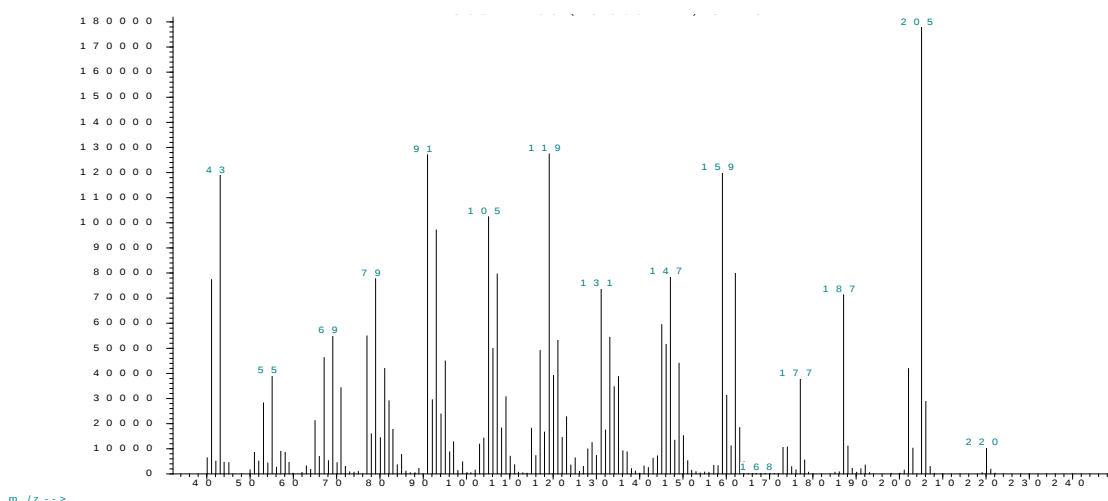
| Θέση | Πειραματικά δεδομένα | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|----------------------|------------------------|
| 2    | 5.36 brs             | 5.37 brs               |
| 3    | 2.00-1.21 m          | 2.00-1.20 m            |
| 5    | 2.00-1.21 m          | 2.00-1.20 m            |
| 6    | 2.00-1.21 m          | 2.00-1.20 m            |
| 7    | 1.63 brs             | 1.63 brs               |
| 9    | 1.17 s               | 1.17 brs               |
| 10   | 1.15 s               | 1.15 s                 |

### 3.2. Μεταβολίτης 2

Ο μεταβολίτης 2 απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 3.1 mg.



Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη 2 (Εικ. 9) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  220 και θραύσμα  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  202.

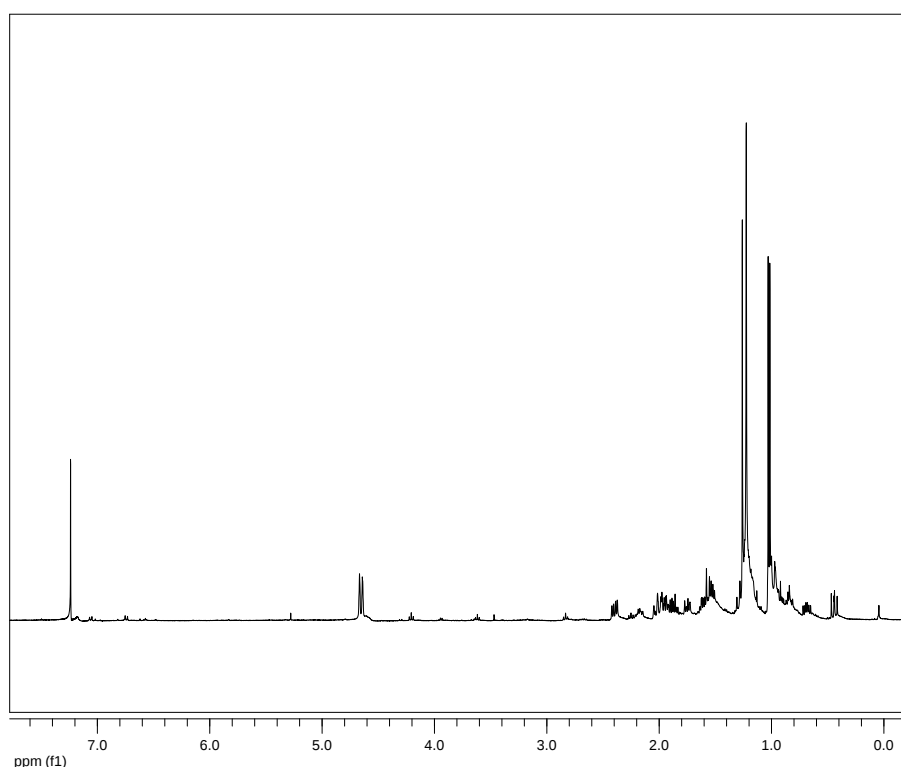


Εικόνα 9. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη 2.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη 2 (Εικ. 10) παρατηρήθηκαν:

- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  0.44 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  0.69, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η καθεμία και αποδόθηκαν στα πρωτόνια ενός κυκλοπροπανικού δακτυλίου.
- Τρεις απλές κορυφές σε  $\delta$  1.02, 1.03 και 1.26, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τριών αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  4.64 και 4.67, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια ενός εξωμεθυλενίου.



**Εικόνα 10.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 2.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη 2 οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας τέσσερα.

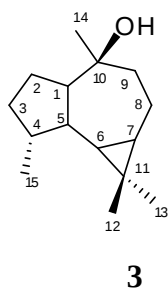
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 2 με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν σπαθουλενόλη, το οποίο έχει απομονωθεί στο παρελθόν από διάφορα φυτικά είδη και είχε εμφανίσει αντιβακτηριακή δράση (Rahman et al. 2011, Vieira et al. 2013). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 2 παρατίθενται στον Πίνακα 33.

**Πίνακας 33.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **2** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

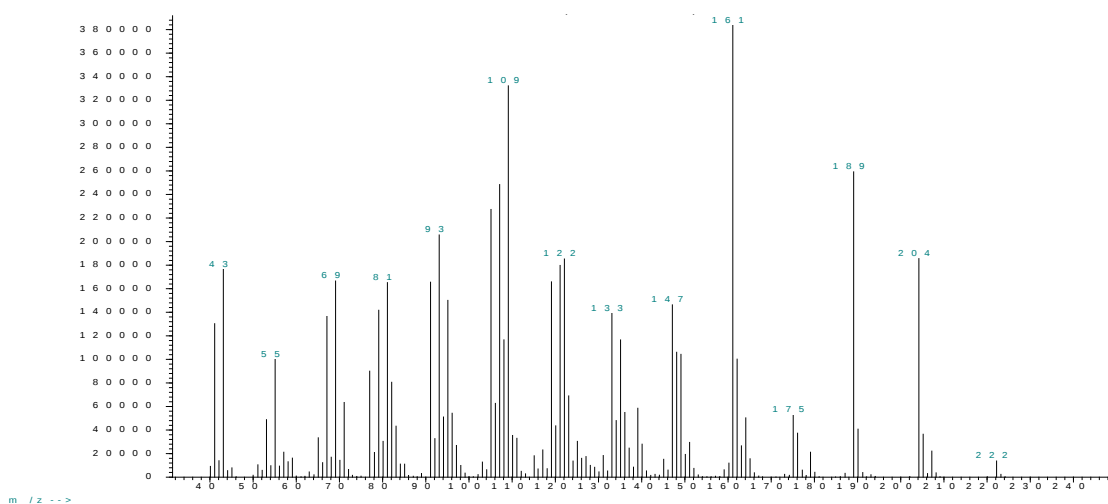
| Θέση | Πειραματικά δεδομένα | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|----------------------|------------------------|
| 1    | 2.14-2.27 m          | 2.22 m                 |
| 2    | 1.83-1.99 m          | 1.90 m                 |
| 2    | 2.01-2.04 m          | 2.08 m                 |
| 3    | 1.51-1.58 m          | 1.60 m                 |
| 3    | 1.73-1.77 m          | 1.80 m                 |
| 6    | 0.44 dd (11.4, 9.4)  | 0.49 dd (11.3, 9.5)    |
| 7    | 0.69 m               | 0.74 m                 |
| 8    | 1.59-1.64 m          | 1.70 m                 |
| 9    | 2.40 dd (13.1, 6.0)  | 2.40 dd (12.3, 5.3)    |
| 12   | 1.02 s               | 1.06 s                 |
| 13   | 1.03 s               | 1.08 s                 |
| 14   | 4.64 s               | 4.69 s                 |
| 14   | 4.67 s               | 4.71 s                 |
| 15   | 1.26 s               | 1.32 s                 |

### 3.3. Μεταβολίτης 3

Ο μεταβολίτης **3** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 46 mg.



Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **3** (Εικ. 11) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  222 και θραύσμα  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  204.

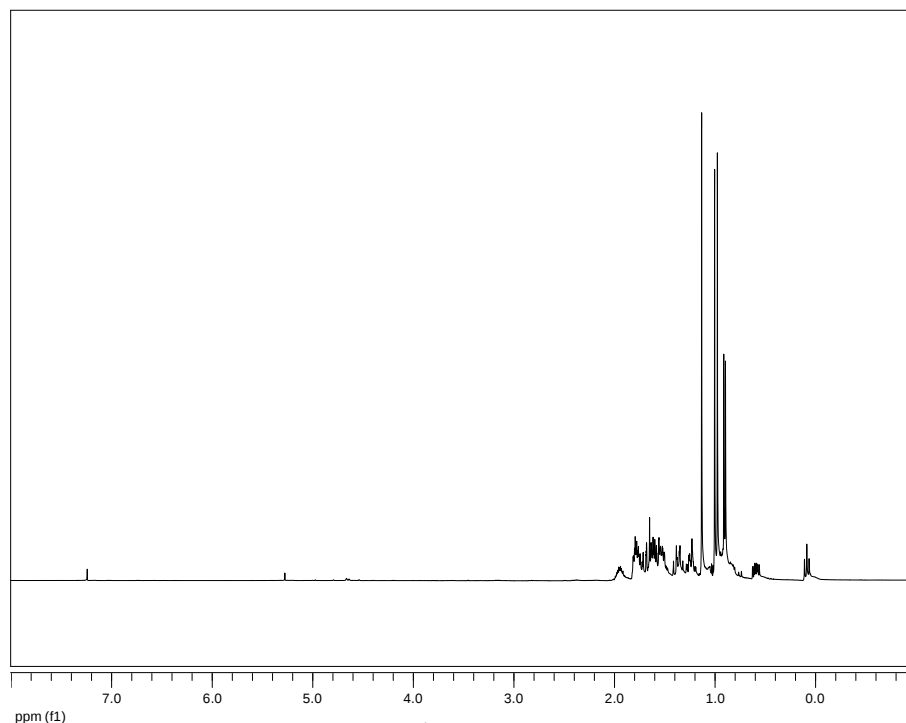


Εικόνα 11. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **3**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη **3** (Εικ. 12) παρατηρήθηκαν:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  0.08 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  0.58, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η καθεμία και αποδόθηκαν στα μεθίνια ενός κυκλοπροπανικού δακτυλίου.
- Τρείς απλές κορυφές σε  $\delta$  0.97, 1.00 και 1.12, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τριών αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  0.90, η οποία ολοκλήρωνε για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια ενός αλειφατικού μεθυλίου σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



**Εικόνα 12.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **3**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **3** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας τρία. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **3** εμφάνισαν αρκετές ομοιότητες με αυτά του μεταβολίτη **2**.

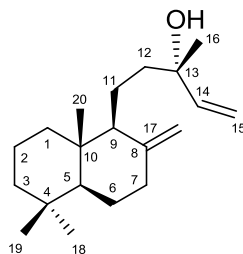
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **3** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν βιριντιφλορόλη, το οποίο έχει απομονωθεί στο παρελθόν από το βρύοφυτο *Lepidozia chordulifera* (Gilabert et al. 2015, Bombarda et al. 2001). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **3** παρατίθενται στον Πίνακα 34.

