



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

ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
***Crepis incana* Sm.- Asteraceae**



ΜΠΑΡΔΑ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ, ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ, ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΕΛΕΓΧΟΣ
ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΑΘΗΝΑ
2017

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

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

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

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

Ευχαριστώ τον Δρ. Μ. Τσουκαλά για τη συλλογή του φυτικού υλικού.

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

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

ΠΕΡΙΕΟΜΕΝΑ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A.1.Βοτανική περιγραφή	1
A.1.1.Το.tribe Cichorieae Lam. & DC. (synonym: Lactuceae Cassini)	1
A.1.2.Δευτερογενείς μεταβολίτες των Cichorieae.....	2
A.1.3.Κατανομή των σесκιτερπενίων στα γένη του tribe Cichorieae	3
A.1.4.Οικονομική σημασία των Cichorieae	4
A.1.5.Βοτανική περιγραφή του γένους <i>Crepis</i> L.....	6
A.1.6.Βοτανική περιγραφή του είδους <i>C. incana</i> Sm.....	7
A.2.Δρογοετυμολογία	9
A.3.Δρογοϊστορία – Δρογοφαρμακολογία	9
A.4.Δρογοχημεία	10
A.4.I.Σεσκιτερπενικές Λακτόνες	11
A.4.II.Φλαβονοειδή	16
A.5.Σεσκιτερπενικές λακτόνες	18

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1.Χρωματογραφικές τεχνικές.....	22
B.2.Φασματοσκοπικές μέθοδοι.....	24
B.3.Εκχύλιση της δρόγης.....	25
B.4.Χρωματογραφικός διαχωρισμός εκχυλισμάτων	26

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.I.Σεσκιτερπενικές Λακτόνες	
Ουσία 1:γροσεϊμίνη	39
Ουσία 2:κρεπισίδης E	44
Ουσία 3:κρεπισίδης D.....	49

Ουσία 4: β-D-γλυκοπυρανοσιδικός εστέρας του ταραξινικού οξέος	53
Ουσία 5: ταραξινικό οξύ	58
Γ.ΙΙ. Τερπένια	
Ουσία 6: λολιολίδιο	63
Ουσία 7: ολεανολικό οξύ	68
Ουσία 8: λουπεόλη	73
Γ.ΙΙΙ. Φλαβονοειδή	
Ουσία 9: λουτεολίνη	77
Ουσία 10: λουτεολινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης	80
Ουσία 11: κερκετινο-3-O-β-D-γλυκοσίδης= ισοκερκιτρίνη	84
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	88
Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	92

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απομόνωση και η ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων είναι μια από τις κύριες κατευθύνσεις έρευνας του Τομέα Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Μέσα στα πλαίσια αυτής της έρευνας, και ως συμβολή στη χημειοταξινομία του γένους *Crepis* L., επιλέχθηκε προς μελέτη το ενδημικό είδος *C.incana* Sm.της οικογένειας Asteraceae, tribe Cichorieae.

Στην επιλογή συνέβαλε το δεδομένο ότι ορισμένα είδη του γένους *Crepis* L. ονομάζονται κν. πικραλίδες (όπως και είδη του γένους *Taraxacum* L.) και είναι εδώδιμα (Γεννάδιος, 1914).

Η παρούσα μελέτη έχει ως αντικείμενο την απομόνωση και τον προσδιορισμό της δομής των δευτερογενών μεταβολιτών του ανωτέρω φυτού, κυρίως σεσκιτερπενικών λακτονών και φλαβονοειδών. Ένα από τα χαρακτηριστικά του γένους *Crepis* L. είναι η ικανότητά του να βιοσυνθέτει σεσκιτερπενικές λακτόνες, κυρίως γουαϊανολίδια. Τα προϊόντα του τύπου αυτού είναι σημαντικοί χημειοταξινομικοί δείκτες και συμβάλλουν στη συστηματική ταξινόμηση των ειδών.

A.1. Βοτανική περιγραφή - Βοτανική κατάταξη

A.1.1. Το tribe Cichorieae Lam. &DC. (synonym: Lactuceae Cassini)

Τα Asteraceae ή Compositae (Αστεροειδή ή Σύνθετα) είναι μια από τις μεγαλύτερες οικογένειες αγγειόσπερμων. Το tribe Cichorieae, ουσιαστικά, είναι ο πρώτος κλάδος που έχει αναγνωριστεί και ταξινομικά είναι το καλύτερα μελετημένο από όλη την οικογένεια των Compositae. Τα Cichorieae που είναι γνωστά και ως Lactuceae, κάποιες φορές αναφέρονται και ως Liguliflorae, αλλά έχει επικρατήσει το όνομα Cichorieae.

Είναι φυτά τα οποία αναγνωρίζονται εύκολα από τα κεφάλια, που συνήθως αποτελούνται από πεντάλοβα γλωσσοειδή ανθίδια. Δηλαδή σε αυτήν την οικογένεια τα πέταλα (5 συνήθως) έχουν συνενωθεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματίζουν ένα σωληνοειδές ή ένα γλωσσοειδές ανθίδιο. Αν κοιτάξουμε από κοντά τα ανθίδια αυτά, θα παρατηρήσουμε στην κορυφή τους 5 προεξοχές, που υποδηλώνουν ότι τα

αντίστοιχα πέταλα υπήρχαν πριν την συνένωση εξού και το όνομα της οικογένειας Σύνθετα. Τα καρπόφυλλα είναι παράπλευρα. Οι κορυφές των βραχιόνων των στύλων είναι οξείες και το τρίχωμα τους επίσης οξύ.

Επιπλέον χαρακτηριστικό του tribe είναι η έκκριση γαλακτώδους χυμού, γι' αυτό η παρουσία γαλακτοφόρων αγωγών σε βλαστούς, φύλλα και ρίζες είναι διαδεδομένη στα Cichorieae.

Οι γυρεόκοκκοι φέρουν άκανθες σε εντοπισμένα σημεία σε αντίθεση με τους γυρεόκοκκους των λοιπών γενών της οικογένειας Asteraceae, στους οποίους οι άκανθες είναι ομοιογενώς κατανεμημένες στην επιφάνεια του κόκκου. Ο πάππος συνήθως αποτελείται από λέπια ή σκληρές τρίχες. Σύμφωνα με τον Bremer (Kilian et al., 2009) το tribe αποτελείται από 100 γένη και 1500 είδη. Η συστηματική κατάταξη του tribe δεν έχει εδραιωθεί. Ορισμένα είδη του δεν έχουν ακόμα μελετηθεί φυτοχημικά, ένα από αυτά είναι το *Crepis incana* που μελετήθηκε στη παρούσα εργασία. Μέλη του tribe είναι εδώδιμα και χρησιμοποιούνται σε σαλάτες (π.χ. *Cichorium*, *Lactuca*, *Taraxacum*, *Cicerbita*, *Scorzonera*, *Tragopogon*), ενώ άλλα χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική (πχ. *Crepidiastrum*, *Ixeris*, *Lactuca*, *Pilosella*, *Taraxacum*, *Youngia*).

A.1.2. Δευτερογενείς μεταβολίτες των Cichorieae

Σε σύγκριση με άλλα tribe της οικογένειας Asteraceae, που έχει καταγραφεί η ύπαρξη μιας πληθώρας δευτερογενών μεταβολίτων με διάφορους τύπους ανθρακικών σκελετών τα Cichorieae είναι πλούσια σε σεκιτερπενικές λακτόνες, όπως ευδεσμανολίδια, γερμακρανολίδια και κυρίως γουαϊανολίδια, τα οποία είναι συχνά συνδεδεμένα με σάκχαρα ή φέρουν καρβοξυλικά οξέα (Zidorn, 2008).

Η σημασία αυτών των δευτερογενών μεταβολιτών έγκειται στη ποικιλία βιολογικών δράσεων που τους αποδίδεται, οι οποίες περιλαμβάνουν κυτταροτοξικότητα έναντι ορισμένων καρκινικών σειρών, αντιφλεγμονώδη δράση και επαγωγή αποτοξινωτικών ενζύμων. Το φυτοχημικό αυτό φορτίο θα μπορούσε να αποδώσει θεραπευτικά οφέλη στα βρώσιμα είδη του tribe Cichorieae.

Επίσης, από αντιπροσώπους του tribe έχουν απομονωθεί φαινολικά παραγωγα, φλαβονοειδή και κουμαρίνες, καθώς και τριτερπένια.

A.1.3. Κατανομή των σεσκιτερπενίων στα γένη του tribe Cichorieae

Για τη κατανομή των σεσκιτερπενικών λακτονών (ΣΛ) στα γένη του tribe Cichorieae παρατίθενται τα βιβλιογραφικά δεδομένα μέχρι το τέλος του 2007 (Zidorn 2006, Zidorn, 2008). Αναφέρονται 360 σεσκιτερπενικές λακτόνες και παράγωγα αυτών, οι οποίες απαντώνται σε 139 είδη, που ανήκουν στο tribe των Cichoreae.

Τα περισσότερα σεσκιτερπένια των Cichorieae, που έχουν μελετηθεί, είναι γουαϊανολίδια και συγκεκριμένα: 92 εκπρόσωποι ΣΛ τύπου *Costus*, 75 τύπου λακτουκίνης και 29 τύπου ιερακίνης.

Στη συνέχεια προχώρησε σε μια κατηγοριοποίηση των 31 μελετημένων γενών σε επτά κύριες ομάδες βάσει ομοιότητας στο φυτοχημικό προφίλ.

Ομάδα I: περιέχει τα γένη *Andryala* L., *Chondrilla* L., *Sorosaris* Stebbins, *Taekholmia* Boulos [= *Sonchus* L.], *Willemetia* Neck. ex Neck., *Crepis* L., *Nabalus* Cass, *Ixeris* (Cass.) Cass., *Mycelis* Cass. [= *Lactuca* L.], *Picris* L., *Youngia* Cass, *Scorzonera* L και *Lapsana* L. Η ομάδα χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των γουαϊανολιδίων και κυρίως των γουαϊανολιδίων τύπου *Costus*.

Ομάδα II: περιέχει τα γένη *Scorzoneroides* Vaill., *Notoseris* C. Shih, *Lactuca* L, *Cichorium* L, *Launaea* Cass., *Crepidiastrum* Nakai, *Reichardia* Roth, *Cicerbita* Wallr.[= *Lactuca* L.], *Taraxacum* F. H. Wigg., *Helminthotheca* Vaill, και *Hypochaeris* L. Η ομάδα μπορεί να υποδιαιρεθεί σε τέσσερις υπο-ομάδες:

- a) *Scorzoneroides*
- b) *Notoseris*, *Lactuca* και *Cichorium*
- c) *Launaea*, *Crepidiastrum*, *Reichardia* και *Cicerbita*
- d) *Taraxacum*, *Helminthotheca* και *Hypochaeris*.

Η ομάδα χαρακτηρίζεται από την επικράτηση των γουαϊανολιδίων και κυρίως των γουαϊανολιδίων τύπου λακτουκίνης.

Ομάδα III: περιέχει μόνο το γένος *Warionia* Benth. & Coss., διότι είναι το μόνο γένος, που βισυνθέτει εποξυγουαϊαν-12,5-ολίδια.

Ομάδα IV: περιέχει τα γένη *Dendrosaris* D.Don και *Sonchus* L. Τα δύο αυτά γένη χαρακτηρίζονται από ευδεσμανολίδια τύπου ρεϊνόςίνης.

Ομάδα V: περιέχει το γένος *Hieracium* L. Χαρακτηρίζεται από την κυριαρχία ΣΛ τύπου τουμπεριφερίνης και των μη λακτονοποιημένων πρόδρομων οξέων.

Ομάδα VI: περιέχει τα γένη *Hedypnois* Mill. και *Leontodon* L. Χαρακτηρίζονται από την παρουσία υποκρετενολιδίων.

Ομάδα VII: περιέχει το γένος *Urospermum* Scop., το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία μελαμπολιδίων.

A.1.4. Οικονομική σημασία των Cichorieae

Συγκριτικά με άλλες οικογένειες η χρήση των Cichorieae ως καλλιεργούμενα φυτά είναι μικρή στο σύνολο της. Από τη βιβλιογραφία βλέπουμε τη χρήση τους να περιορίζεται στα γένη *Chondrilla* L, *Cichorium* L, *Crepidiastrum* Nakai, *Gundelia* L, *Hololeion* Kitam., *Ixeridium* (A.Gray) Tzvelev, *Lactuca* L, *Launaea* Cass., *Pterocypsela* C. Shih (= *Lactuca* L), *Reichardia* Roth, *Scolymus* L, *Scorzonera* L, *Sonchus* L, *Taraxacum* F. H. Wigg. και *Tragopogon* L, τα οποία είναι γεωγραφικά περιορισμένα στον Παλαιό Κόσμο, ενώ στην πρώην Σοβιετική Ένωση αναφέρονται λιγότερα γένη, όπου καλλιεργούνται εκτενώς είδη των γενών *Cichorium*, *Lactuca* και *Scorzonera*. Τα υπόλοιπα είδη φαίνεται να έχουν οικονομική σημασία σε τοπικό επίπεδο, ωστόσο είναι δύσκολο να αποκτήσουμε μια καθαρή εικόνα της εμπορικής συνεπώς και οικονομικής σημασίας φυτών, που χρησιμοποιούνται κυρίως ως σαλάτες, ροφήματα και ζωοτροφές.

Τα Cichorieae καλλιεργούνται κυρίως για τα φύλλα ή τις ρίζες τους. Μέσω της φυσικής επιλογής έχουν προκύψει μερικές περιπτώσεις ειδών ή ποικιλιών με μαλακά πράσινα φύλλα φτωχά σε πικρές ουσίες, όπως το μαρούλι (*Lactuca sativa* L.), ή ποικιλίες που φέρουν χρωματιστά φύλλα επίσης φτωχά σε πικρές ουσίες, όπως η ποικιλία radicchio των ραδικιών (*Cichorium intybus* L.). Με στόχο τη βελτιστοποίηση των καλλιεργειών εφαρμόζονται τεχνικές για τη μείωση των πικρών συστατικών, συγκεκριμένα σε περιπτώσεις φυτών, όπου η ικανότητα βιοσύνθεσης πικρών ουσιών εξακολουθεί να υφίσταται, επιτυγχάνεται η καταστολή τους με τη διατήρηση των φυτών στο σκοτάδι κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των ανθέων τους. Η διαδικασία αυτή έχει ως αποτέλεσμα τα φυτά να έχουν πυκνές, λευκασμένες κεφαλές και φύλλα, όπως στο κιχώριο. Υπάρχουν και άλλες περιπτώσεις όπου μη λευκασμένα φύλλα τρώγονται ως μαγειρεμένα λαχανικά, π.χ το αντίδι (*Cichorium endivia* L.) ή να καταναλώνονται μόνο τα μαλακά εσωτερικά λευκασμένα φύλλα, π.χ., στην πικραλίδα (*Taraxacum officinale* Wigg. S.L.). Τα υπόγεια τμήματα διαφόρων ειδών είναι βρώσιμα, αλλά μόνο τα ισπανικά λαγόχορτα (*Scorzonera hispanica* L.) και τα λαγόχορτα (*Tragopogon porrifolius* L.) καλλιεργούνται για το σκοπό αυτό. Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί και η χρήση των γλυκών ριζών της *Scorzonera*

deliciosa Guss. Σε ζαχαρωτά κάτι που αναφέρεται ως αξιοπερίεργο (Jeffrey, 2001). Επιπλέον ιστορικά αναφέρεται η χρήση του κιχώριου ως υποκατάστατο των καβουρδισμένων κόκκων καφέ και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται μέχρι σήμερα ως υποκατάστατο του καφέ χωρίς καφεΐνη. Για τους ανθρώπους, τα μαρούλια και τα ραδίκια (*Lactuca sativa* L. και *Chicorium intybus* L.) αποτελούν σταθερά διατροφικά είδη. Με βάση τα επίπεδα της παγκόσμιας κατανάλωσης τους, η Κίνα είναι ο κύριος παραγωγός, παράγοντας συνολικά πάνω από \$ 4 δις. το 2007, ενώ η Ισπανία ήταν ο μεγαλύτερος ευρωπαϊός παραγωγός με κέρδη για \$ 370 εκ. το ίδιο έτος (Chadwick et al., 2013)

Η ιστορικής σημασίας καλλιέργεια των Cichorieae μπορεί να αναγνωριστεί μέσα από γεγονότα που έχουν καταγραφεί. Στην Σοβιετική Ένωση, υπό το καθεστώς του Στάλιν, στο οποίο η οικονομική αυτάρκεια ήταν επικρατούσα, ήταν ένα σημαντικό ζήτημα η καλλιέργεια των πολυετών ειδών *Chondrilla* L, *Scorzonera* L και *Taraxacum Kok-saghyz* ως πηγές γαλακτώδους χυμού για την παραγωγή ελαστικών. Αντίστοιχα, η ναζιστική Γερμανία υπό τον Χίτλερ αντιμετώπιζε παρόμοια προβλήματα, αλλά δεν διέθετε κανένα φυτό ως πιθανό υποψήφιο για την παραγωγή καουτσούκ. Όταν μέρη της Σοβιετικής Ένωσης είχαν καταληφθεί από τη ναζιστική Γερμανία, πολλές σοδειές *Taraxacum Kok-saghyz* κατασχέθηκαν και στη συνέχεια δοκιμάστηκε και αναπτύχθηκε από τους ερευνητές η παραγωγή ελαστικών (π.χ. Heim, 2003). Τα αποτελέσματα ήταν απογοητευτικά, οπότε η καλλιέργεια των Cichorieae ως πηγή για καουτσούκ έκτοτε έχει διακοπεί (Kilian et al., 2009).

Τα Cichorieae ως ζιζάνια προκαλούν προβλήματα, χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το *Chondrilla juncea* L., το οποίο εισήχθη στην Αυστραλία το 1900. Γρήγορα μόλυνε τεράστιες εκτάσεις των βοσκοτόπων και γεωργικών εκτάσεων, μείωσε τις αποδόσεις των καλλιεργειών και παρεμβαίνει σοβαρά στη συγκομιδή του σιταριού. Άλλα Cichorieae, π.χ., το *Sonchus asper* (L.), εισβάλλουν σε διάφορες θέσεις και μολύνουν τις τοποθεσίες σε μεγάλο βαθμό λόγω της άφθονης παραγωγής σπόρων και του ριζικού συστήματος, το οποίο αναπτύσσεται ακόμα και μετά από το κατακερματισμό του γεννώντας νέες, ανεξάρτητες μονάδες (Rauh, 1937). Το *Taraxacum officinale* Wigg φαίνεται να προκαλεί μικρότερη οικονομική ζημία από την αναμενόμενη. Αν και είναι ένα φυτό, που προκαλεί κάποια ανησυχία, η ζημία περιορίζεται σε εκείνους που αναζητούν ένα τέλειο γκαζόν (Huxley, 1992).

Το tribe Cichorieae περιλαμβάνει μερικά καλλωπιστικά φυτά κάποιας οικονομικής σημασίας. Λίγα γένη στη Βόρεια Αμερική, όπως *Agoseris* Raf., *Nabalus* Cass. και *Krigia* Schreb., έχουν χρησιμοποιηθεί ως καλλωπιστικά φυτά, αν και η αντισυμβατική μορφή τους δεν τα καθιστά ιδανικά φυτά. Συνήθως προτιμούνται συγκεκριμένα όπως:

- φυτά με κυανά ανθίδια, πχ. *Cichorium intybus* L.
- φυτά με με ιώδη ανθίδια, όπως *Crepis incana* Sm. Και *C. rubra* L.
- φυτά με έντονα πορτοκαλόχροα άνθη: *Crepis aurea* L. κ. ά.
- φυτά με ανθισμένες ταξιανθίες με διαφορετικά χρωματικά κέντρα, εδώ δεν συμπεριλαμβάνεται κάποιο είδος του γένους *Crepis* L.

Ο Brickell (1999) αναφέρει σχετικά με τη καλλιέργεια καλλωπιστικών φυτών του tribe Cichorieae σε εύκρατες περιοχές ότι μόνο έξι γένη καλλιεργούνται στα οποία συμπεριλαμβάνεται και το *Crepis* L.

A.1.5. Βοτανική περιγραφή του γένους *Crepis* L.

Ταξινομικά το γένος *Crepis* L. κατατάσσεται στο subtribe Crepidinae και συνιστά έναν από τους μεγαλύτερους κλάδους του. Αποτελείται από 250 περίπου είδη, που ενδημούν στις εύκρατες περιοχές του βόρειου ημισφαιρίου και στην τροπική Αφρική. Η καταγωγή του *Crepis* L. πιστεύεται ότι είναι η ορεινή περιοχή Altai/Tien Shan στην Κεντρική Ασία. Από εκεί το γένος εξαπλώθηκε βορειοανατολικά στη Βόρεια Αμερική, νοτιοδυτικά στη νότια Ευρώπη και βόρεια Αφρική και δυτικά κατά μήκος του νότιου άκρου των Ουρανίων ορέων στη βορειο-ανατολική Ευρώπη (Babcock, 1947). Σήμερα το γένος εμφανίζει την μεγαλύτερη ποικιλομορφία ειδών στην περιοχή της Μεσογείου.

Τα είδη του γένους *Crepis* L. εμφανίζονται σε διάφορους τύπους ενδιαιτημάτων, από αλπικές ζώνες, βάλτους και χαμηλά λιβάδια έως παραλιακά δάση.

Το μέγεθος κυμαίνεται από λίγα μόνο εκατοστά σε ύψος π.χ. *C. pygmaea* L. μέχρι σχεδόν δύο μέτρα στο *C. Sibirica* L. Στο γένος *Crepis* L. το κυρίαρχο χρώμα των ανθέων είναι το λαμπερό κίτρινο, όμως ορισμένα είδη εμφανίζουν άλλες αποχρώσεις, όπως το πορτοκαλόχροο στο *C. aurea* (L.) Cass. ή το υπόλευκο κίτρινο στο *C. albiflora* Babc. [= *C. dioritica* Schott & Kotschyex Boiss.], ενώ τα *C. Incarnata* Vis [= *C. rubra* L.] και *C. incana* Sm. έχουν ιώδη άνθη.

Κυρίως είναι μονοετείς, διετείς ή πολυετείς πόες με τα κατώτερα φύλλα συνήθως έμμισχα και τα ανώτερα επιφυή ή περίβλαστα. Κεφάλια με ποδίσκο μονήρη ή σε

φόβη με όλα τα ανθίδια γλωσσοειδή κίτρινα, πορτοκαλόχρωμα, ερυθρά περιβαλλόμενα από άνισα βράκτια στυλοειδώς επάλληλα. Τα αχαίνια είναι υποκυλινδρικά, ακρότομα ή ατρακτοειδή, στενούμενα προς την κορυφή σχηματίζοντας οξύ ράμφος. Ο πάππος αποτελείται από λευκές, σπανίως ξανθές τρίχες τεταγμένες σε πολλούς σπονδύλους.

Αν και τα περισσότερα είδη αναφέρονται ως ενοχλητικά ζιζάνια, κάποια χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα συνήθως ως σαλάτες με τα ονόματα: πικραλίδες, πικραλίθρες, πικροράδικα, φραγκοράδικα, γλυκοσειρίδες-τσιβίρια (*C. commutata* L.), πικροσειρίδες-χρες-κοκκινόραδικα-χοιρομουρίδες (*C. vesicaria* L.), μαρουλίδες (*C. fraasi* L.), μαργιές, πικρούσες, αγριομάρουλα (*C. auriculifolia* L.), περδικόχορτα (*C. bulbosa* L.). Συχνά συγχέονται με τα συγγενικά ιεράκια (*Hieracium* spp.) (Καββάδας, 1956).

A.1.6 Βοτανική περιγραφή του είδους *C. incana* Sm.

Regnum	Plantae
Divisio	Tracheophyta
Classis	Eudicots
Subdivisio	Spermatophytina
Superordo	Asteranae
Ordo	Asterales
Familia	Asteraceae (Compositae)
Tribus	Cichorieae (Lactucae)
Subtribus	Crepidinae
Genus	<i>Crepis</i> L.
Species	<i>C. incana</i> Sm



Εικ.1: *Crepis incana* Sm.

Είναι πολυετής πόα, ύψους 0.3-1.5 dm, τα φύλλα και οι βλαστοί καλύπτονται από λευκά τριχίδια αποδίδοντας και το όνομα κρεπίς η πολιά (λευκότριχη) (Καββάδας 1956). Οι ρίζες είναι ξυλώδεις επιμήκης επεκτείνονται περισσότερο από 1 cm σε πλάτος, με παχιά εμμένουσα βάση μεγέθους 1-4 cm επεκτεινόμενη πάνω από 2 cm. Η μορφή της είναι απλή η διακλαδισμένη, βαθύχρωμη καστανή με ρυτιδώδη όψη.

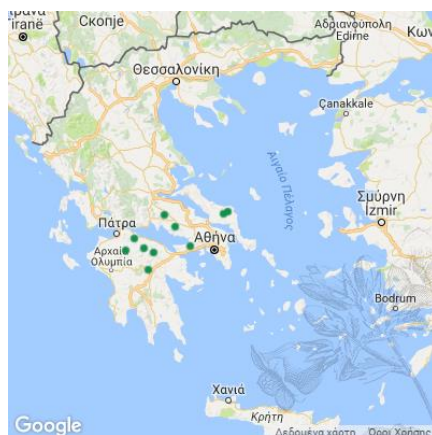
Φέρει φύλλα μήκους 3-13 cm και πλάτους 1.2 cm λεία ή χνουδωτά επιμήκη αντιλογχοειδή οδοντωτά και της βάσης είναι λογχοειδή, στενά προς τη βάση, πτεροσχιδή, με οδοντωτά πλάγια τμήματα (Εικ. 1, 2). Τα άνθη είναι συνήθως λίγα, με χρώμα ρόδινο ή ρόδινο-ιώδες, ιώδες, ενώ ο ανθικός σωλήνας ρόδινος ή κίτρινος.

Η εποχή ανθοφορίας είναι Μάιος– Ιούλιος.



Εικ.2: a. Ολόκληρο φυτό, b. Νεαρό κεφάλιο, c. Ωριμο κεφάλιο, d.Ανθοδόχη, e.Ανθίδιο χωρίς ωοθήκη f. Ανθικός σωλήνας, g. Λεπτομέρεια ανθικού σωλήνα, h-j. Αχαινία και πάππος, k. Σωματικά χρωμοσώματα (Babcock, 1947).

Η εξάπλωση του είδους περιορίζεται σε ορεινές περιοχές της Στερεάς Ελλάδας από τη περιοχή της Φωκίδας επεκτείνεται στην Εύβοια και εμφανίζεται ξανά στο βόρειο τμήμα της Πελοποννήσου (Εικ. 3). Αναπτύσσεται μεμονωμένα ανάμεσα σε βράχους και υποαλπικές περιοχές. Το συγγέουν με το *C. heldreichiana* Grueter λόγω των κοινών φαινοτύπων χαρακτηριστικών, όμως διαφέρουν στο αριθμό των σωματικών χρωμοσωμάτων και το χρώμα των ανθέων (Babcock, 1947).



Εικ.3: Περιοχή εξάπλωσης του είδους *C. Incana*

A.2. Δρογοετυμολογία

Ο όρος «crepis» θεωρείται ότι προέρχεται από την αρχαία ελληνική λέξη *κρηπίς*, που σημαίνει βάση οικοδομήματος και σαντάλι. Πιθανόν οι αρχαίοι Έλληνες να του έδωσαν αυτό το όνομα λαμβάνοντας υπόψιντα γραμμοειδή φύλλα, που περιβάλλουν τους ανθικούς οφθαλμούς, κατ' αναλογία προς τη διχάλα του σανδαλίου (Philips, 1824, Carnoy, 1959).

Στα αγγλικά το κοινό όνομα για το γένος είναι hawks-beard, στα γαλλικά *crépide*, στα γερμανικά *rippau* ή *grundfeste*, στα ιταλικά *Radichiella*, στα σουηδικά *Fibblor* και στα πολωνικά *Perawa*.

Στα αγγλικά το κοινό όνομα για το είδος *C. Incana* είναι pink dandelion (= ιώδες ταραξάκο), λόγω της ομοιότητας το ταραξάκο.

A3. Δρογοφαρμακολογία-Εθνοφαρμακολογία

Το γένος, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελείται από έναν σημαντικό αριθμό ειδών και απαριθμεί περίπου 250 μέλη. Λιγότερο από το 5% έχει μελετηθεί για τις φαρμακολογικές τους δράσεις ενώ το ενδιαφέρον περιορίζεται στις φυτοχημικές μελέτες των ειδών. Οι αναφορές των *Crepis* spp. ως παραδοσιακά φάρμακα είναι περιορισμένες. Αντιθέτως η διατροφική τους αξία μπορεί να αναγνωριστεί από τη διαδεδομένη χρήση τους ανά τον κόσμο ως διατροφικά προϊόντα.

Το *C. flexuosa* αναφέρεται ως παραδοσιακό φάρμακο κατά του ίκτερου στη Δ. Ινδία στη περιοχή των Ιμαλαΐων. Συγκεκριμένα αναμιγνύονται ισόποσες αναλογίες ύδατος και πολτοποιημένου φυτού με σκοπό τη χορήγηση από του στόματος έως το πέρας της ασθένειας (Singh & Brij, 2008).

Οι Sansarelli et al. (2014) αναφέρουντο *C. sancta* (L.) Bornm. ως λειτουργικό τρόφιμο με υπακτική και διουρητική δράση, ενώ στη Τουρκία χρησιμοποιείται ως τροφή για τα ζώα και αναφέρεται ως αγγειοδιασταλτικό σε παθήσεις των ματιών (Kilic & Bagci, 2013).

Στην Ισπανία, από το *C. vesicaria* L. παρασκευάζεται έγχυμα από τα υπέργεια τμήματα και τα άνθη του φυτού, στο οποίο αποδίδονται θεραπευτικές ιδιότητες έναντι στομαχικών διαταραχών, καθώς και σε προβλήματα της αρτηριακής κυκλοφορίας. Η εξωτερική εφαρμογή του παρασκευάσματος γίνεται μέσω πλύσεων, επιθεμάτων ή καταπλάσμάτων ως αναλγητικό σε μώλωπες και σε φλεγμονές.

Επιπλέον, έχει επουλωτικές και αντισηπτικές ιδιότητες. Στη βορειοδυτική επαρχία της Γρανάδα, μια ομάδα φυτών, που φέρουν κίτρινα άνθη και περιλαμβάνει τα *C. vesicaria* ssp. *haenseleri* (Boiss. Ex DC.) P.D. Sell [= *C. vesicaria* subsp. *taraxacifolia* (Thuill.) Thell.], *Centaurea granatensis* Boiss. ex DC. και *Inula montana* L. ονομάζονται “άρνικα” και χρησιμοποιούνται με τον ίδιο τρόπο με την πραγματική *Arnica montana* L., που είναι γνωστή για την αντιφλεγμονώδη δράση της και δεν απαντάται στην περιοχή αυτή (Gonzalez-Tejero et al., 1995).

Στην αφρικανική παραδοσιακή μαιευτική πρακτική αναφέρεται το είδος *C. carbonaria* Sch. Bip. ως φυτικό φάρμακο για την αύξηση των μυομητρικών συσπάσεων κατά τον τοκετό (Schröder, 1980).

Στο Καμερούν αναφέρεται η χρήση του *C. cameroonica* Babc. ex Hutch. & Dalziel για την αντιμετώπιση της διάρροιας, πλεγμών και μυκητιάσεων (Ndorm et al., 2006).

Σε *in vitro* μελέτες παρατηρήθηκε, επίσης, ότι το εκχύλισμα του *C. vesicaria* L. προστατεύει το DNA από βλάβες έπειτα από επίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα (Kapiszewska et al., 2005).

Οι Fleurentin et al. (1986) στηριζόμενοι στη παραδοσιακή θεραπευτική της Υεμένης για τη χρήση του *C. rueppellii* Sch.Bip. ως φάρμακο ηπατικών νοσημάτων, ίκτερου, ηπατίτιδας, χολολιθίασης έδειξαν ότι το αιθανολικό εκχύλισμα του είδους αυτού έχει ηπατοπροστατευτικές ιδιότητες μειώνοντας σημαντικά τη θνησιμότητα σε επίμυες, που εκτέθηκαν σε τοξικές δόσεις αιθανόλης. Επιπλέον, το ίδιο εκχύλισμα μείωσε τη δράση της GTP τρανσαμινάσης κατόπιν πρόκλησης ηπατίτιδας από τετραχλωράνθρακα (CCl₄).

Σε *in vivo* έλεγχο σε επιμύες, το είδος *C. napifera* (Franch.) Babc. δείχνει ότι αναστέλλει σημαντικά τις γαστρικές βλάβες και η δράση αυτή αποδίδεται στον γλυκοσίδη του ταραξινικού οξέος (Wu et al., 2002).

A.4. Δρογοχημεία

Στην παρούσα βιβλιογραφική μελέτη θα επικεντρώσουμε το ενδιαφέρον μας σε ορισμένες κατηγορίες χημικών ενώσεων, τις σесκιτερπενικές λακτόνες και τα φλαβονοειδή, που έχουν απομονωθεί από το γένος *Crepis* L.

Το σύνολο των βιβλιογραφικών δεδομένων παρουσιάζεται συνοπτικά στους πίνακες, που ακολουθούν.