**Πίνακας 34.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **3** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα            | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|---------------------------------|------------------------|
| 1    | 1.77 m                          | 1.80 m                 |
| 2    | 1.60 m                          | 1.63 m, 1.57 m         |
| 3    | 1.74-1.80 m, 1.26 dd (9.5, 3.7) | 1.78 m, 1.27 m         |
| 4    | 1.95 m                          | 1.98 m                 |
| 5    | 1.74-1.80 m                     | 1.84 m                 |
| 6    | 0.08 t (9.2, 9.2)               | 0.11 m                 |
| 7    | 0.58 ddd (11.4, 9.7, 6.2)       | 0.61 m                 |
| 8    | 1.55-1.50 m                     | 1.60 m, 1.45 m         |
| 9    | 1.64-1.57 m                     | 1.66 m, 1.57 m         |
| 12   | 1.00 s                          | 1.03 s                 |
| 13   | 0.97 s                          | 1.00 s                 |
| 14   | 1.12 s                          | 1.14 s                 |
| 15   | 0.90 d (6.8)                    | 0.93 d                 |

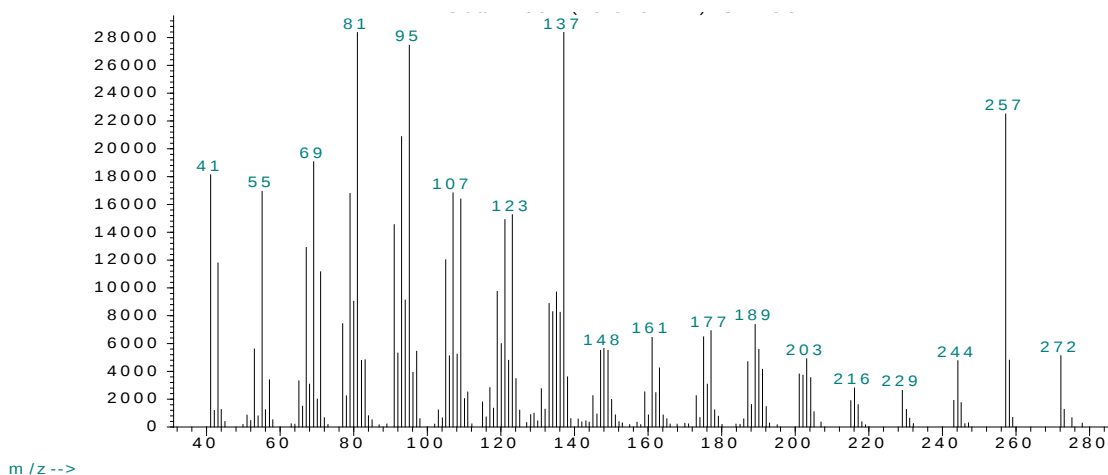
### 3.4. Μεταβολίτης 4

Ο μεταβολίτης **4** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 2.6 mg.



**4**

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **4** (Εικ. 13) δεν εμφάνισε το μοριακό ιόν  $[M]^+$ , αλλά εμφάνισε θραύσμα  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  272.

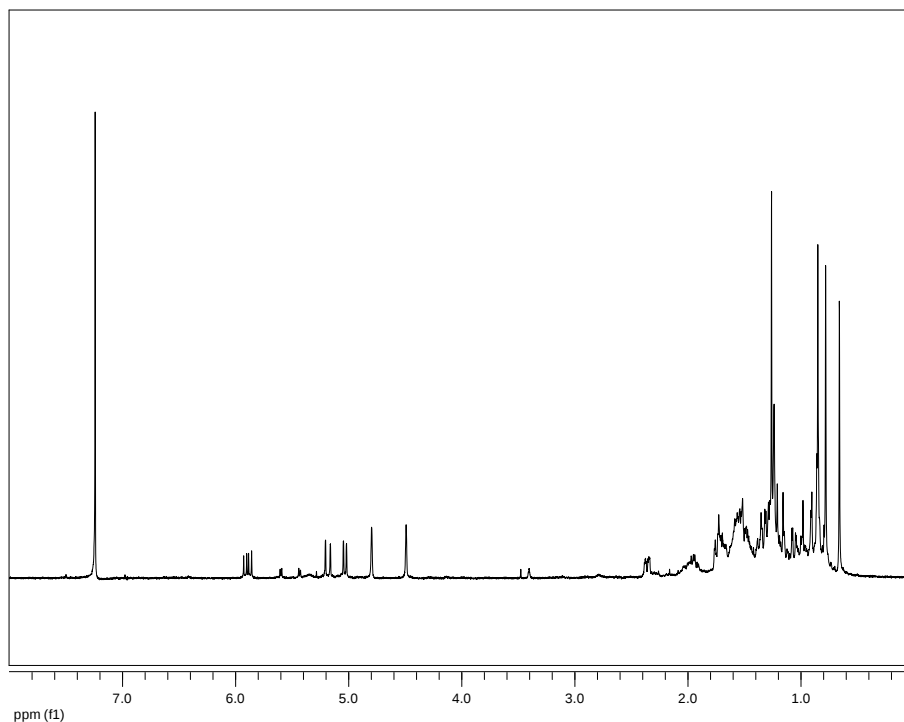


**Εικόνα 13.** Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **4**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη **4** (Εικ. 14) παρατηρήθηκαν:

- Τέσσερις απλές κορυφές σε  $\delta$  0.65, 0.77, 0.84 και 1.25, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τεσσάρων αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Δύο ευρείες απλές κορυφές σε  $\delta$  4.49 και 4.79, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια ενός εξωμεθυλενίου.

- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  5.03 και 5.18 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.90, οι οποίες ολοκληρώναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε τρία ολεφινικά μεθίνια.



**Εικόνα 14.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **4**

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **4** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας τέσσερα.

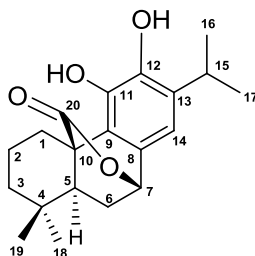
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **4** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν μανούλη (Torcu et al. 2013). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **4** παρατίθενται στον Πίνακα 35.

**Πίνακας 35.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **4** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| <b>Θέση</b> | <b>Πειραματικά δεδομένα</b>  | <b>Βιβλιογραφικά δεδομένα</b>      |
|-------------|------------------------------|------------------------------------|
| 14          | 5.90 dd (17.4, 10.9)         | 5.86 dd (17.5, 11)                 |
| 15          | 5.18 d (17.4), 5.03 d (10.9) | 5.22 dd (17.5, 2), 5.07 dd (11, 2) |
| 16          | 1.25 s                       | 1.22 s                             |
| 17          | 4.79 brs, 4.49 brs           | 4.75 brs, 4.43 brs                 |
| 18          | 0.84 s                       | 0.83 s                             |
| 19          | 0.77 s                       | 0.76 s                             |
| 20          | 0.65 s                       | 0.62 s                             |

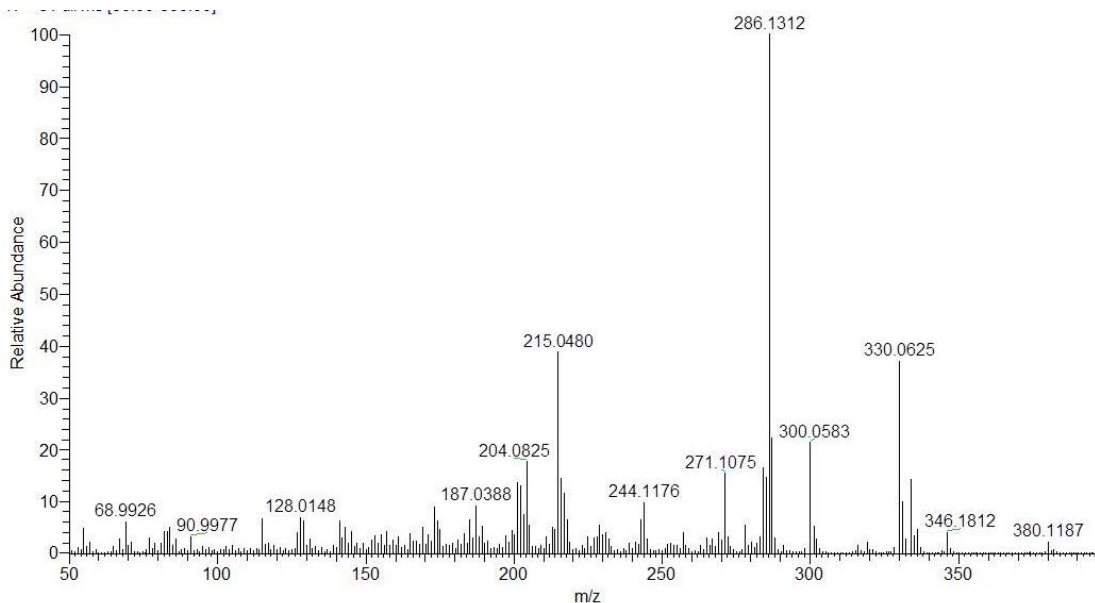
### 3.5. Μεταβολίτης 5

Ο μεταβολίτης 5 απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως υποκίτρινο, κρυσταλλικό υπόλειμμα συνολικής μάζας 122.1 mg.



5

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη 5 (Εικ. 15) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  330.

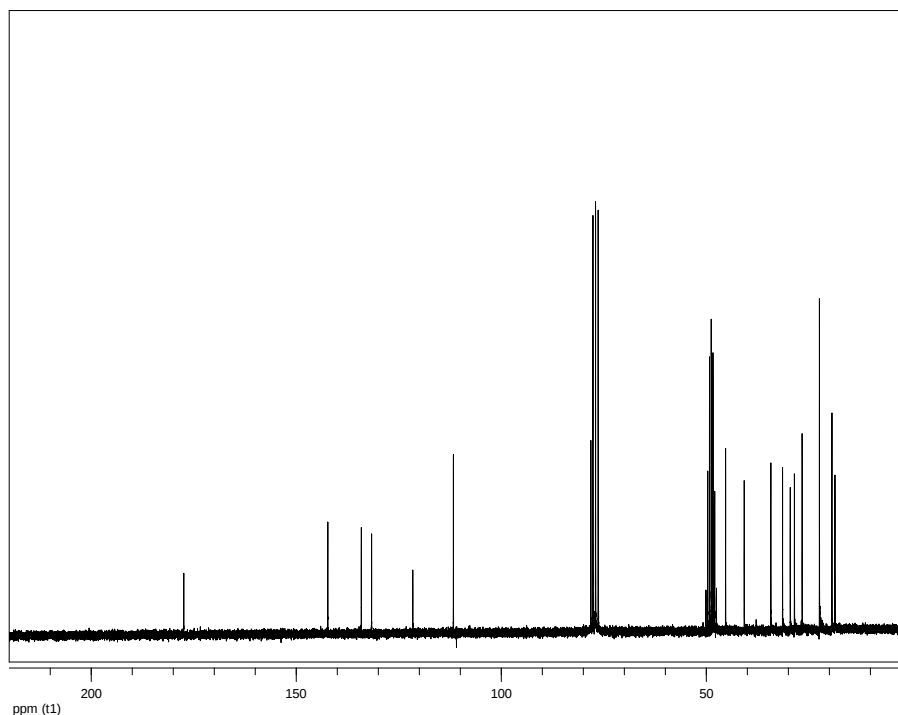


Εικόνα 15. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη 5.

Στο φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη 5 (Εικ. 16) παρατηρήθηκαν 20 κορυφές, εκ των οποίων:

- Μία κορυφή σε  $\delta$  78.1 αποδόθηκε σε έναν οξυγονωμένο άνθρακα.
- Έξι κορυφές σε  $\delta$  111.7, 121.6, 131.6, 134.1, 142.3 και 142.3 αποδόθηκαν σε ολεφινικούς άνθρακες.

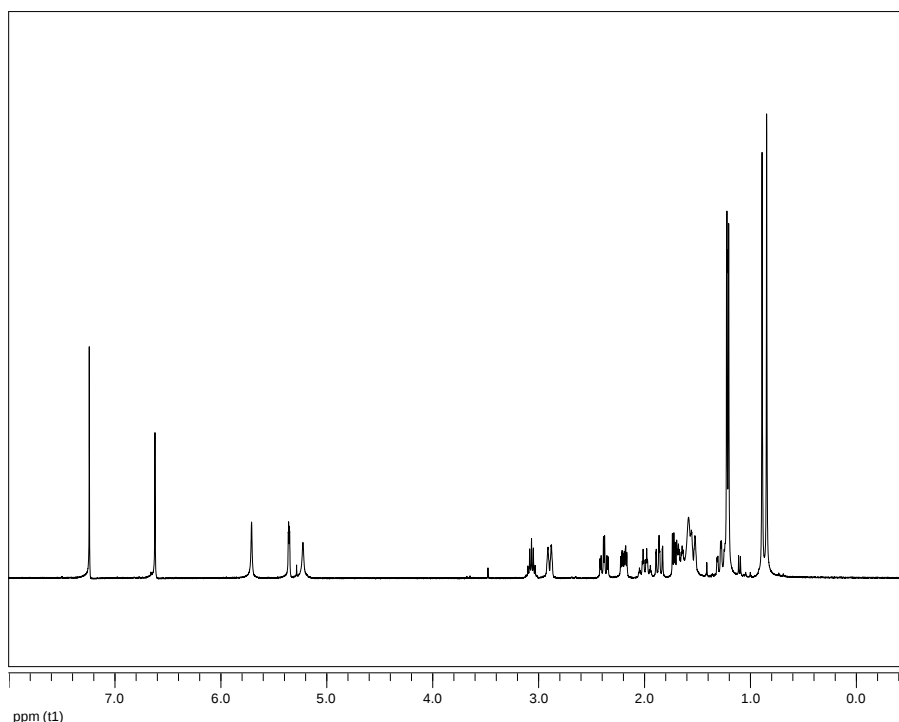
- Μία κορυφή σε  $\delta$  177.4 αποδόθηκε σε ένα καρβονύλιο.



**Εικόνα 16.** Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη 5.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 5 (Εικ. 17) παρατηρήθηκαν:

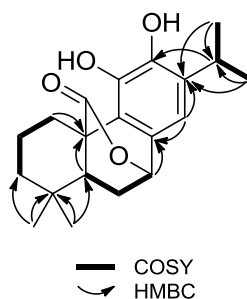
- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.74 και 0.76, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.07, που ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.28, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα οξυγονωμένο μεθίνιο.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.52, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε αρωματικό πρωτόνιο.



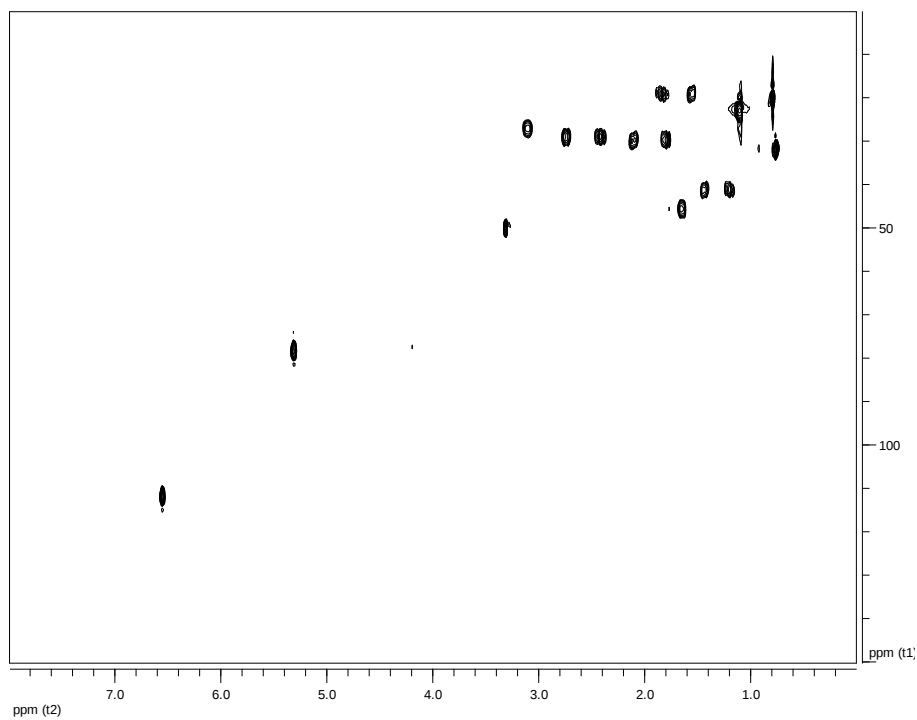
**Εικόνα 17.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 5.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **5** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας οκτώ. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς και το καρβονύλιο ως τους τέσσερις από τους οκτώ βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι τετρακυκλικό.

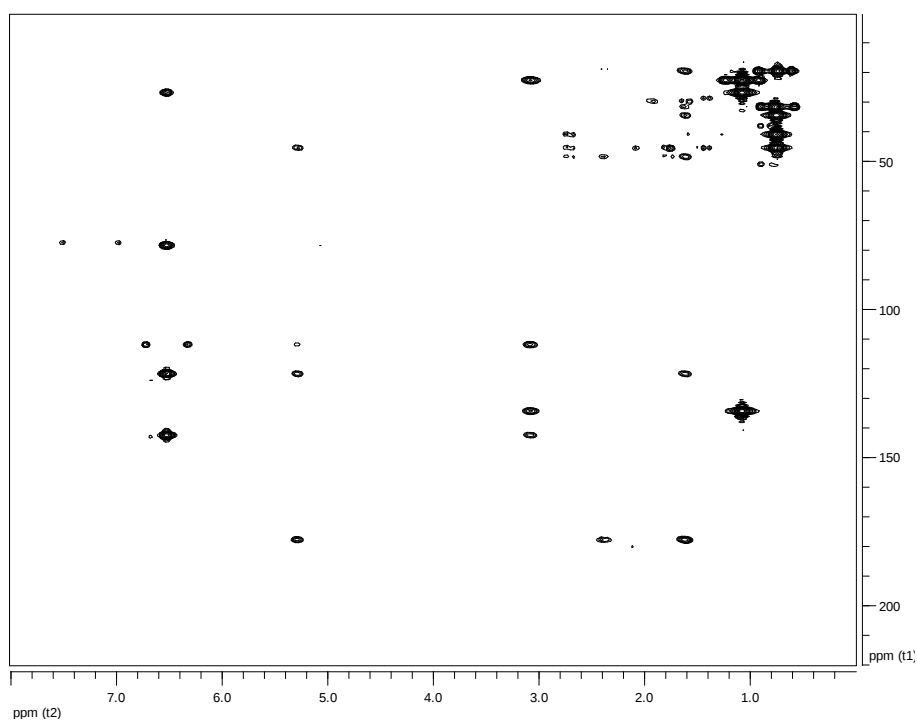
Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **5** αποδόθηκε με τη βοήθεια των ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών συζεύξεων (Εικ. 18) που παρατηρήθηκαν στα φάσματα HSQC-DEPT (Εικ. 19), HMBC (Εικ. 20) και COSY (Εικ. 21).



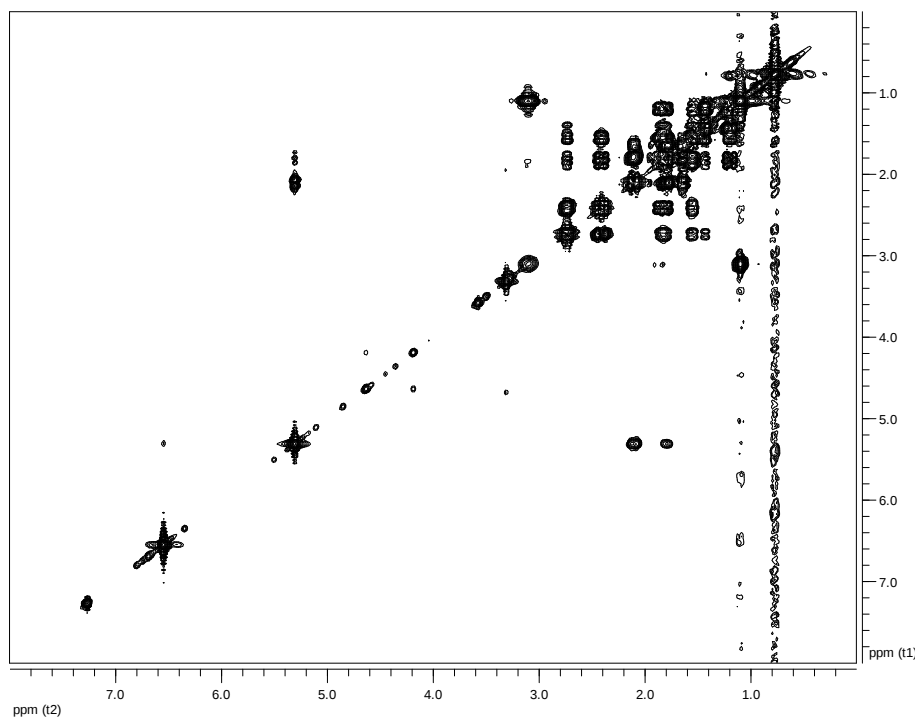
**Εικόνα 18.** Ομοπυρηνικές συζεύξεις COSY και οι βασικές συζεύξεις HMBC για τον μεταβολίτη **5**.



**Εικόνα 19.** Φάσμα HSQC-DEPT του μεταβολίτη 5.



**Εικόνα 20.** Φάσμα HMBC του μεταβολίτη 5.



**Εικόνα 21.** Φάσμα COSY του μεταβολίτη 5.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 5 με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν καρνوسόλη το οποίο είχε απομονωθεί και παλαιότερα από τον οργανισμό *Salvia canariensis* και έχει εμφανίσει αντικαρκινική δράση (Johnson 2011, Marrero et al. 2002). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη 5 παρατίθενται στον Πίνακα 36.