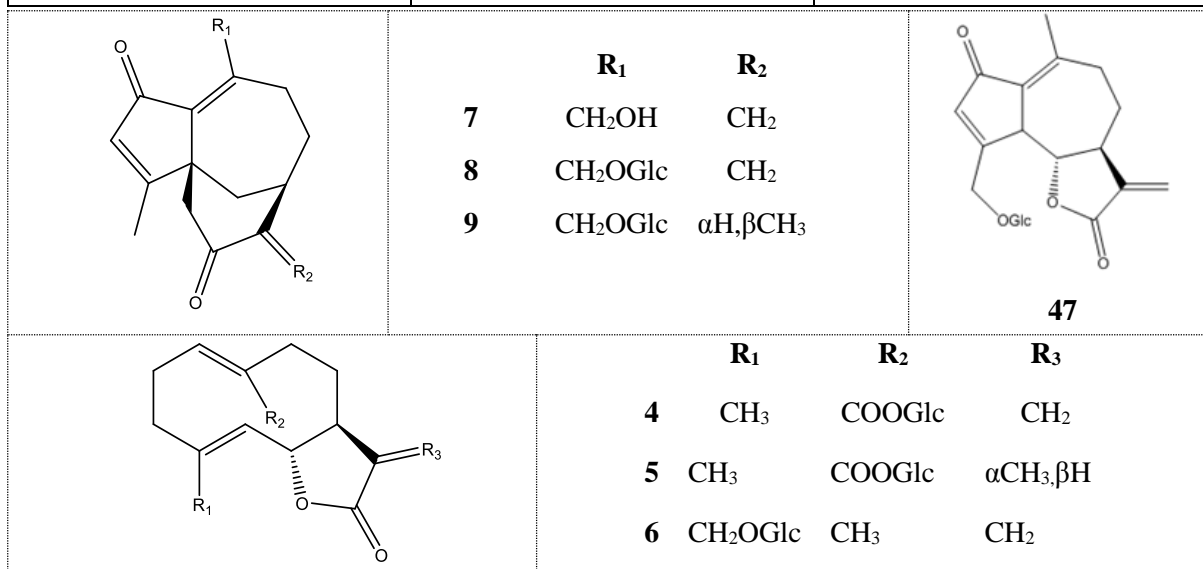
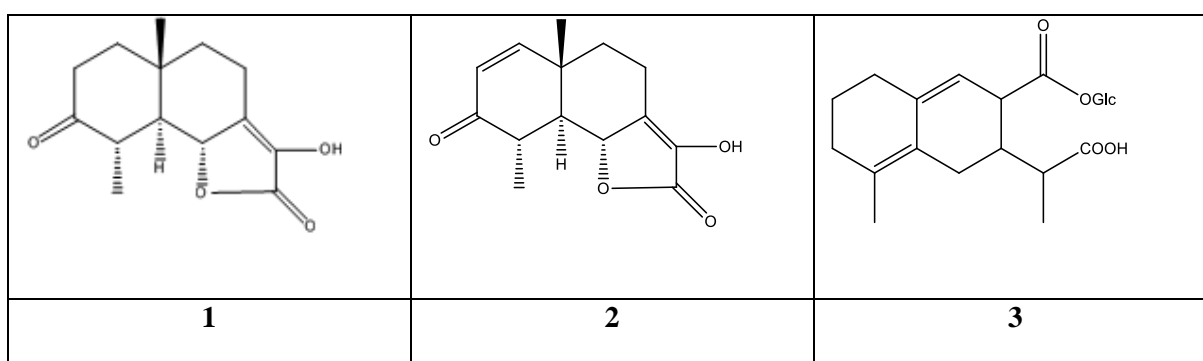
A4.I. Σεσκιτερπενικές λακτόνες

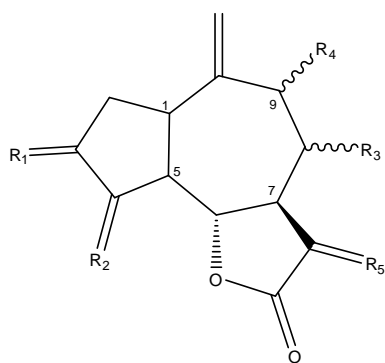
Οι ενώσεις 1-3 ανήκουν στα ευδεσμανολίδια και οι ενώσεις 4-6 στα γερμακρανολίδια. Οι ενώσεις 7-9 είναι υποκρετενολίδια. Η πλειονότητα των ουσιών 10-49 ανήκει στην κατηγορία των γουαϊανολιδίων.

Είδος	Σεσκιτερπενικές λακτόνες	Βιβλιογραφία
<i>C. aspera</i> L.	8-επι-ισολιπιδιόλη (37)	Ahmed et al., 2000
<i>C. aurea</i> (L.) Cass,	14-υδροξυ-υποκρετενολίδιο (7) (8), (9)	Kisiel, 1994
<i>C. biennis</i> Lapeyr.	Ιξερίνη F (15)	Kisiel et al., 1987
<i>C. cameroonica</i> Babc. ex Hutch. & Dalziel	Διασπανοσίδης A (16) 8-δεσακυλοκυναροπικρίνη (18) (39)	Ndom et al., 2006
<i>C. capillaris</i> (L.) Wallr.	Ιντεγκριφολίνη (20) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της ιντεγκριφολίνης (21) (22), (24) 8-επι-ισολιπιδιόλη (37) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (38) 8-επι-γροσεϊμίνη (49) 8-επι-ισοαμπερμβοϊνή (45)	Barbetti et al., 1979; Kisiel, 1983a,b
<i>C. conyzifolia</i> (Gouan) A.Kern.	(34) 8β-υδροξυ-4β,15-δωδροζαλουζανίνη C (35) 8-επι-ισολιπιδιόλη (37) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (38)	Kisiel & Michalska, 2001
<i>C. crocea</i> (Lam.) Babc.	Ιντεγκριφολίνη (20) 11βH-13-δωδροΙντεγκριφολίνη (27) 8-επι-ισοαμπερμβοϊνή (45)	Kisiel et al., 1994
<i>C. dioscoridis</i> L.	11β,13-δωδρο-κρεπισίδης C (31) κρεπισίδης C(43) 11β,13,4α, 15 – τετραϋδρο-Ιντεγκριφολίνη(44) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 11β,13-δωδρο- ιντεγκριφολίνης(28) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (38) Ιντεγκριφολίνη (20) 11βH-13-δωδροΙντεγκριφολίνη (27) 8-επι-γροσεϊμίνη (45) Κρεπιδιασίδης A (47)	Tsoukalas et al., 2014

<i>C. foetida</i> L.	11β,13-διδρο-γλυκοζαλουζανίνη C (12) (14) Ιξερίνη F (15) (33), (39)	Kisiel & Barszcz, 1999
<i>C. mollis</i> (Jacq.) Asch.	Πικρισίδης B (6) 11β,13-διδροζαλουζανίνη C (11) Ιξερίνη F (15) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της ιντεγκριφολίνης- (21) (22), (24), (27) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 11β,13-διδρο- ιντεγκριφολίνης(28) 8-επι-ισολιπιδιόλη (37) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (38) (46) 8-επι-γροσεϊμίνη (45)	Kisiel et al., 2000
<i>C. multicaulis</i> Ledeb.	Κρεπιδιασίδης A (47)	Fazylova et al., 2000
<i>C. napifera</i> (Franch.) Babc.	Ναπιφεροσίδης (3) 1'-Ο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης του παραξινικού οξέος (4) 1'-Ο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης του 11β,13-διδρο- παραξινικού οξέος (5)	Wu et al., 2002
<i>C. rapponica</i> (Jacq.) K.Koch	Παννονικοσίδης (50)	Michalska et al., 2015
<i>C. pulchra</i> L.	γλυκοζαλουζανίνη C (10) Μακροκλινισίδης A (13) Διασπανοσίδης A (17) 8-επι-ισοαμπερμποϊνή(45)	Kisiel & Gomek, 1994
<i>C. pygmaea</i> L.	1,2-4,5-τετραϋδρο-11νορ-11-υδροξυ-Δ ^{7,11} - σαντονίνη (1) 4,5-διδρο-11νορ-11-υδροξυ-Δ ^{7,11} -σαντονίνη (2)	Rossi et al., 1984
<i>C. pirenaica</i> (L.) Greuter	Μακροκλινισίδης A (13) Ιξερίνη F (15) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της ιντεγκριφολίνης (21) (22), (24), (35) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (37)	Kisiel & Barszcz, 1995
<i>C. rhoeadifolia</i> (= <i>C. foetida</i> L)	11β,13-διδρο-γλυκοζαλουζανίνη C (12) Ιξερίνη F (15) (32),(39)	Kisiel & Barszcz, 1996
<i>C. setosa</i> Haller f.	11β,13-διδρο-ζαλουζανίνη C (12) 9α-υδροξυ-11β-13διδροζαλουζανίνη C (14) Ιξερίνη F (15) (19)	Kisiel & Kohlmünzer, 1990
<i>C. sibirica</i> L.	γλυκοζαλουζανίνη C (10) 3β-D-γλυκοπυρανοσίδης της ιντεγκριφολίνης (21) 8-επι-ισοαμπερμποϊνή(45)	Kisiel, 1995

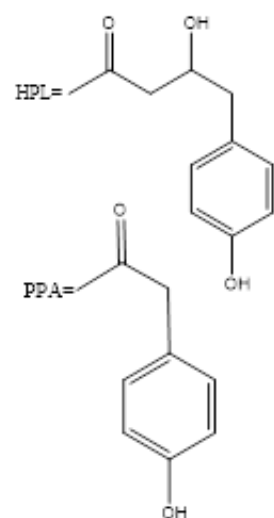
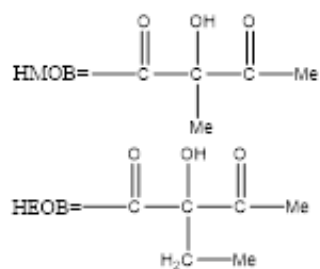
<i>C. tenctorum</i> L.	Ιντεγκριφολίνη (20) (22),(24) Τενκτοροσίδης (25) Ισολιπιδιόλη (33) 8-επι-ισολιπιδιόλη (37) 3β-D-γλυκοκυρανοσίδης της 8-επι-ισολιπιδιόλης (38)	Kisiel et al., 1989 Adekenov et al., 1991
<i>C. zacintha</i> (L.) Babc.	Πικρισίδης B (6) 11β,13-διυδροζαλουζανίνη C (12) Ιξερίνη F (15) 3β-D-γλυκοκυρανοσίδης της ιντεγκριφολίνης (21) Ιξερίνη M (23) 8β-υδροξυ-4β,15-διυδροζαλουζανίνη C (35) (38), (33), (36), (39), (41), (42)	Kisiel et al., 2002





	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
10	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	H	H	CH_2
11	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	H	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
12	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	H	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
13	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	H	αOH	CH_2
14	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	H	αOH	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
15	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	H	αOH	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
16	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	H	βOH	CH_2
17	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	H	βOH	CH_2
18	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	αOH	H	CH_2
19	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	αOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
20	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	βOH	H	CH_2
21	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	βOH	H	CH_2
22	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	$\beta\text{O-HEOB}$	H	CH_2
23	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	$\beta\text{O-HMB}$	H	CH_2
24	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	$\beta\text{O-HMOB}$	H	CH_2
25	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	$\beta\text{O-HPL}$	H	CH_2
26	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	$\beta\text{O-PPA}$	H	CH_2
27	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	CH_2	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
28	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
29	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	βOH	H	$\alpha\text{CH}_2\text{OH}, \beta\text{H}$
30	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$	H	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
31	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_3	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$

Glc= Γλυκόζη



32	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	H	αOH	CH_2
33	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	H	αOH	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
34	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	αOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
35	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	CH_2
36	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	CH_2
37	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
38	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
39	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	αH βCH_3	H	αOH	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
40	$\alpha\text{H}, \beta\text{OH}$	$\alpha\text{H},$ βCH_3	αOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
42	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	$\alpha\text{H},$ βCH_3	βOH	H	CH_2
42	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	$\alpha\text{H},$ βCH_3	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
43	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	H	βOH	H	CH_2
44	$\alpha\text{H}, \beta\text{OGlc}$	CH_2	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
45	O	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
46	O	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	H	αOH	$\alpha\text{CH}_3, \beta\text{H}$
48	O	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	αOH	H	CH_2
49	O	$\alpha\text{CH}_3,$ βH	βOH	H	CH_2

A.3.1 Φλαβονοειδή

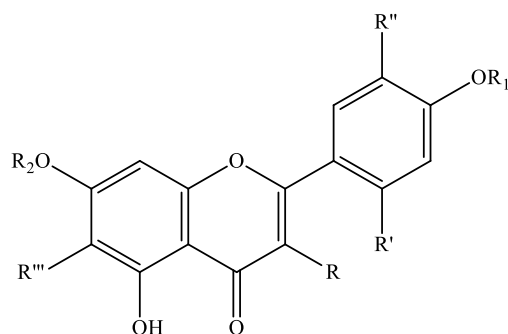
Συνολικά στα Cichorieae έχουν αναφερθεί 135 διαφορετικές ενώσεις. Περιλαμβάνουν φλαβανόνες (11 ενώσεις), φλαβανονόλες (2 ενώσεις), φλαβόνες (72 ενώσεις), φλαβονόλες (35 ενώσεις), ανθοκυανιδίνες (9 ενώσεις), ισοφλαβονοειδή (2 ενώσεις), χαλκόνες (3 ενώσεις) και μια αουρόνη. Μέχρι τώρα μόνο στα μισά περίπου από τα 100 αναγνωρισμένα γένη της φυλής Cichorieae έχει ερευνηθεί η εμφάνιση φλαβονοειδών.

Αντίθετα από τη πληθώρα φλαβονοειδών που εμφανίζονται στο tribe Cichorieae, στο γένος *Crepis* L. εμφανίζονται μόλις 11 φλαβονοειδή.

Το σύνολο των βιβλιογραφικών δεδομένων για τα φλαβονοειδή, που έχουν απομονωθεί από το γένος *Crepis* L. παρουσιάζεται συνοπτικά στον πίνακα που ακολουθεί (Zidorn & Sareedenchai, 2010).

Είδος	Φλαβονοειδή	Βιβλιογραφία
<i>C. aurea</i> (L.) Cass	Luteolin Luteolin-7- Oglugoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn e tal., 2008
<i>C.alpestris</i> (Jacq.) Tausch	Luteolin Luteolin-7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide Luteolin-7-O-gentiobioside Luteolin- 4'-O-glucoside	Zidorn et al., 2008
<i>C. biennis</i> L.	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide Luteolin-7-O-gentiobioside	Zidorn et al., 2008
<i>C. capillaris</i> (L.) Wallr	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin -7-O-glucuronide Luteolin -4'-O-glucoside	Zidorn et al., 2005a
<i>C.conyzifolia</i> (Gouan) A.Kern.	Luteolin Luteolin- 4'-O-glucoside Luteolin-7-O-glucoside Luteolin-7-O-glucuronide	Zidorn et al., 2008
<i>C. dioscoridis</i> L.	Apigemin-4'-O-glucoside Isorhamnetin	Tsoukalas et al., 2014
<i>C. divaricata</i> Boss. & Heldr. and <i>C. pygmaea</i> L.	Quercetin Luteolin	Rees and Harborne, 1984
<i>C. foetida</i> L.	Luteolin Luteolin-7-O-glucoside Luteolin-7-O-gentiobioside	Zidorn et al., 2008
<i>C. froelichiana</i> DC	Luteolin Luteolin- 4'-O-glucoside Luteolin-7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn et al., 2008

<i>C. jacquinii</i> Tausch	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside	Zidorn et al., 2008
<i>C. micrantha</i> Czerep	Apigenin Luteolin	Kassem, 2007
<i>C. mollis</i> (Jacq.) Asch.	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide Luteolin-7-O-gentiobioside	Zidorn et al., 2008
<i>C. nemausensis</i> Gouan	Luteolin Luteolin- 4'-O-glucoside Luteolin-7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn et al.,2008
<i>C. paludosa</i> (L.) Moench	Luteolin Luteolin- 4'-O-glucoside Luteolin-7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn et al., 2008
<i>C. pygmaea</i> L	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide Luteolin-7-O-gentiobioside	Zidorn et al., 2008
<i>C. rhaetica</i> Hegetschw.	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn et al., 2008
<i>C. senecioides</i> Delile and <i>C. tectorum</i> L	Isoetin Scutellarein	Harborne, 1978
<i>C. terglouensis</i> Hacq.	Luteolin Luteolin -7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide Luteolin-7-O-gentiobioside	Zidorn et al., 2008
<i>C. tingitana</i> Ball	Luteolin Luteolin- 4'-O-glucoside Luteolin-7-O-glucoside Luteolin- 7-O-glucuronide	Zidorn et al., 2008
<i>C. versicaria</i> L	Luteolin Luteolin 7-O-glucoside Luteolin 7-O-glucuronide	Mañez et al.,1994



	R	R'	R''	R'''	R₁	R₂
Apigenin	H	H	H	H	H	H
Apigenin-4'-O-glucoside	H	H	H	H	glu	H
Scutellarein	H	H	H	OH	H	H
Luteolin	H	H	OH	H	H	H
Luteolin-7-O-glucoside	H	H	OH	H	H	glu
Luteolin-7-O-glucuronide	H	H	OH	H	H	gluc
Luteolin-7-O-gentiobioside	H	H	OH	H	H	gen
Luteolin-4'-O-glucoside	H	H	OH	H	glu	H
Isoetin	H	OH	OH	H	H	H
Quercetin	OH	H	OH	H	H	H
Isorhamnetin	OH	H	OCH ₃	H	H	H

A.5. Σεσκιτερπενικές λακτόνες (Σκαλτσά, 2016).

Οι σεσκιτερπενικές λακτόνες (ΣΛ) είναι παράγωγα πολυμερισμού τριών ισοπρενικών μονάδων $[CH_2=C(CH_3)CH=CH_2]$, ενωμένων μεταξύ τους κατά κεφαλή με ουρά (headtotail). Χημικά ανήκουν στα τερπενοειδή ή ισοπρενοειδή. Ως κοινό δομικό χαρακτηριστικό φέρουν επιπλέον στο μόριό τους έναν γ-βουτυρολακτονικό δακτύλιο. Ταξινομούνται σε διάφορες ομάδες, ανάλογα με τον καρβοκυκλικό σκελετό. Η κατάληξη - ολίδιο αναφέρεται στην παρουσία του γ-λακτονικού δακτυλίου στον σεσκιτερπενικό σκελετό βάσει μη επίσημης ονοματολογίας (το εμπειρικό όνομα σχετίζεται με τη βοτανική προέλευση). Η χαρακτηριστική ομάδα της λακτόνης συνήθως σχηματίζεται με ένωση ανάμεσα στους άνθρακες C-6 και C-12, αν και υπάρχουν επίσης προϊόντα στα οποία η ένωση λαμβάνει χώρα ανάμεσα στους άνθρακες C-8 και C-12. Οι ΣΛ έχουν έναν εξωμεθυλενικό διπλό δεσμό στον C-11 και αυτή η κατηγορία των σεσκιτερπενικώνλακτονών είναι γνωστή με το όνομα: α-μεθυλενο-γ-λακτόνες. Όταν ο διπλός δεσμός έχει αναχθεί, τότε ονομάζονται α-μεθυλο-γ-λακτόνες. Στην παρουσία της α-μεθυλενο-γ-λακτόνη αποδίδονται κυρίως οι

βιολογικές δράσεις των ΣΛ, λόγω της ικανότητάς της να αντιδρά εκλεκτικά με πυρηνόφιλες ομάδες με αντίδραση είναι τύπου Michael. Δρα ως αλκυλιωτικό κέντρο σε παράγοντες μεταγραφής και ένζυμα στο ανθρώπινο σώμα προκαλώντας στερεοχημικές και χημικές αλλαγές στο στόχο επηρεάζοντας την λειτουργία του. Αυτός ο δακτύλιος είναι υπεύθυνος και συχνά θεωρείται απαραίτητος για τις βιολογικές δράσεις των ΣΛ, ενώ οι υπόλοιπες λειτουργικές ομάδες απλώς τροποποιούν την ισχύ του δακτυλίου. Η *cis* ή *trans* διάταξη του λακτονικού δακτυλίου δεν έχει φανεί να παίζει καθοριστικό ρόλο στην δράση. Περιέχουν επίσης ένα πλήθος άλλων χαρακτηριστικών ομάδων, όπως διπλούς δεσμούς, αλκοολικές ομάδες, αιθερομάδες, κετονομάδες, εστερομάδες, καθώς και ετεροάτομα όπως Cl και N. Συχνά τα αλκοολικά υδροξύλια είναι εστεροποιημένα, κυρίως όταν βρίσκονται στις θέσεις 6 και 8, ενώ τα βινυλικά μεθύλια είναι δυνατόν να σχηματίσουν εποξειδία, αλδεΐδες, αλκοόλες, καρβοξυλικά οξέα. Οι ΣΛ είναι ουσίες άχρωμες, συνήθως ελαιώδεις, άπολες ή αμφίφιλες. Ανευρίσκονται κυρίως στα υπέργεια τμήματα των φυτών, πρωτίστως στα φύλλα, στα άνθη, στις αδενώδεις τρίχες, σπανίως δε στις ρίζες και στη γύρη των ανθέων. Η περιεκτικότητά τους κυμαίνεται από 0.001- 5% του βάρους της ξηρής δρόγης. Περίπου το 95% των σεσκιτερπενικώνλακτονών έχουν απομονωθεί από την οικογένεια Asteraceae.

Ένα από τα πιο εύκολα αναγνωρίσιμα στοιχεία των ΣΛ είναι η πικρή γεύση που προσδίδουν στα τρόφιμα, βασικό χαρακτηριστικό αυτής της κατηγορίας ουσιών. Όμως σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να αποβεί επιζήμιο, ιδιαίτερα στις καλλιέργειες. Η πικρή γεύση των ΣΛ είναι ένα μείζον ζήτημα, το οποίο έχει μελετηθεί ήδη από το 1948, όταν έγινε η πρώτη προσπάθεια να αξιολογηθεί η αισθητήρια οδός, που ενεργοποιείται από τις ΣΛ του *Cichorium intybus*, το οποίο έχει ως κυριώτερες Σ.Λ. την λακτουκίνη, την λακτουπτικρίνη και την 8-δεοξυλακτουπικρίνη (Van Beek, 1948). Η γεύση των ΣΛ σχετίζεται με την οικογένεια hTAS2R υποδοχέων. Επί του παρόντος, ο hTAS2R45 έως και hTAS2R50 είναι γνωστό ότι αντιλαμβάνονται τις ΣΛ χωρίς όμως η αισθητήρια οδός, που ακολουθείται, να περιορίζεται μόνο σε αυτούς. Η λειτουργία αυτών των υποδοχέων G πρωτεΐνης (GPCRs) δεν είναι πλήρως κατανοητή, αν και πιστεύεται ότι υπάρχει μια απλή θέση σύνδεσης στο C-τερματικό άκρο της πρωτεΐνης, το οποίο είναι ικανό να ανταποκρίνεται σε ένα ευρύ φάσμα ερεθισμάτων. Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι ο α-μεθυλενο-γ-λακτονικός δακτύλιος δεν συμμετέχει σε αυτή την αντίδραση, αλλά ενισχύει την ένταση της

πικρής αίσθησης. Λόγω της τοξικότητας πολλών ΣΛ, οι οποίες είναι συνήθως πικρές, γίνεται δεκτό ότι η πικρή ανταπόκριση έχει αναπτυχθεί για να λειτουργήσει ως ένας τρόπος αποφυγής της κατανάλωσης δυνητικά επιβλαβών ενώσεων. Πολλά σεσκιτερπενοειδή έχουν έντονη πικρή γεύση και συνεπώς πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην άμυνα των φυτών κατά των φυτοφάγων ζώων. Ωστόσο, μια μελέτη σχετικά με τις ΣΛ υποδηλώνει ότι δεν υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ πικρότητας και κυτταροτοξικότητας, γεγονός που ενισχύει την προαναφερθείσα θεωρία (Chadwick et al., 2013). Ο Cravotto et al. (2005) μελέτησαν τη σχέση της δομής των ΣΛ με τη πικρή γεύση που εμφανίζουν, π.χ. η γροσειμίνη, η κυναροπικριδίνη, καθώς και παράγωγα αυτών και κατέληξαν στα εξής συμπεράσματα: η πικρή γεύση εξαρτάται από τη παρουσία οξυγονωμένων πολικών ομάδων, η παρουσία εξωμεθυλένιων αυξάνει τη ένταση της πικρής γεύσης, ενώ το άνοιγμα του δακτυλίου της λακτόνης προκαλεί την μείωση της πικρότητας (Cravotto et al., 2005).

B.3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ

B.1. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας [TLC, Thin Layer Chromatography]

- Γέλη οξειδίου του πυριτίου με δείκτη φθορισμού, σε φύλλα αλουμινίου 20 x 20 cm. Πάχος στιβάδας 0.1 mm (Kieselgel F254, Merck, Art. 5554) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως με δείκτη φθορισμού, γυάλινες 5 x 10 cm (HPTLC Silica gel 60 RP-18, Merck, Art. 15685) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γέλη οξειδίου του πυριτίου χωρίς δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 20 x 20 cm. Πάχος στιβάδας 0.25 mm (Merck, Art. 5715) (παρασκευαστική χρωματογραφία).
- Κελλουλόση χωρίς δείκτη φθορισμού σε φύλλα αλουμινίου 20 x 20 cm. Πάχος στιβάδος 0.1 mm (Merck, Art. 5552) (αναλυτική χρωματογραφία).

Χρωματογραφία στήλης[CC, ColumnChromatography]

- Γέλη οξειδίου του πυριτίου 60, 230-400 mesh ASTM, για χρωματογραφία στήλης (SDS 2050044).
- Γέλη υδροξυπροπυλωμένης δεξτράνης Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals). Το μέγεθος των κόκκων ήταν 25-100 μ. Πριν από τη χρήση αφέθηκε να διογκωθεί με το διαλύτη έκλουσης για 24 ώρες. Ακολούθως, έγινε έκπλυση στη στήλη με τον ίδιο διαλύτη πέντε φορές (αντενδείκνυται η μηχανική και κυρίως η μαγνητική ανάδευση, διότι καταστρέφονται οι κόκκοι).
- Κυτταρίνη, Avicel (Merck, Art. 2330).

Χρωματογραφία στήλης υπό κενό [VLC, Vacuum Liquid Chromatography] (Coll and Bowden, 1986)

Γέλη οξειδίου του πυριτίου 60, 230-400 mesh ASTM, για χρωματογραφία στήλης (SDS 2050044). Λόγω του εξαιρετικά μικρού μεγέθους των κόκκων, ο ρυθμός έκλουσης είναι βραδύς και αντιμετωπίστηκε με εφαρμογή κενού.

Υγρή Χρωματογραφία Μέσης Απόδοσης (MPLC)

Χρησιμοποιήθηκε σύστημα Büchi C-615 & αντλία Büchi 688.

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

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC, Hostettmann et al, 1998).

Χρησιμοποιήθηκε χρωματογράφος RID Detector Shimadzu 10A (Ανιχνευτής διαθλασιμέτρου) με αντλία JascoPU-2080 Plus Isocratic. Στήλη αντιστρόφου φάσης (reversedphase): Kromasil C18 Semi-prep (250 x10 mm). Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν μίγματα μεθανόλης: νερού. Ταχύτητα ροής: 1.2-1.5 ml/min. Περιεκτικότητα των προς μελέτη κλασμάτων: 7.0mg/ml.

Χρωματογραφικά αντιδραστήρια

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

- Αντιδραστήριο βανιλίνης (Stahl, 1969):

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

Διάλυμα Β: π. H₂SO₄ 5% σε μεθανόλη

Ίσοι όγκοι αναμιγνύονται αμέσως πριν τον ψεκασμό και το χρωματογράφημα θερμαίνεται για 5 min στους 105 °C.

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

B. 2. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Φασματοσκοπία Υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)

Τα φάσματα υπεριώδους-ορατού ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV-160 A (Mabry et al., 1970).

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Τα φάσματα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) ελήφθησαν σε Φασματογράφος Bruker DRX 400 (399.95 MHz για $^1\text{H-NMR}$) με τους ακόλουθους διαλύτες:

- CDCl_3 δίχως εσωτερικό πρότυπο, λαμβάνοντας το σήμα του διαλύτη ως αναφορά (7.24 ppm για $^1\text{H-NMR}$ και 77.0 ppm για $^{13}\text{C-NMR}$) και
- CD_3OD δίχως εσωτερικό πρότυπο, λαμβάνοντας το σήμα του διαλύτη ως αναφορά (3.31 ppm για $^1\text{H-NMR}$ και 49.0 ppm για $^{13}\text{C-NMR}$).

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

- i. COSY (Correlation Spectroscopy).
- ii. HSQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation).
- iii. HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).
- iv. ROESY (Rotating-frame Overhauser Spectroscopy).
- v. NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy).

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

Πολωσίμετρο Perkin-Elmer Polarimeter 341. Κυβελίδα 1 ml, μήκους 10 cm. Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των ουσιών σε CH_3OH ή CHCl_3 (g/100ml).

Διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν

Η χρήση των διαλυτών έγινε κατόπιν αποστάξεως. Πριν χρησιμοποιηθούν οι διαλύτες στην HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν. Κατά την μελέτη αυτή, τα λαμβανόμενα εκχυλίσματα, καθώς και τα κλάσματα από τις χρωματογραφίες στήλης και HPLC, εξατμίζοντο σε χαμηλή θερμοκρασία (συνήθως 40 °C) σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό. Όλα τα υπολείμματα, καθώς και οι ουσίες, που απομονώθηκαν διατηρήθηκαν σε ξηραντήρα υπό κενό, που περιείχε γέλη πυριτικού οξέος με δείκτη υγρασίας, καθώς και πεντοξείδιο του φωσφόρου (P_2O_5 , Merck, Art. 540).

B.3. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΟΓΗΣ *Crepis incana* Sm.

Φυτικό υλικό: Το φυτό συλλέχθηκε τον Ιούνιο του 2012 στην Ν. Εύβοια. Χρησιμοποιήθηκαν 0.48 kg υπέργειων τμημάτων ξηρού φυτού, αδρομερώς τετμημένων και 0.11 kg υπόγειων τμημάτων (ρίζα).

Εκχύλιση:

Υπέργεια τμήματα (0.48 kg)

Η δρόγη εκχυλίσθηκε σε θερμοκρασία δωματίου με το μίγμα των διαλυτών: κυκλοεξάνιο-αιθέρα-μεθανόλη (1:1:1) και στη συνέχεια εκχυλίστηκε με μίγμα μεθανόλη: νερό (5:1).

Το πρώτο εκχύλισμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού, αναδιαλύθηκε σε 300 ml του ίδιου μίγματος διαλυτών, όπου προστέθηκε ίσος όγκος κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaCl και στην συνέχεια η υδατική στιβάδα εκχυλίσθηκε με EtOAc.

Η οργανική φάση συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού και προέκυψε υπόλειμμα βάρους 1.60g (CAN) περιείχε τις προς μελέτη ουσίες, οπότε υποβλήθηκε σε περαιτέρω κατεργασία.

Από την εκχύλιση της δρόγης με το μίγμα διαλυτών μεθανόλη:νερό (5:1) παραλήφθηκε υπόλειμμα, βάρους 40.1g (RIN).

Υπόγεια τμήματα (0.11 kg).

Η δρόγη εκχυλίσθηκε σε θερμοκρασία δωματίου με το μίγμα των διαλυτών: κυκλοεξάνιο-αιθέρα-μεθανόλη (1:1:1) και υποβλήθηκε σε περαιτέρω κατεργασία.

Το πρώτο εκχύλισμα συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού αναδιαλύθηκε σε 300 ml του ίδιου μίγματος διαλυτών, όπου προστέθηκε ίσος όγκος κορεσμένου υδατικού διαλύματος NaCl και στην συνέχεια η υδατική στιβάδα εκχυλίσθηκε με EtOAc.

Η οργανική φάση (RIN_R) περιείχε τις προς μελέτη ουσίες, οπότε υποβλήθηκε σε περαιτέρω κατεργασία

B.4. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ

ΥΠΕΡΓΕΙΑ ΤΜΗΜΑΤΑ

ΑΠΟΛΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ

Το υπόλειμμα του EtOAc (1.60 g) υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (V.L.C., 8.0 cm x 10.0 cm) επί γέλης οξειδίου του πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας: κυκλοεξάνιο, οξικό αιθυλεστέρα, ακετόνη και μεθανόλη.

Για τον έλεγχο και ομαδοποίηση των εκλούμενων κλασμάτων χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου, χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θευική βανιλίνη. Η περαιτέρω μελέτη κάθε κλάσματος ή ομάδας βασίστηκε στα αποτελέσματα της φασματοσκοπίας ¹H-NMR.

Ελήφθησαν δέκα κλάσματα.

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	V (ml)	Βάρος (mg)
CAN_A	Cy-hex 100%	300	22.2
CAN_B	κυκλοεξάνιο:EtOAc 75:25	300	10.9
CAN_C	κυκλοεξάνιο:EtOAc 85:25	300	104.3
CAN_D	κυκλοεξάνιο:EtOAc 90:10	300	71.3
CAN_E	EtOAc 100%	300	16.6
CAN_F	EtOAc:Me ₂ CO 90:10	300	22.0
CAN_G	EtOAc:Me ₂ CO 75:25	300	18.6
CAN_H	Me ₂ CO 100%	300	51
CAN_I	Me ₂ CO:MeOH 50:50	300	835.1
CAN_J	MeOH	600	418.0

Το πρώτο, δεύτερο και τρίτο κλάσμα: CAN_A, CAN_B, CAN_C δεν αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης, διότι τα φάσματα ¹H-NMR δεν έδειξαν την παρουσία σесκιτερπενικών λακτονών ή флаβονοειδών.

Το τέταρτο, πέμπτο, έκτο, έβδομο, όγδοο, ένατο κλάσμα: CAN_D, CAN_E, CAN_F, CAN_G, CAN_H, CAN_I αποτέλεσαν αντικείμενο αναλυτικής μελέτης και απομονώθηκαν 6 ουσίες. Λόγω ομοιότητας του φάσματος ¹H-NMR και του αναπτύγματος της χρωματογραφίας TLC, τα κλάσματα CAN_E και CAN_F συνενώθηκαν στο κλάσμα CAN_E'.

- **Κλάσμα CAN_D**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με διαλύτη έκλουσης MeOH:H₂O 2:1. Απομονώθηκαν και ταχτοποιήθηκαν 2 ουσίες η ουσία **5** (ταραξινικό οξύ) και η ουσία **6** (λολιολίδιο)

- **Κλάσμα CAN_E'**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με διαλύτη έκλουσης MeOH:H₂O 2:1. Απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε η ουσία **1** (γροσειμίνη)

- **Κλάσμα CAN_G**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με διαλύτη έκλουσης MeOH:H₂O 3:1. Δεν ταυτοποιήθηκε κάποια ουσία.

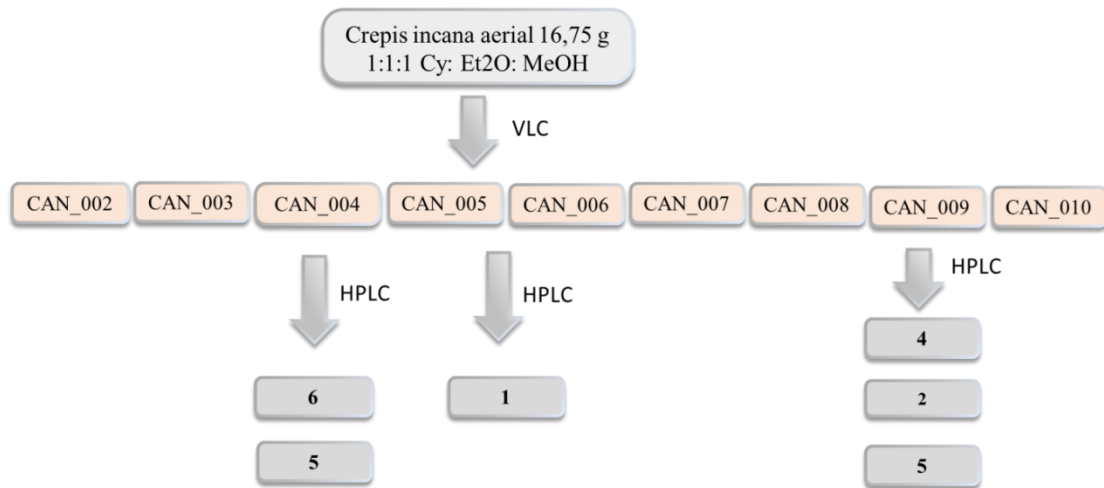
- **Κλάσμα CAN_H**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με διαλύτη έκλουσης MeOH:H₂O 2:1. Δεν ταυτοποιήθηκε κάποια ουσία.

- **Κλάσμα CAN_I**

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) με διαλύτη έκλουσης MeOH:H₂O 1:1. Απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι ουσίες **2** (κρεπισίδης E), **3** (κρεπισίδης D) και **4** (β-D-γλυκοπυρανοσιδικός εστέρας του ταραξινικού οξέος).

**ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΑΠΟΛΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΥΠΕΡΓΕΙΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ [CAN]**



ΠΟΛΙΚΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ

RIN (40.1 g)

Μέρος του εκχυλίσματος (9.0 g) μεθανόλης:νερού 5:1 υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (V.L.C., 6.5 cm x 10.0 cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας: κυκλοεξάνιο, οξικό αιθυλεστέρα, μεθανόλη και νερό όπως αυτά περιγράφονται στον κατωτέρω πίνακα.

Για τον έλεγχο και ομαδοποίηση των εκλούμενων κλασμάτων χρησιμοποιήθηκε η αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου, χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θεική βανιλίνη, καθώς και χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης με το αντιδραστήριο εμφάνισης Neu.

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	V (ml)	Βάρος (g)
RIN_A	Cy-he 100%	500	0.15
RIN_B	EtOAc100%	500	0.56
RIN_C	EtOAc/MeOH/H ₂ O 9:1:0.1	500	0.44
RIN_D	EtOAc / MeOH/H ₂ O 8:2:0.2	500	0.70
RIN_E	EtOAc / MeOH/H ₂ O 7:3:0.3	500	1.47
RIN_F	EtOAc / MeOH/H ₂ O 6:4:0.4	500	2.11
RIN_G	EtOAc / MeOH/H ₂ O 5:5:0.5	500	1.42
RIN-H	EtoAc/MeOH/H ₂ O 2:8:0.8	500	0.81
RIN_I	MeOH 100%	500	0.87
RIN_J	MeOH/ H ₂ O 50:50	1000	1.92

Το τρίτο και έβδομο κλάσμα: RIN_C και RIN_G αποτέλεσαν αντικείμενο αναλυτικής μελέτης διότι έδειξαν την παρουσία φλαβονοειδών

Κλάσμα RIN_C (440 mg)

Το κλάσμα υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης μοριακής διήθησης Sephadex LH-20 (20 cm x 2.5cm) με ισοκρατική έκλουση με MeOH 100 %. Ελήφθησαν 22 κλάσματαμέσου όγκου 10.0 ml., τα οποία συνενώθηκαν στις ομάδες, που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	Βάρος (mg)
RIN_CA (1→5)	MeOH 100 %	293.9
RIN_CB (6→8)	MeOH 100 %	80.0
RIN_CC (9→10)	MeOH 100 %	30.0
RIN_CD (11→12)	MeOH 100 %	220.0
RIN_CE (13→14)	MeOH 100 %	2.0
RIN_C15	MeOH 100 %	2.0
RIN_CF(16→22)	MeOH 100 %	13.6

Το κλάσμα RIN_C15 ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **10** (λουτεολινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης)

Κλάσμα RIN_CA (293.9 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (11.5 cm x 2 cm) επί γέλης οξειδίου του πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών EtOAc:MeOH:H₂O αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν 26 κλάσματα, μέσου όγκου 10.0 ml, τα οποία κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θειική βανιλίνη καθώς και επί κυτταρίνης με αντιδραστήριο εμφάνισης Neu, συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	Βάρος (mg)
RIN_CAA (1→4)	CyHex 100%	1.20
RIN_CAB (5→7)	EtOAc:MeOH:H ₂ O95:5:0.5	110.50
RIN_CAC (8→11)	EtOAc:MeOH:H ₂ O95:5:0.5	15.86
RIN_CAD(12→14)	EtOAc:MeOH:H ₂ O95:5:0.5	31.70
RIN_CAE(15→18)	EtOAc:MeOH:H ₂ O95:5:0.5	16.40
RIN_CAF (19→22)	EtOAc:MeOH:H ₂ O85:15/1.5	31.70
RIN_CAG (23→26)	MeOH100%	15.00

Δεν απομονώθηκε κάποια καθαρή ουσία

Κλάσμα RIN_CD (240.0 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί κυτταρίνης (12 cm x 3.1 cm) με υγρό έκλουσης AcOH 30%. Ελήφθησαν 53 κλάσματα, μέσου όγκου 10.0 ml, τα οποία κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θευική βανιλίνη, συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	Βάρος (mg)
RIN_CDA (1→6)	AcOH 30%	10.0
RIN_CDB (7→10)	AcOH 30%	2.4
RIN_CDC (11→13)	AcOH 30%	10.0
RIN_CDD (14→15)	AcOH 30%	30.0
RIN_CD16	AcOH 30%	1.2
RIN_CDE (17→19)	AcOH 30%	10.0
RIN_CDF (20→24)	AcOH 30%	10.0
RIN_CDG (25→29)	AcOH 30%	2.0
RIN_CDH (30→32)	AcOH 30%	2.0
RIN_CD 33	AcOH 30%	2.0
RIN_CDI (34→42)	AcOH 30%	12.0
RIN_CDJ (43→53)	AcOH 30%	15.0

Τα κλάσματα RIN_CD16 και RIN_CD33 ταυτοποιήθηκαν ως οι ουσίες **9** (λουτεολίνη) και **11** (κερκετινο-3-O-β-D-γλυκοσίδης= ισοκερκιτρίνη), αντιστοίχως.

Κλάσμα RIN_G (1.42 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης κυτταρίνης (12 cm x 3.1 cm) με υγρό έκλουσης AcOH 30%. Ελήφθησαν 24 κλάσματα, μέσου όγκου 10.0 ml τα οποία κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επι γέλης πυριτίου χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θευική βανιλίνη, καθώς και επί κυτταρίνης χωρίς δείκτη φθορισμού με αντιδραστήριο εμφάνισης Neu συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες: RIN_GA (1→5) (80.0 mg), RIN_GB (6→7) (121.7 mg), RIN_GC (8→10) (645.0 mg), RIN_GD (11→14) (220.0 mg), RIN_GE (15→19) (42.7 mg), RIN_GF(20→24) (13.6 mg). Δεν απομονώθηκε κάποια καθαρή ουσία.

RIN_GC (645 mg)

Το κλάσμα RIN_GC υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (20 cm x 2.5 cm) επί γέλης οξειδίου του πυριτίου, με υγρό έκλυσης μίγμα διαλυτών DM:MeOH:H₂O αυξανόμενης πολικότητας και ελήφθησαν 71 κλάσματα, ως εξής:

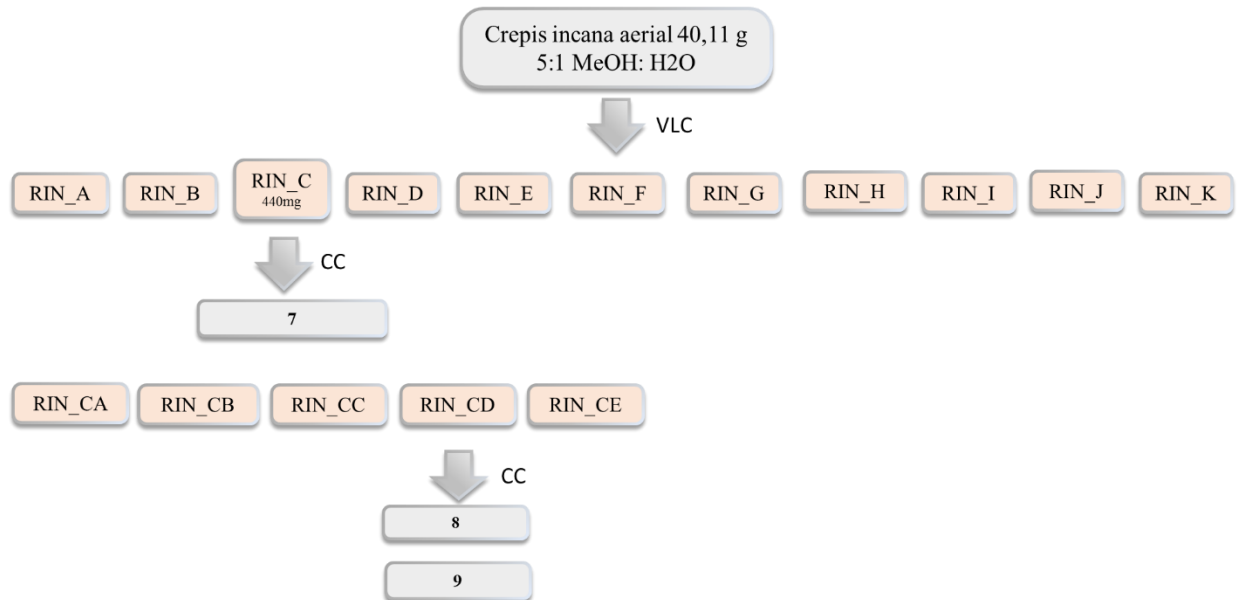
Κλάσματα	Διαλύτηςέκλυσης
1	Cy-Hex100%
2-20	DM/MeOH/H ₂ O 70:30:0.3
21-31	DM/MeOH/H ₂ O60:40:0.4
32-58	DM/MeOH/H ₂ O50:50:0.5
58-71	MeOH100%

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

RIN_GCA (1→6) (9.7 mg); RIN_GCB (7→12) (88.0 mg); RIN_GCC (13 →19) (72.6 mg); RIN_GCD (21→23) (33.5 mg); RIN_GCE (24→25) (52.5 mg);RIN_GCF (26→30) (48.8 mg); RIN_GCG (31→40) (51.5 mg); RIN_GCH (41→47) (40.6 mg); RIN_GCI (48→50) (41.6 mg); RIN_GCJ (51→58) (23.0 mg); RIN_GCK (59→68) (12.0 mg); RIN_CDJ (69→71) (15.0 mg).

Δεν απομονώθηκε κάποια καθαρή ουσία.

**ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΠΟΛΙΚΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΥΠΕΡΓΕΙΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ [RIN]**



ΡΙΖΕΣ

RIN_R

Το υπόλειμμα RIN_R, βάρους 1.81 g, υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης μοριακής διήθησης Sephadex LH-20 (20 cm x 2.5 cm) αυξανόμενης πολικότητας με μίγματα διαλυτών EtOAc:MeOH:H₂O. Ελήφθησαν 26 κλάσματα, μέσου όγκου 10 ml, τα οποία συνενώθηκαν στις ομάδες, που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	Βάρος (mg)
RIN_RA (1→6)	EtOAc :MeOH 7:3 (κλάσματα 1 - 10)	101.7
RIN_RB (7→14)	EtOAc :MeOH 1:1 (κλάσματα 11-14)	1497.7
RIN_RC (15→19)	EtOAc:MeOH 25:75 (κλάσματα 15-20)	79.7
RIN_RD (20→21)	MeOH 100% (κλάσματα 21-25)	91.9
RIN_RE (22→26)	H ₂ O (κλάσμα 26)	23.6

RIN_RB (1497.7 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης μέσης απόδοσης (MPLC) σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 cm x 4.0 cm). Ελήφθησαν 25 κλάσματα, μέσου όγκου 50 ml. Υγρό έκλουσης μείγματα διαλυτών H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας και τελικά EtOAc 100%. Ροή 10 ml/min.

Κλάσματα	H ₂ O	MeOH	EtOAc
1-3	100	-	-
4-7	90	10	-
8-13	80	20	-
14-19	70	30	-
20-24	-	100	-
25	-	-	100

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

RIN_RBA (1→3) (101.7 mg); RIN_RBB (4→7) (140.0 mg), RIN_RBC (8→13) (250.0 mg), RIN_RBD (14→19) (191.9 mg), RIN_RBE (20→24) (236.0 mg), RIN_RBF (25) (150.0 mg)

Τα κλάσματα ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου και επί κυτταρίνης και φασματοσκοπικά μέσω ¹H-NMR. Το κλάσμα RIN_RBC παρουσίασε ενδιαφέρον και επιλέχθηκε για περαιτέρω μελέτη.

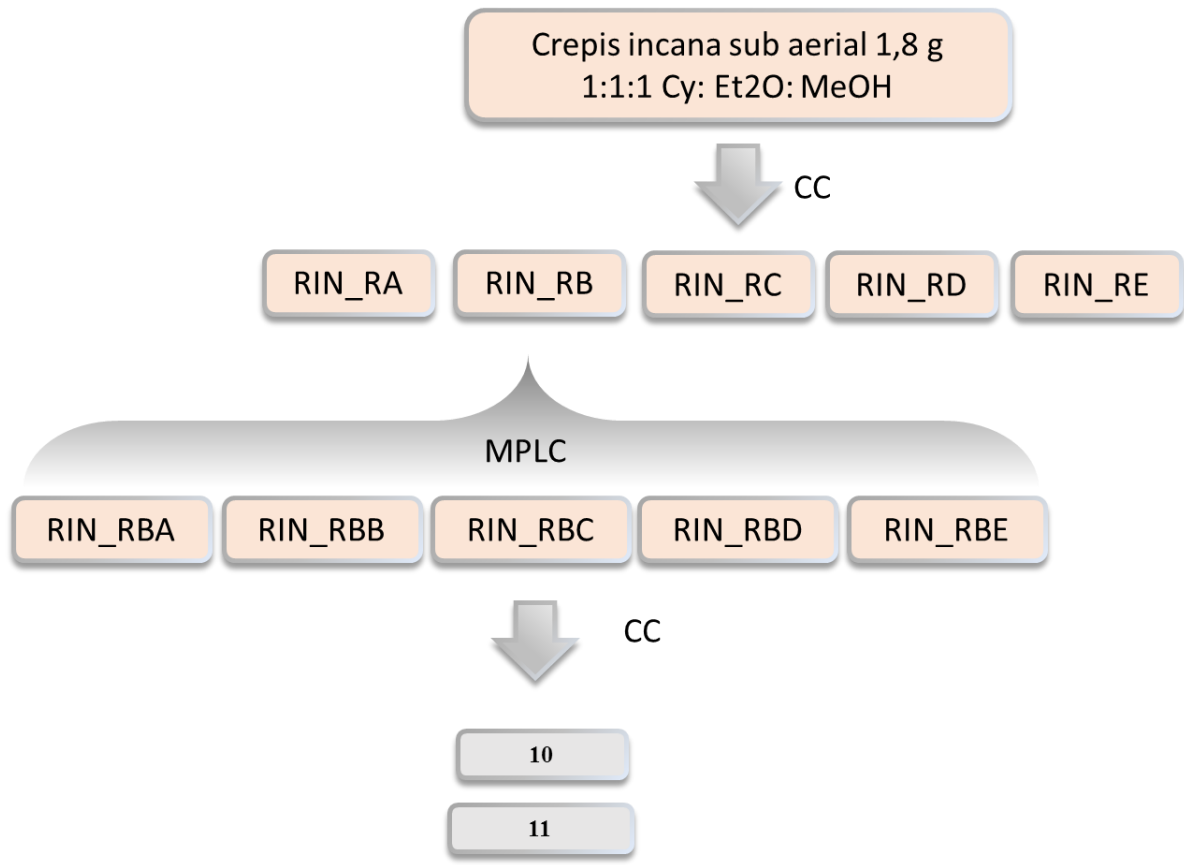
- **Κλάσμα RIN_RBC** (250.0 mg)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (12 cm x 2 cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών DM:EtOAc αυξανόμενης πολικότητας με τελικό έκπλυμα MeOH 100%. Ελήφθησαν 48 κλάσματα, τα οποία κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο εμφάνισης θειική βανιλίνη και συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

Κωδικός	Διαλύτης έκλουσης	V (ml)	Βάρος (mg)
RIN_RBC_A (1→4)	DM 100%	40	2.3
RIN_RBC_B (5)	DM : EtOAc 97:3	10	1.5
RIN_RBC_C(6→7)	DM : EtOAc 97:3	30	16.2
RIN_RBC_D(8→10)	DM : EtOAc 97:3	30	3.0
RIN_RBC_E (11→15)	DM : EtOAc 80:20	50	16.40
RIN_RBC_F (16→25)	DM : EtOAc 80:20	100	15.8
RIN_RBC_G (26→29)	DM : EtOAc 50:50	50	9.2
RIN_RBC_H (30→34)	DM : EtOAc 50:50	40	3.0
RIN_RBC_I(34→48)	MeOH 100%	140	34.0

Απομονώθηκαν οι ουσίες **10** (ολεανολικό οξύ) και **11** (λουπεόλη) από τα κλάσματα RIN_RBC_D και RIN_RBC_H, αντίστοιχα.

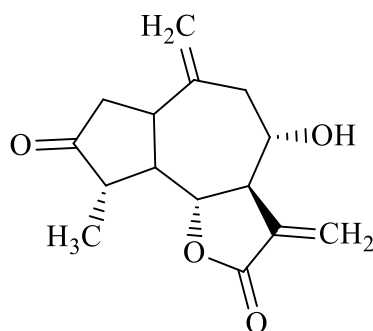
**ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΑΠΟΛΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ ΡΙΖΩΝ [RIN-R]**



Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ. Ι. ΣΕΣΚΙΤΕΡΙΠΕΝΙΚΕΣ ΛΑΚΤΟΝΕΣ

Γ.Ι.1. Ουσία 1. Γροσεϊμίνη [4-υδροξυ-9-μεθυλο-3,6-διμεθυλιδενο-οκταϋδρο-αζουλενο[4,5-*b*]φουρανο-2,8(3*H*,4*H*)-διόνη]



Η ουσία απομονώθηκε ως ελαιώδες, άχρωμο προϊόν και η δομή της προσδιορίστηκε μέσω φασματοσκοπικής μελέτης, καθώς και με σύγκριση των δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Yayli et al., 2004).

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το φυτό *Grossheimia macrocephala* (Rybalko et al., 1965). Επίσης έχει απομονωθεί από το φυτό *Youngia japonica* (L.) DC. (Wu et al., 2000), το οποίο παλαιότερα κατατασσόταν στο γένος *Crepis* L. με το όνομα *C. japonica* Benth.

$[\alpha]_D: +17.0$ (CHCl_3 , c 0.10)

Από τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$, COSY, HMBC, HSQC συμπεραίνεται η παρουσία σκελετού γουαϊανολιδίου με 6-12 λακτονικό δακτύλιο.

Στην ολεφινική περιοχή του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούμε τα χαρακτηριστικά σήματα των δίδυμων πρωτονίων του εξωμεθυλενικού διπλού δεσμού της α -μεθυλενο- γ -λακτόνης: σε δ_{H} 6.36 (dd, $J=3.0, 0.9$, H-13a) και δ_{H} 6.30 (d, $J=3.0, 0.9$, H-13b) ως δύο διπλώς διπλές κορυφές λόγω της σύζευξής τους με το πρωτόνιο H-7 (δ_{H} 3.04) και της μεταξύ τους σύζευξης, τα οποία αντιστοιχίζονται με βάση το φάσμα HSQC στο σήμα σε δ_{C} 125.8. Στο φάσμα HMBC φαίνεται το σήμα διασταύρωσης των CH_2 -13 με τον C-7 και τον C-12 σε δ_{C} 48.9 και 169.9, αντίστοιχα. Από την αποθωράκιση του CH_2 -13 συμπεραίνουμε ότι το -OH της θέσης 8 είναι σε α διάταξη, διότι όταν το -OH της θέσης 8 είναι σε β διάταξη το H-13a θωρακίζεται. Η θωράκιση αυτή είναι χαρακτηριστική στα γουαϊανολίδια (Miyase et al, 1985).

Αρχίζοντας από τη χαρακτηριστική σύζευξη όλων των Σ.Λ. μεταξύ του CH_2 -13 με το H-7 στη συνέχεια μπορούμε να διακρίνουμε τις συζεύξεις του H-7 με τα γειτονικά πρωτόνια, H-6 και H-8, τα οποία συντονίζονται σε πολύ κοντινά πεδία. Το H-6 εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή δ_{H} 3.95 (C-6 σε δ_{C} 82.3, φάσμα HSQC) και το H-8 εμφανίζεται ως πολλαπλή κορυφή δ_{H} 3.87 (C-8 σε δ_{C} 73.1, φάσμα HSQC). Η αποθωράκιση του μεθινίου της θέσης 6 σε σχέση με το μεθίνιο της θέσης 8 υποδηλώνει το κλείσιμο του λακτονικού δακτυλίου στις θέσεις 6-12.

Στο φάσμα COSY παρατηρούνται τα εξής spin συστήματα:

H-1/ CH_2 -2, H-1/H-5, H-4/H-5/H-6/H-7/H-8/ CH_2 -9, H-7/ CH_2 -13.

Λαμβάνοντας υπόψη τις υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης μεταξύ των H-4/H-5, H-5/H-6, H-6/H-7/H-8/H-9a αποδεικνύεται ότι τα πρωτόνια αυτά διατάσσονται αξονικά και αντιπαράλληλα μεταξύ τους. Συνεπώς, ο λακτονικός δακτύλιος έχει *trans*-διαμόρφωση.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ παρατηρείται ακόμα ένας εξωμεθυλενικός διπλός δεσμός σε δ_{H} 5.05 (s) και δ_{H} 4.80 (s) (δ_{C} 143.0, HSQC). Στο φάσμα HMBC παρατηρείται σήμα διασταύρωσης των πρωτονίων αυτών με τους C-1 (J_3) και C-9 (J_3). Συνεπώς, αυτός ο διπλός δεσμός βρίσκεται στον C-10.

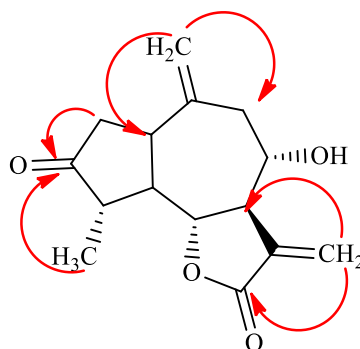
Στον άνθρακα της θέσης 4, βρίσκεται ένα μεθύλιο (CH_3 -15), το οποίο συντονίζεται σε υψηλότερα πεδία σε δ_{C} 1.24 και εμφανίζεται υπό μορφή διπλής κορυφής, λόγω της παρουσίας του CH -4 (d, $J=6.3$). Η χημική μετατόπιση του CH_3 -15 σε δ_{H} 1.24 υποδηλώνει την α -διάταξη του μεθυλίου δεδομένου ότι με βάση τη βιβλιογραφία (Miyase et al, 1985, Chung et al., 1994), το α - CH_3 -15 για αυτού του τύπου γουαϊανολίδια συντονίζεται σε $\delta_{\text{H}} > 1.0$, ενώ το β - CH_3 -15 συντονίζεται σε τιμές $\delta_{\text{H}} < 1.0$.

Η παρουσία καρβονυλίου στη θέση 3 επιβεβαιώνεται από το διασταυρούμενο σήμα του με τα πρωτόνια του μεθυλίου της θέσης 15 και των H-2a και H-2b σε δ_{C} 218.0 στο φάσμα HMBC.

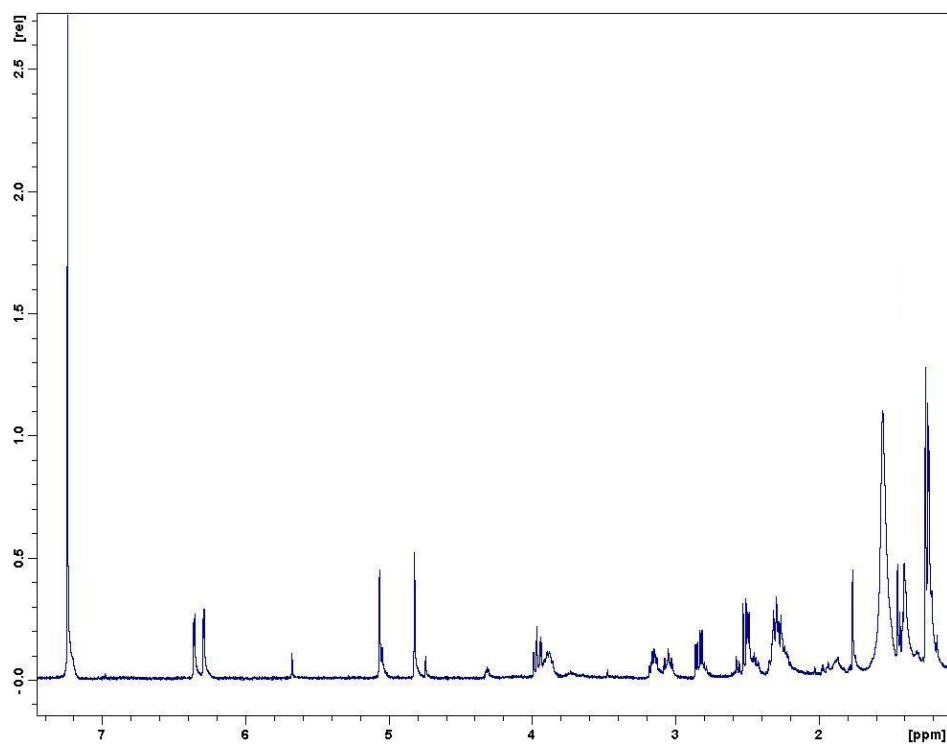
Πίν. 1: Φασματοσκοπικά δεδομένα $^1\text{H-NMR}$ και $^{13}\text{C-NMR}$ της ουσίας **1** (CDCl_3 , 400MHz).

Θέση	δ_{C}^*	Τύπος	δ_{H}	Αριθμός H	Πολλαπλότητα	J (Hz)
1	39.7	CH	3.14	1	m	-
2a,2b	43.2	CH ₂	2.56-2.46	2	m	
3	218.1	CH	-	-	-	-
4	46.9	CH	2.86	1	dd	13.0, 6.3
5	51.3	CH	2.26	1	m	
6	82.3	CH	3.95	1	t	9.4
7	48.9	CH	3.04	1	tt	9.4, ,3.0
8	73.1	CH	3.87	1	ddd	14.1, 9.4, 5.4
9a	47.3	CH ₂	2.83	1	dd	14.1, 5.4
9b			2.28	1	m	-
10	143.1	C				
11	136.9	C				
12	169.9	C				
13a	125.8	CH ₂	6.36	1	dd	3.0, 0.9
13b			6.30	1	dd	3.0, 0.9
14a	115.9	CH ₂	5.05	1	s	-
14b			4.80	1	s	-
15	14.9	CH ₃	1.24	3	d	6.93

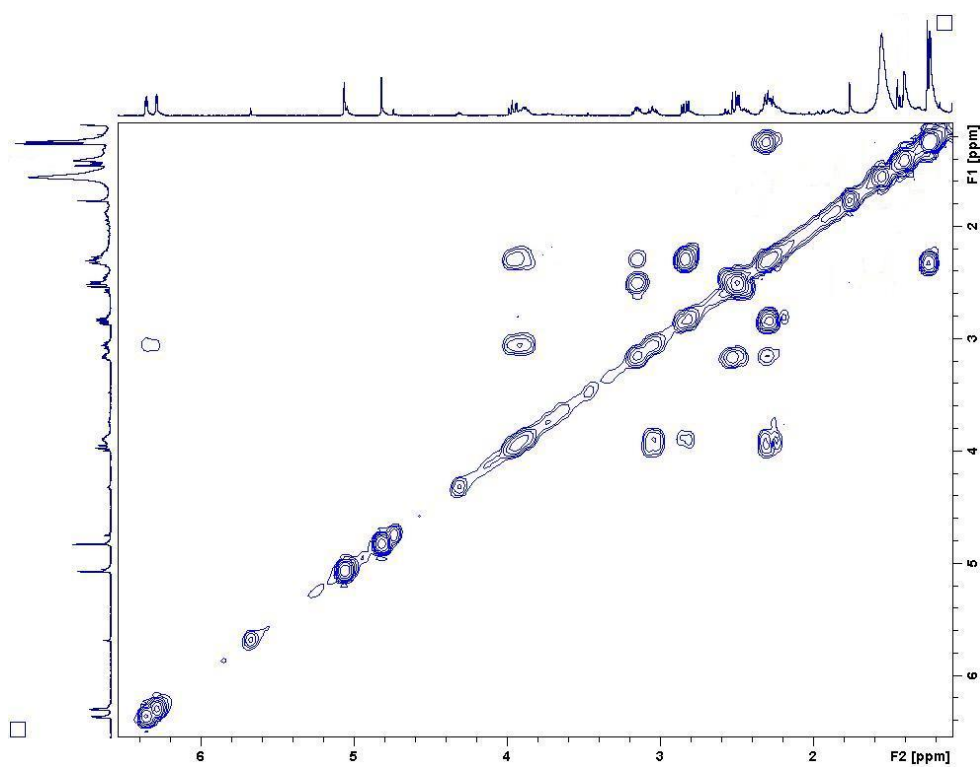
*Οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων αποδόθηκαν από τα φάσματα HSQC και HMBC



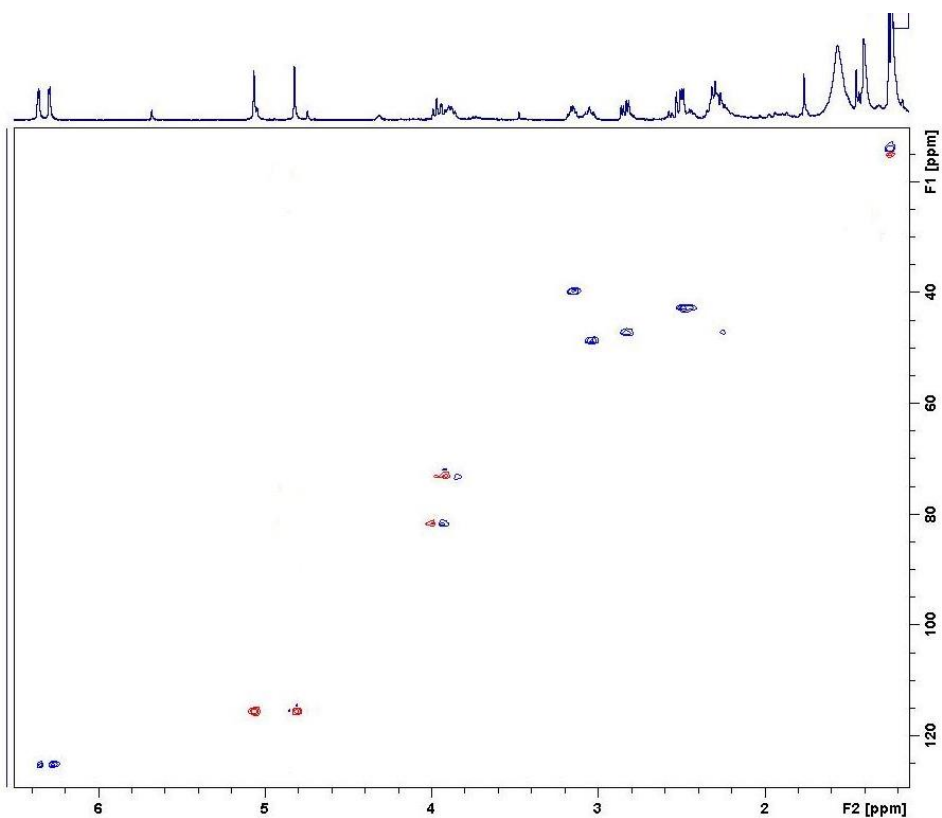
Διασταυρούμενα σήματα στο φάσμα HMBC της ουσίας **1**



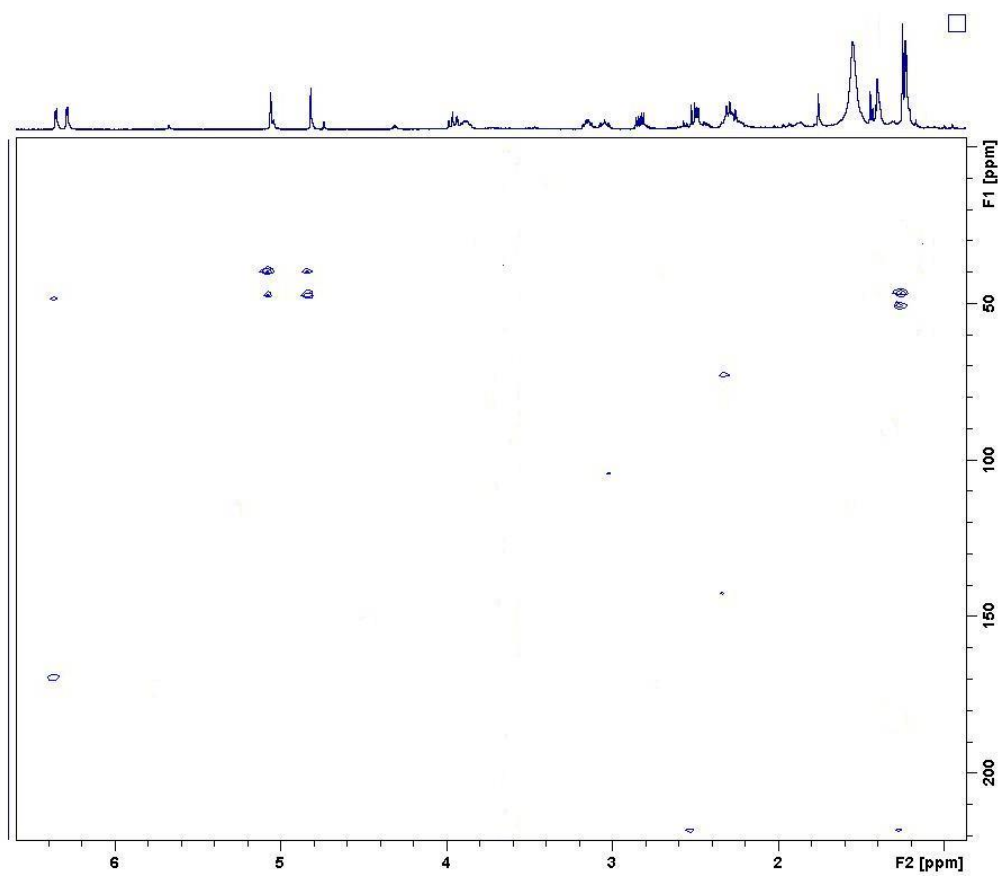
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **1**



Φάσμα COSY της ουσίας **1**

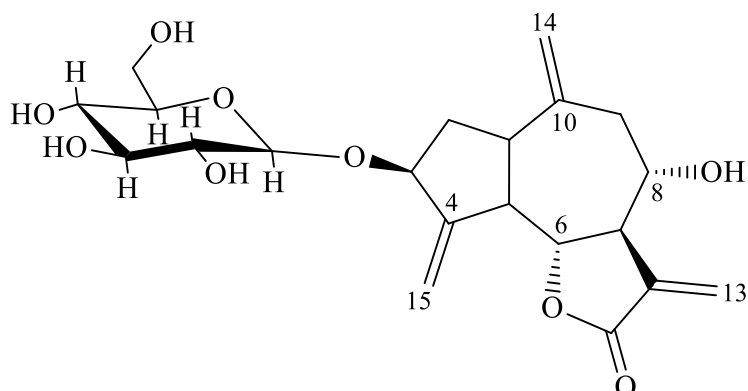


Φάσμα HSQC της ουσίας **1**



Φάσμα HMBC ουσίας **1**

Γ.Ι.2. Ουσία 2. Κρεπισίδης Ε [4-υδροξυ-3,6,9-τριμεθυλενο-2-οξοδωδεκαϋδρο-αζουλενο[4-5b]φουρανο-8-β-D-γλυκοκυρανοσίδης]



Ο κρεπισίδης Ε είναι ένας κοινός μεταβολίτης στο tribe Cichorieae, συγκεκριμένα έχει απομονωθεί από τα φυτά: *Prenanthes acerifolia* Benth. (Miyase et al., 1986), *Youngia japonica* (L.) DC. [= *Crepis japonica*] (Miyase et al., 1985), *Laspana communis* L (Fontanel et al., 1998), *Ainsliaea fragrans* (Wang et al., 2009).