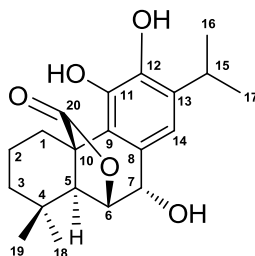
**Πίνακας 36.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **5** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα* |                     | Βιβλιογραφικά δεδομένα |                                         |
|------|-----------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------------------|
|      | $\delta_{\text{C}}$   | $\delta_{\text{H}}$ | $\delta_{\text{C}}$    | $\delta_{\text{H}}$                     |
| 1    | 28.5                  | 2.71 m, 2.38 m      | 29.8                   | 2.90 brd (14.0),<br>2.46 dt (14.0, 4.3) |
| 2    | 18.6                  | 1.80 m, 1.53 m      | 18.8                   | 1.99 m, 1.59 m                          |
| 3    | 40.7                  | 1.40 m, 1.17 m      | 41.0                   | 1.52 m, 1.31 dd<br>(14.0, 3.5)          |
| 4    | 34.3                  |                     | 28.9                   |                                         |
| 5    | 45.3                  | 1.65 m              | 45.4                   | 1.73 m                                  |
| 6    | 29.5                  | 2.07 m, 1.78 m      | 34.4                   | 2.20 m, 1.90 m                          |
| 7    | 78.1                  | 5.28 m              | 77.4                   | 5.37 dd (4.0, 1.4)                      |
| 8    | 131.6                 |                     | 131.9                  |                                         |
| 9    | 121.6                 |                     | 122.2                  |                                         |
| 10   | 48.2                  |                     | 48.4                   |                                         |
| 11   | 142.3                 |                     | 142.6                  |                                         |
| 12   | 142.3                 |                     | 142.8                  |                                         |
| 13   | 134.1                 |                     | 134.6                  |                                         |
| 14   | 111.7                 | 6.52 s              | 111.8                  | 6.64 s                                  |
| 15   | 26.6                  | 3.08 sept (6.9)     | 26.8                   | 3.08 sept (7.0)                         |
| 16   | 22.4                  | 1.07 d (6.9)        | 22.7                   | 1.22 d (7.0)                            |
| 17   | 22.4                  | 1.07 d (6.9)        | 22.7                   | 1.22 d (7.0)                            |
| 18   | 19.4                  | 0.76 s              | 19.7                   | 0.86 s                                  |
| 19   | 31.4                  | 0.74 s              | 31.7                   | 0.90 s                                  |
| 20   | 177.4                 |                     | 176.3                  |                                         |
| OH   |                       |                     |                        | 5.26 brs                                |
| OH   |                       |                     |                        | 5.73 brs                                |

\* $\text{CDCl}_3$  με μικρό ποσοστό  $\text{MeOH-d}_4$ .

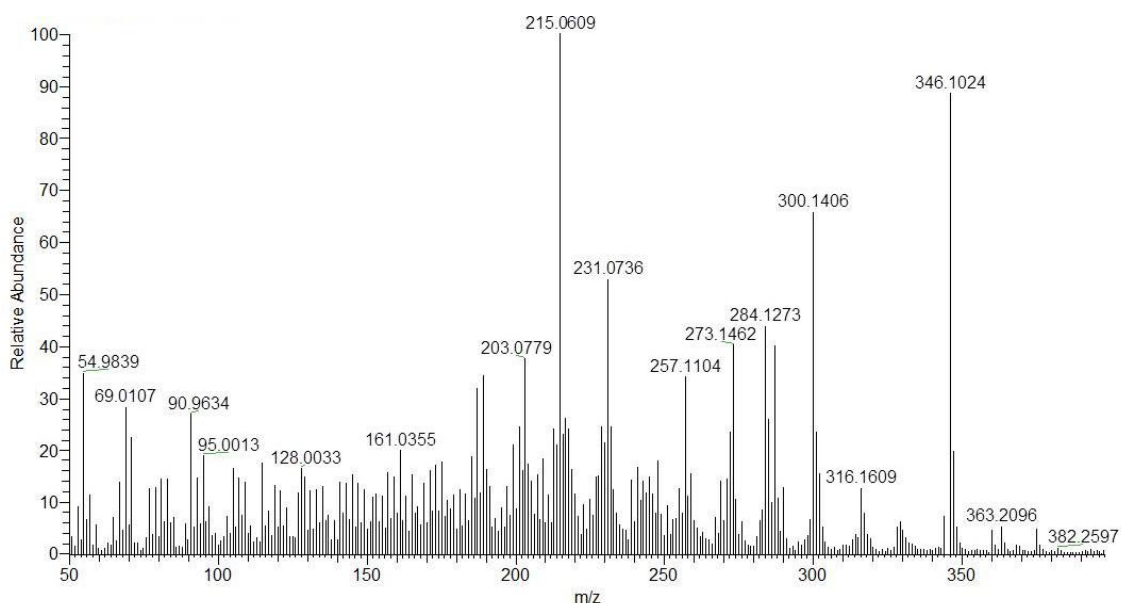
### 3.6. Μεταβολίτης 6

Ο μεταβολίτης **6** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 37.3 mg.



**6**

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **6** (Εικ. 22) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  346.

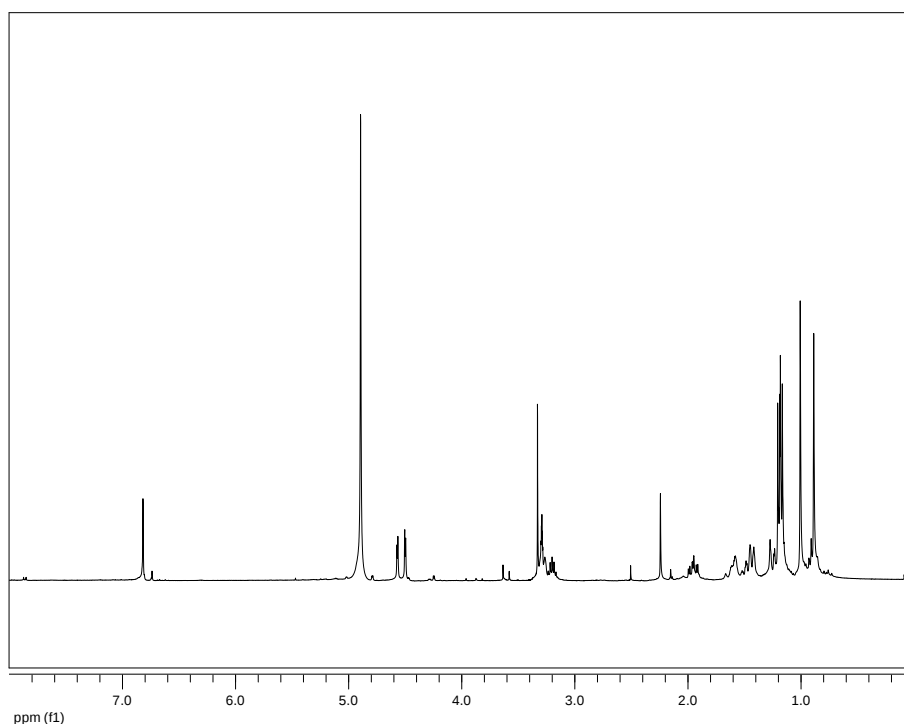


**Εικόνα 22.** Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **6**.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **6** (Εικ. 23) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.86 και 0.98, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

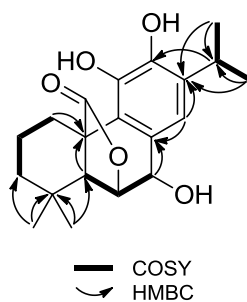
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  1.15 και 1.18, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγή άτομα άνθρακα.
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  4.48 και 4.55, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο οξυγονωμένων μεθινίων.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.80, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε αρωματικό πρωτόνιο.



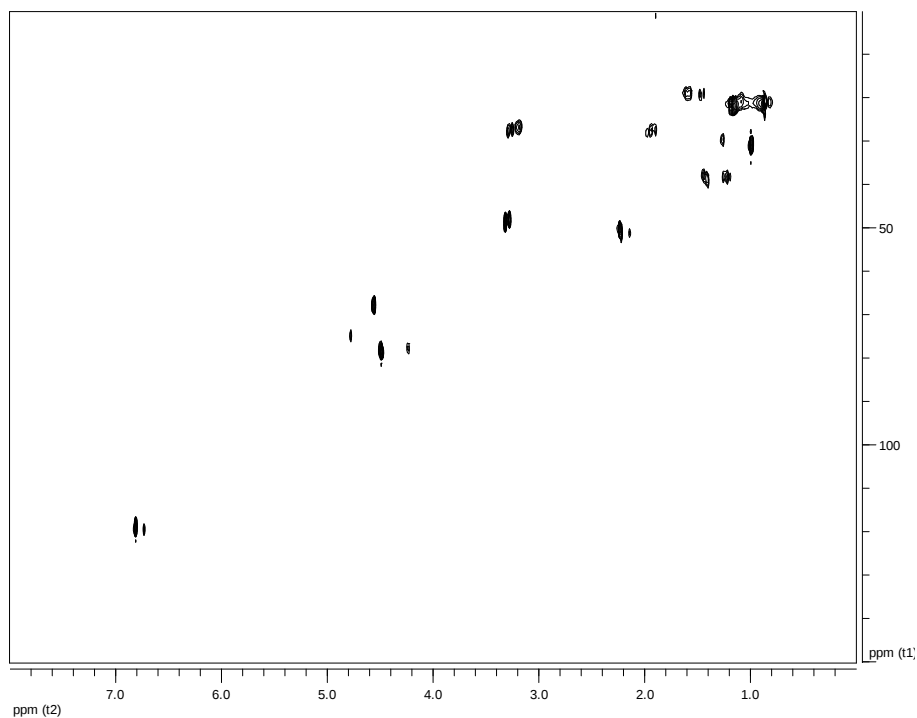
**Εικόνα 23.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **6**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **6** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας οκτώ. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς και το καρβονύλιο ως τους τέσσερις από τους οκτώ βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι τετρακυκλικό.

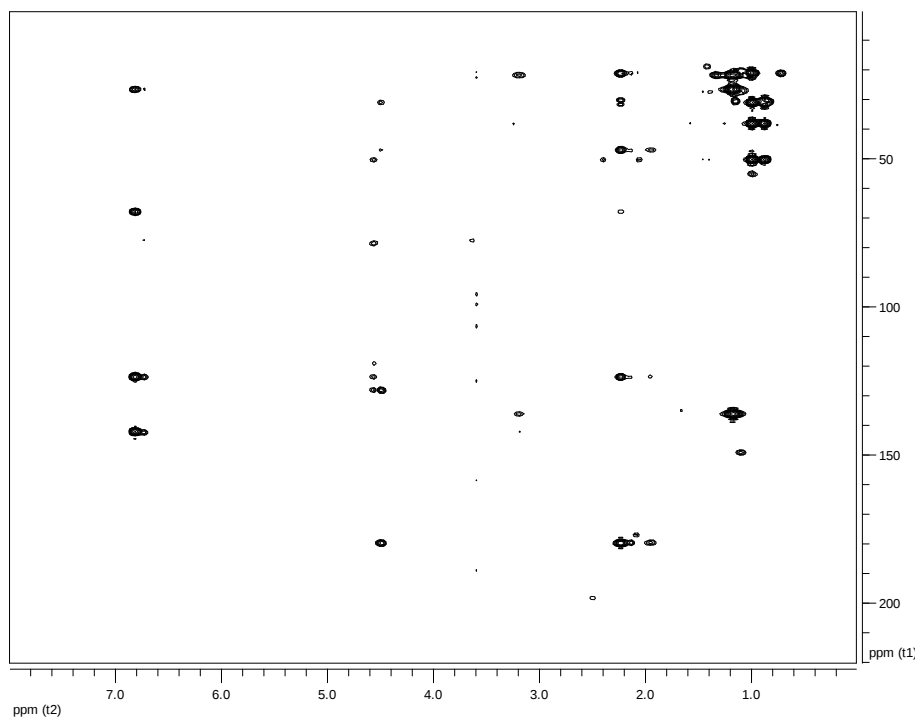
Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **6** αποδόθηκε με τη βοήθεια των ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών συζεύξεων (Εικ. 24) που παρατηρήθηκαν στα φάσματα HSQC-DEPT (Εικ. 25), HMBC (Εικ. 26) και COSY (Εικ. 27).



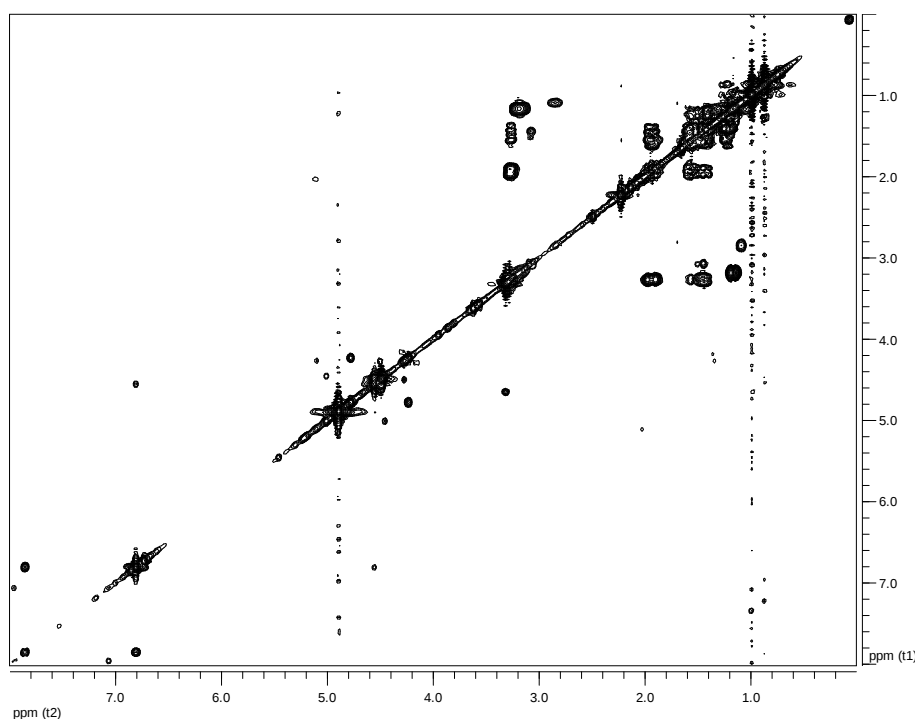
**Εικόνα 24.** Ομοπυρηνικές συζεύξεις COSY και οι βασικές συζεύξεις HMBC για τον μεταβολίτη **6**.



**Εικόνα 25.** Φάσμα HSQC-DEPT του μεταβολίτη **6**.



Εικόνα 26. Φάσμα HMBC του μεταβολίτη 6.



Εικόνα 27. Φάσμα COSY του μεταβολίτη 6.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **6** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν ροσμανόλη το οποίο είχε απομονωθεί και παλαιότερα από τα άνθη του *Salvia canariensis* (Gonzales et al. 1988). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$

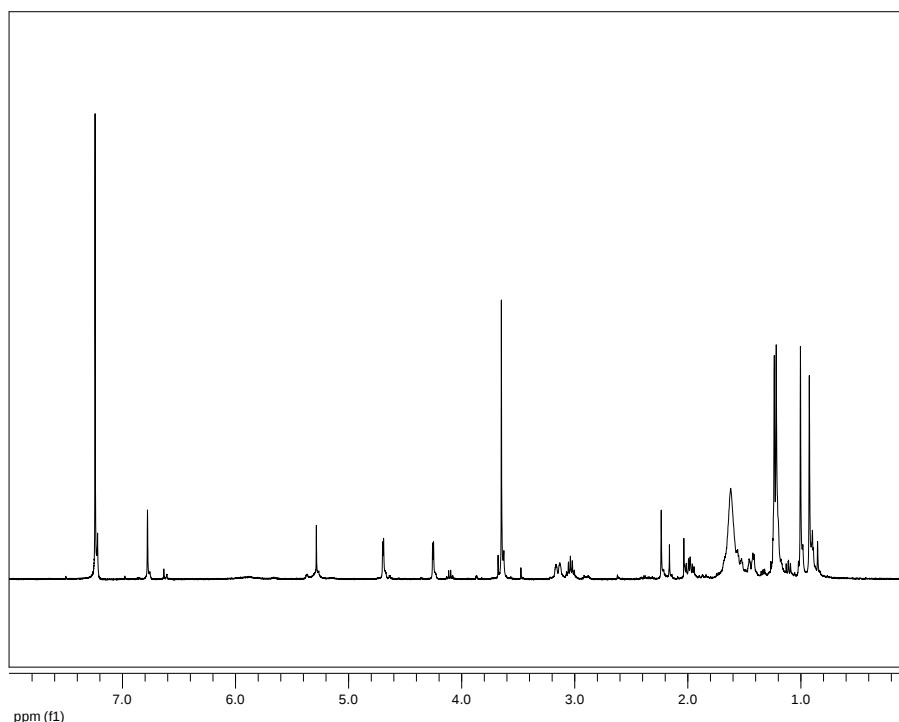
και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **6** παρατίθενται στον Πίνακα 37.

**Πίνακας 37.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **6** σε  $\text{MeOH-d}_4$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα |                     | Βιβλιογραφικά δεδομένα |                                         |
|------|----------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------------------|
|      | $\delta_{\text{C}}$  | $\delta_{\text{H}}$ | $\delta_{\text{C}}$    | $\delta_{\text{H}}$                     |
| 1    | 28.5                 | 3.28 m, 1.94 m      | 28.6                   | 3.28 brd (10.5),<br>1.97 td (14.1, 5.3) |
| 2    | 20.1                 | 1.60 m, 1.50 m      | 20.1                   | 1.62 m, 1.52 m                          |
| 3    | 39.2                 | 1.43 m, 1.24 m      | 39.3                   | 1.45 m, 1.26 m                          |
| 4    | 32.2                 |                     | 32.2                   |                                         |
| 5    | 51.5                 | 2.22 s              | 51.6                   | 2.22 s                                  |
| 6    | 80.0                 | 4.48 d (3.4)        | 79.9                   | 4.55 d (3.2)                            |
| 7    | 69.1                 | 4.55 d (3.4)        | 69.1                   | 4.48 d (3.2)                            |
| 8    | 129.5                |                     | 129.4                  |                                         |
| 9    | 124.9                |                     | 124.9                  |                                         |
| 10   | 48.2                 |                     | 48.3                   |                                         |
| 11   | 145.2                |                     | 145.2                  |                                         |
| 12   | 143.3                |                     | 143.3                  |                                         |
| 13   | 137.5                |                     | 137.4                  |                                         |
| 14   | 120.5                | 6.80 s              | 120.5                  | 6.80 s                                  |
| 15   | 28.0                 | 3.27 m              | 27.9                   | 3.27 sept (7.0)                         |
| 16   | 23.0                 | 1.15 d (6.8)        | 22.9                   | 1.15 d (7.0)                            |
| 17   | 22.2                 | 1.18 d (6.9)        | 22.2                   | 1.17 d (7.0)                            |
| 18   | 31.9                 | 0.86 s              | 31.9                   | 0.87 s                                  |
| 19   | 23.0                 | 0.98 s              | 22.9                   | 0.98 s                                  |
| 20   | 181.0                |                     | 181.0                  |                                         |



- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.22, η οποία ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.64, η οποία ολοκλήρωνε για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε στα πρωτόνια μίας μεθοξυ-ομάδας.
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  4.25 και 4.69, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η καθεμία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο οξυγονωμένων μεθινίων.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.78, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα αρωματικό πρωτόνιο.



**Εικόνα 29.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 7.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη 7 οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας οκτώ. Αυτό με τη σειρά του οδήγησε στο συμπέρασμα πως το μόριο ήταν τετρακυκλικό, με έναν αρωματικό δακτύλιο και έναν διπλό δεσμό.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 7 με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν 7-Ο-μεθυλοροσμανόλη (Marrero et al. 2009) που είχε απομονωθεί και στο παρελθόν από είδη *Salvia* και διαπιστώθηκε πως έχει

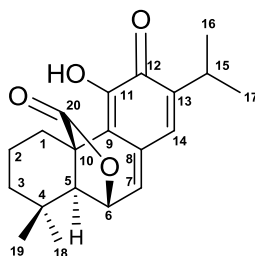
αντιμικροβιακή και κυτταροτοξική δράση. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 7 παρατίθενται στον Πίνακα 38.

**Πίνακας 38.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 7 σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|----------------------|------------------------|
| 1a   | 3.14 brd (13.5)      | 3.17 brd (13.8)        |
| 1b   | 1.98 td (13.5, 5.6)  | 2.0 td (13.8, 5.6)     |
| 6    | 4.25 d (3.1)         | 4.27 d (3.2)           |
| 7    | 4.69 d (3.1)         | 4.71 d (3.2)           |
| 14   | 6.78 s               | 6.80 s                 |
| 15   | 3.03 m               | 3.07 m                 |
| 16   | 1.22 d (6.7)         | 1.23 d (7.0)           |
| 17   | 1.22 d (6.7)         | 1.23 d (7.0)           |
| 18   | 0.99 s               | 1.02 s                 |
| 19   | 0.92 s               | 0.94 s                 |
| OMe  | 3.64 s               | 3.66 s                 |
| OH   | -                    | 5.48 brs               |
| OH   | -                    | 6.00 brs               |

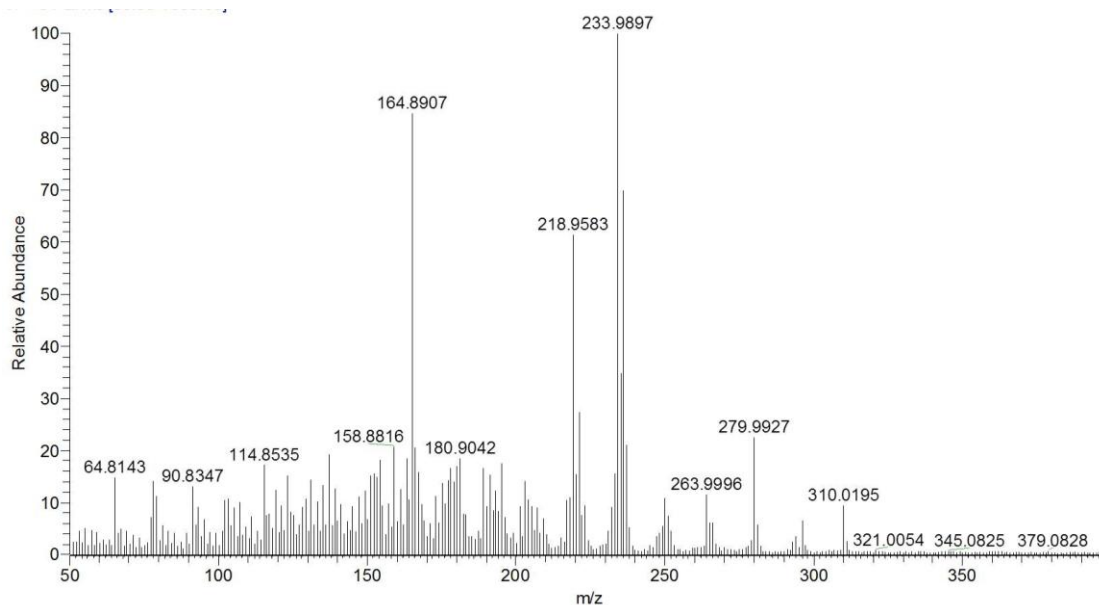
### 3.8. Μεταβολίτης 8

Ο μεταβολίτης **8** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κιτρινοπορτοκαλί ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 7.6 mg.



**8**

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **8** (Εικ. 30) δεν εμφάνισε το μοριακό ιόν  $[M]^+$ , αλλά εμφάνισε θραύσμα  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  310.