$[\alpha]_D$: + 66.67 (MeOH, *c* 0.06).

Η ουσία **2** ελήφθη ως άμορφη σκόνη και η δομή της προσδιορίστηκε μέσω των φάσματων $^1\text{H-NMR}$, COSY, HMBC, HSQC, καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων (Fontanel et al., 1998). Ομοίως, διαπιστώνεται η παρουσία σκελετού γουαϊανολιδίου με 6-12 λακτονικό δακτύλιο.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούμε τρεις εξωμεθυλενικούς διπλούς δεσμούς στις θέσεις 13,14,15, χαρακτηριστικούς για τα γουαϊανολίδια, οι οποίοι εμφανίζονται ως εξής:

- το πλέον χαρακτηριστικό CH_2 -13 εμφανίζεται στην ολεφινική περιοχή του φάσματος ως δύο διπλώς διπλές κορυφές σε δ_{H} 6.13 (dd, $J=3.06, 0.9$, H-13a) και δ_{H} 6.10 (d, $J=3.06, 0.9$, H-13b), λόγω της σύζευξης των δίδυμων πρωτονίων του μεθυλενίου με το πρωτόνιο H-7 (σε δ_{H} 2.79, που εντοπίζεται από το φάσμα COSY), καθώς και της μεταξύ τους σύζευξης. Τα δίδυμα αυτά πρωτόνια αντιστοιχίζονται με βάση το φάσμα HSQC στο σήμα σε δ_{C} 122.4. Επιπροσθέτως, στο φάσμα HMBC φαίνεται το σήμα διασταύρωσης των CH_2 -13 με τον C-12 σε δ_{C} 169.9.

Από την αποθωράκιση του H-13a και του H-13b συμπεραίνουμε ότι το -OH της θέσης 8 είναι σε α διάταξη, διότι σε β διάταξη το H-13a θωρακίζεται (Miyase et al, 1985).

- οι χαρακτηριστικές κορυφές σε δ_H 5.11 (s) και δ_H 4.96 (s), (δ_C 116.9, φάσμα HSQC) επιβεβαιώνονται και βιβλιογραφικά ως CH₂-14(Miyase et al., 1986).

- δύο ευρείες απλές κορυφές σε δ_H 5.40 και δ_H 5.50, οι οποίες αντιστοιχούν στον τρίτο εξωμεθυλενικό διπλό δεσμό, συνεπώς στα πρωτόνια CH₂-15.

Στο φάσμα COSY παρατηρούνται τα εξής spin συστήματα:

Το πρωτόνιο H-7 συζεύγνυται με το CH₂-13, καθώς και με τα πρωτόνια των οξυγονωμένων μεθινίων CH-8 σε δ_H 3.87 (C-8 σε δ_C 62.2, φάσμα HSQC) και CH-6 σε δ_H 4.40 (C-6 σε δ_C 80.6, φάσμα HSQC). Το H-8 συζεύγνυται με το H-9a σε δ_H 2.41, από το οποίο εντοπίζεται η θέση του δίδυμου H-9b, λόγω της μεταξύ τους σύζευξης.. Το μεθυλένιο της θέσης 9 αντιστοιχίζεται με βάση το φάσμα HSQC στο σήμα σε δ_C 42.2. Επιπλέον, αρχίζοντας από το H-6 αναγνωρίζονται τα συστήματα H-6/H-5/H-1, H-1/CH₂-2 και τέλος CH₂-2/H-3.

Λαμβάνοντας υπόψη τις υψηλές τιμές των σταθερών σύζευξης μεταξύ των, H-5/H-6, H-6/H-7, καθώς και τη β διάταξη του H-8 σε συνδυασμό με την α διάταξη του H-7 βιοσυνθετικά (Drew et al., 2009) αποδεικνύεται ότι τα πρωτόνια αυτά διατάσσονται αξονικά και αντιπαράλληλα μεταξύ τους. Επομένως, ο λακτονικός δακτύλιος έχει *trans*-διαμόρφωση.

Τέλος, το πρωτόνιο H-3 συντονίζεται σε δ_H 4.63 χαρακτηριστική τιμή γουαϊανολιδίου, που φέρει σάκχαρο στη θέση αυτή.

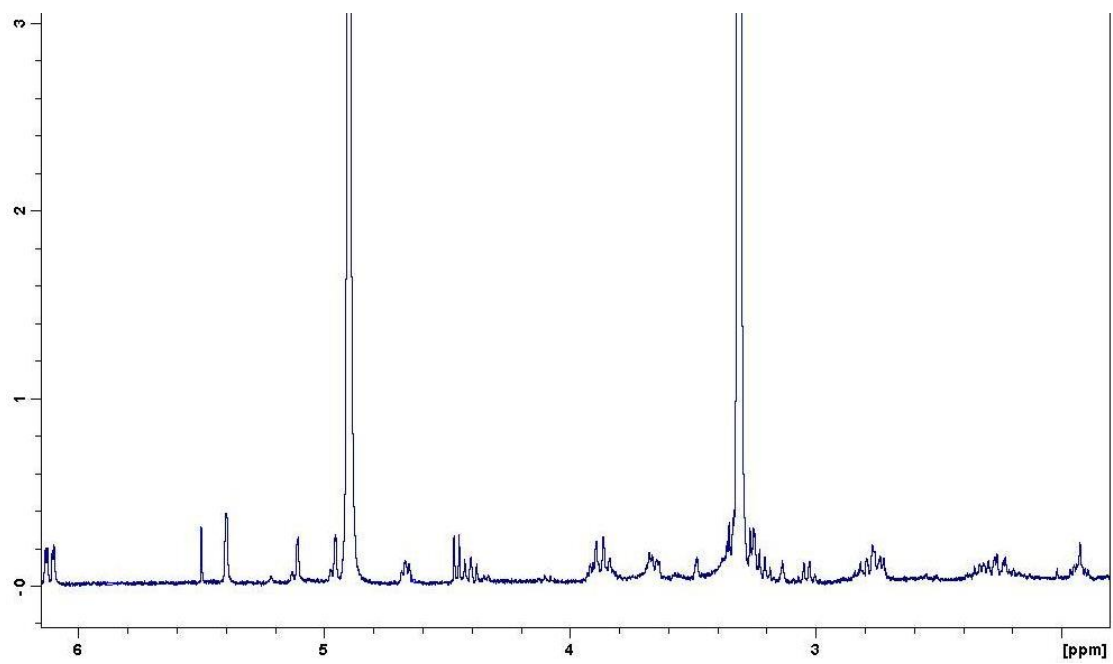
Στο φάσμα COSY παρατηρούνται οι συζεύξεις του σακχάρου μεταξύ H-1'/H-2' και H-6a'/H-6b'.

Πίν.2: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR και ¹³C-NMR της ουσίας **2** (CD₃OD, 400MHz).

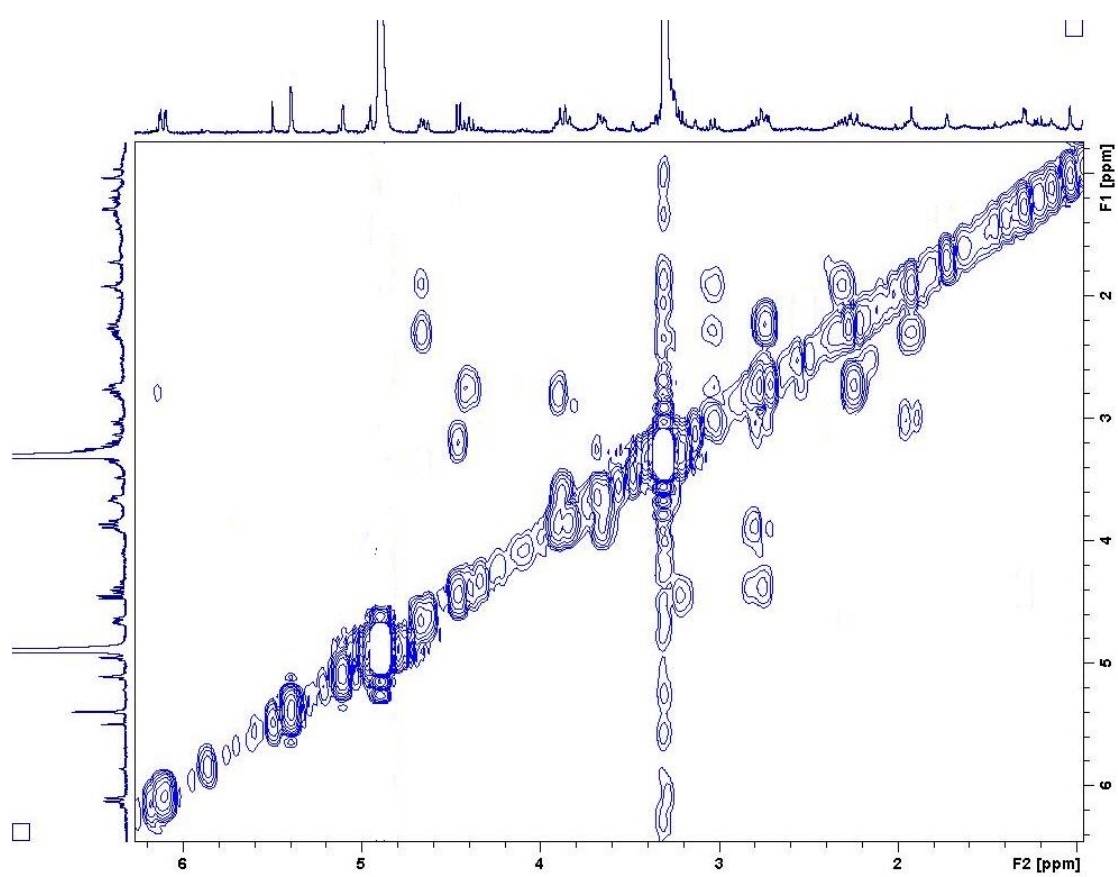
Θέση	δ _c *	Τύπος	δ _H	Αριθμός H	Πολλαπλότητα	J (Hz)
1	39.7	CH	3.03	1	m	-
2a	43.2	CH ₂	2.24	1	m	
2b			1.90	1		
3	80.9	CH	4.66	1	t	
4	150	C		1		
5	54.3	CH	2.78	1	m	
6	80.6	CH	4.40	1	t	10.1, 10
7	49.4	CH	2.79	1	m	
8	62.2	CH	3.87	1	m	
9a	42.4	CH ₂	2.41	1	dd	14.1, 5.4
9b			2.24	1	m	-
10	144.3	C				
11	136.9	C				
12	169.9	C				
13a	122.4	CH ₂	6.13	1	dd	3.06, 0.9
13b			6.10	1	dd	3.06, 0.9
14a	116.9	CH ₂	5.11	1	s	-
14b			4.96	1	s	-
15a	115.5	CH ₂	5.50	1	d	6.9
15b			5.40	1		
1'	102.4	CH	4.46	1		7.9
2'	75.2	CH	3.21	1	m	
3'	78.5**	CH	3.35-3.25	3	m	
4'	71.8	CH				
5'	77.6**	CH				
6a'	62.0	CH ₂	3.87	1	m	
6b'			3.67	1	m	

*Οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων αποδόθηκαν από τα φάσματα HSQC και HMBC

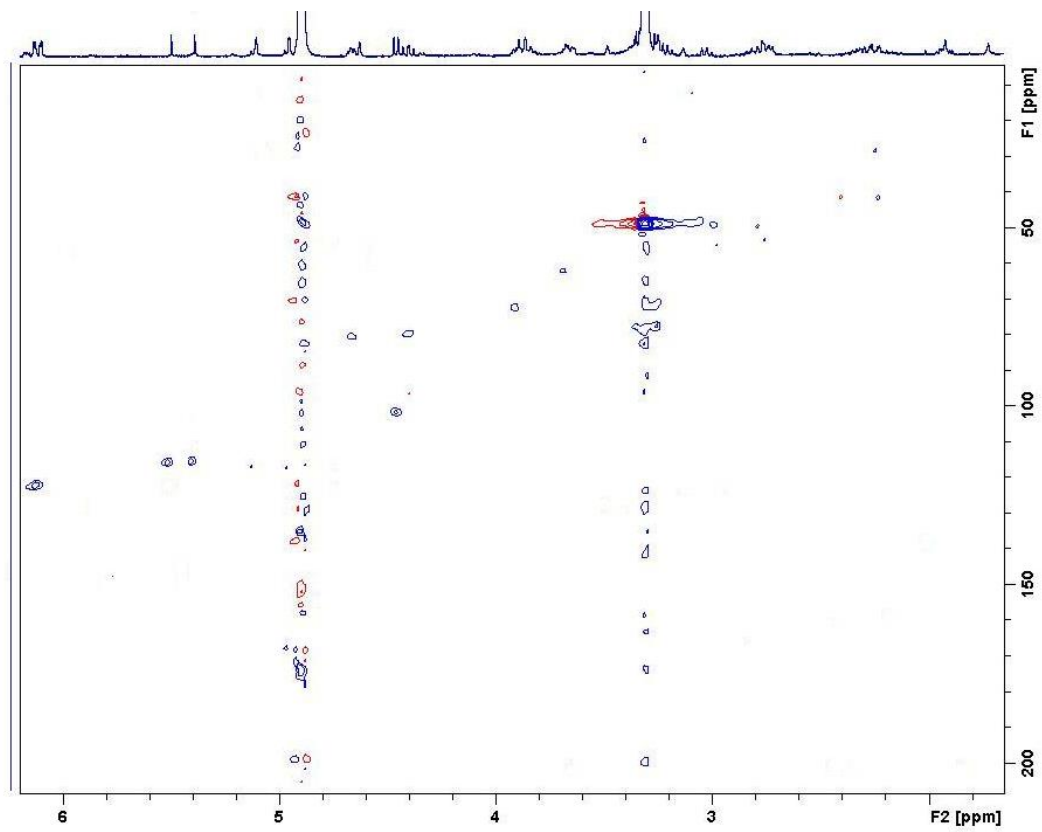
** πιθανώς αντίστροφα



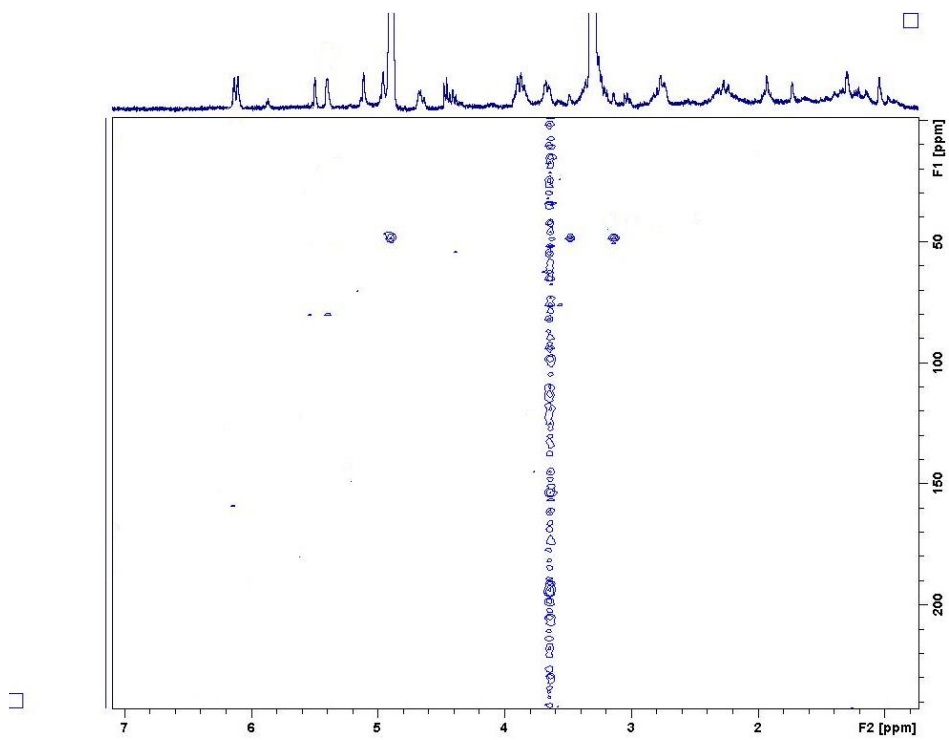
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας 2



Φάσμα COSY της ουσίας 2

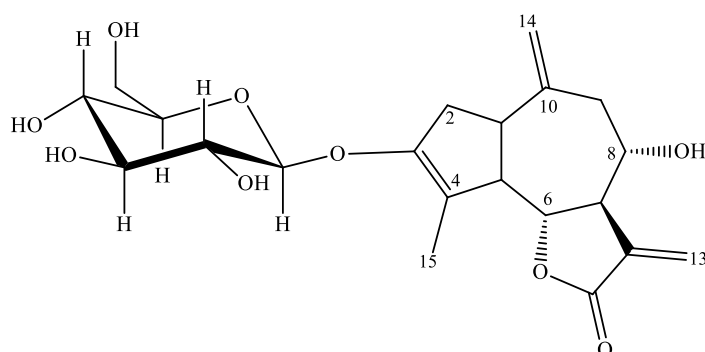


Φάσμα HSQC της ουσίας 2



Φάσμα HMBC της ουσίας 2

Γ.Ι.3. Ουσία 3. Κρεπισίδης D [4-υδροξυ-9-μεθυλο-3,6-μεθυλενο-2-οξο-2,3,3a,4,5,6,6a,7,9a,9b-δεκαϋδρο-αζουλενο[4-5b]φουρανο-8-β-D-γλυκοκυρανοσίδης]



Έχει απομονωθεί μόνο από το φυτό *Youngia japonica* (L.) DC. [= *Crepis japonica* Benth] (Miyase et al., 1985).

$[\alpha]_D$: +34.62 (MeOH, c 0.09)

Η ουσία **3** απομονώθηκε ως ελαιώδες, άχρωμο προϊόν. Η δομή της προσδιορίστηκε μέσω μελέτης των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$, COSY, HMBC, HSQC, καθώς και με σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων με αυτά της βιβλιογραφίας (Miyase et al., 1985).

Η ουσία **3** είναι ανάλογη της ουσίας **2** με τη διαφορά ότι στον πενταμελή δακτύλιο του σκελετού του γουαϊανολιδίου, η ουσία **3** φέρει CH_3 στον C-4 και διπλό δεσμό Δ^3 , ενώ η ουσία **2** φέρει στον ίδιο άνθρακα CH_2 .

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ παρατηρούμε δυο χαρακτηριστικούς για τα γουαϊανολίδια εξωμεθυλενικούς διπλούς δεσμούς στις θέσεις 13,14, όπως και στην ουσία **2**, με χημικές μετατοπίσεις πολύ παραπλήσιες.

Στο φάσμα COSY παρατηρείται το spin σύστημα $\underline{\text{CH}_2}$ -2/H-1/H-5/H-6/H-7H-8/ $\underline{\text{CH}_2}$ -9, καθώς και οι συζεύξεις μεταξύ H-1'/H-2' και H-6a'/H-6b'.

Σε δ_{H} 1.69 εμφανίζεται ένα βινυλικό μεθύλιο ως απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια.

Στο φάσμα HMBC παρατηρούνται τα ακόλουθα:

- το βινυλικό μεθύλιο δίνει σήματα διασταύρωσης με τους άνθρακες σε δ_{C} 152.0, 54.2 και 113.2. Από τα φάσματα COSY και HSQC γνωρίζουμε ότι η τιμή σε δ_{C} 54.2 αντιστοιχεί στον C-5, οπότε συμπεραίνεται ότι το βινυλικό μεθύλιο βρίσκεται στη θέση 4.

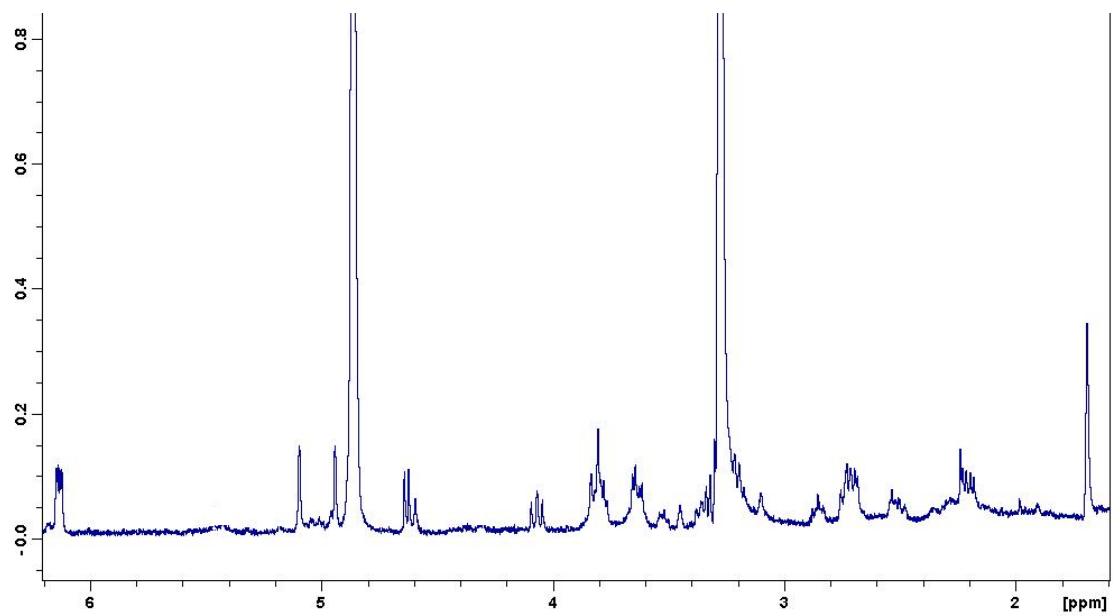
-τα πρωτόνια της θέσης 14 εμφανίζουν σήμα διασταύρωσης με τον C-1 (J_3), οπότε επιβεβαιώνεται ότι ο δεύτερος διπλός δεσμός βρίσκεται στον C-10.

Πίν.3: Φασματοσκοπικά δεδομένα $^1\text{H-NMR}$ και $^{13}\text{C-NMR}$ της ουσίας **3** (CD_3OD , 400MHz).

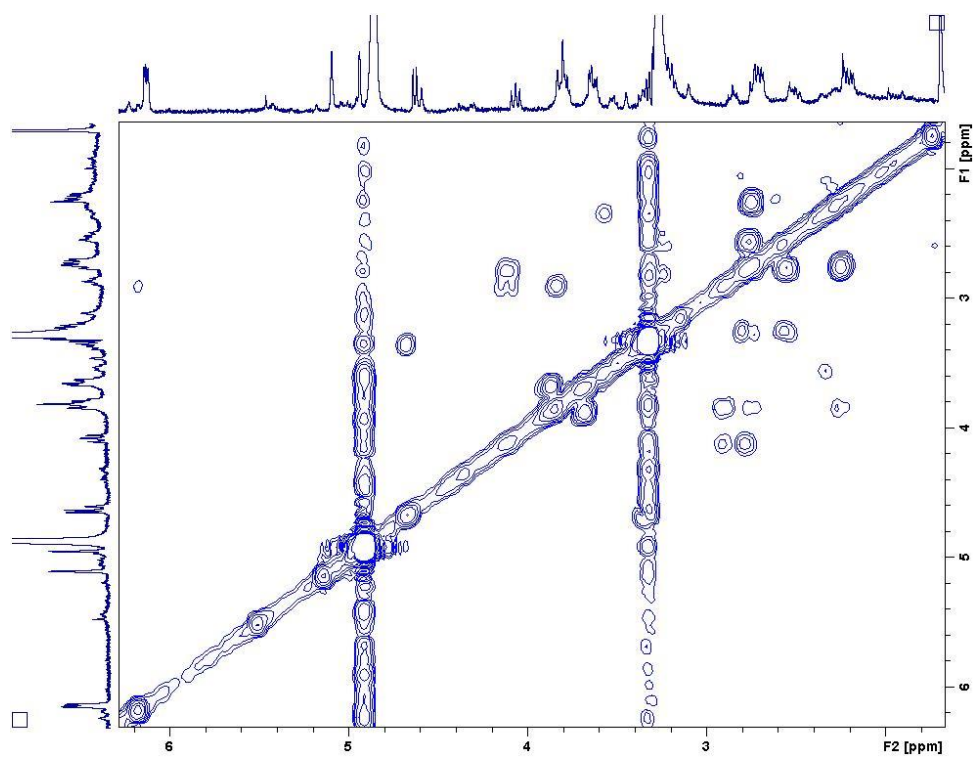
Θέση	δ_{C}^*	Τύπος	δ_{H}	Αριθμός H	Πολλαπλότητα	J (Hz)
1	43.9	CH	3.23	1	m	-
2a	34.8	CH ₂	2.76	1	m	-
2b			2.55	1	m	-
3	150.1	C	-	1		-
4	112.9	C	-	1		
5	54.2	CH	3.15	1	m	-
6	81.7	CH	4.07	1	t	9.8
7	51.4	CH	2.90	1	m	-
8	72.8	CH	3.85	1	m	-
9a	45	CH ₂	2.75	1	m	-
9b			2.24	1	m	-
10	144.7	C				
11	139.7	C				
12	170.1	C				
13a	121.9	CH ₂	6.14	1	d	3.3
13b			6.12	1	d	3.3
14a	114.9	CH ₂	4.94	1	s	-
14b			5.10	1	s	-
15	10.1	CH ₃	1.69	1	s	
1'	102.4	CH	4.63	1	d	7.4
2'	74.7	CH	3.38	1	m	-
3'	71.8	CH	3.45-3.21	1	m	-
4'	**	CH		1		
5'	78.6	CH		1		
6a'	61.6	CH ₂	3.80	1	m	-
6b'			3.64	1	m	-

*Οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων αποδόθηκαν από τα φάσματα HSQC και HMBC

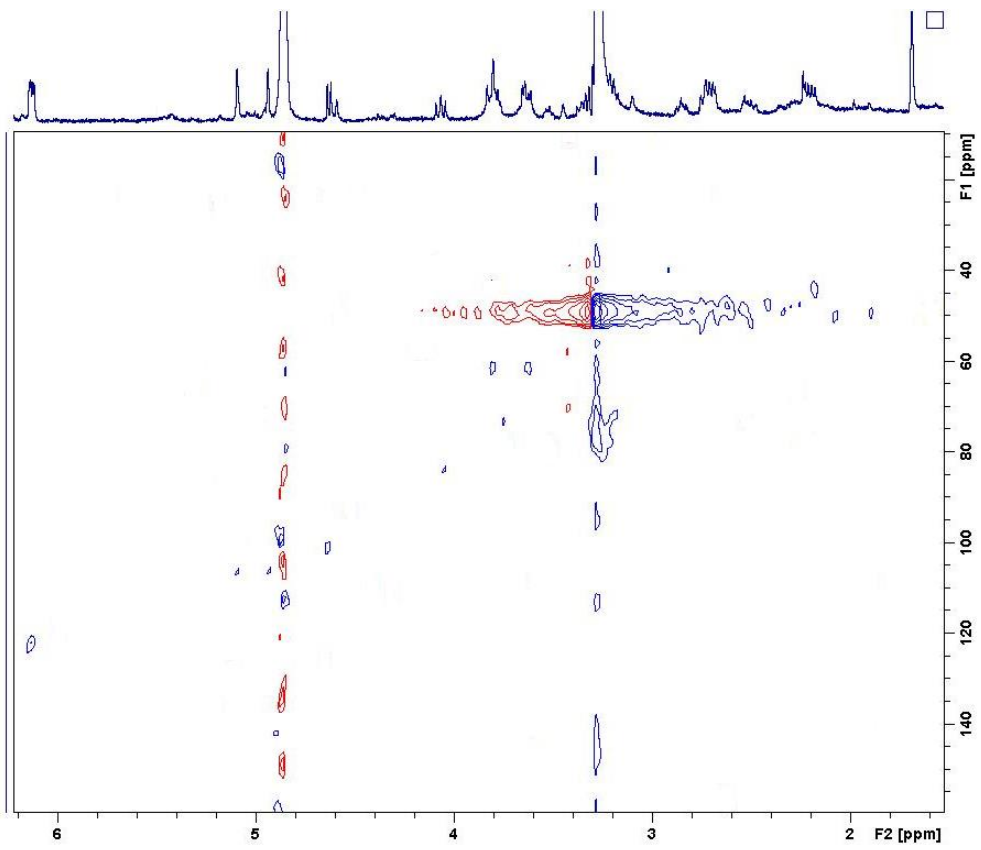
** ασαφές σήμα



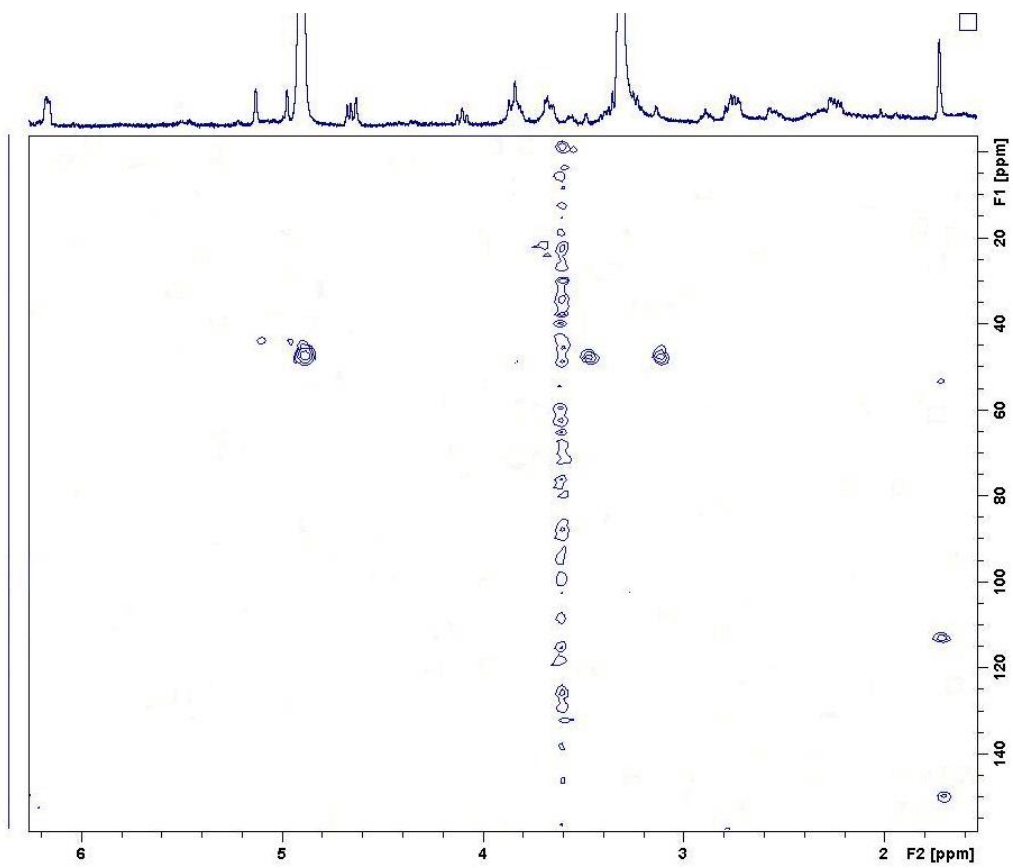
Φάσμα ^1H -NMR ουσίας **3**



Φάσμα COSY της ουσίας **3**



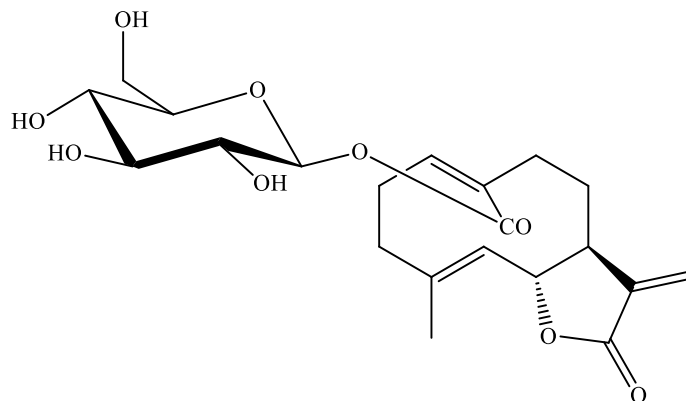
Φάσμα HSQC της ουσίας 3



Φάσμα HMBC ουσίας 3

Γ.Ι.4. Ουσία 4. β-D-Γλυκοπυρανοσιδικός εστέρας του παραξινικού οξέος

[=10 μεθυλο-3 μεθυλενο-2 οξο-2,3a,4,5,8,9,11a-οκταυδροκυκλοδεκα[b]φουρανο-6-καρβοξυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]



Η ουσία απομονώθηκε ως άμορφο και άχρωμο υπόλειμμα και η δομή της προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$, COSY, HMBC, HSQC, καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων (Hansel et al., 1980, Kisiel et al., 2000, Michalska, 2001).

Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το φυτό *Taraxacum officinale* (Hansel et al., 1980). Επίσης η ουσία αυτή είναι το δραστικό συστατικό του φυτού *Crepis napifera*, το οποίο προστατεύει τον γαστρικό βλεννογόνο και επουλώνει το γαστρικό έλκος (Wu et al., 2002).

Είναι η κύρια ουσία του υπό μελέτη φυτού.

$[\alpha]_D: +17.5$ (MeOH, c 0.04)

Από τα φάσμα $^1\text{H-NMR}$ συμπεραίνεται η ύπαρξη ενός δακτυλίου δεκαδιενίου με τους δύο διπλούς δεσμούς στις θέσεις $\Delta^{1(10)}$ και Δ^4 , χαρακτηριστικοί του σκελετού των γερμακρανολιδίων.

Στην ολεφινική περιοχή στο φάσμα πρωτονίου εμφανίζονται τα σήματα τεσσάρων πρωτονίων:

- τα πρωτόνια του χαρακτηριστικού CH_2-13 εμφανίζονται ως δύο διπλές κορυφές σε δ_{H} 6.18 (d $J=3.06$) και δ_{H} 5.64 (d, $J=3.06$), λόγω της σύζευξης των δίδυμων πρωτονίων του μεθυλενίου με το πρωτόνιο H-7 (σε δ_{H} 2.72, που εντοπίζεται από το φάσμα COSY).

- το H-1 δίνει μία διπλώς διπλή κορυφή σε δ_{H} 5.85 ($J=12.6$ και 3.6 Hz)

- το H-5 εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ_H 4.98 ($J=10.1$ Hz), από την οποία συμπεραίνεται η ύπαρξη του σκελετού του γερμακρανίου.

Το πρωτόνιο H-6, αν και δεν είναι ολεφινικό, εντούτοις παρουσιάζεται αποθωρακισμένο σε δ_H 4.75 ως μία διπλή κορυφή ($J=10.1, 9.9$ Hz), διότι βρίσκεται σε αλληλική θέση ως προς το δεσμό Δ^4 και γειτονεύει με οξυγονούχο ομάδα, ενώ στο φάσμα HSQC το σήμα του άνθρακα του $\underline{C}H-6$ εντοπίζεται σε δ_C 82.7. Επισημαίνεται ότι δεν υπάρχει σήμα οξυγονωμένου άνθρακα, που να αντιστοιχεί στο σκελετό του δεκαδιενίου. Από τις σταθερές σύζευξης του πρωτονίου H-6 προκύπτει, ότι το πρωτόνιο αυτό βρίσκεται σε θέση *trans-diaxial* ως προς τα γειτονικά του H-5 και H-7, γεγονός που υποδεικνύει ότι ο λακτονικός δακτύλιος είναι *trans*.

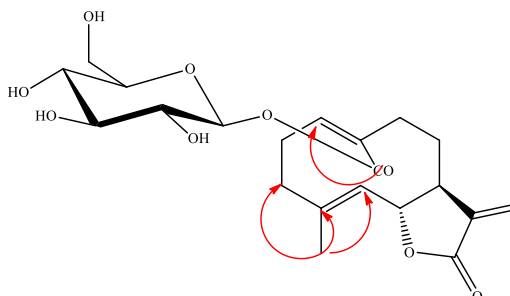
Στο φάσμα COSY παρατηρείται το spin σύστημα: H-5/H-6/H-7/ $\underline{C}H_2-8/\underline{C}H_2-9$, γεγονός που επιβεβαιώνει το σκελετό γερμακρανίου βάση της απουσίας σύζευξης μεταξύ του H-1/H-5 (βλ. γουαϊανολίδια). Επίσης, παρατηρούνται οι συζεύξεις H-1/ $\underline{C}H_2-2/\underline{C}H_2-3$, καθώς και οι συζεύξεις του σακχάρου μεταξύ H-1'/H-2' και H-6a'/H-6b'.

Σε δ_H 1.64 εμφανίζεται ένα βινυλικό μεθύλιο ως απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια. Στο φάσμα HMBC επιβεβαιώνεται η θέση του μεθυλίου αυτού από το διασταυρούμενο σήμα των πρωτονίων του με τον C-3, τον C-4 και C-5 σε δ_C 126.5 και δ_C 141.8, αντιστοίχως, των οποίων οι θέσεις καθίστανται γνωστές από τα φάσματα COSY και HSQC. Επίσης επιβεβαιώνεται η θέση του καρβονυλίου από το διασταυρούμενο σήμα του με το H-1 του δεκαδιενίου. Η αποθωράκιση του H-1' του σακχάρου είναι ενδεικτική της γειτνίασης του σακχάρου με το καρβονύλιο στη θέση 14, καθότι η χημική μετατόπιση του ανωμερικού πρωτονίου είναι σε δ_H 5.54, ενώ η συνήθης τιμή είναι < 5.0 [ca 4.46] (Miyase et al., 1985).

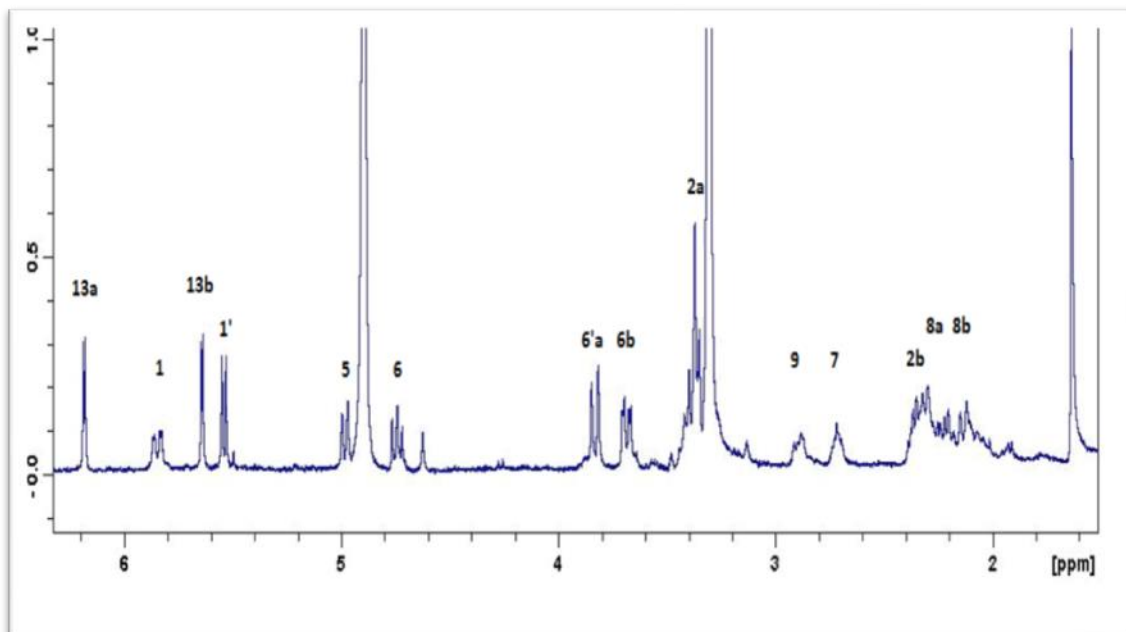
Πίν.4: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR και ¹³C-NMR της ουσίας **4** (CD₃OD, 400MHz).

Θέση	δ _c *	Τύπος	δ _H	Αριθμός H	Πολλαπλότητα	J (Hz)
1	149.3	CH	5.85	1	dd	12.6, 3.4
2a	27.6	CH ₂	3.39	1	m	
2b			2.29	1	m	
3a	39.2	CH ₂	2.29	1	m	
3b			2.10	1	m	
4	141.8	C		1		
5	126.4	CH	4.98	1	d	10.1
6	82.7	CH	4.75	1	dd	10.1,9.8
7	51.1	CH	2.72	1	m	
8a	31.3	CH ₂	2.12	1	m	
8b			2.10	1		
9a	37.2	CH ₂	2.41	1	m	
9b			2.24	1	m	-
10	131.9	C				
11	144.5	C				
12	169.8	C				
13a	12.7	CH ₂	6.18	1	d	3.5
13b			5.64	1	d	3.2
14	178.6	C				
15	16.9		1.64		s	
1'	96.5	CH	5.54	1	d	7.9
2'	75.2	CH	3.37	1	m	
3'	74.0**	CH	3.43-3.25	1	m	
4'	71.8**	CH		1		
5'	78.6**	CH		1		
6a'	72.3	CH ₂	3.87	1	m	
6b'			3.67	1	m	

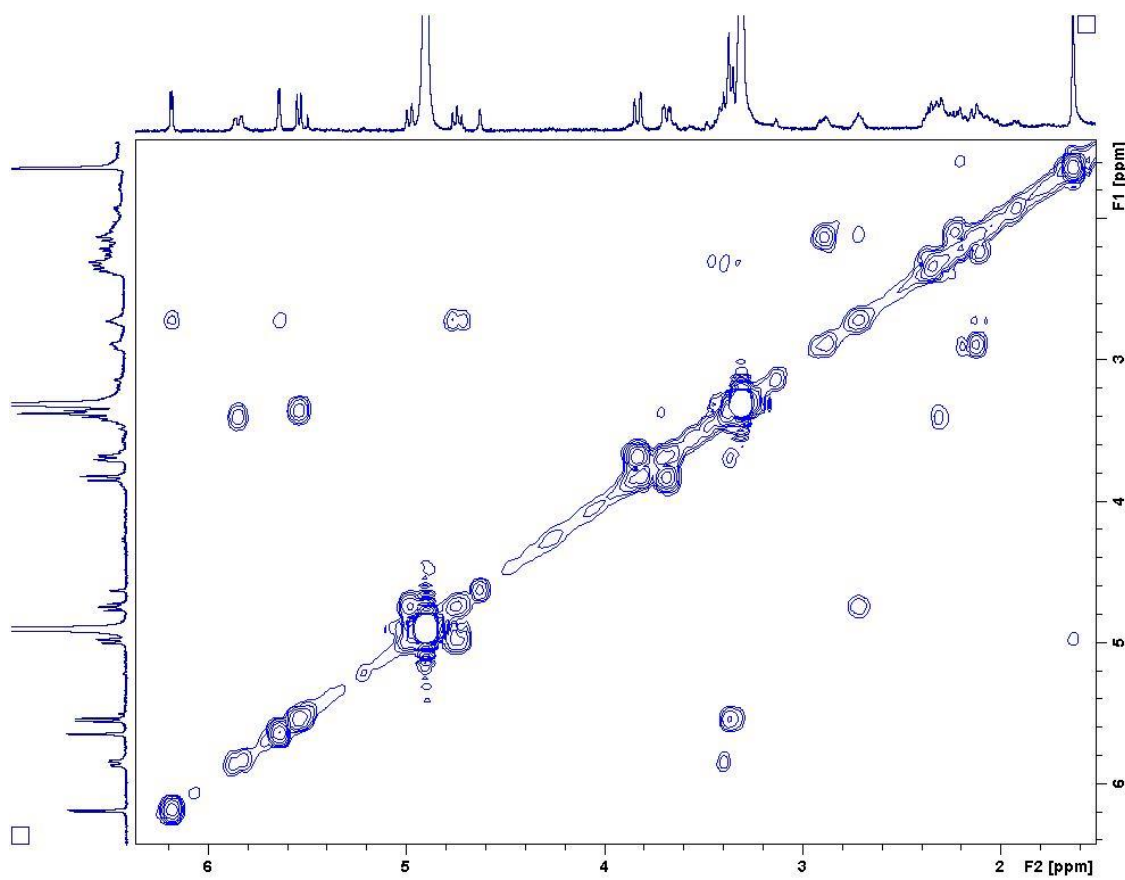
*Οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων αποδόθηκαν από τα φάσματα HSQC και HMBC
 ** επιβεβαίωση από βιβλιογραφία (Hansel et al., 1980)



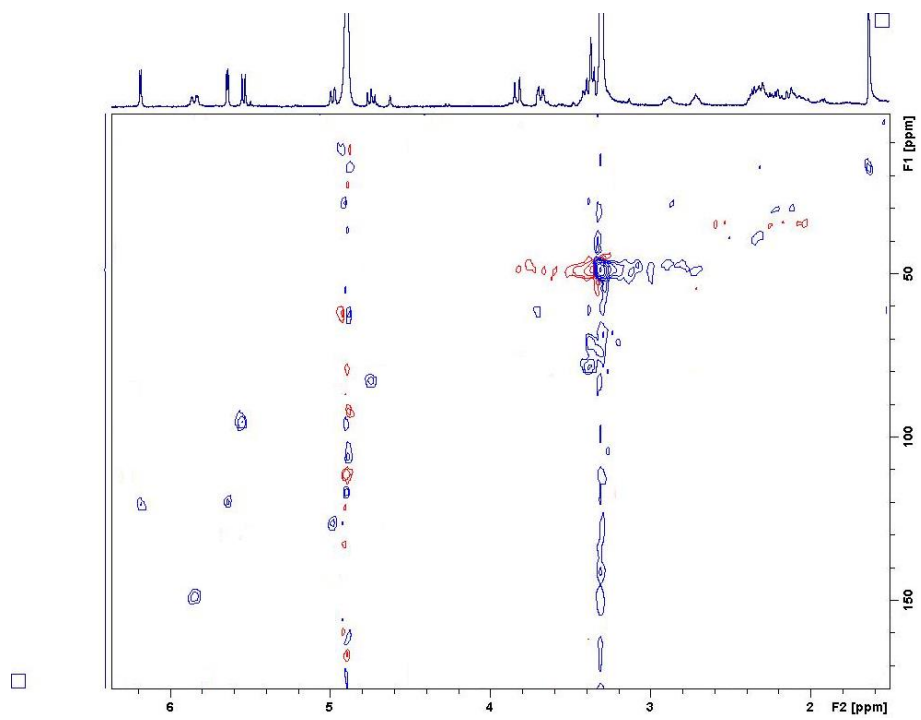
Διασταυρούμενα σήματα στο φάσμα HMBC της ουσίας **4**



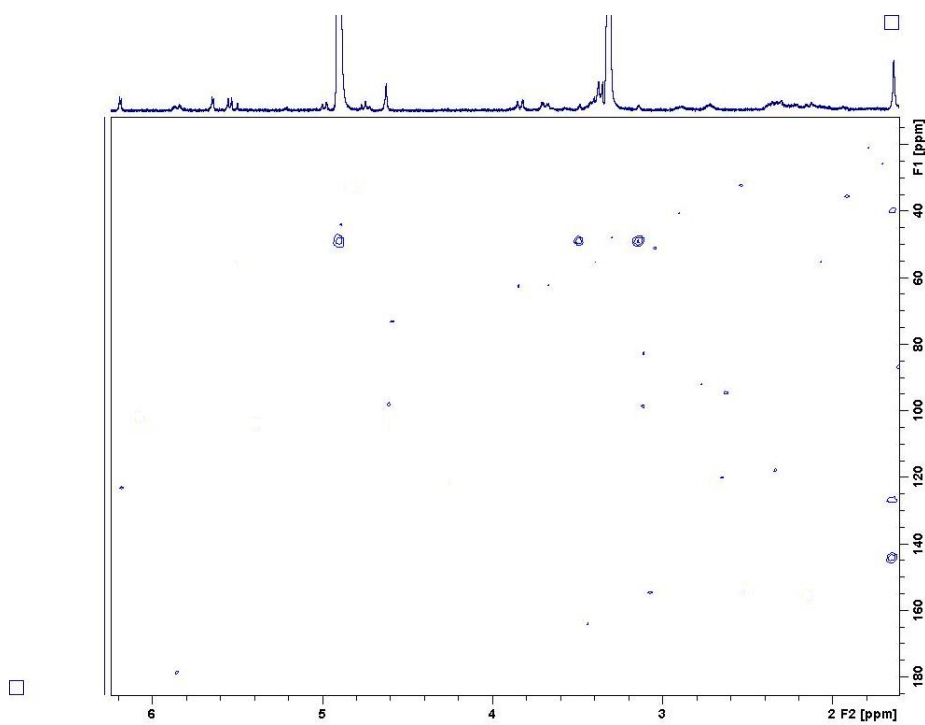
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας 4



Φάσμα COSY της ουσίας 4

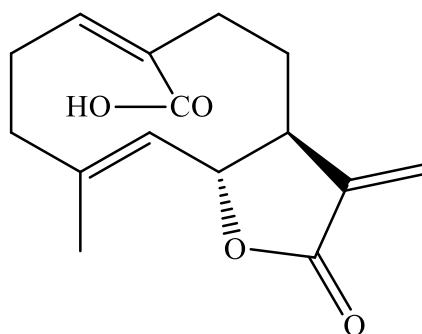


Φάσμα HSQC της ουσίας 4



Φάσμα HMBC ουσίας 4

Γ.Ι.5. Ουσία 5. Ταραξινικό οξύ [=10 μεθυλο-3 μεθυλενο-2 οξο-2,3a,4,5,8,9,11a-οκταυδροκυκλοδεκα[b]φουραν-6-καρβοξυλικό οξύ]



Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το φυτό *Taraxacum officinale* (Hansel et al., 1980) και *Taraxacum udum* (Michalska, 2001).

$[\alpha]_D$: - 30.00 (CHCl₃, c 0.06).

Η ουσία **5** απομονώθηκε ως, άχρωμο προϊόν και η δομή της προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων ¹H-NMR, COSY, HMBC, HSQC, καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων (Hansel et al., 1980, Kisiel et al., 2000, Michalska, 2001).

Από τα φάσμα ¹H-NMR συμπεραίνεται η ύπαρξη ενός δακτυλίου γερμακρανίου με δύο διπλούς δεσμούς στις θέσεις Δ¹⁽¹⁰⁾ και Δ⁴.

Είναι το άγλυκο τμήμα της ουσίας **4**. Συγκριτικά τα φάσματα εμφανίζουν ομοιότητες με μικρή θωράκιση των μεθυλενίων CH₂-9, CH₂-8, CH₂-3, CH₂-2, καθώς και των μεθινίων CH-7, CH-6, CH-5, CH-1, ενώ είναι φανερή η απουσία των σημάτων της γλυκόσης.

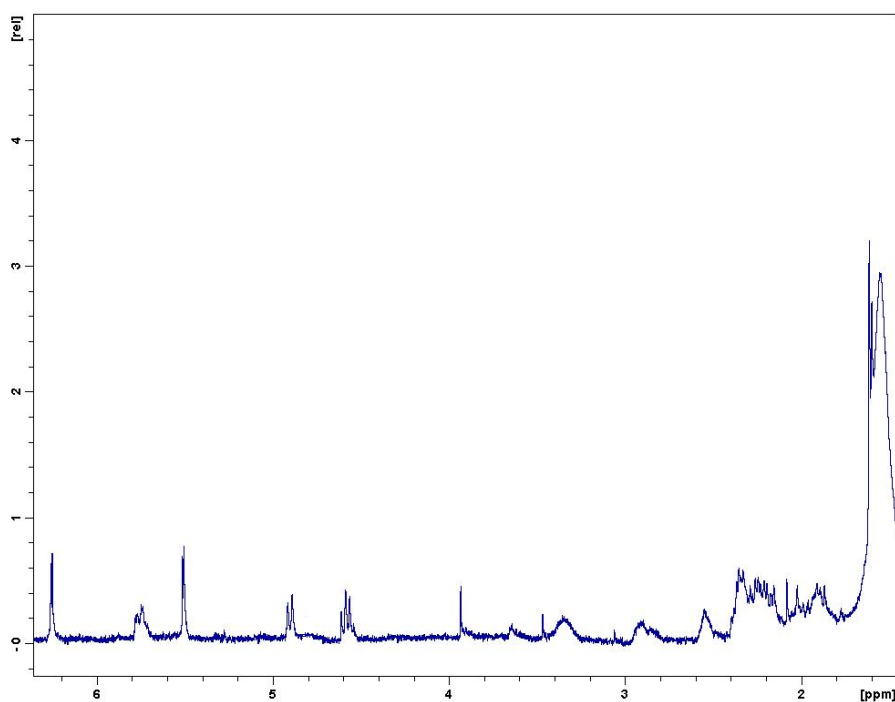
Στο φάσμα HMBC παρατηρούνται τα ακόλουθα:

- Το H-1 εμφανίζει διασταυρούμενο σήμα με το C-14 (δ_c 172.3)
- Τα CH₂-13 εμφανίζει διασταυρούμενο σήμα με το C-7 (δ_c 49.9)
- Το H-8a εμφανίζει διασταυρούμενο σήμα με το C-11 (δ_c 140.1)
- Τέλος επιβεβαιώνεται η θέση του μεθυλίου CH₃-15, που συνδέεται στον C-4 από τα διασταυρούμενα σήματα των πρωτονίων του με τους άνθρακες C-3, C-4 και C-5 σε δ_c 39.0, δ_c 125.5 και δ_c 142.2, αντιστοίχως, των οποίων οι θέσεις καθίστανται γνωστές από τα φάσματα COSY και HSQC.

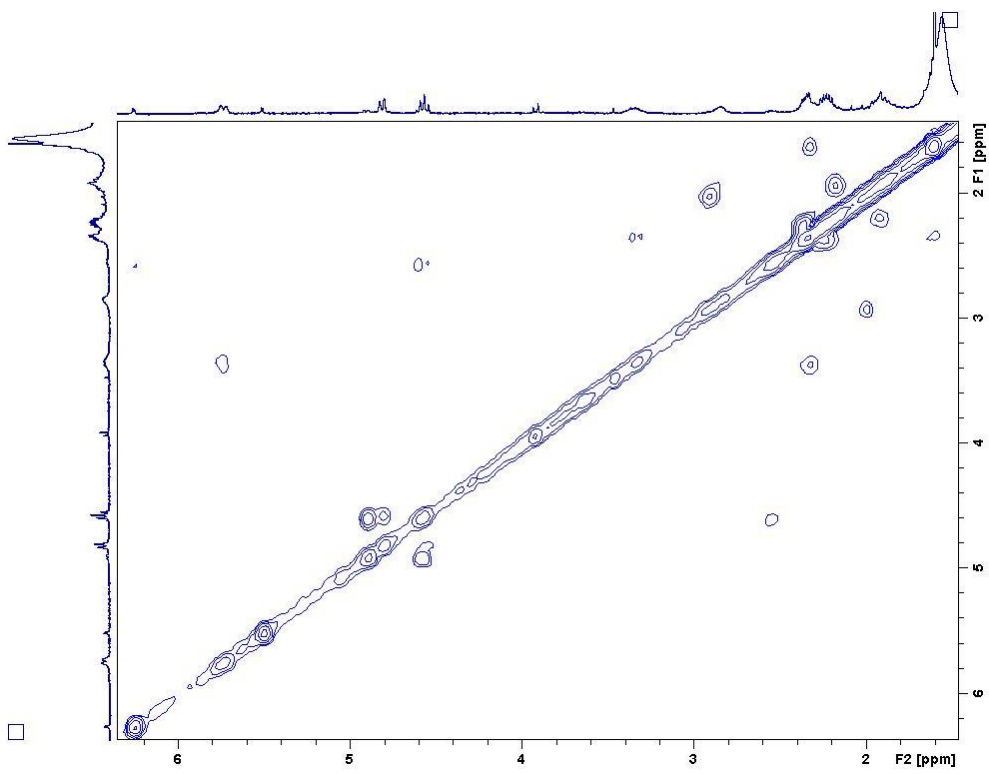
Πίν.5: Φασματοσκοπικά δεδομένα $^1\text{H-NMR}$ και $^{13}\text{C-NMR}$ της ουσίας **5** (CDCl_3 , 400MHz).

Θέση	δ_{C}^*	Τύπος	δ_{H}	Αριθμός H	Πολλαπλότητα	J (Hz)
1	149.4	CH	5.76	1	dd	11.9,3.2
2a	26.4	CH ₂	3.34	1	m	
2b			2.26	1		
3a	39.0	CH ₂	2.34	1	m	
3b			2.24	1		
4	142.2	C		1		
5	125.5	CH	4.98	1	d	9.9
6	81.7	CH	4.59	1	dd	9.9,9.3
7	49.9	CH	2.55	1		
8a	30.2	CH ₂	2.18	1	m	
8b			1.92	1		
9a	36.5	CH ₂	2.88	1	m	
9b			1.98	1	m	
10		C				
11	140.1	C				
12		C				
13a	119.6	CH ₂	6.25	1	d	3.4
13b			5.51	1	d	3.1
14	172.1	C				
15	16.1	CH ₃	1.61	3	s	

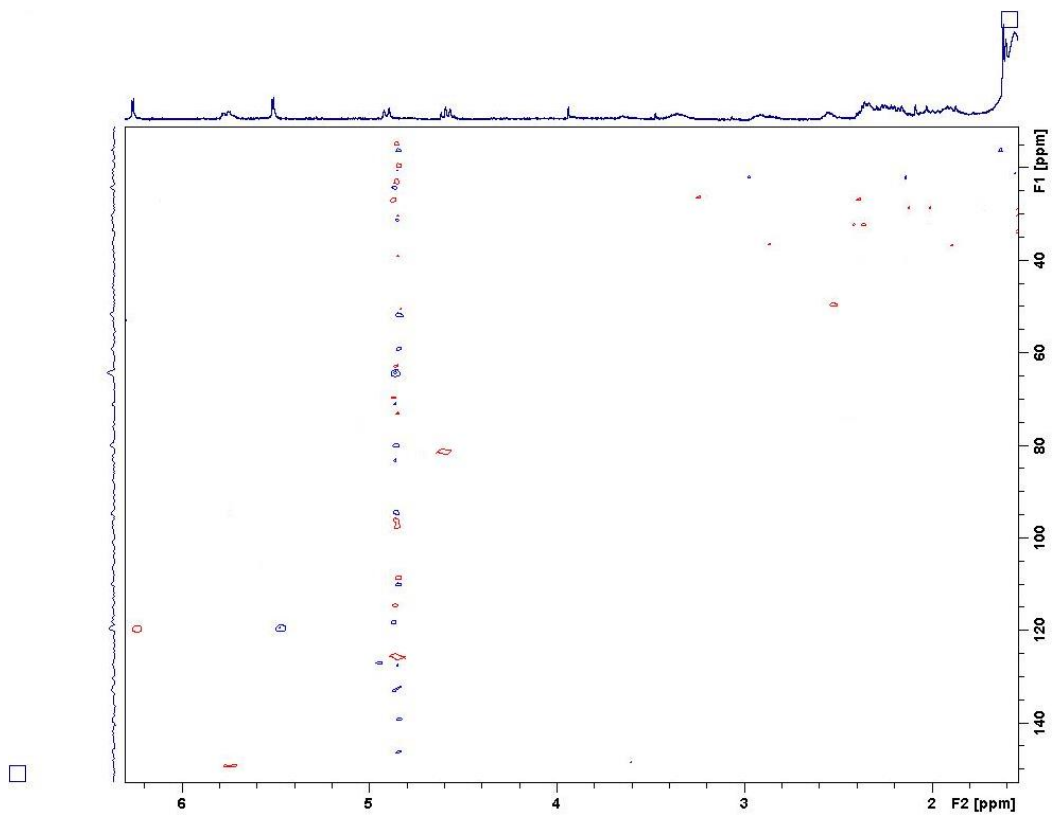
*Οι χημικές μετατοπίσεις των ανθράκων αποδόθηκαν από τα φάσματα HSQC και HMBC



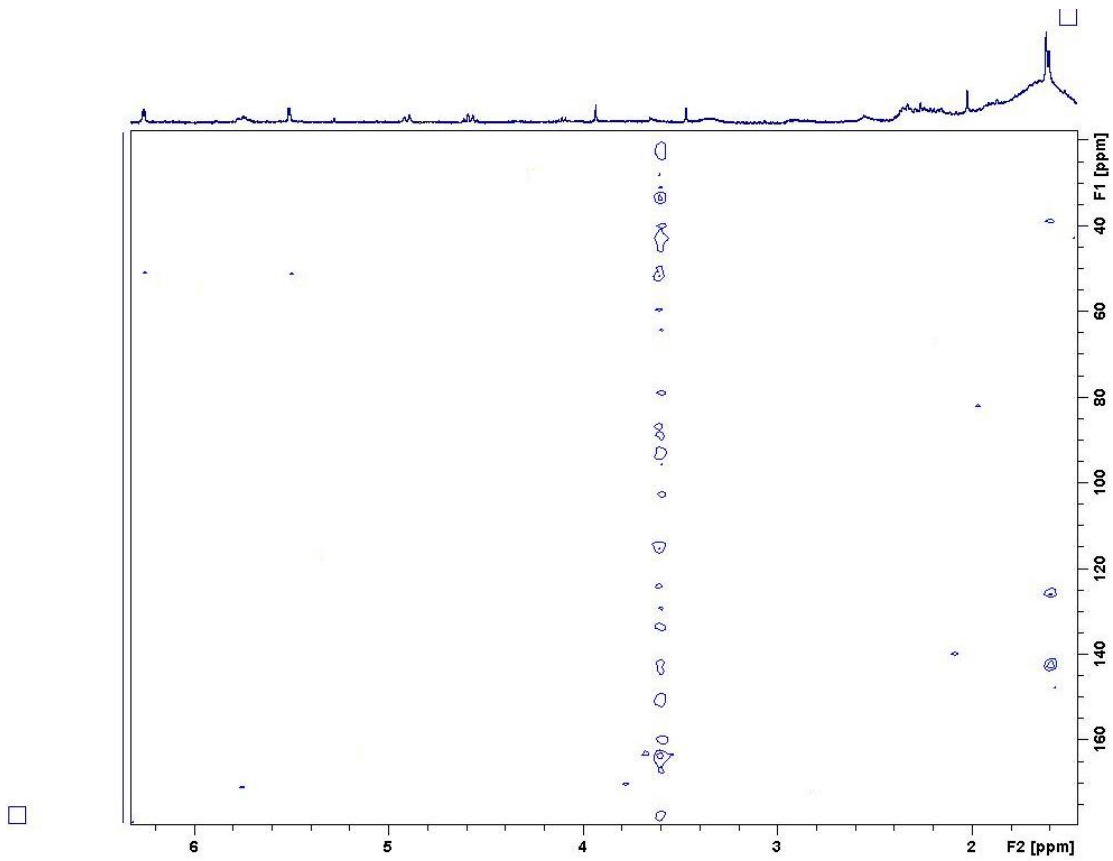
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **5**



Φάσμα COSY της ουσίας 5



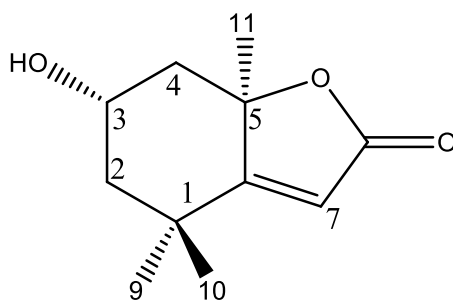
Φάσμα HSQC της ουσίας 5



Φάσμα HMBC της ουσίας **5**

Γ.ΙΙ. ΤΕΡΗΕΝΙΑ

Γ.ΙΙ.1 Ουσία 6: (3S, 5R)-λολιολίδιο



Η ουσία **6** απομονώθηκε ως ελαιώδες, άχρωμο προϊόν και προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$, COSY, $^{13}\text{C-NMR/DEPT}$ καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων με τα επιμερή του (Πίν. 6a) (Vizetto-Duarte et al., 2016, Hiraga et al., 1997, Paranhos Costa et al., 2016)

Το λολιολίδιο και τα επιμερή του, το 3-επιλολιολίδιο (3R, 5S) και το ισολολιολίδιο (3S, 5S), έχουν απομονωθεί από πληθώρα φυτικών εκχυλισμάτων και από θαλάσσιους οργανισμούς, όπως πχ. *Lolium perenne* (Hodges and Porte, 1964), *Arnica montana* (Holub et al., 1975), *Calendula officinalis* (Willuhn et al., 1986), *Euphorbia supine* (Tanaka et al., 1989), *Picris hieracioides* L. subsp. *hieracioides* (Kisiel et al., 1992), *Centaurea salmantica* (Fernandez et al., 1993) κλπ. Ανήκει στα νορ-ισοπρενοειδή.

Οι πιο συνηθισμένες δράσεις του είναι οι ακόλουθες: αντιπυρετική, αντικαταθλιπτική, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης, αγγειοδιασταλτική (Grabarczyk et al., 2015). Επίσης επιταχύνει την επούλωση των πληγών και χρησιμοποιείται για την θεραπεία της δυσεντερίας και της διάρροιας (Erosa-Rejón et al., 2009). Επιπλέον είναι ιδιαίτερα κυτταροτοξικό για την κυτταρική σειρά L5187Y και μειώνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του αδenoκαρκινώματος Caco-2, εκείνων του ρινοφαρυγγικού καρκινώματος KB και κυττάρων ποντικού P-338 της λυμφοκυτικής λευχαιμίας (Machado et al., 2012, Elkhayat et al., 2009). Εμφανίζει αντιβακτηριακή και αντιμυκητιασική δράση εναντίον των *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoea*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* και *Aspergillus niger* (Zajdel et al., 2012, Regasa et al., 2005). Έχει δειχθεί ότι έχει επίσης αντιμεταλλαξιγόνα δράση και ότι μπορεί να ισοροπήσει τα επίπεδα γλυκόσης στο αίμα (Hunyadi et al., 2012). Επιπροσθέτως, έχει βρεθεί ότι αναστέλλει

την ανάπτυξη παρασίτων στα μαρούλια, συνεισφέρει στην συγκέντρωση μεταβολιτών που σχετίζονται με την αντιμετώπιση των παθογόνων μικροοργανισμών στα φυτά και τέλος ότι δρα ως αποθητικό για τα μυρμήγκια *Atta cephalotes* (Grabarczyk et al., 2015).

$[\alpha]_D = -12.27$ (CHCl_3 , c 0.07)

Στην ολεφινική περιοχή του φάσματος πρωτονίου $^1\text{H-NMR}$ εμφανίζεται σε δ_{H} 5.67 ως μία απλή κορυφή το πρωτόνιο H-7. Το πρωτόνιο αυτό είναι αρκετά αποθωρακισμένο, λόγω της παρουσίας του λακτονικού καρβονυλίου και από το φάσμα COSY καθίσταται σαφές ότι βρίσκεται σε τεταρτοταγή άνθρακα (απουσία σήματος σύζευξης).

Σε δ_{H} 4.30 ως πενταπλή κορυφή ($J=3.6$ Hz) εμφανίζεται το πρωτόνιο H-3. Η τιμή δ_{H} του πρωτονίου αυτού υποδηλώνει την παρουσία οξυγονούχου ομάδος στον άνθρακα C-3. Το πρωτόνιο αυτό βρίσκεται σε σύζευξη με άλλα τέσσερα πρωτόνια (CH_2 -2, CH_2 -4) βάσει του spin συστήματος, που παρατηρείται στο φάσμα COSY.

Σε δ_{H} 2.43, ως διπλώς διπλή κορυφή ($J=2.4, 14.0$ Hz) εμφανίζεται το πρωτόνιο H-4a, ενώ σε δ_{H} 1.76 ως διπλώς διπλή κορυφή εμφανίζεται το πρωτόνιο H-4b ($J=4.2, 14.0$ Hz).

Τα πρωτόνια H-2a και H-2b εμφανίζονται σε δ_{H} 1.94 ως διπλώς διπλή κορυφή ($J=2.4, 2.8, 14.0$ Hz) και σε δ_{H} 1.51 ως διπλώς διπλή κορυφή ($J=3.6, 14.4$ Hz), αντίστοιχα.