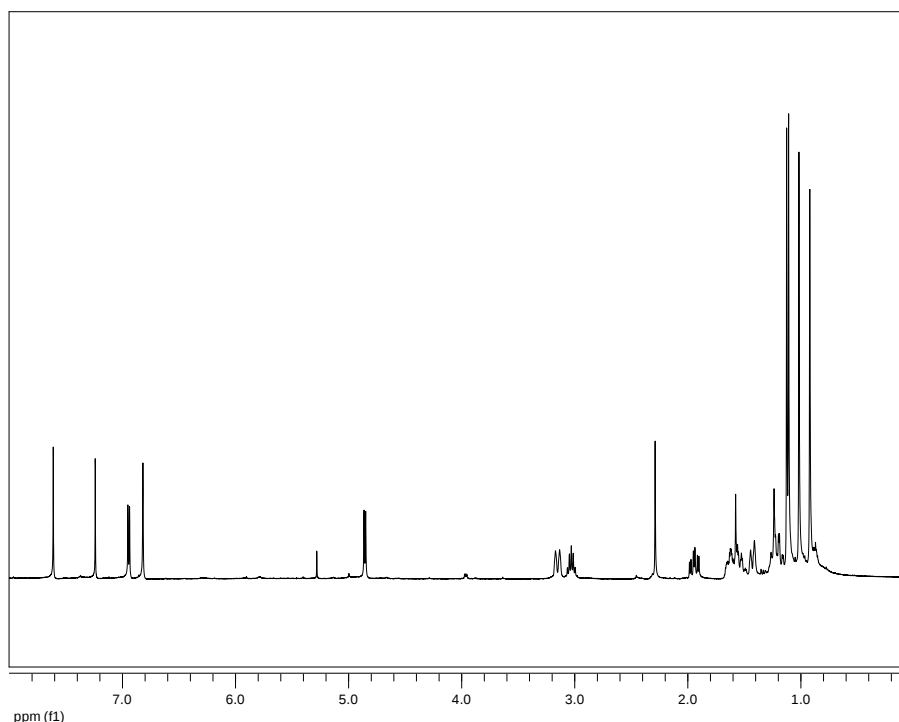


**Εικόνα 30.** Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **8**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη **8** (Εικ. 31) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.91 και 1.00, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.11, η οποία ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  4.85, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε πρωτόνιο ενός οξυγονωμένου μεθινίου.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.82, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε πρωτόνιο ενός ολεφινικού μεθινίου.



**Εικόνα 31.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **8**

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **8** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας εννιά. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς και τα δύο καρβονύλια ως πέντε από τους εννιά βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο έπρεπε να είναι τετρακυκλικό.

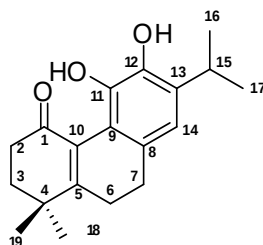
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **8** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για ένα γνωστό φυσικό προϊόν μεθίδιο **A** της σατζεκινόνης που είχε απομονωθεί και στο παρελθόν από τα υπέργεια τμήματα της *S. officinalis* (Tada et al. 1997, Marrero et al. 2009). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **8** παρατίθενται στον Πίνακα 39.

**Πίνακας 39.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **8** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|----------------------|------------------------|
| 1a   | 3.14 brd (14.7)      | 3.17 brd (14.6)        |
| 1b   | 1.93 td (14.7, 5.4)  | 1.96 td (14.6, 5.6)    |
| 6    | 4.85 d (5.9)         | 4.87 d (5.9)           |
| 7    | 6.95 d (5.9)         | 6.96 d (5.9)           |
| 14   | 6.82 s               | 6.84 s                 |
| 15   | 3.02 m               | 3.05 m                 |
| 16   | 1.11 d (6.9)         | 1.13 d (7.0)           |
| 17   | 1.11 d (6.9)         | 1.13 d (7.0)           |
| 18   | 1.00 s               | 1.03 s                 |
| 19   | 0.91 s               | 0.93 s                 |
| OH   | 7.61 s               | 7.63 brs               |

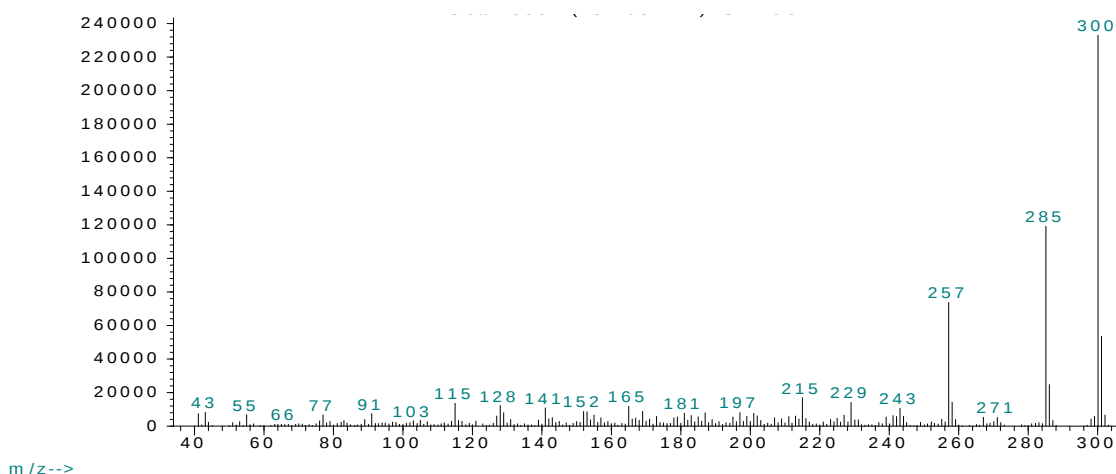
### 3.9. Μεταβολίτης 9

Ο μεταβολίτης **9** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 5.3 mg.



**9**

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **9** (Εικ. 32) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  300.

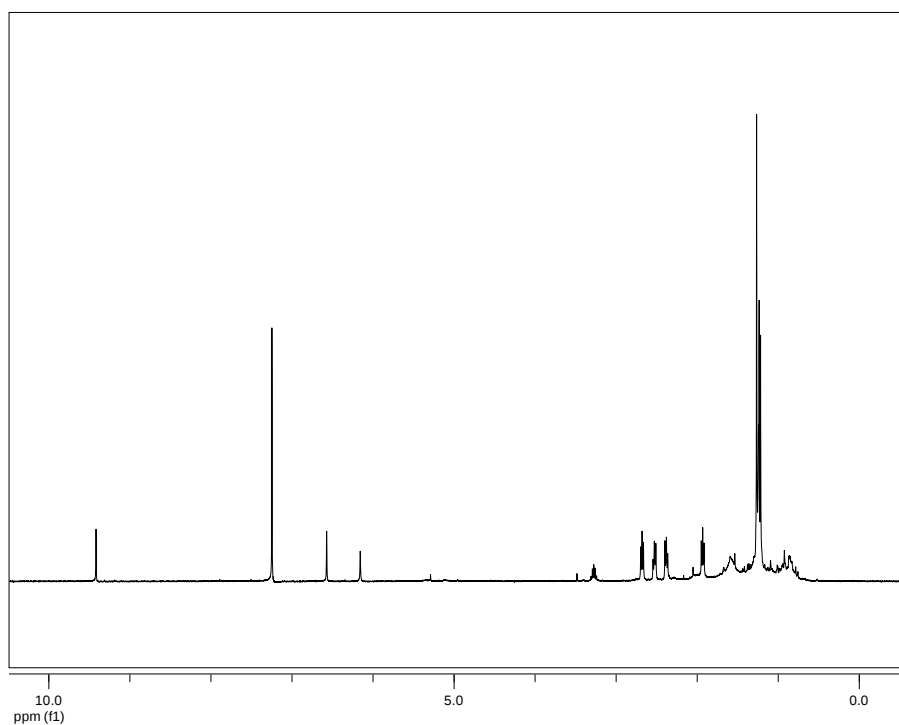


**Εικόνα 32.** Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **9**.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **9** (Εικ. 33) παρατηρήθηκαν:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.21, η οποία ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αποδόθηκε στα πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγή άτομα άνθρακα.
- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  1.23 και 1.25, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

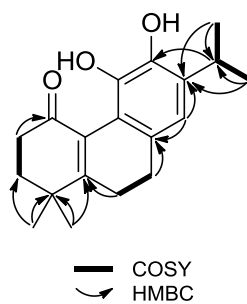
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.57, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε πρωτόνιο αρωματικού δακτυλίου.
- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  6.15 και 9.41, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε ευκίνητα πρωτόνια υδροξυλίων.



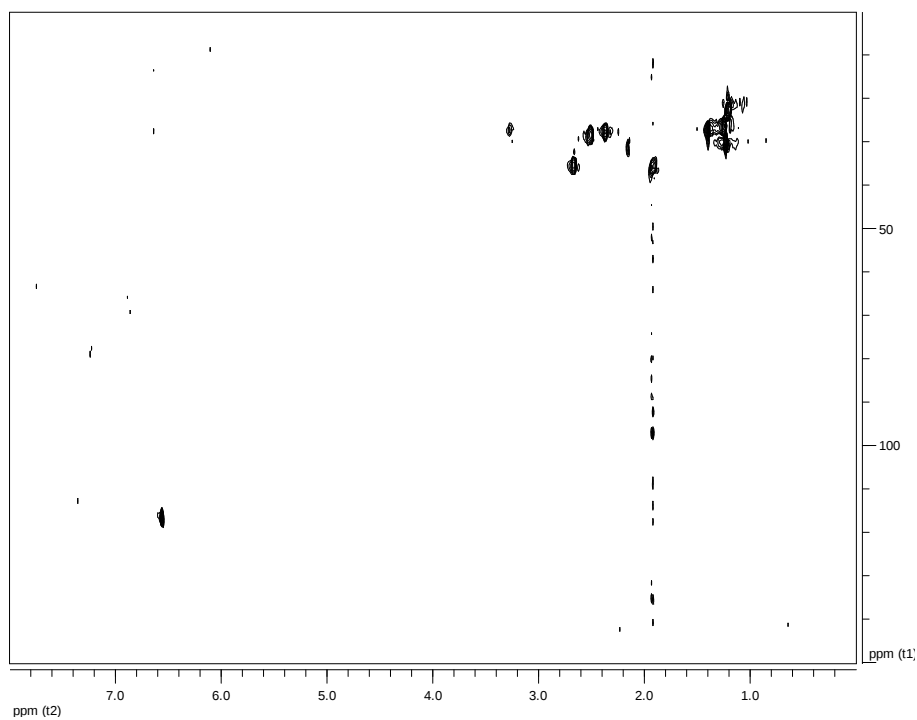
**Εικόνα 33.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **9**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **9** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_3$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας οκτώ. Λαμβάνοντας υπόψη τον αρωματικό δακτύλιο, τον διπλό δεσμό και το καρβονύλιο, το μόριο θα έπρεπε να είναι τρικυκλικό.

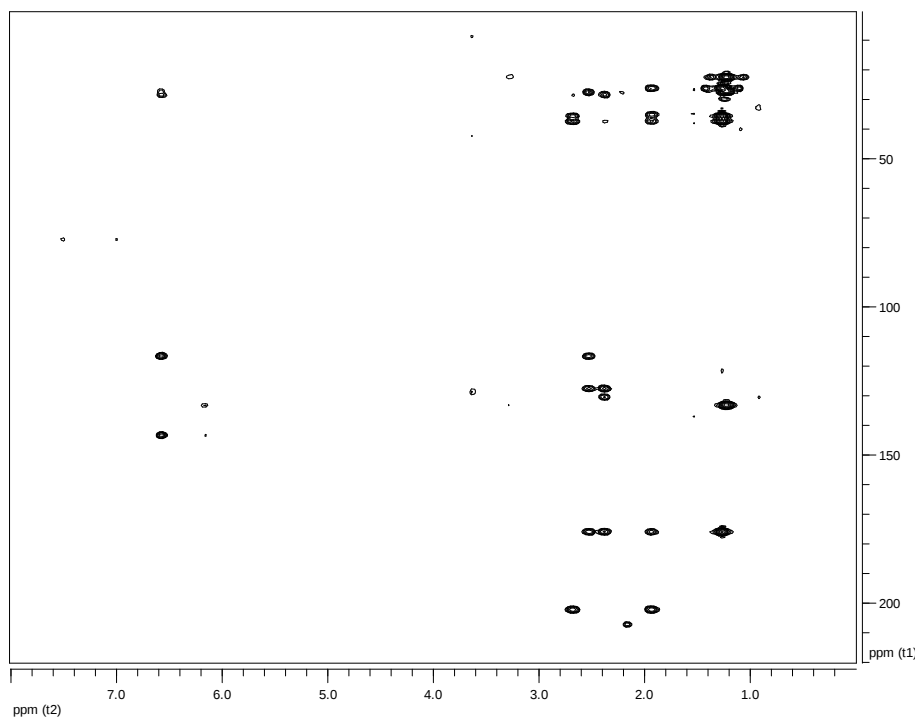
Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **9** αποδόθηκε με τη βοήθεια των ομοπυρηνικών και ετεροπυρηνικών συζεύξεων (Εικ. 34) που παρατηρήθηκαν στα φάσματα HSQC-DEPT (Εικ. 35), HMBC (Εικ. 36) και COSY (Εικ. 37).