Η απλή κορυφή σε δ_{H} 1.76 αντιστοιχεί στο μεθύλιο της θέσεως 11, ενώ οι άλλες δύο απλές κορυφές σε δ_{H} 1.44 και δ_{H} 1.24 αντιστοιχούν στα μεθύλια 10 και 9, αντίστοιχα.

Από το φάσμα $^{13}\text{C-NMR/DEPT}$ και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων αποδίδονται οι μεθυλικοί άνθρακες $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ -9, $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ -10, $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ -11 σε δ_{C} 30.9, δ_{C} 29.7 και δ_{C} 26.9 αντιστοίχως όπως και οι μεθυλενικοί άνθρακες $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -2 και $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -4 σε δ_{C} 47.3 και δ_{C} 45.8. Επίσης στο φάσμα σε δ_{C} 66.9 συντονίζεται ο μεθινικός άνθρακας της θέσης 3.

Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Vizetto-Duarte et al., 2016, Hiraga et al., 1997, Paranhos Costa et al., 2016) από τον πίνακα που ακολουθεί συμπεραίνεται ότι είναι η ουσία 6 είναι το (3S, 5R)-λολιολίδιο.

Πίν. 6a. Συγκριτικά φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR

		Λολιολίδιο	3-έπι-λολιολίδιο	Ισο-λολιολίδιο
Θέση	Τύπος	δ _H	δ _H	δ _H
2a	CH ₂	1.94	2.03	2.03
2b		<u>1.51</u>	1.33	1.33
3	CH	<u>4.30</u>	4.13	4.21
4a	CH ₂	<u>2.43</u>	2.53	2.55
4b		<u>1.76</u>	1.51	2.03
7	CH	5.67	5.70	5.71
9*	α-CH ₃	<u>1.44</u>	1.31	1.21
10*	β-CH ₃	1.24	1.26	1.23
11	CH ₃	<u>1.76</u>	1.58	1.59

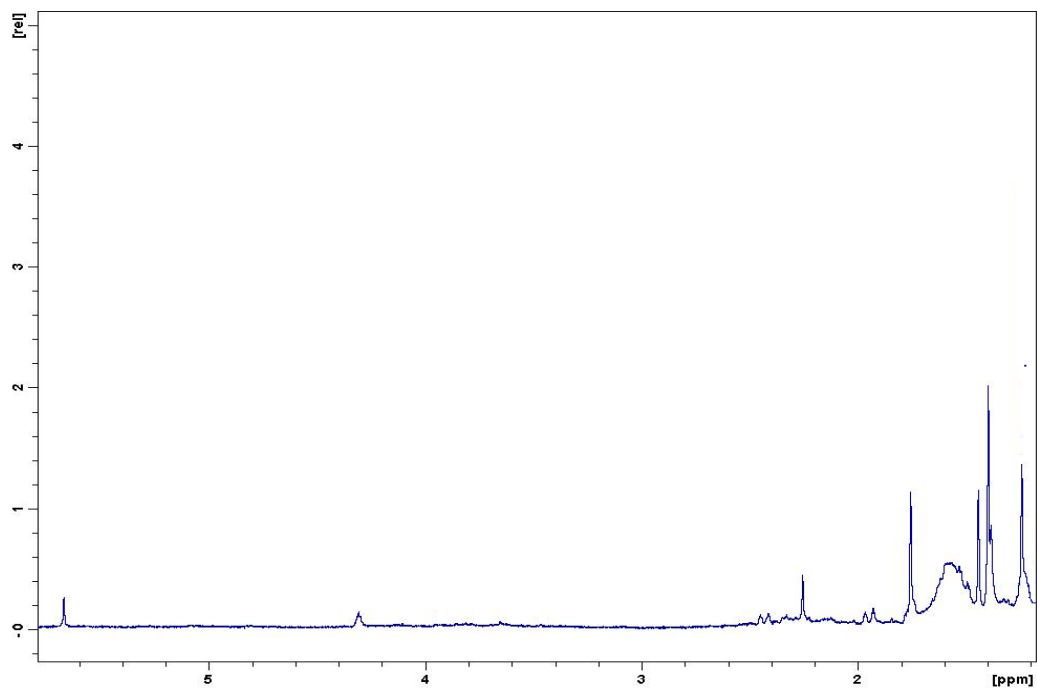
Πίν.6b: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR και ¹³C-NMR^a της ουσίας **6** (CDCl₃, 400MHz).

Θέση	δ _C	Τύπος	δ _H	Πολλαπλότητα, J(Hz)
2a	47.3	CH ₂	1.94	ddd (2.4, 14.0)
2b			1.51	dd (3.6, 14.4)
3	66.9	CH	4.30	q (J=3.6)
4a	45.8	CH ₂	2.43	ddd (2.4, 2.8, 14.0)
4b			1.76	dd (4.2, 14.0)
7	112.8	CH	5.67	s
9*	30.7**	α-CH ₃	1.44	s
10*	29.7	β-CH ₃	1.24	s
11	26.9	CH ₃	1.76	s

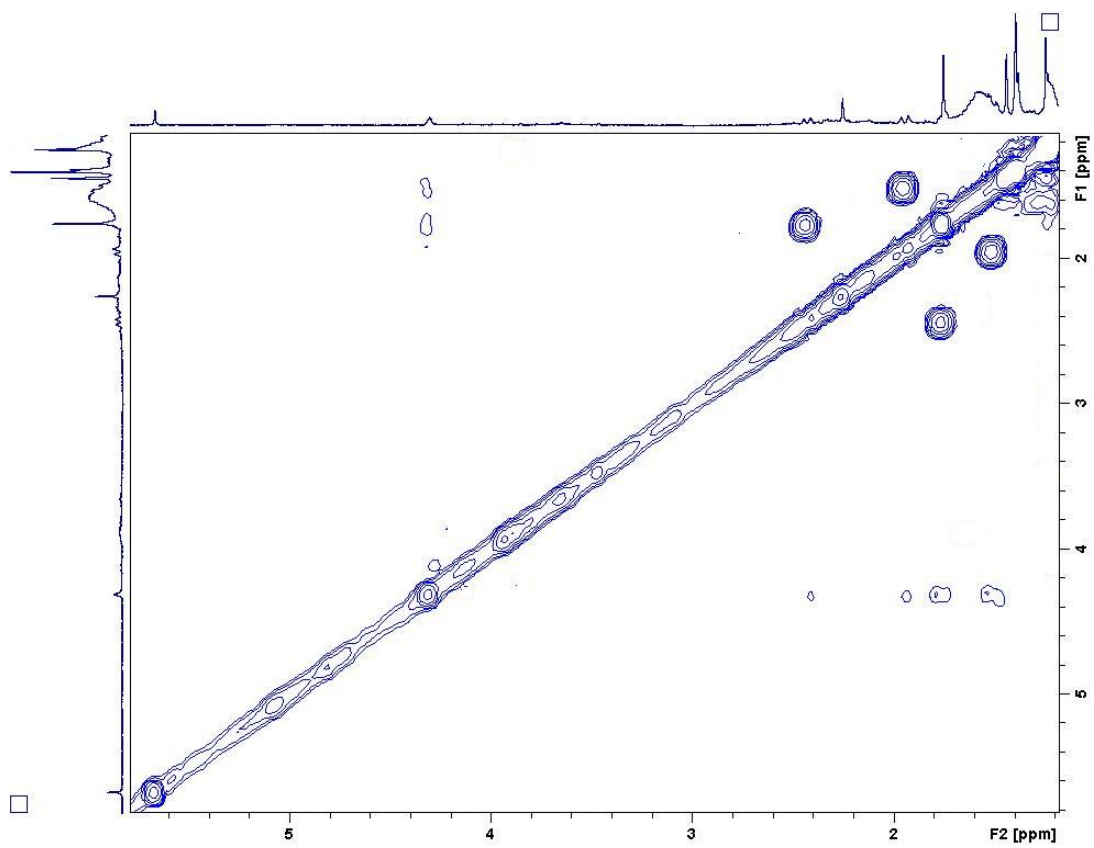
^a η απόδοση των τιμών έγινε βάσει του φάσματος ¹³C-NMR/DEPT

* η διάκριση των δυο μεθυλιών έγινε με βάση αυτές της βιβλιογραφίας

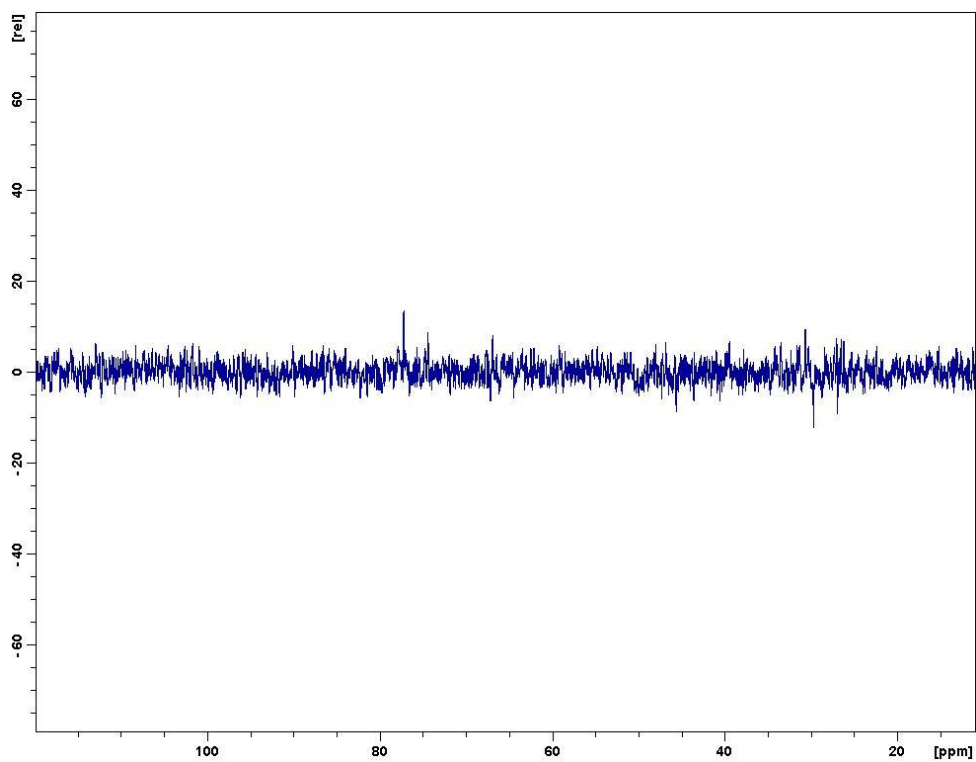
** πιθανόν και αντιστρόφως



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **6**

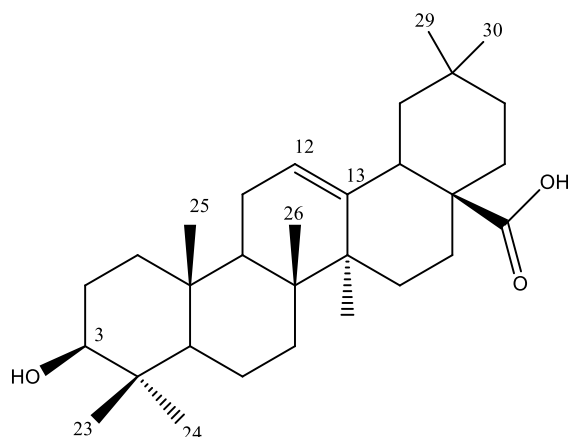


Φάσμα COSY της ουσίας **6**



Φάσμα ^{13}C -NMR/DEPT της ουσίας 6

Γ.Π.2. Ουσία 7. Ολεανολικό οξύ [=3β-υδροξυ-ολεα-12-εν-28-οϊκό οξύ]



Έχει απομονωθεί μόνο από το φυτόξανά στο γένος από το είδος *C. flexuosa* (Ledeb.) Benth. ex C.B. Clarke (Zhang et al., 2011) και από το *C. capillaris* (L.) Wallr (Kisiel & Janeczko, 1984).

Το ολεανολικό οξύ είναι ένα πεντακυκλικό τριτερπένιο, παράγωγο β-αμυρίνης, αποτελείται από 30 άτομα άνθρακα, που βιοσυντίθεται από την κυκλοποίηση του σκουλενίου. Εμφανίζεται ευρέως σε πολλά φυτά και τρόφιμα ως ελεύθερο οξύ ή ως άγλυκο πολλών τριτερπενικών σαπωνινών (Liu, 2005).

Τα φυτά που περιέχουν ολεανολικό οξύ έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην παραδοσιακή λαϊκή θεραπευτική ως ηπατοπροσταυτικά, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινικά, αντιμικροβιακά, αντιελκωτικά και αντιυπερλιπιδικά, ενώ παράλληλα δεν φαίνεται να εμφανίζει τοξικότητα σε *in vivo* μελέτες (Liu, 2005). Επίσης, το ολεανολικό οξύ *in vitro* έχει ασθενή αντι-HIV και αντι-HCV δράση (Mengoni et al., 2002)

$[\alpha]_D: + 6.00$ ($\text{CHCl}_3, c 0.03$).

Η δομή της ουσίας 7 προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων $^1\text{H-NMR}$, COSY, HMBC, HSQC, καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων (Seebacher et al., 2003).

Στο φάσμα $^1\text{HNMR}$ παρατηρούνται τα ακόλουθα σήματα:

- η χαρακτηριστική τριπλή κορυφή σε δ_{H} 5.25, που αντιστοιχεί στο ολεφινικό πρωτόνιο H-12

- μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ_H 3.22, που αντιστοιχεί στο οξυγονωμένο μεθίλιο της θέσης 3
- μια διπλώς διπλή κορυφή του πρωτονίου H-18 σε δ_H 2.79
- μια ευρεία απλή κορυφή σε δ_H 0.70 που αντιστοιχεί στο H-5
- επτά απλές κορυφές που ολοκληρώνουν για τρία πρωτόνια σε δ_H 1.10, 0.96, 0.90, 0.89, 0.88, 0.75, 0.72, που αντιστοιχούν στις μεθυλικές ομάδες : \underline{CH}_3 -29, \underline{CH}_3 -28, \underline{CH}_3 -27, \underline{CH}_3 -26, \underline{CH}_3 -25, \underline{CH}_3 -24 και \underline{CH}_3 -23, αντίστοιχα.

Στο φάσμα COSY παρατηρούνται τα ακόλουθα spin -συστήματα:

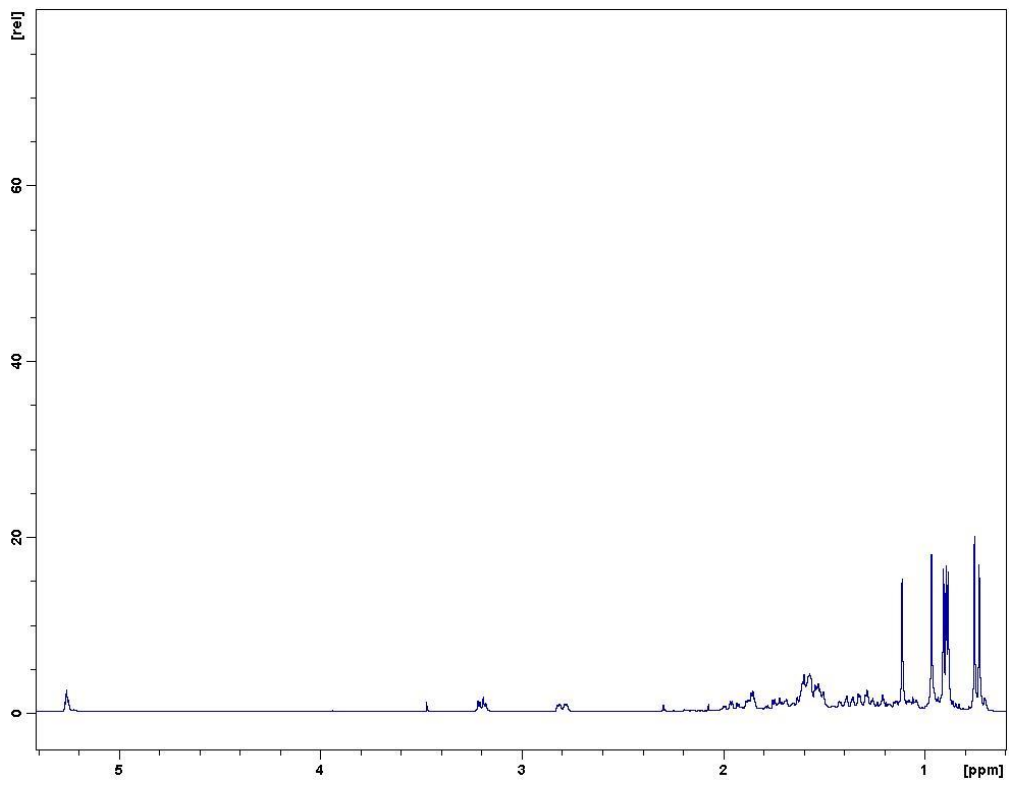
- H-3/ \underline{CH}_2 -2/ CH_2 -1, τα CH_2 -2 και CH_2 -1 εντοπίζονται στην αλειφατική περιοχή σε δ_H 1.66-1.58 ως πολλαπλές κορυφές
- H-5/ \underline{CH}_2 -6/ \underline{CH}_2 -7
- H-12/ \underline{CH}_2 -11/H-9, το μεθυλένο της θέσεως 11 εντοπίζεται σε δ_H 1.85, ενώ το H-9 σε δ_H 1.54
- H-18 / \underline{CH}_2 -19 σε δ_H 1.60 και δ_H 1.15, αντίστοιχα
- τέλος, τα πρωτόνια των μεθυλενίων των θέσεων 15, 16, 21 και 22 είναι επικαλυπτόμενα.

Η θέση των μεθυλίων επιβεβαιώθηκε από το φάσμα HMBC. Συγκεκριμένα :

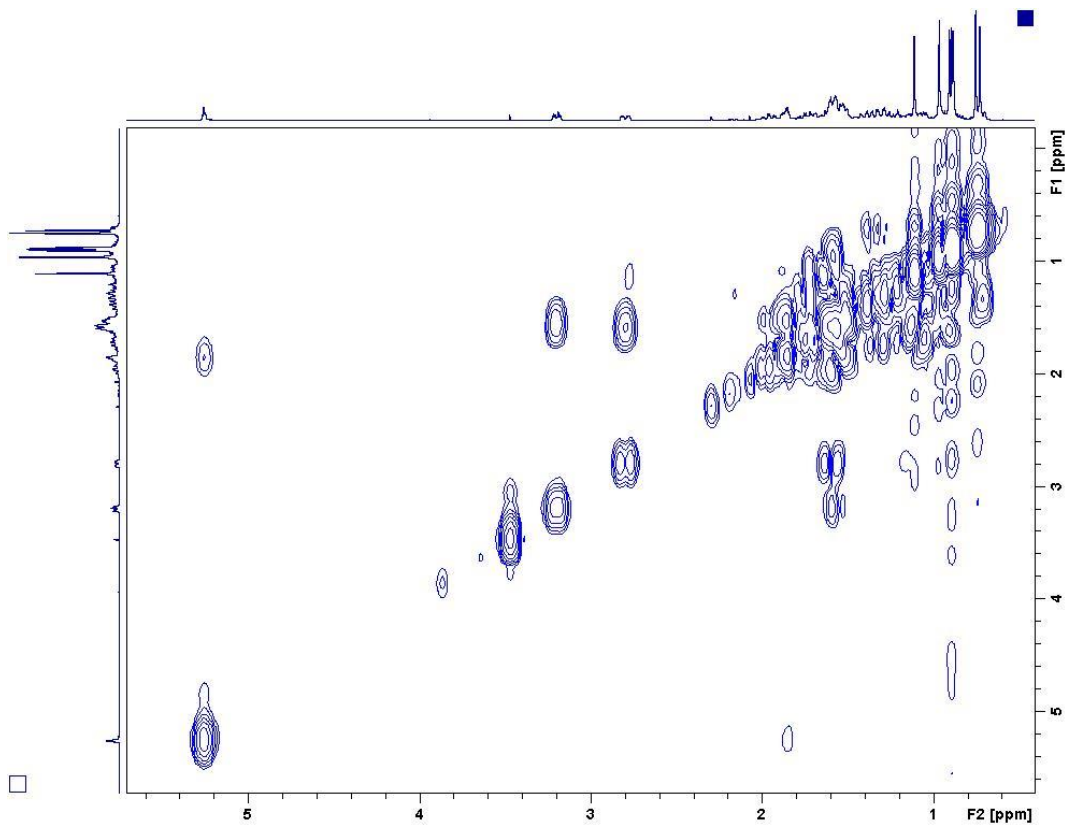
- οι απλές κορυφές των \underline{CH}_3 -23 και \underline{CH}_3 -24 σε δ_H 0.96 και δ_H 0.75 δίνουν διασταυρούμενα σήματα με τον C-3 (δ_C 78.5) με τον C-4 (δ_C 38.5) και C-5 (δ_C 55.3)
- το \underline{CH}_3 -25 δίνει διασταυρούμενα σήματα με το C-5, C-9 (δ_C 47.7 COSY/HSQC) και C-10 (δ_C 36.8)
- το \underline{CH}_3 -26 δίνει διασταυρούμενα σήματα με το C-9 με τον C-8 (δ_C 39.3) και C-7 (δ_C 32.6)
- το \underline{CH}_3 -27 δίνει διασταυρούμενα σήματα με το τεταρτοταγή C-13 (δ_C 143.6) το C-14 (δ_C 41.3) και με το C-15 (δ_C 28.0)
- τα \underline{CH}_3 -29 και \underline{CH}_3 -30 δίνουν διασταυρούμενα σήματα μεταξύ τους, με το τεταρτοταγή C-20 (δ_C 30.6) και το C-21 (δ_C 33.8)
- τέλος, το H-12 δίνει διασταυρούμενα σήματα με το C-14 και τον C-9, τα \underline{CH}_2 -1 με τον C-25 (δ_C 15.3), τον C-10 (δ_C 36.8), τον C-5 και τον C-3. Ενώ το διασταυρούμενο σήμα των \underline{CH}_2 -22 με το C-17 επιβεβαιώνει έμμεσα την πρόσδεση της καρβοξυλικής ομάδας στη θέση αυτή.

Πίν.7: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR και ¹³C-NMR της ουσίας **7** (CDCl₃, 400MHz).

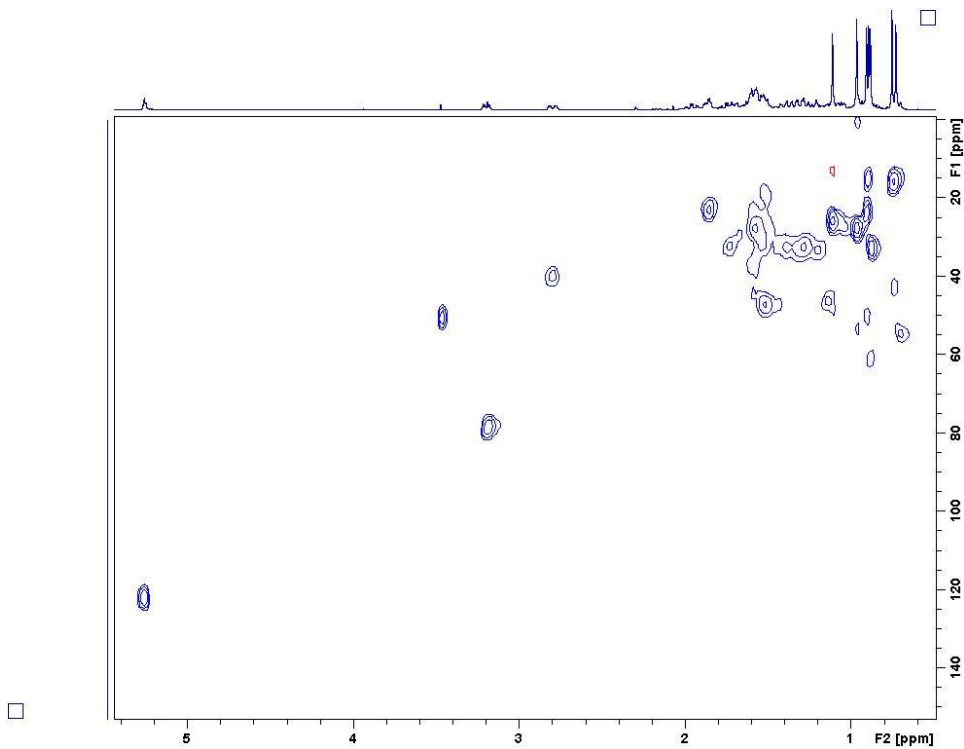
δ_C	δ_H	n°H	Πολλαπλότητα J (Hz)	Ταυτοποίηση
38.4	38.4	2	m	CH ₂ -1
27.1	27.1	2	m	CH ₂ -2
78.5	3.21	1	dd (10.2, 4.8)	CH-3
38.3	-	-	-	C-4
55.3	0.70		brs	CH-5
18.8	1.52	1	m	CH ₂ -6
	1.37	1	m	
32.6	1.18	1	m	CH ₂ -6
	1.44	1	m	
39.3	-	-	-	C-8
47.7	1.55	1	m	CH-9
36.8	-	-	-	C-10
23.1	1.85	2	m	CH ₂ -11
122.7	5.25	1	t (3.5)	CH -12
143.6	-	-	-	C-13
41.3	-	-	-	C-14
28.0	1.56	2	m	CH ₂ -15
22.3	1.90	2	m	CH ₂ - 16
45.8	-	-	-	C-17
40.6	2.79	1	dd (4.2,13.7)	CH -18
46.4	1.60	2	m	CH ₂ -19
	1.15			
30.6	-	-	-	C-20
33.8	1.65-1.48	2	m	CH ₂ -21
32.5	1.73	2	m	CH ₂ -22
	1.29			
27.8	0.72	3	s	CH ₃ -23
15.6	0.75	3	s	CH ₃ -24
15.3	0.88	3	s	CH ₃ -25
17.1	0.89	3	s	CH ₃ -26
25.8	0.90	3	s	CH ₃ -27
183.4	0.96	3		CH ₃ -28
32.9	1.10	3	s	CH ₃ -29
23.9	0.90	3	s	CH ₃ -30



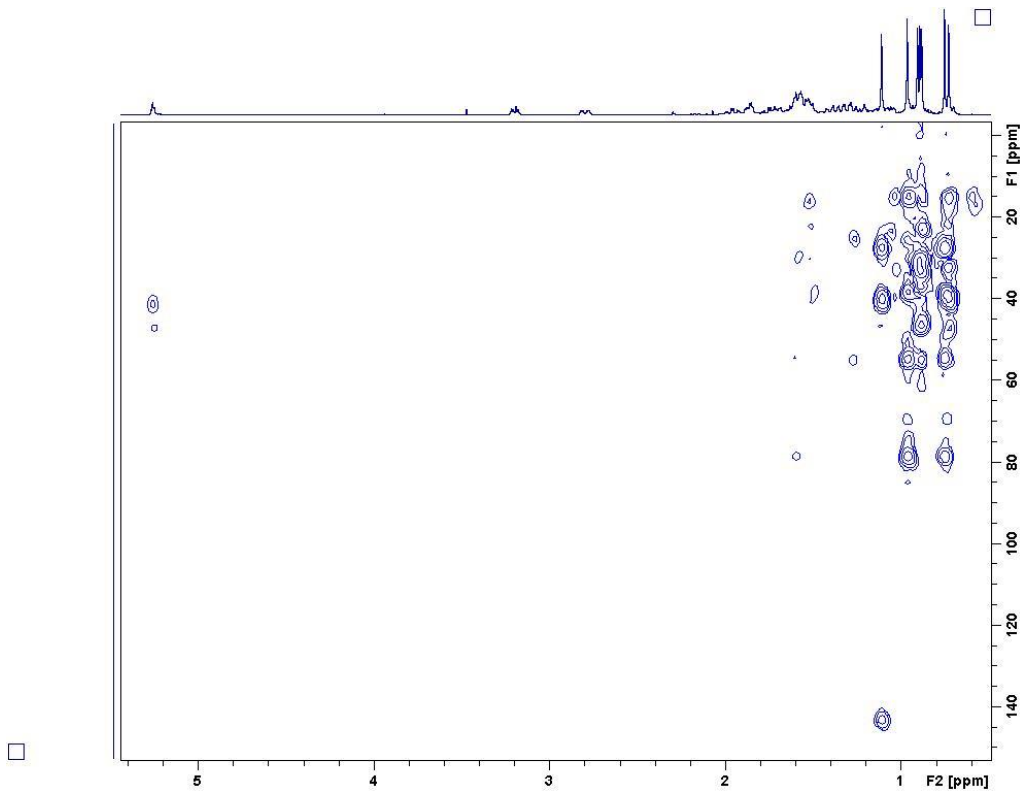
Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας 7



Φάσμα COSY της ουσίας 7

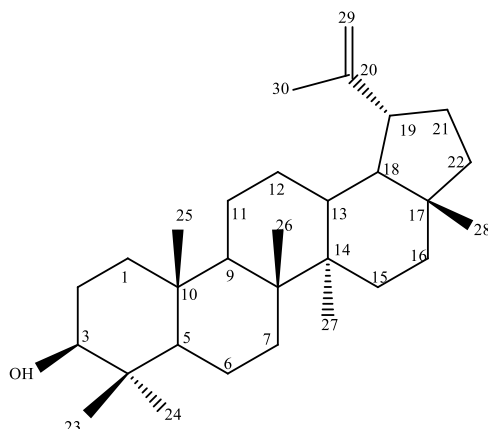


Φάσμα HSQC της ουσίας 7



Φάσμα HMBC της ουσίας 7

Γ.ΙΙΙ.3. Ουσία 8. Λουπεόλη [=3a,5a,5b,8,8,11a-εξαμεθυλο-1-προπ-1-εν-2-υλο-1,2,3,4,5,6,7,7a,9,10,11,11b,12,13,13a,13b-εξαδεκαϋδροκυκλοπεντα[α]χρυσεν-9-όλη]



Η λουπεόλη είναι ένα κοινό τριτερπένιο, απαντάται σε πολλά λαχανικά και φρούτα, όπως η πιπεριά, η ντομάτα, η ελιά, οι φράουλες, κ.ά., καθώς και σε θεραπευτικά φυτά όπως το *Panax quinquefolius* L., το *Zanthoxylum riedelianum* Engl, κ.ά. (Salem, 2010). Στο γένος *Crepis* L. έχει απομονωθεί από το *C. napifera* (Franch.) Babç. (Yae et al., 2009). Το μόριο έχει μελετηθεί φαρμακολογικά αποδίδοντας του αντιπρωτοζωικές, αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και χημειοπροστατευτικές ιδιότητες (Salem, 2010).

Η ουσία απομονώθηκε ως άχρωμο προϊόν και η δομή της ουσίας **8** προσδιορίστηκε μέσω των φασμάτων ¹H-NMR, COSY, HSQC καθώς και με σύγκριση των βιβλιογραφικών δεδομένων (Mahato & Kundu, 1994).

[α]_D: + 3.20 (CHCl₃, c 0.12).

Στο φάσμα ¹HNMR παρατηρούνται τα ακόλουθα σήματα:

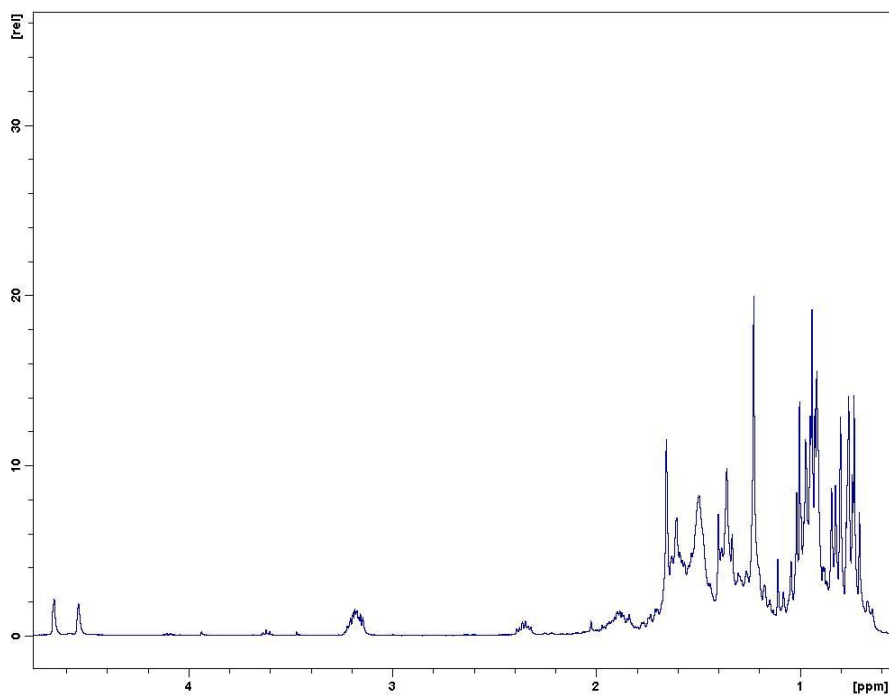
- οι χαρακτηριστικές διπλές κορυφές σε δ_H 4.66 και δ_H 4.66, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια του διπλού δεσμού θέσης 29 (δ_C 109.8/HSQC)
- μια πολλαπλή κορυφή σε δ_H 3.18, που αντιστοιχεί στο οξυγονωμένο μεθίνιο της θέσης 3 (δ_C 78.2/HSQC)
- επτά απλές κορυφές που ολοκληρώνουν για τρία πρωτόνια σε δ_H 0.96, 0.78, 0.83, 0.95, 1.05, 0.90, 1.66 που αντιστοιχούν στις μεθυλικές ομάδες :CH₃-23, CH₃-24, CH₃-25, CH₃-26, CH₃-27, CH₃-28 και CH₃-30, αντίστοιχα.

Τέλος στο φάσμα COSY παρατηρούνται τα ακόλουθα spin -συστήματα: H3/H-2a/H-2b/ H-1. Τα CH₂-2 σε δ_H 1.61 - 1.54 και τα CH₂-1 δ_H 1.83-1.52 εντοπίζονται στην αλειφατική περιοχή.