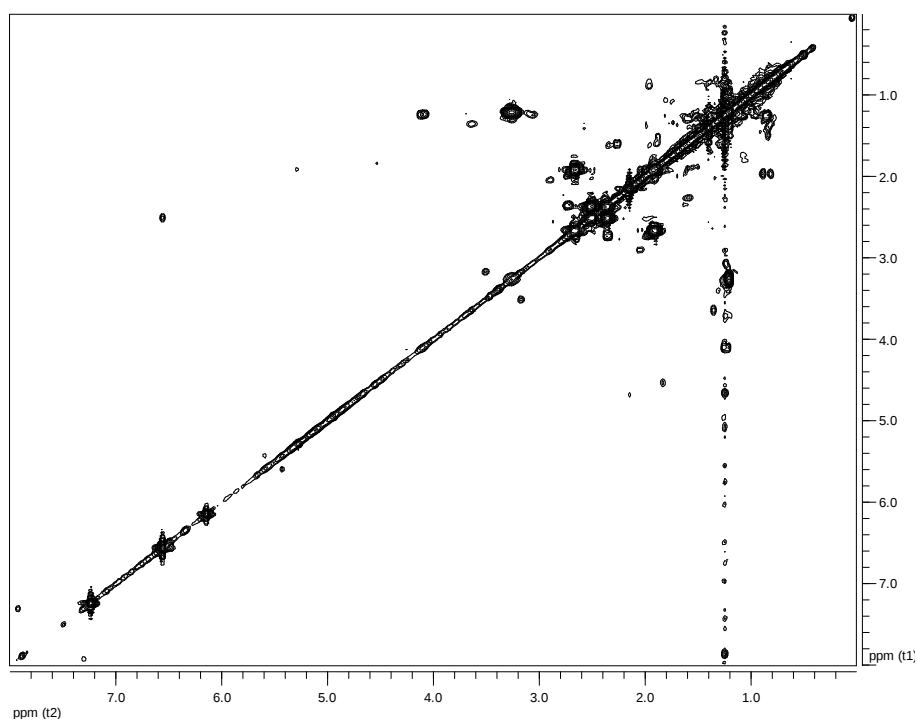
**Εικόνα 34.** Ομοπυρηνικές συζεύξεις COSY και οι βασικές συζεύξεις HMBC για τον μεταβολίτη **9**.



**Εικόνα 35.** Φάσμα HSQC-DEPT του μεταβολίτη **9**.



Εικόνα 36. Φάσμα HMBC του μεταβολίτη 9.



Εικόνα 37. Φάσμα COSY του μεταβολίτη 9.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **9** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν σατζεόνη που είχε απομονωθεί στο παρελθόν από τη *S. officinalis* (Tada et al. 1994) και διαπιστώθηκε πως είχε αντιϊκή δράση. Τα

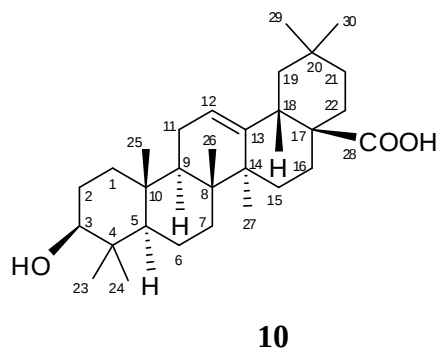
φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **9** παρατίθενται στον Πίνακα 40.

**Πίνακας 40.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  και  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **9** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

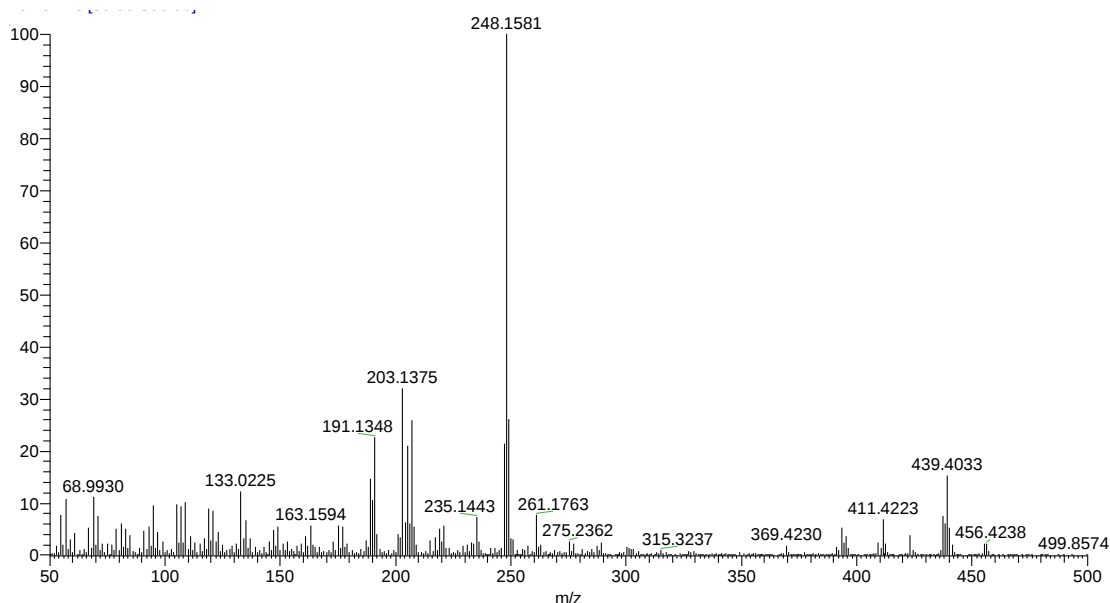
| Θέση | Πειραματικά δεδομένα |                     | Βιβλιογραφικά δεδομένα |                     |
|------|----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
|      | $\delta_{\text{C}}$  | $\delta_{\text{H}}$ | $\delta_{\text{C}}$    | $\delta_{\text{H}}$ |
| 1    | 202.0                |                     | 202.1                  |                     |
| 2    | 35.1                 | 2.67 m              | 35.1                   | 2.71 t (7.5)        |
| 3    | 35.5                 | 1.92 m              | 35.6                   | 1.94 t (7.5)        |
| 4    | 37.2                 |                     | 37.2                   |                     |
| 5    | 175.8                |                     | 175.8                  |                     |
| 6    | 27.3                 | 2.34 m              | 27.4                   | 2.38 m              |
| 7    | 28.4                 | 2.52 m              | 28.4                   | 2.54 m              |
| 8    | 127.6                |                     | 127.5                  |                     |
| 9    | 130.2                |                     | 130.3                  |                     |
| 10   | 116.4                |                     | 116.5                  |                     |
| 11   | 139.8                |                     | 139.9                  |                     |
| 12   | 143.2                |                     | 143.2                  |                     |
| 13   | 133.1                |                     | 133.1                  |                     |
| 14   | 116.4                | 6.57 s              | 116.5                  | 6.59 s              |
| 15   | 27.0                 | 3.26 sept (7.0)     | 27.1                   | 3.29 sept (7.0)     |
| 16   | 22.2                 | 1.21 d (7.0)        | 22.4                   | 1.22 d (7.0)        |
| 17   | 22.2                 | 1.21 d (7.0)        | 22.4                   | 1.22 d (7.0)        |
| 18   | 26.0                 | 1.25 s              | 26.1                   | 1.27 s              |
| 19   | 26.0                 | 1.23 s              | 26.1                   | 1.27 s              |
| OH   |                      | 6.15 s              |                        | 6.17 s              |
| OH   |                      | 9.41 s              |                        | 9.44 s              |

### 3.10. Μεταβολίτης 10

Ο μεταβολίτης **10** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως άσπρο στερεό υπόλειμμα συνολικής μάζας 3.3 mg.



Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **10** (Εικ. 38) εμφάνισε μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  456 και θραύσμα  $[M-OH]^+$  σε  $m/z$  439.

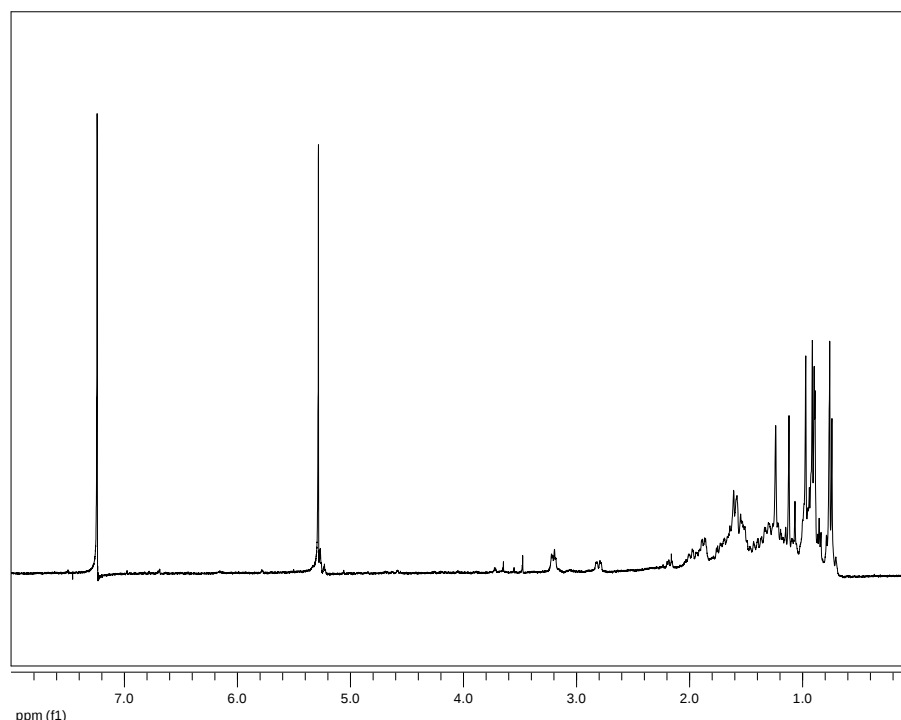


Εικόνα 38. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **10**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR του μεταβολίτη **10** (Εικ. 39) παρατηρήθηκαν:

- Επτά απλές κορυφές σε  $\delta$  0.73, 0.75, 0.88, 0.89, 0.90, 0.96 και 1.11, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια επτά αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.19, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε πρωτόνιο ενός οξυγωνομένου μεθινίου.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε  $\delta$  5.26, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε πρωτόνιο ενός ολεφινικού μεθινίου.



**Εικόνα 39.** Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **10**

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του μεταβολίτη **10** οδήγησε στον μοριακό τύπο  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$  που αντιστοιχούσε σε βαθμό ακορεστότητας επτά. Αυτό με τη σειρά του οδήγησε στο συμπέρασμα πως το μόριο ήταν πεντακυκλικό με δύο διπλούς δεσμούς

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **10** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν ολεανολικό οξύ που είχε απομονωθεί και στο παρελθόν από τα υπέργεια τμήματα του *Lotus ornithopodioides* (Abdel-Kader et al. 2007) και έχει εμφανίσει αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και υπατοπροστατευτική δράση (Jesus et al. 2015). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **10** παρατίθενται στον Πίνακα 41.

**Πίνακας 41.** Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη **10** σε  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta$  σε ppm, πολλαπλότητα,  $J$  σε Hz).

| Θέση | Πειραματικά δεδομένα | Βιβλιογραφικά δεδομένα |
|------|----------------------|------------------------|
| 3    | 3.19 m               | 3.19 m                 |
| 12   | 5.26 brs             | 5.24 s                 |
| 18   | 2.80 m               | 2.78 dd (12, 3)        |
| 23   | 0.96 s               | 0.95 s                 |
| 24   | 0.73 s               | 0.65 s                 |
| 25   | 0.89 s               | 0.87 s                 |
| 26   | 0.75 s               | 0.71 s                 |
| 27   | 1.11 s               | 1.09 s                 |
| 29   | 0.88 s               | 0.86 s                 |
| 30   | 0.90 s               | 0.89 s                 |

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος του φυτού *Salvia fruticosa* που συλλέχθηκε στο Ριζόσκαρο Χανίων στο χωριό Χορδάκι.

Από το οργανικό του εκχύλισμα απομονώθηκαν με χρωματογραφικούς διαχωρισμούς έντεκα δευτερογενείς μεταβολίτες, εκ των οποίων μέχρι στιγμής ταυτοποιήθηκαν οι δέκα (**1–10**) μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS.

Συγκεκριμένα απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν ένα μονοτερπένιο (**1**), δύο σεσκιτερπένια (**2, 3**), πέντε διτερπένια (**4–8**), ένα *nor*-διτερπένιο (**9**) και ένα τριτερπένιο (**10**).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι χημικές δομές των απομονωθέντων μεταβολιτών.

| Μεταβολίτης                | Δομή |
|----------------------------|------|
| <b>1</b><br>α-τερπινεόλη   |      |
| <b>2</b><br>σπαθουλενόλη   |      |
| <b>3</b><br>βιριντιφλορόλη |      |
| <b>4</b><br>μανοόλη        |      |

|                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>5</b><br/>καρνοσόλη</p>                      | <p>The structure of Carnosol (5) is a bicyclic diterpene. It features a decalin core with a ketone at C-20 and a hydroxyl group at C-12. A side chain at C-13 consists of a methylene group (C-14), a chiral center (C-15) with a methyl group (C-16) and a hydrogen atom (C-17), and another methyl group (C-18). The numbering of the decalin ring is 1-10, and the side chain carbons are 11-18.</p> |
| <p><b>6</b><br/>ροσμανόλη</p>                      | <p>The structure of Rosmanol (6) is a bicyclic diterpene, similar to Carnosol but with an additional hydroxyl group at C-6. The numbering of the decalin ring is 1-10, and the side chain carbons are 11-18.</p>                                                                                                                                                                                        |
| <p><b>7</b><br/>7α-O-<br/>μεθυλοροσμανόλη</p>      | <p>The structure of 7α-Methylo-rosmanol (7) is a bicyclic diterpene, similar to Rosmanol but with a methoxy group (OMe) at C-7 instead of a hydroxyl group. The numbering of the decalin ring is 1-10, and the side chain carbons are 11-18.</p>                                                                                                                                                        |
| <p><b>8</b><br/>μεθίδιο Α της<br/>σατζεκινόνης</p> | <p>The structure of Methide A of Satschekione (8) is a bicyclic diterpene. It features a decalin core with a ketone at C-20 and a hydroxyl group at C-12. The numbering of the decalin ring is 1-10, and the side chain carbons are 11-18.</p>                                                                                                                                                          |
| <p><b>9</b><br/>σατζεόνη</p>                       | <p>The structure of Satschekione (9) is a bicyclic diterpene. It features a decalin core with a ketone at C-20 and a hydroxyl group at C-12. The numbering of the decalin ring is 1-10, and the side chain carbons are 11-18.</p>                                                                                                                                                                       |
| <p><b>10</b><br/>ολεανολικό οξύ</p>                | <p>The structure of Oleic acid (10) is a tricyclic diterpene. It features a complex polycyclic core with a carboxylic acid group (COOH) at C-28. The numbering of the rings is 1-27, and the carboxylic acid carbon is 28.</p>                                                                                                                                                                          |

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdel-Kader M., Basudan O., Alqasoumi S., Abou-Shoer M. Phytochemical study of *Lotus ornithopodioides* L. *Nat. Prod. Sci.*, **2007**, 13, 317-321.
- Beatty C., Denham A. Review of practice: Preliminary data collection for clinical audit. *Eur. J. Herbal Med.*, **1998**, 4, 32-34.
- Bhattarai N., Karki M. Medicinal, food and aromatic plants. Medicinal and aromatic plants: ethnobotany and conservation status. In: *Burley J (ed) Encyclopedia of Forest Sciences*, Elsevier, Oxford, **2004**, 523-532.
- Blumenthal M., Goldberg A., Brinckmann J. (ed). Sage leaf in Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs, **2000**, 330-334, American Botanical Council Austin, Texas.
- Bombarda I., Raharivelomanana P., Ramanoelina P., Faure R, Bianchini J.P, Gaydou E. Spectrometric identifications of sesquiterpene alcohols from niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) essential oil. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 447, 113-123.
- Brieskorn C., Schlumprecht I., *Arch. Pharm.* **1951**, 284, 239.
- EMA/HMPC//330383/2008, *Salvia officinalis*.
- EMA/HMPC// 599992/2014, *Salvia fruticosa*.
- Gerhardt U., Schroeter A. Rosmarinic acid-a naturally occurring antioxidant in spices. *Fleischwirtschaft*, **1983**, 63, 1628-1630.
- Gilabert M., Marcinkevicius K., Andujar S., Schiavone M., Arena M.E, Bardón A. Sesqui-and triterpenoids from the liverwort *Lepidozia chordulifera* inhibitors of bacterial bio film and elastase activity of human pathogenic bacteria. *Phytomedicine*, **2015**, 22, 77-85.
- Gonzalez A., Andres L., Herrera J., Luis J., Ravelo A. Abietane diterpenes with antibiotic activity from the flowers of *Salvia canariensis*. Reaction of galdosol with diazomethane. *Can. J. Chem.* **1989**, 67, 208.
- Hamidpour M., Hamidpour R., Hamidpour S., Shahlari M. Chemistry, pharmacology, and medicinal property of Sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *J. Tradit. Complement. Med.*, **2014**, 4, 82-88.
- Hassan S., Gali-muhtasib H., Goransson H., Larsson R. Alpha terpineol: A potential anticancer agent which acts through suppressing NF-κB signalling.

*Anticancer Res.*, **2010**, 30, 1911-1920.

- Hedge IC, *Salvia* Linnaeus, In: Davis PH (ed), *Flora of Turkey and the East Aegean islands*, vol. 7., Edinburgh University Press, Edinburgh, **1982**, 188-192.
- Jesus J., Lago J.H., Laurenti M., Yamamoto E., Passero L. F. Antimicrobial activity of oleanolic and ursolic acids: an update. *Evid. Based Complementary Altern. Med.*, **2015**, 1-14.
- Johnson J. Carnosol: a promising anti-cancer and anti-inflammatory agent. *Cancer Lett.*, **2011**, 305.
- Kokkini S., Karousou R., and Vokou D. Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Bioch. System. Ecol.*, **1994**, 22, 517-528.
- Karousou R., E. Hanlidou and S. Kokkini: The sage plants of Greece: distribution and intraspecific variation. In: *Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles: Salvia*, **2000**, edited by S. E. Kintzios.
- Kokkini S., Karousou R., and Hanlidou E., Herbs: Herbs of the Labiatae. In: Benjamin Caballero (ed) *Encyclopedia of food sciences and nutrition* (Second Edition). Academic Press, Oxford, **2003**, 3082-3090.
- Lawrence B.M. Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. In: *Advances in Labiatae Science*, Eds R. M. Harley and T. Reynolds, Royal Botanical Gardens, **1992**, 399-436.
- Lu Y., Foo L.Y. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, **2000**, 55, 263-267.
- Lu Y., Foo L.Y. Polyphenolics of *Salvia*-a review. *Phytochemistry*, **2002**, 59, 117-140.
- Marrero J., Andres L., Luis J. Semisynthesis of rosmanol and its derivatives. Easy access to abietatriene diterpenes isolated from the genus *Salvia* with biological activities. *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 986-989.
- Marrero J., Moujir L., Andres L., Montano N., Araujo L., Luis J. Semisynthesis and biological evaluation of abietane-type diterpenes. Revision of the structure of rosmaquinone. *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72, 1385-1389.
- Pappa G. Possibilities of productive plantation of aromatic plants in abandoned agricultural fields- the case of *Salvia triloba*, *Origanum onites*, *Origanum* spp. *hirtum* in North Aegean islands. Mytilene (Greece): Ph.D. Thesis, University of

the Aegean, **2001**.

- Rahman A., Shanta Z., Rashid M.A., Parvin,T., Afrin S., Khatun K., Sattar, M.A. In vitro antibacterial properties of essential oil and organic extracts of *Premna integrifolia* Linn. *Arabian J. Chem.* **2011**, 9, 475-479
- Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, 45, 3197–3201
- Strid A. «Φυτά του Ολύμπου». Εκδόσεις Μουσείου Γουλανδρή Φυσικής Ιστορίας, **1980**, σελ. 329.
- Tanaka T., Nishimura A., Kouno I., Nonaka G., Young T.-J. Isolation and characterization of yunnaneic acids A-D, four novel caffeic acid metabolites from *Salvia yunnanensis*. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 843-849.
- Tada M., Hara T., Hara C., Chiba K., A quinone methide from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, **1997**, 45, 1475-1477.
- Tada M., Okuno K., Chiba K., Ohnishi E., Yoshii, T. Antiviral diterpenes from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, **1994**, 35, 539-541.
- Topcu G., Ozturk M., Kusman T., Barla Demirkoz, A., Kolak U., Ulubelen A. Terpenoids, essential oil composition, fatty acid profile, and biological activities of Anatolian *Salvia fruticosa* Mill. *Turk J Chem*, **2013**, 37, 619-632.
- Vieira I. J. C., Azevedo O., Jorgeane de Souza J., Braz-Filho R., Gonçalves M., Francisco de Araújo M. Hirtinone, a novel cycloartane-type triterpene and other compounds from *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). *Molecules*, **2013**, 18, 2589-2597.
- Wu Y., Ni Z., Shi Q., Dong M., Kiyota H., Gu Y., Cong B., Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chem. Rev.*, **2012**, 5967-6026.
- Βαρδαβάκη Μ., Καββαδά Δ. Κλειδες προσδιορισμού των οικογενειών των αγγειοσπέρμων. Εκδόσεις Δ. Κ. Σαλονικίδης, **1994**.
- Κατσιώτης Σ., Χατζοπούλου Π. Αρωματικά φαρμακευτικά φυτά και Αιθέρια Έλαια. Εκδόσεις αδερφών Κυριακίδη, Αθήνα, **2010**.
- Λίτσο Α. , Το γένος *Salvia* και ορισμένα φαρμακευτικά είδη, Πτυχιακή εργασία, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, **2009**.
- Πιταροκοίλη Δ. Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων ειδών *Salvia* που φύονται

στην Ελλάδα και αντιμυκητιακές ιδιότητες αυτών. Μ.Δ.Ε. Αθήνα, **1999**.

- Σκουμπρής Β. *Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια*, Εκδόσεις Αγρότυπος, Θεσσαλονίκη, **1985**.
- Στεφανάκη-Νικηφοράκη Μ., «*Συστηματική Βοτανική*» Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, **1999**.