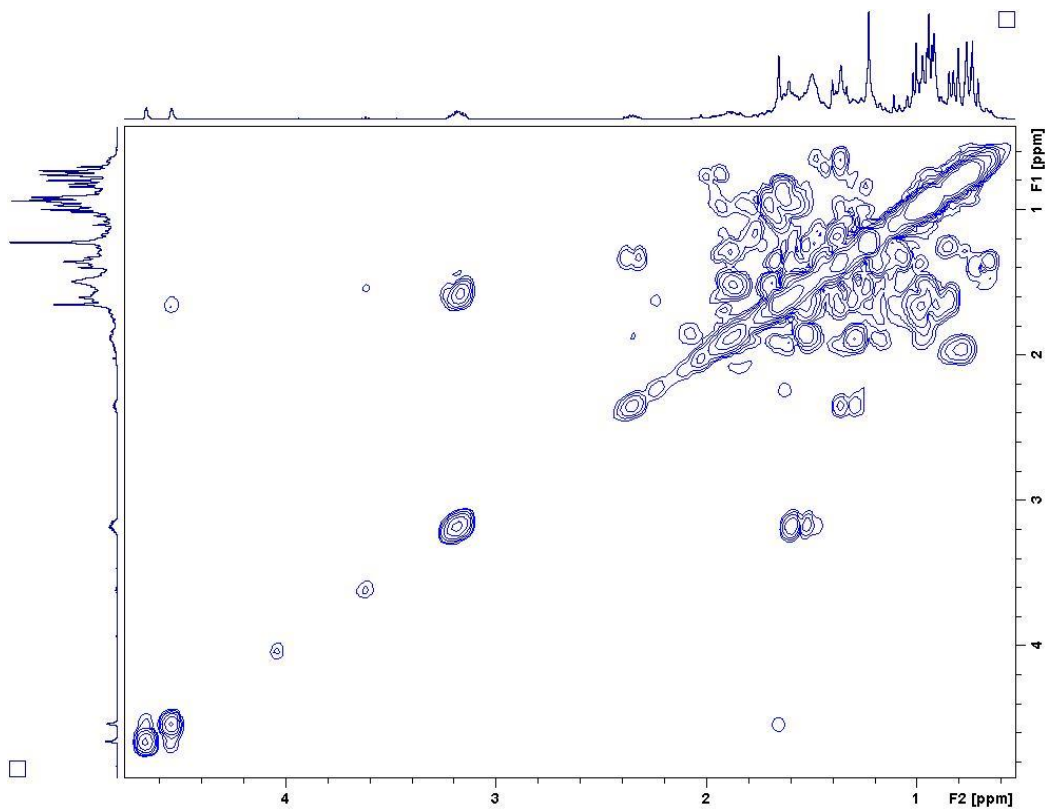
Πίν.8: Φασματοσκοπικά δεδομένα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **8** (CDCl_3 , 400MHz).

δ_C	δ_H	$n^\circ\text{H}$	Πολλαπλότητα J(Hz)	Ταυτοποίηση
28.2	0.96*	3	s	CH_3 -23
16.0	0.78*	3	s	CH_3 -24
16.8	0.83*	3	s	CH_3 -25
16.4	0.95*	3	s	CH_3 -26
15.1	1.05*	3	s	CH_3 -27
18.0	0.90*	3	s	CH_3 -28
19.5	1.66*	3	s	CH_3 -30
109.8	4.66	1	d, (2.4 Hz)	H-29a
	4.55	1	d, (2.4 Hz)	H-29b
78.2	3.18	1	m	CH -3

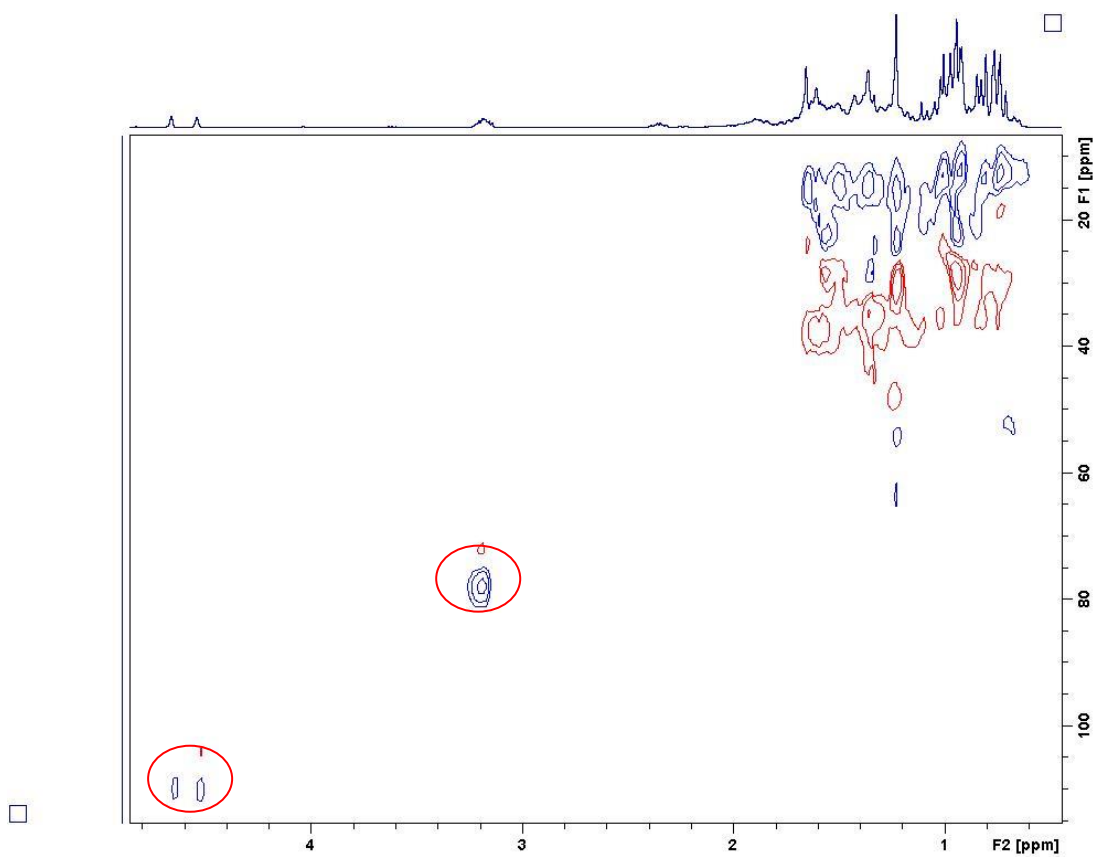
* η διάκριση των μεθυλίων έγινε με βάση αυτές της βιβλιογραφίας



Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **8**



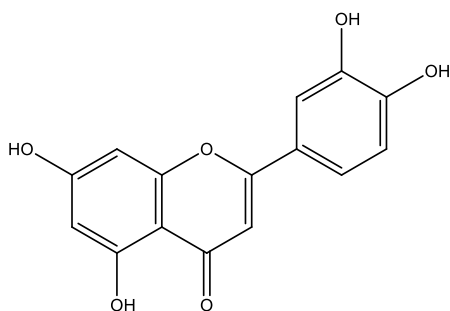
Φάσμα COSY ουσίας **8**



Φάσμα HSQC της ουσίας **8**

Γ.ΙΙΙ. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

Γ.ΙΙΙ.1. Ουσία 9: 5, 7, 3',4'-τετραϋδροξυφλαβόνη (λουτεολίνη)



Η ουσία **9** ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε ως λουτεολίνη, κατόπιν φασματοφωτομετρικής και φασματοσκοπικής μελέτης.

Η λουτεολίνη είναι μια κοινή φλαβόνη, ευρέως διαδεδομένη σε όλο το φυτικό βασίλειο. Πολλές βιολογικές δράσεις αποδίδονται στη λουτεολίνη, όπως αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης και αντιμικροβιακή δράση, ενώ σύμφωνα με μελέτες *in vivo* σε πειραματόζωα φαίνεται ότι η λουτεολίνη μπορεί να αναστείλει την αγγειογένεση, να μειώσει την αύξηση όγκων και να τους ευαισθητοποιήσει σε ορισμένα αντικαρκινικά φάρμακα (López-Lázaro, 2009). Η λουτεολίνη θεωρείται αποτελεσματική στη βελτίωση της σκλήρυνσης κατά πλάκας, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της εγκεφαλικής ισχαιμίας (Verbeek et al., 2005).

Έχει ήδη αναφερθεί στα περισσότερα είδη *Crepis* L. (βλ. Δρογοχημεία).

Η ουσία στο υπεριώδες φως (λ 360 nm) στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας του εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία μετά εμφάνιση με το αντιδραστήριο Neu εμφανίζει κίτρινο φθορισμό (λ 254 nm).

Από την υψηλή τιμή Rf στο διαλύτη TBA (0.77) και την πολύ μικρή Rf στο διαλύτη AcOH-15 (0.04), συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γενίνης.

Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα υπεριώδους-ορατού) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τα ακόλουθα μέγιστα (nm):

	Κορυφή II		Κορυφή I		
			Ib	Ia	Δλ (Ia)
MeOH	256, 267			349	
MeONa	272		328sh	398↑	+49
AlCl ₃	274	296 sh		425	+76
AlCl ₃ /HCl	271	294 sh	355	386	+37
NaOAc	268 (Δλ: +12)		325sh	380	
NaOAc/H ₃ BO ₃	258, 268			367	+18

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (349 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 49 nm της I κορυφής με αύξηση της εντάσεώς της κατόπιν προσθήκης MeONa.

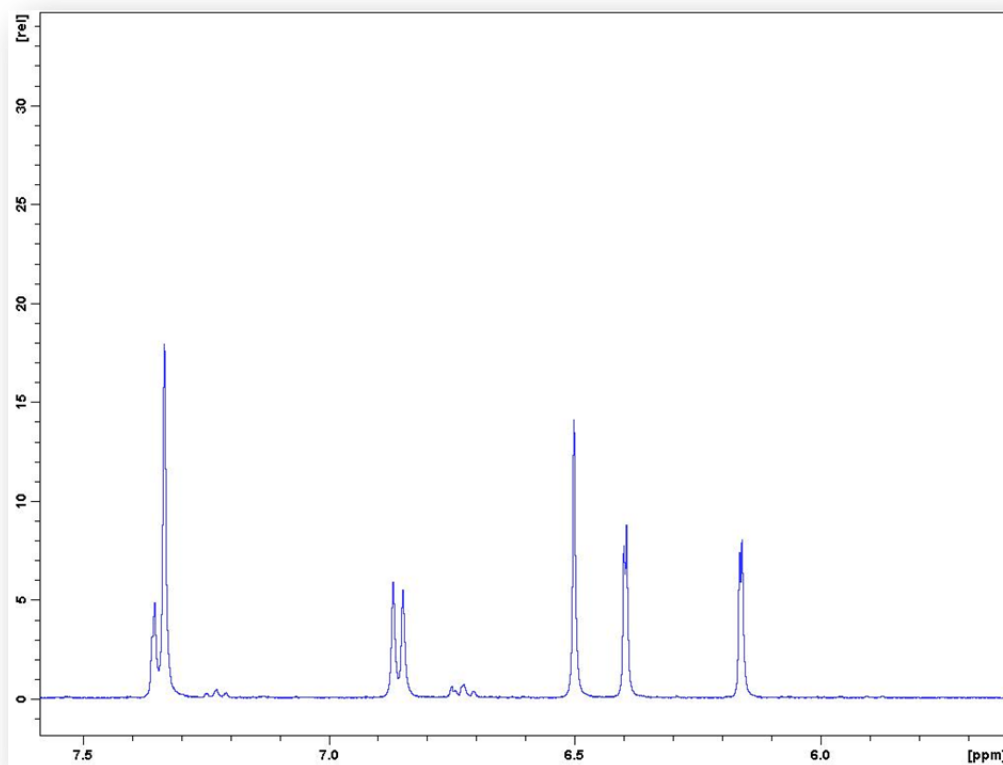
Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 76 nm της πρώτης κορυφής I μετά την προσθήκη AlCl_3 οφείλεται στην παρουσία ενός σταθερού συμπλόκου στην επίδραση του π. HCl, που σχηματίζεται μεταξύ της κετονομάδας της θέσεως 4 και του -OH της θέσεως 5, καθώς και στην παρουσία ενός ασταθούς συμπλόκου στην επίδραση του π. HCl, που σχηματίζεται μεταξύ των ορθο-υδροξυλίων των θέσεων 3' και 4', όπως αποδεικνύεται από την υψιχρωμική μετατόπιση κατά 37 nm της κορυφής I στο φάσμα AlCl_3/HCl σε σχέση με το φάσμα AlCl_3 . Στο φάσμα με NaOAc παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά +12 nm, επομένως το -OH της θέσεως 7 είναι ελεύθερο. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +18 nm μετά την προσθήκη NaOAc/ H_3BO_3 υποδηλώνει την παρουσία συστήματος ο-OH στον B δακτύλιο.

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

- Μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ_{H} 7.40, που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2' και H-6'.
- Μια διπλή κορυφή σε δ_{H} 6.90, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-5', με μεγάλη σταθερά σύζευξης (ορθο-σύζευξη με το γειτονικό του πρωτόνιο H-6').
- Μια διπλή κορυφή σε δ_{H} 6.44, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-8, με μικρή σταθερά σύζευξης (μετα-σύζευξη με το πρωτόνιο H-6)
- Μια διπλή κορυφή σε δ_{H} 6.21, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6, με μικρή σταθερά σύζευξης (μετα-σύζευξη με το πρωτόνιο H-8)
- Μια απλή κορυφή σε δ_{H} 6.55, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3.

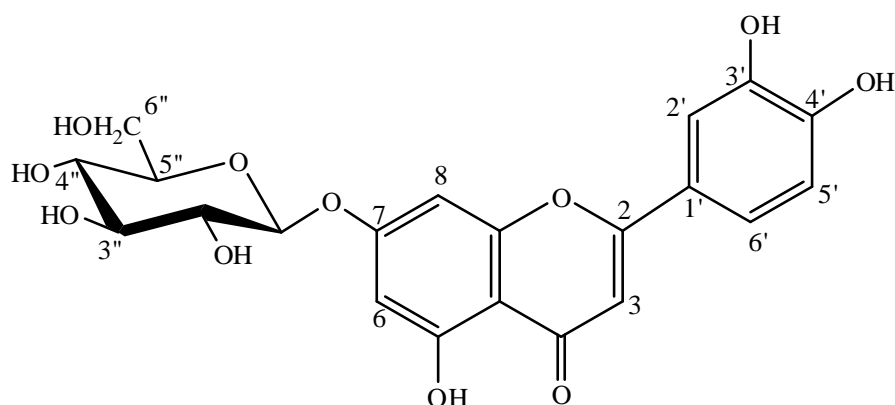
Πίν. 9. $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **9** (CD_3OD , 400MHz)

δ (ppm)	$n^\circ \text{H}$	Πολλαπλότητα J(Hz)	Ταυτοποίηση
7.40	2	dd (J=8.0, 1.9)	H-2', H-6'
6.90	1	d (J=8.0)	H-5'
6.55	1	s	H-3
6.44	1	d (J=2.0)	H-8
6.21	1	d (J=2.0)	H-6



φάσμα $^1\text{H-NMR}$ της ουσίας **9**

Γ.ΙΙΙ.2. Ουσία 10: λουτεολινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης



Έχει ήδη αναφερθεί στα περισσότερα είδη *Crepis* L. (βλ. Δρογοχημεία).

Η ουσία **10** απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοφωτομετρικής και φασματοσκοπικής μελέτης.

Σκοτεινή κηλίδα σε υπεριώδες φως μήκους κύματος λ 366 nm, χρώση με το αντιδραστήριο Neu (λ 254nm): κίτρινη.

Από τις τιμές Rf στο διαλύτη TBA (0.40) και στο AcOH-15 (0.20), συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για μονογλυκοσίδη.

Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (λήψη φασμάτων υπεριώδους-ορατού) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τα ακόλουθα μέγιστα (nm):

	Κορυφή II			Κορυφή I		
	Ib	Ia		Ib	Ia	$\Delta\lambda$ (Ia)
MeOH	253 sh	267		348		
MeONa	258	267	306 sh	386 \uparrow	+38	
AlCl ₃		272	290 sh	422	+74	
AlCl ₃ /HCl		268	291 sh	366sh	388	+40
NaOAc	257 sh	268		352sh	408	
		($\Delta\lambda$:+1)				
NaOAc/H ₃ BO ₃	258 sh	264		372	+24	

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (348 nm) φαίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 38 nm της I κορυφής με αύξηση της εντάσεώς της μετά προσθήκη MeONa.

Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, εφόσον παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 1 nm ($\Delta\lambda < 5$ nm) της κορυφής II μετά από την προσθήκη NaOAc. Μετά την προσθήκη με $AlCl_3$ παρατηρείται μεγάλη βαθυχρωμική μετατόπιση, που οφείλεται αφενός μεν στην παρουσία σύστηματος ο-OH στον Β δακτύλιο, με το οποίο σχηματίζεται σύμπλοκο ασταθές στην περαιτέρω προσθήκη π. HCl (οπότε παρατηρείται στο επόμενο ακριβώς φάσμα υψιχρωμική μετατόπιση κατά 34 nm) και αφετέρου στο σχηματισμό συμπλόκου ανάμεσα στο -OH της θέσης 5 και της κετονομάδας της θέσης 4, το οποίο παραμένει σταθερό μετά την προσθήκη του π. HCl. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +24nm μετά την προσθήκη NaOAc/ H_3BO_3 υποδηλώνει την παρουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο

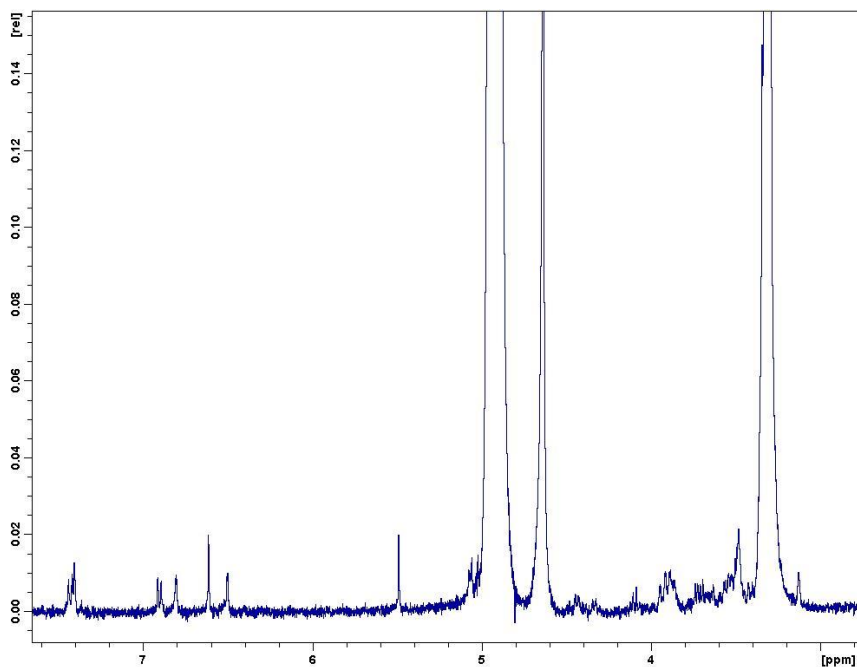
Από την μελέτη των φασμάτων 1H -NMR και COSY πήραμε τα κάτωθι σήματα:

- Μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ_H 7.42, που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2' και H-6'.
- Μια διπλή κορυφή σε δ_H 6.91, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-5', το οποίο στο φάσμα COSY δίνει σήμα με το γειτονικό του H-6'.
- Μια διπλή κορυφή σε δ_H 6.80, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-8, με μικρή σταθερά σύζευξης λόγω του πρωτονίου το H-6, που βρίσκεται σε μετα-θέση.
- Μια απλή κορυφή σε δ_H 6.61, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3.
- Μια διπλή κορυφή σε δ_H 6.49, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6.
- Μια διπλή κορυφή σε δ_H 5.05, που αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο H-1''.
- Μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ_H 3.54, που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2'' (φάσμα COSY), με μεγάλες σταθερές σύζευξης χαρακτηριστικές της γλυκόσης.
- Δύο διπλώς διπλές κορυφές σε δ_H 3.95 και 3.71, που αντιστοιχούν στα δίδυμα πρωτόνια της θέσης 6 της γλυκόσης (φάσμα COSY).
- Από δ_H 3.63 έως 3.52 εμφανίζονται τα υπόλοιπα σήματα της γλυκόσης, αλληλεπικαλυπτόμενα.

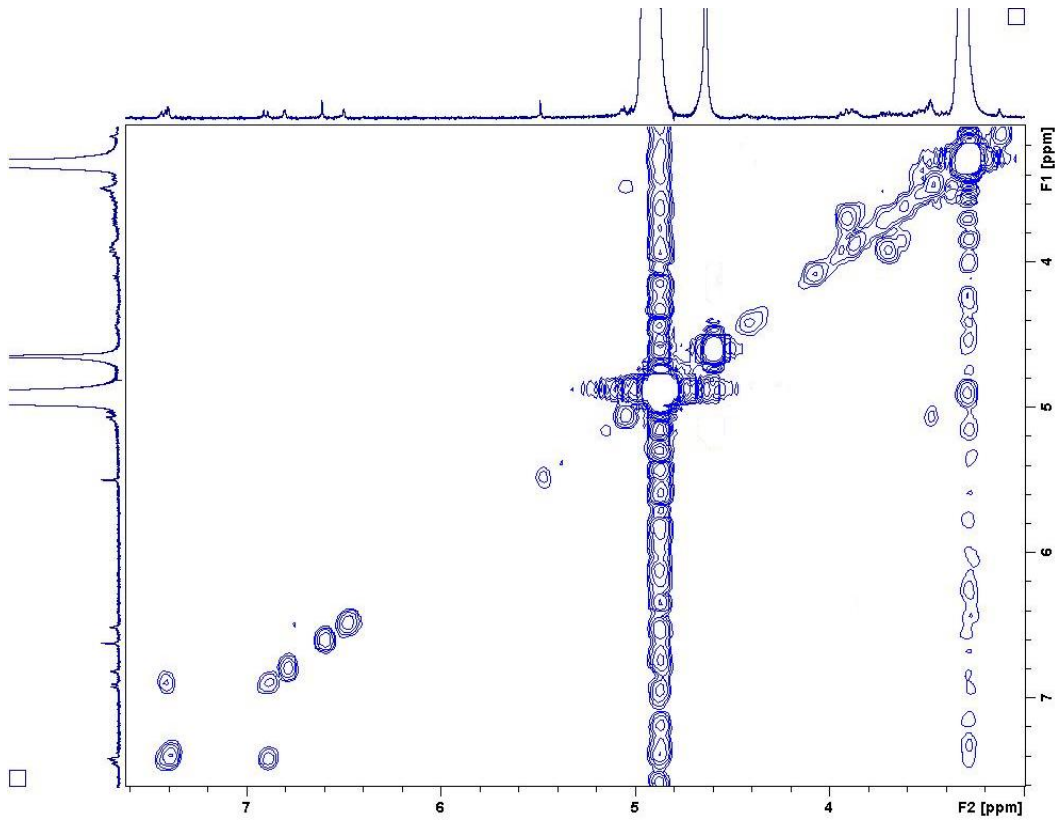
Πίν.10: ¹H-NMR ουσίας **10** (CD₃OD, 400MHz)

δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
Αγλυκο			
7.42	2	<i>dd</i> (J = 8.8, 1.3)	H-2', H-6'
6.91	1	<i>d</i> (J = 8.8)	H-5'
6.80	1	<i>d</i> (J = 1.4)	H-8
6.61	1	<i>s</i>	H-3
6.49	1	<i>d</i> (J = 1.4)	H-6
Γλυκόση			
5.05	1	<i>d</i> (J = 7.6)	H-1''
3.46	1	<i>dd</i> (J = 8.0, 7.5)	H-2''
3.52	1	*	H-3''
3.63	1	*	H-4''
3.62	1	*	H-5''
3.95	1	<i>dd</i> (J = 11.9, *)	H-6a''
3.71	1	<i>dd</i> (J = 11.9, 5.4)	H-6b''

*: επικαλυπτόμενα σήματα

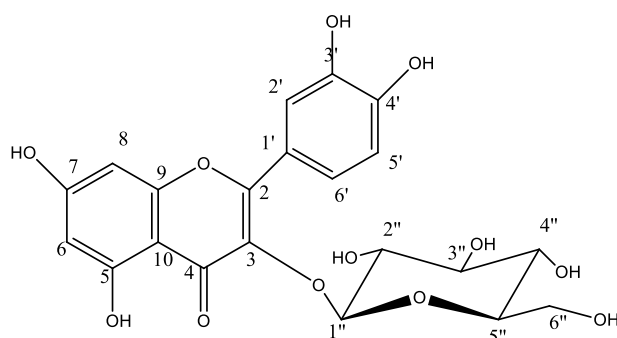


Φάσμα ¹H- NMR της ουσίας **10**



Φάσμα COSY της ουσίας **10**

Γ.ΙΙΙ.3. Ουσία 11: κερκετινο-3-O-β-D-γλυκοσίδη= ισοκερκιτρίνη



Δεν έχει αναφερθεί μέχρι τώρα στο γένος *Crepis* L.

Η ουσία **11** απομονώθηκε ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοφωτομετρικής και φασματοσκοπικής μελέτης.

Σκοτεινή κηλίδα σε υπεριώδες φως (λ 366 nm), η οποία με το αντιδραστήριο Neu (λ 254nm) εμφανίζεται κιτρινο-πορτοκαλόχροη.

Από τις τιμές Rf στο διαλύτη Partridge (0.56) και AcOH-15 (0.30), συμπεραίνουμε ότι πρόκειται για μονογλυκοσίδη.

Κατά την φασματοφωτομετρική εξέταση της ουσίας (φάσματα υπεριώδους-ορατού) ελήφθησαν χαρακτηριστικές καμπύλες με τις ακόλουθες μέγιστες απορροφήσεις (nm):

	Κορυφή II		Κορυφή I		Δλ (Ia)
MeOH	258	268sh	353		
MeONa	271	311	401 ↑		+48
AlCl ₃	274	305sh	433		+80
AlCl ₃ / HCl	267	300	345, 400		+37
NaOAc	268 (Δλ=+9)		396		
NaOAc / H ₃ BO ₃	268	301sh	386, 398sh		+33

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (353 nm), συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβονόλες. Η σκοτεινή χροιά στο υπεριώδες, καθώς και η έλλειψη αποσύνθεσης στο φάσμα με μεθανολικό νάτριο επιβεβαιώνουν ότι το -OH της θέσης 3 είναι δεσμευμένο. Η βαθυχρωμική και υπερχρωμική μετατόπιση της πρώτης κορυφής με προσθήκη μεθανολικού νατρίου, κατά +48 nm, δείχνει ότι -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο. Μετά την προσθήκη με

AlCl₃ παρατηρείται μεγάλη βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +80 nm, που οφείλεται αφενός μεν στην παρουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο, με το οποίο σχηματίζεται σύμπλοκο ασταθές στην περαιτέρω προσθήκη π. HCl (οπότε παρατηρείται στο επόμενο ακριβώς φάσμα υψιχρωμική μετατόπιση κατά 33 nm) και αφετέρου στο σχηματισμό συμπλόκου ανάμεσα στο -OH της θέσης 5 και της κετονομάδας της θέσης 4, το οποίο παραμένει σταθερό μετά την προσθήκη του π. HCl. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά +33 nm μετά την προσθήκη NaOAc/ H₃BO₃ υποδηλώνει την παρουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο.

Επίσης, από το φάσμα ¹H-NMR συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στην ομάδα των φλαβονολών, δεδομένου ότι απουσιάζει το σήμα του πρωτονίου H-3.

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων εμφανίζονται τα ακόλουθα σήματα:

- τα πρωτόνια του δακτυλίου Α, H-6 και H-8, συντονίζονται σε δ_H 6.36 και 6.16, αντίστοιχα και παρατηρούνται ως δύο διπλές κορυφές, οι οποίες ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η καθεμία και εμφανίζουν μικρή σταθερά σύζευξης (J= 2.1 Hz) χαρακτηριστική της *μετα* – σύζευξης.
- μια διπλή κορυφή σε δ_H 7.66 με J= 1.7 Hz, που αντιστοιχεί στο H-2'
- μια διπλώς διπλής κορυφή σε δ_H 7.55 (J= 8.9, 1.7 Hz), που αντιστοιχεί στο H-6'
- μια διπλή κορυφή σε δ_H 6.83, που αντιστοιχεί στο H-5' (φάσμα COSY).

Οι τρεις αυτές κορυφές σχηματίζουν ένα ABX σύστημα χαρακτηριστικό τρις-υποκατάστασης στο δακτύλιο Β.

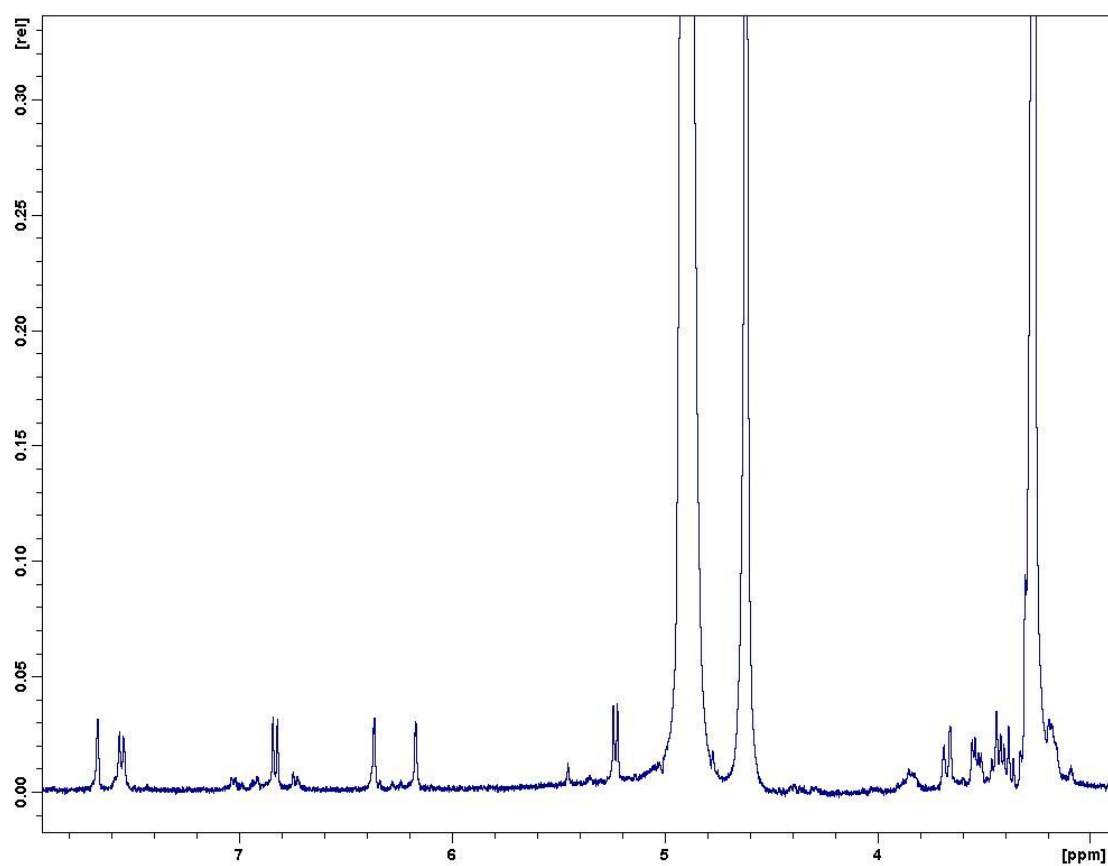
Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' εμφανίζεται ως μία διπλή κορυφή σε δ_H 5.23. Η σταθερά σύζευξης του ανωμερικού πρωτονίου (J=7.8 Hz) υποδηλώνει ότι πρόκειται για β-D-γλυκοκυρανοσίδη, καθότι στους β-D-γλυκοκυρανοσίδες η σταθερά σύζευξης είναι 7.0-8.0 Hz, ενώ στους α-D-γλυκοκυρανοσίδες είναι περίπου 4 Hz και στους α-D- και β-D-γλυκοφουρανοσίδες είναι 0.0-2.0 Hz και 4.0-4.5 Hz, αντίστοιχα (Dey & Harborne, 1989).

Από το φάσμα COSY εντοπίζεται σε δ_H 3.44 το πρωτόνιο H-2'', επίσης εντοπίζονται τα δίδυμα πρωτόνια H-6a'' & H-6b'' της γλυκόσης, σε δ_H 3.66 και δ_H 3.53, αντίστοιχα.

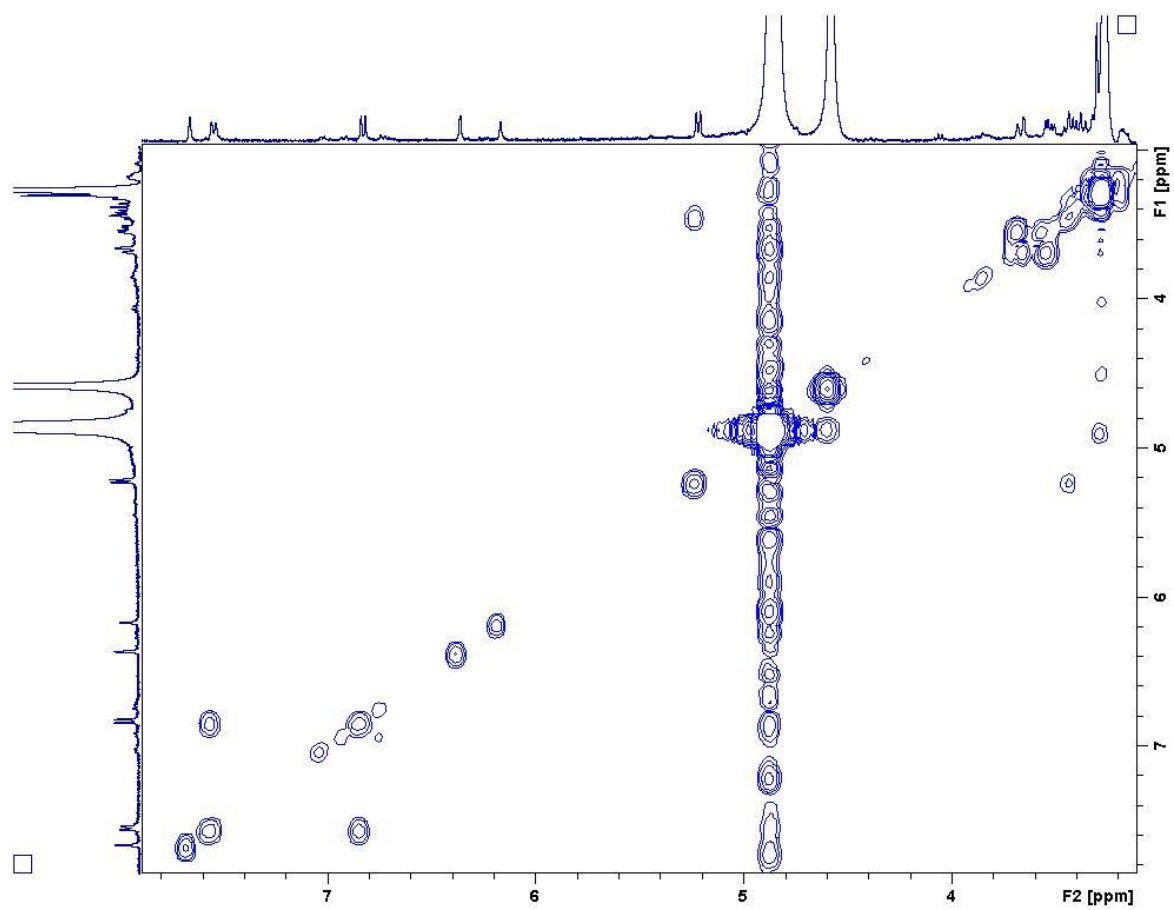
Τέλος, σε δ_H από 3.42 έως 3.28 εμφανίζονται τα πρωτόνια H-3'', H-4'', H-5'' του σακχάρου.

Πίν.11: ^1H -NMR ουσίας **11** (CD_3OD , 400MHz)

δ (ppm)	H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
Άγλυκο			
6.36	1	d (2.1)	H-8
6.16	1	d (2.1)	H-6
7.66	1	d, (1.7)	H-2'
7.55	1	dd (8.2, 1.7)	H-6'
6.83	1	d (8.2)	H-5'
Γλυκόση			
5.23	1	d (J = 7.8)	H-1''
3.44	1	dd (J = 8.7, 7.8)	H-2''
3.42 -3.28	3	M	H-3'' H-4'' H-5''
3.66	1	dd (J = 12.1, 11.7)	H-6a''
3.53	1	dd (J = 11.7, 5.4)	H-6b''



Φάσμα ^1H - NMR της ουσίας **11**



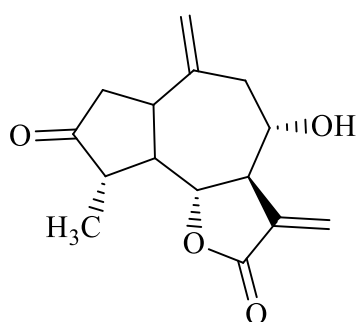
Φάσμα COSY της ουσίας **11**

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτού *Crepis incana* Sm. απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν συνολικά έντεκα φυσικά προϊόντα: πέντε σεσκιτερπενικές λακτόνες (ουσίες **1-5**), ένα *νορ*-ισοπρενοειδές (ουσία **6**), δύο τριτερπένια (ουσίες **7, 8**) και τρία φλαβονοειδή (ουσίες **9,10,11**).

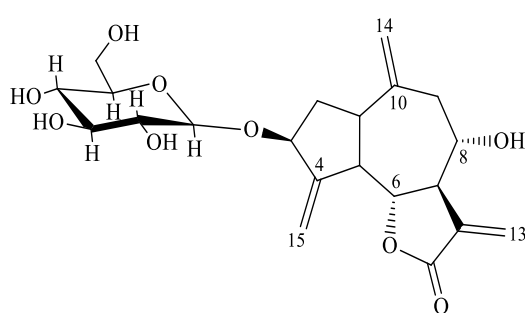
Υπέργεια τμήματα: από το άπολο εκχύλισμα με το μίγμα των διαλυτών: κυκλοεξάνιο-αιθέρα-μεθανόλη (1:1:1) απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι ουσίες **1-6** ενώ από το πολικό εκχύλισμα απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι ουσίες **9-11**.

Ρίζες: από το άπολο εκχύλισμα με το μίγμα των διαλυτών: κυκλοεξάνιο-αιθέρα-μεθανόλη (1:1:1) απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν οι ουσίες **7, 8**.



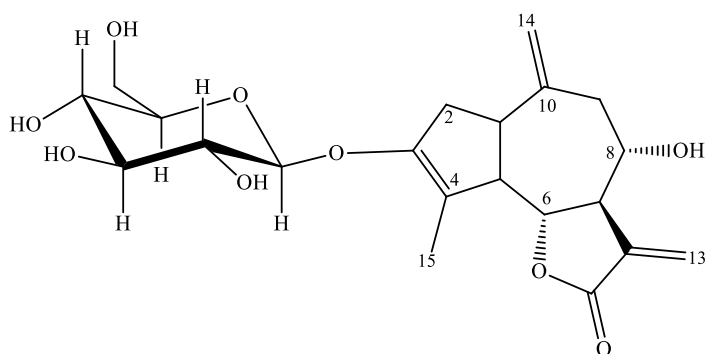
1

Γροσεϊμίνη



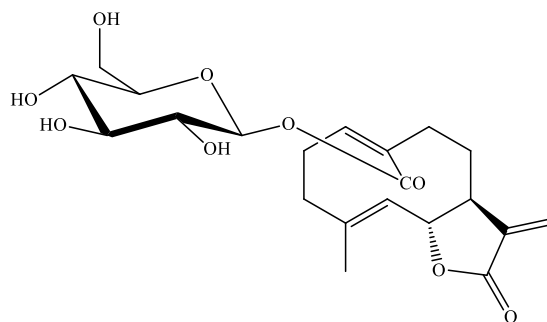
2

Κρεπισίδης E



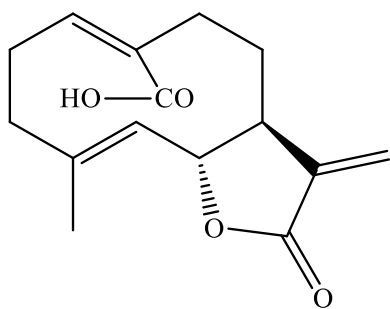
3

Κρεπισίδης D



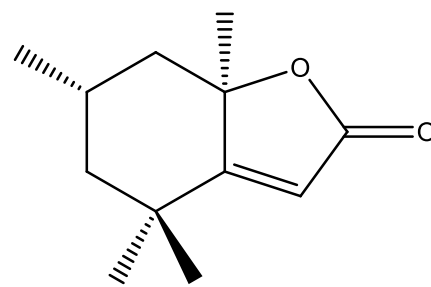
4

β-D-γλυκοπυρανοσιδικός εστέρας του
ταραξινικού οξέος



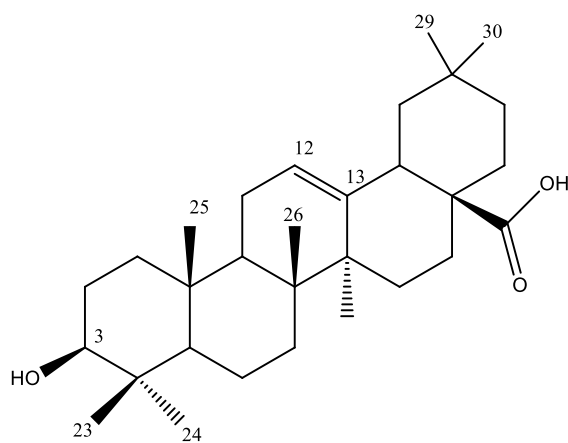
5

Ταραξινικό οξύ



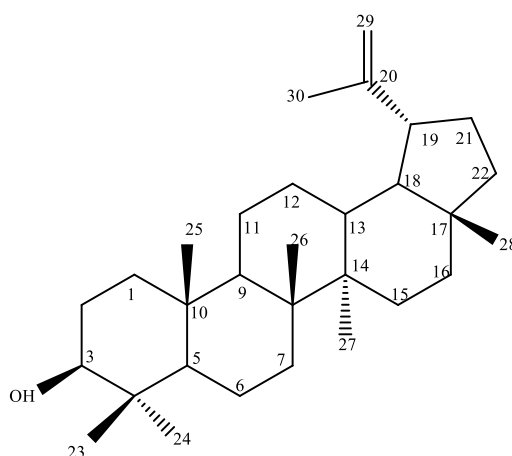
6

(3S, 5R)-λολιολίδιο



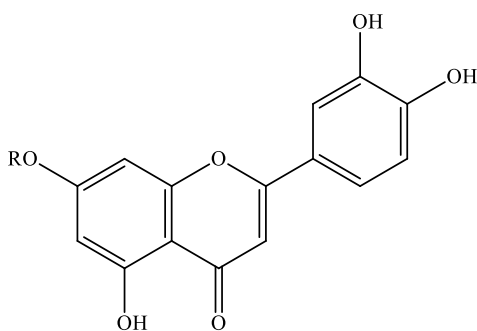
7

Ολεανολικό οξύ

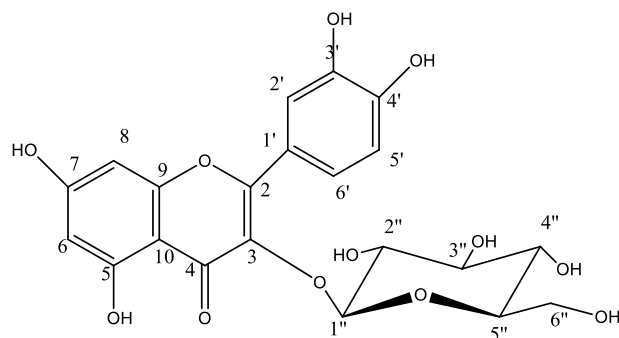


8

Λουπεόλη



9: R=H -Λουτεολίνη



11

Ισοκερκιτρίνη

10: R-glu Λουτεολινο 7- β-D-γλυκοκυρανοσίδης

Είναι η πρώτη φυτοχημική μελέτη στο είδος *Crepis incana* Sm. στο σύνολο του γένους έχουν γίνει περισσότερες από 95 φυτοχημικές αναλύσεις. Η πλειονότητα των ΣΛ που έχουν αναγνωρισθεί στα είδη του γένους *Crepis* L. είναι γουαϊανολίδια με το ποσοστό τους να φτάνει στο 92.6 %, εκ των οποίων το 88 % είναι τύπου *costus*, ενώ

με μικρότερα ποσοστά έχουν ανιχνευθεί γερμακρανολίδια (4.2%) και ευδεσμανολίδια (3.2%).

Κύρια ουσία του φυτού είναι ο β-D-γλυκοπυρανοσιδικός εστέρας του ταραξινικού οξέος (ουσία **4**), η οποία έχει απομονωθεί μια ακόμη φορά από το γένος από το είδος *C. parifera*.

Η ουσία **5** δεν έχει απομονωθεί στο παρελθόν από το γένος *Crepis* L.

Οι ουσίες **4** και **5** απαντώνται σε είδη του γένους *Taraxacum* F. H. Wigg. Η ουσία **4** έχει απομονωθεί από τα περισσότερα είδη του γένους *Taraxacum* F. H. Wigg και αποτελεί χημειοταξινομικό δείκτη (Zindorn, 2008).

Οι ουσίες **1-3** έχουν απομονωθεί από το φυτό *Youngia japonica* (L.) DC., το οποίο παλαιότερα αναφερόταν με το όνομα *Crepis japonica* Benth. Το γένος *Youngia* Cass. αποτελεί από το 1937 χωριστό γένος στο tribe Cichoriae (www.theplantlist.org, Bacock & Stebbins, 1937).

Συμπερασματικά μέχρι στιγμής όσον αφορά τις ΣΛ, το είδος *Crepis incana* Sm. Παρουσιάζει ομοιότητες με τα taxa των ειδών *Taraxacum* F. H. Wigg και *Youngia* Cass.

Επίσης, η ουσία **7** έχει απομονωθεί από τα είδη *C. capillaris* (Kisiel & Janeczko, 1984) και *C. flexuosa* (Zhang et al, 2011), ενώ η ουσία **8** έχει απομονωθεί ακόμη μια φορά από το γένος, από το είδος *C. parifera* (Wu et al., 2000).

Οι ουσίες **9** και **10** είναι από τα πιο συχνά φλαβονοειδή του γένους σε αντίθεση με τα την ουσία **11** που δεν έχει αναφερθεί στο παρελθόν. Η πλειονότητα των φλαβονοειδών που έχουν απομονωθεί στο γένος *Crepis* L είναι η λουτεολίνη και οι γλυκοσίδες της με ποσοστό 66.7% (Zidorn & Sareedenchai, 2010).

Επίσης, επισημαίνεται ότι η λουτεολίνη και ο 7-β-D-γλυκοπυρανοσίδης (ουσίες **9** και **10**) είναι τα κοινά φλαβονοειδή του *Youngia* Cass.

Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adekenov S.M., Kadirberlina G.M., Turdybekov K.M., Struchkov Y.T., 1991. Terpenoids of *Crepis tectorum*. Molecular and crystal structure of the sesquiterpene lactone 8-epideacylcinaropicrin. *Khim. Prir. Soed.* 638-642.
- Ahmed A.A., Mahmoud A.A., Hammam M.A.S., Abd El-Razek M.H., Mabry T.J., 2000. A sesquiterpene lactone and furocoumarin from *Crepis aspera*. *Rev. Latinoam. Quim*, 28, 143-145.
- Babcock E.B., Stebbins G.L., 1937. The genus *Youngia*. Publications of the Carnegie Institution of Washington 484: 1–106.
- Babcock E.B., 1947. The genus *Crepis* 1–2. University of California. Publications in Botany 21: i–ix, 1–197, 22: i–x, 199–1030.
- Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57, 233–266.
- Barbetti C.G., Casinovi B., Santurbano R., 1979. Longo A grosheimin from *Crepis virens*. *Collect. Czech. Chem. Commun.* 44, 3123-3127.
- Bennett M.H., 1994. The phytoalexin response of lettuce to challenge by *Botrytis cinerea*, *Bremia lactucae* and *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44, 321–333.
- Brickell, C., 1999. The Royal Horticultural Society New En-cyclopedia of Plants and Flowers, ed. 3. Dorling Kindersley, London.
- Carnoy A., 1959. Dictionnaire étymologique des noms grecs de plantes. Bibliothèque du Muséon, Louvain, p. 96.
- Casinovi C.G., Fardella G., Rossi C., 1982. 4,5-Dihydro-11-nor-11-hydroxy- $\Delta^7,11$ -santonin, a new nor-sesquiterpene- γ -lactone found in *Crepis pygmaea*. *Planta Med.*, 44, 186-187.
- Chadwick M., Trewin H., Gawthrop F., Wagstaff C., 2013. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 12780-12805.

Chung H.S., Woo W.S., Lim S.J., 1994. Dentatins: Sesquiterpene Glucosides from *Ixeris dentate* Arch. Pharm. Res. 17(5), 323-326.

Coll J.C., Bowden B.F., 1986. The application of vacuum liquid chromatography to the separation of terpene mixtures. J. Nat. Prod. 49, 934-936.

Cornara L., La Rocca A., Marsili S., Mariotti M. G., 2009. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera. J. Ethnopharmacol., 125, 16-30.

Cravotto G., Nano G.M., Binello A., Spagliardiand P., Gianfranco Seu., 2005. Chemical and biological modification of cynaropicrin and grosheimin: a structure–bitterness relationship study. Sci Food Agric. 85, 1757–1764.

De P., Baltas M., Bedos-Belval F., 2011. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents—A review. Curr. Med. Chem. 18, 1672–1703.

Dey P. M., Harborne J. B., 1989. *Methods in Plant Biochemistry*, Ed. Harborne J. B. Academic Press, pp. 213 – 223.

Di Novella R., Di Novella N., De Martino L., De Feo V., 2013. Traditional plant use in the National Park of Cilento and Vallodi Diano, Campania, Southern Italy. J. Ethnopharmacol., 145, 328–342.

Ding X.C., Beck H.P., Raso G., 2011. Plasmodium sensitivity to artemisinins: Magic bullets hit elusive targets. Trends Parasitol. 27, 73–81.

Drew D.P., Krichau N., Reichwald K., Simonsen H., T., 2009. Guaianolides in apiaceae: perspectives on pharmacology and biosynthesis Phytochem Rev 8, 581–599

Elkhayat E., 2009. Cytotoxic and antibacterial constituents from the roots of *Sonchus oleraceus* L. growing in Egypt. Pharmacognosy Magazine 5, 324-328.

Erosa-Rejón G., Peña-Rodríguez L.M., Sterner O., 2009. Secondary Metabolites from *Heliotropium angiospermum*. J.Mex. Chem. Soc. 53, 44-47.

Fazylova S., Turdybekov K.M., Kadirberlina G.M., Rakhimova B.B., Adekenov S.M., 2000. Molecular structure of crepidioside A and isolipidiol from *Crepis multicaulis*. Chem. Nat. Compd. 36, 177-180.

- Fleurentin J., Hoefler C., Lexas A., Mortierb F., Pelt J.M., 1986. Hepatoprotective properties of *Crepis Rueppellii* and *Anisotes trisulcus*: two traditional medicinal plants of Yemen. *J. Ethnopharmacol.* 16, 105-111.
- Fontanel D., Galtier C., Debouzy J.C., Gueiffer A., Viel C., 1999. Sesquiterpene lactone glycosides from *Laspana Communis* L. subsp. *communis*. *Phytochemistry* 51, 999-1004.
- Gonzalez J.A., Garcia-Barriuso M., Amich F., 2011. The consumption of wild and semi-domesticated edible plants in the Arribes del Duero (Salamanca-Zamora, Spain): an analysis of traditional knowledge. *Genet Resour Crop Evol.* 58, 991–1006.
- Hao Wang, Ting Wu, Ming Yan, Ge Liu, Ping Li, Xiao-Qi Zhang, Wen-Cai Ye, Lu-Yong Zhang, 2009. Sesquiterpenes from *Ainsliaea fragrans* and Their Inhibitory Activities against Cyclooxygenases-1 and 2. *Chem. Pharm. Bull.* 56(6), 597-599.
- Harborne J. B., 1978. The rare flavone isoetin as a yellow flower pigment in *Heywoodiella oligocephala* and in other Cichorieae. *Phytochemistry* 17, 915-917.
- Hatzakis E., Agiomyrgianaki A., Kostidis S., Dais P., 2011. High-resolution NMR spectroscopy. An alternative fast tool for Qualitative and Quantitative Analysis of Diacylglycerol (DAG) oil. *J. Am Oil Chem Soc.* 88, 1695-1708.
- Hiraga Y., Taino K., Kurokawa M. Tagaki R., Ohkata K., 1997. (-)-Loliolide and other germination inhibitory active constituents in *Equisetum arvense*. *Nat. Prod. Lett.* 10, 181-187.
- Hodges R., Porte A.L., 1964. The structure of Loliolide. *Tetrahedron*, 20, 1463.
- Holub M., Samek Z., Poplawski J., 1975. Loliolide from *Arnica montana*. *Phytochemistry* 14, 1659.
- Hostettmann K., Hostettmann M., Marston A., 1998. Preparative Chromatographic Techniques, Application in Natural Product Isolation. Springer- Verlag, Berlin.
- Hundyadi A., Veres K., Danko B., et al., 2012. In vitro anti-diabetic activity and chemical characterization of an apolar fraction of *Morus alba* leaf water extract. *Phytother. Res.* 27, 847-851.

Huxley A., 1992. The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening, vols. 1–4. Macmillan, London.

Jeffrey C., 2001. Compositae (Asteraceae). pp. 2035–2145 in Hanelt, P. (ed.). Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops, vol. 4. Springer, Berlin.

Kapiszewska M., Soltys E., Visioli F., Cierniak A., Zajac G., 2015. The protective ability of the Mediterranean plant extracts against the oxidative DNA damage. The role of the radical species and the radical oxygen species and the polyphenol content. J. Physiol. Pharmacol. 56, 183-97.

Karban R., Baldwin I.T., Baxter K.J., Laue G., Felton G.W., 2000. Communication between plants: Induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. Oecologia 125, 66–71.

Kassem F., 2007. Guaianolides from *Crepis micrantha* growing in Egypt. Alexandria J. Pharm. Sci. 21, 55-58.

Kilian N., Gemeinholzer B., Lack H.W., Funk V.A., Susanna A., Stuessy T.E., Bayer R.J., 2009. Systematics evolution and biogeography of Compositae. IAPT Cichorieae pp 343-383.

Kilic O., Bagci E., 2013. An ethnobotanical survey of some medicinal plants in Keban (Elazığ-Turkey). J. Med. Plants Res 7(23), 1675-1684.

Kisiel W., 1983a. 8-Epidesacylcynaropicrin from *Crepis capillaris*. Planta Med. 49, 246-247.

Kisiel W., 1983b. Two new guaianolides from *Crepis capillaris*. Pol. J. Chem. 57, 139-143.

Kisiel W., 1994. Hypocretenolides from *Crepis aurea*. Fitoterapia 65, 381.

Kisiel W., 1995. Guaianolides from *Crepis sibirica*. Fitoterapia 66, 276.

Kisiel W., Janeczko Z., 1984. Terpenoids from *Crepis capillaris* (L.) WALLR. Collect. Czech. Chem. Commun. 49, 2661-2664.

- Kisiel W., Kohlmünzer S., 1987. Ixerin from *Crepis biennis*. *Planta Med.*, 53, 390.
- Kisiel W., Kohlmünzer S., 1989. Sesquiterpene lactone glycosides from *Crepis tectorum*. *Pol. J. Chem.*, 63, 527-530.
- Kisiel W., Kohlmünzer S., 1990. Sesquiterpene lactones from *Crepis setosa*. *Hall. Acta Soc. Bot. Pol.* 59, 81-85.
- Kisiel W., Gromek D., 1994. Guaianolides from *Crepis pulchra*. *Pol. J. Chem.* 68, 535-538.
- Kisiel W., Jakupovic J., Huneck S., 1994. Guaianolides from *Crepis crocea*. *Phytochemistry* 35, 269-270.
- Kisiel W., Barszcz B., 1995. Sesquiterpene lactone glycosides from *Crepis pyrenaica*. *Phytochemistry* 39, 1395-1397.
- Kisiel W., Barszcz B., 1999. Sesquiterpenoids and phenolics from roots of *Crepis foetida*. *Pol. J. Chem.* 73, 569-571.
- Kisiel W., Barszcz B., 2000. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia* 71, 269-273.
- Kisiel W., Zielińska K., Joshi S.P., 2000. Sesquiterpenoids and phenolics from *Crepismollis*. *Phytochemistry* 54, 763-766.
- Kisiel W., Michalska K., 2001. Sesquiterpenoids and phenolics from *Crepis conyzifolia*. *Z. Naturforsch.*, 56c, 961-964.
- Kisiel W., Michalska K., Szneler E., 2002. Sesquiterpene lactones from *Crepis zacintha*. *Pol. J. Chem.* 76, 1571-1576.
- Kupchan S.M., Eakin M.A., Thomas A.M., 1971. Tumor Inhibitors. 69. Structure-cytotoxicity relations among the sesquiterpene lactones. *J. Med. Chem.* 14, 1147-1152.
- Lee K., H., Huang E.S., Piantadosi C., Pagano J.S., Geissman T.A., 1971. Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. *Cancer Res.* 31, 1649-1654.

- Liu J., 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.* 49, 57–68.
- Liu J., 2005. Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *J. Ethnopharmacol.* 100, 92-4.
- Łukasz Ł., Dolina K., 2015. A hundred years of change in wild vegetable use in southern Herzegovina. *J. Ethnopharmacol.* 166, 297–304.
- Łukasz Ł., Pieroni A., Tardío J., Pardo de Santayana M., Sõukand R., Svanberg I., Kalle R., 2012. Wild food plant use in 21st century Europe: the disappearance of old traditions and the search for new cuisines involving wild edibles. *Acta Soc Bot Pol.* 81(4), 359–370.
- Mabry T.G., Markham K.R., Thomas M.B., 1970. The systematic identification of flavonoids. Berlin-Heidelberg-New York.
- Machado F.B., Yamamoto R.E., Zanolli K., Nocchi S.R., Novello C.R., Schuquel I.T., Sakuragui C.M., Luftmann H., Ueda-Nakamura T., Nakamura C.V., de Mello J.C., 2012. Evaluation of the antiproliferative activity of the leaves from *Arctium lappa* by a bioassay-guided fractionation. *Molecules* 17, 1852–1859.
- Macías F.A., Torres A., Molinillo J.G., Varela R.M., Castellano D., 1996. Potential allelopathic sesquiterpene lactones from sunflower leaves. *Phytochemistry* 43, 1205–1215.
- Mahato S.B., Kundu A.P., 1994. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids. A compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37, 1517-1575.
- Grabarczyk M., Wińska K., Mączka W., Potaniec B., Potaniec M., 2015. Loliolide-the most ubiquitous lactone. *Biol. Oecol.* 11, 1–8.
- Mañez S., Giner R.M, Recio M.C., Terencio M.C, Rios J.L., 1992. Phenolics of *Crepis* and their taxonomic implications. *Planta Med.*, 58 (Suppl. 1), A698-A699.
- Mañez S., Recio M.C., Giner R.M., Sanz, M.J., Terencio M.C., Peris J.B., Stübing G., Rios J.L., 1994. A chemotaxonomic review of the subtribe Crepidinae based on its phenolic constituents *Biochem. Syst. Ecol.* 22, 297-305

- Matejić J., Šarac Z., and Ranđelović V., 2010. Pharmacological activity of sesquiterpene lactones. *Biotechn. Biotechnol. Equipm.* 24 (2) Special edition, 95 – 100.
- Mazor R.L., Menendez I.Y., Ryan M.A., Fiedler M.A., Wong H.R., 2000. Sesquiterpene lactones are potent inhibitors of interleukin 8 gene expression in cultured human respiratory epithelium. *Cytokine* 12, 239–245.
- Mengoni F., Lichtner M., Battinelli L., Marzi M., Mastroianni C.M., Vullo V., Mazzanti G., 2002. In vitro anti-HIV activity of oleanolic acid on infected human mononuclear cells. *Planta Medica* 68 (2), 111–4.
- Michalska K., Marciniuk J., Kisiel W., 2010. Sesquiterpenoids and phenolics from roots of *Taraxacum udum*. *Fitoterapia* 81, 434–436.
- Mitchell J. C., Fritig B., Singh B., Towers G. H. N., 1970. Allergic contact dermatitis from frullania and compositae. The role of sesquiterpene lactones. *J. Investig. Dermatol.* 54, 233–239.
- Ndom J. T., Mbafor J. D., Wansi A. W., Kamdem L. M., Meva' J. C., Vardamides F., Toukam D., Pegyemb T., M., Ngando H., Laatsch Z., T., 2006. Fomum Sesquiterpene lactones from *Crepis cameroonica* (Asteraceae). *Nat. Prod. Res.* 20, 435-442.
- Neu R., 1957. Chelate von Diarylborsäuren mit aliphatischen oxyalkylaminen als reagenzien für den nachweis von oxyphenyl-benzo- γ -pyronen. *Die Naturwissenschaften* 44, 181.
- Ninkovic V., 2003. Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. *J. Exp. Bot.* 54, 1931–1939.
- Fernandez I., Jose R. Pedro, Vidal R., 1993. Nor-isoprenoids from *Centaurea aspera* and *C. salmantica* *Phytochemistry* 34, 733-736.
- Paranhos Costa F.L.P , de Oliveira Fernandes S.B., Fingolo C.E., Boylan F., Ferreira de Albuquerque A.C., Dos Santos Junior F.M., de Amorim M.B., 2016. Isolation, identification, relative configuration and conformational analysis of Loliolide by GIAO-HDFT1H and ^{13}C NMR Chemical Shifts Calculations. *Quantum Matter* 5, 1–5.

Philips H., 1824. Flora historica: The three seasons of the British parterre. E. Lloyd and Son, Vol. 2, p. 424.

Picman A. K., 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochem. Syst. Ecol.*, 14 (3), 255-281.

Ragasa C.Y., De Luna R.D., Hofilena J.G., 2005. Antimicrobial terpenoids from *Pterocarpus indicus*. *Nat.Prod. Res.* 19, 305-309.

Hansel R., Kartarahardja T.M., Huangt Jai-tung., Bohlmann F., 1980. Sesquiterpenlacton-3- β -D- glucopyranoside sowie ein neues eudesmanolidaus *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* 9, 857-861.

Rauh W., 1937. Die Bildung von Hypokotyl- und Wurzelsprossen und ihre Bedeutung für die Wuchsformen der Pflanzen. *Nova Acta Leopoldina ser. 2*, 4(24), 395–553.

Rees S., Harborne J.B., 1984, Flavonoids and other phenolics of *Cichorium* and related members of the Lactuceae (Compositae). *Bot. J. Linn. Soc.* 89, 313-319.

Rybalko V., Sheichenko I., 1972 NMR Spectra, Structure, and Stereochemistry of Grossheimin *Zh. Obshch. Khim.* 3-55 (3), 708-712.

Salem M., 2010. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti cancer dietary triterpene. *Cancer Lett.* 28(285), 109-115.

Schomburg C., Schuehly W., da Costa F.B., Klempnauer K.H., Schmidt T.J., 2013. Natural sesquiterpene Lactones as inhibitors of myb-dependent gene expression: Structure-activity relationships. *Eur. J. Med. Chem.* 63, 313–320.

Schröder E., 1980. Ethnobotanik- ethnobotany. Beiträge und Nachträge zur 5. Internationalen frachtkonferenz. *Ethnomedizin in Freiburg.* p 347.

Seebacher W., Simic N., Weis R., Saf R., Kunert O., 2003. Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18a-oleanolicacid, ursolic acid and their 11-oxoderivatives. *Magn. Reson. Chem.* 41, 636–638.

Singh K.N., Brij Lal., 2008. Ethnomedicines used against four common ailments by the tribal communities of Lahaul-Spiti in western Himalaya. *J. Ethnopharmacol.* 115, 147–159.

Singh K.N., 2012. Traditional knowledge on ethnobotanical uses of plant biodiversity: a detailed study from the Indian western Himalaya. *Biodiv. Res. Conserv.* 28, 63-77.

Sõukand R., Kalle R., 2013. Where does the border lie: Locally grown plants used for making tea for recreation and/or healing, 1970s–1990s Estonia. *J. Ethnopharmacol.* 150, 162–174.

Stahl E., 1969, *Thin-Layer Chromatography* (Berlin-Heidelberg-N. York). p. 904.

Miyase T., Ueno A., Noro T., Kuroyanagi M., Fukushima S., 1985. Studies on sesquiterpene Glycosides from *Crepis japonica* Bent. *Chem. Pharm. Bull.* 33 (10), 4451-4456.

Miyase T., Yamada M., Fukushima S., 1986. Studies on Sesquiterpene Glycosides from *Prenanthes acerifolia* Benth, *Chem. Pharm. Bull.* 35, 1969 – 1974.

Tanaka R., Matsunaga S., 1989. Loliolide and olean-12-en-3 β , 9 α ,11 α -triol from *Euphorbia supina*. *Phytochemistry* 28, 1989.

Teklehaymanot T., 2009. Ethnobotanical study of knowledge and medicinal plants use by the people in Dek Island in Ethiopia. *J. Ethnopharmacol.* 124, 69–78.

Tsoukalas M., Gousiadou C., Skaltsa H., 2014. Guaianolides and phenolic constituents from *Crepis dioscoridis* L. growing wild in Greece. *Phytochemistry Lett.* 7, 202-206.

Van Beek T.A., Maas P., King B.M., Leclercq E., Voragen A.G.J., de Groot A., 1990. Bitter sesquiterpene lactones from chicory roots. *J. Agric. Food Chem.* 38, 1035–1038.

Willuhn G., Westhaus R.G., 1987. Loliolide (Calendin) from *Calendula officinalis*. *Planta Med.* 4, 304.

Wong H.R., Menendez I., Y., 1999. Sesquiterpene lactones inhibit inducible nitric oxide synthase gene expression in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 262, 375–380.

Wu S.H., Luo X.D. MaY. B., HaoX J., WuD G., 2002. Anti-gastric ulcer sesquiterpene lactone glycosides from *Crepis napifera*. *Yao Xue Xue Bao* 37(1), 33-6.

Wu S.H., Luo X.D., Ma Y.M., Wu D.G., 2000. A New Ursene Type Triterpenoid from *Crepis napifera*, *Chin. J. Chem.* 11(8), 711-712.

Yae E., Yahara S., El-Aasr M., Ikeda T., Yoshimitsu H., Masuoka C., Ono M, Hide I., Nakata Y., Nohara T., 2009. Studies on the constituents of whole plants of *Youngia japonica*. *Chem Pharm Bull* 57(7), 719-23.

Yayli N., Baltasaci C., Gok Y., Aydin E., Ucuncu O., 2006. Sesquiterpene lactones from *Centaurea helenioides*. *Turk. J. Chem.* 30, 229-233.

Yu F., Wang Q., Zhang Z., Peng Y.Y., Qiu Y.Y., Shi Y.Y., Zheng Y.X., Xiao S.L., Wang H., Huang X., Zhu L., Chen K., Zhao C., Zhang C., Yu M., Sun D., Zhang L., Zhou D., 2013. Development of Oleanane-Type Triterpenes as a New Class of HCV Entry Inhibitors. *J. Med. Chem.* 56 (11), 4300–4319.

Vizetto-Duarte C., Custódio L., Gangadhar K.N., Lago J.H.G., Dias C., Matos A.M., Neng N., Nogueira J.M.F., Barreira L., Albericio F., Rauter A.P, Varela J., 2016. Isololiolide, a carotenoid metabolite isolated from the brown alga *Cystoseira tamaricifolia*, is cytotoxic and able to induce apoptosis in hepatocarcinoma cells through caspase-3 activation, decreased Bcl-2 levels, increased p53 expression and PARP cleavage. *Phytomedicine* 23, 550-557.

Zajdel S.M., Graikou K., Głowniak K., Chinou I., 2012. Chemical analysis of *Penstemon campanulatus* (Cav.) Willd.-antimicrobial activities. *Fitoterapia* 83(2), 373-376.

Zdero C., Bohlmann F., 1990. Systematics and evolution of the Compositae, seen with the eyes of a chemist. *Plant Syst. Evol.* 171, 1-14.

Zhang Y., Zhang W., Zhang J., Chen S., Lin X., 2011. Chemical Constituents of *Crepis flexuosa*, Chin. J. Appl. Environ. Biol. 509-511.

Zidorn C., 2008. Sesquiterpene lactones and their precursors as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. Phytochemistry 69, 2270–2296.

Zidorn C., Schubert, Stuppner B.H., 2005. Altitudinal differences in the contents of phenolics in flowering heads of three members of the tribe Lactuceae (Asteraceae) occurring as introduced species in New Zealand. Biochem. Syst. Ecol. 33, 855-872.

Zidorn C., Spitaler R., Ellmerer E., Stuppner H., 2006. On the occurrence of the guaianolide glucoside ixerin F in *Chondrilla juncea* and its chemosystematic significance. Biochem. Syst. Ecol. 34, 900–902.

Zidorn C., Schubert B., Stuppner H., 2008. Phenolics as chemosystematics markers in and for the genus *Crepis* (Asteraceae, Cichorieae) Sci. Pharm. 76, 743-750.

Zidorn C., Sareedenchai V., 2010. Flavonoids as chemosystematic markers in the tribe Cichorieae of the Asteraceae. Biochem. Syst. Ecol. 38, 935-957.

www.theplantlist.org

Γεννάδιος Π., 1914. Φυτολογικόν Λεξικόν, Εκδ. Λεονής, Αθήνα. Σελ.570.

Καββάδας Δ., 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν - Φυτολογικόν Λεξικόν. Τόμος Δ, Αθήνα, σελ. 2137-2140.

Σκαλτσά Ε., 2016. Χημεία Φυσικόν Προϊόντων II. Αθήνα, σελ. 30-38.