



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ



ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ:
STACHYS CANDIDA BORY & CHAUB.
LAMIACEAE

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

ΜΙΧΑΗΛΙΔΟΥ ΔΙΚΑΤΕΡΙΝΗ-ΜΑΡΙΑ

ΓΕΩΠΟΝΟΣ

ΑΘΗΝΑ

2018

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Δρ. Ελένη Σκαλτσά, Καθηγήτρια

Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής

Δρ. Ελένη Σκαλτσά, Καθηγήτρια

Δρ. Όλγα Τζάκου, Καθηγήτρια

Δρ. Ιωάννα Χήνου, Καθηγήτρια

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμώς την Καθηγήτρια κ. Ελένη Σκαλτσά, για την επιλογή του θέματος και τη συνεχή επιμέλεια και καθοδήγηση, που μου παρείχε ως επιβλέπουσα καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας και τη συμμετοχή της στη συλλογή του φυτικού υλικού.

Ευχαριστώ την τριμελή εξεταστική επιτροπή του Τομέα Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων, την Καθηγήτρια κ. Ελένη Σκαλτσά, την Καθηγήτρια κ. Όλγα Τζάκου και την Καθηγήτρια κ. Ιωάννα Χήνου.

Ευχαριστώ θερμώς τον Αναπληρωτή Καθηγητή, Δρ. Θεοφάνη Κωνσταντινίδη (Τομέας Οικολογίας & Ταξινομικής, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ) για την ταυτοποίηση του φυτικού υλικού, καθώς και για την πολύτιμη βοήθεια στην βιβλιογραφική αναζήτηση των βοτανικών δεδομένων, χωρίς την οποία δεν θα ήταν δυνατή η χημειοταξινομική μελέτη του γένους.

Ευχαριστώ πολύ το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών που με φιλοξένησε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων των βιολογικών ελέγχων καθώς και τη Λέκτορα κ. Φωτεινή Φλουρή για τη συνεχή καθοδήγησή της στη διεξαγωγή των πειραμάτων. Επίσης ευχαριστώ το εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για την χορήγηση των βακτηριακών στελεχών που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα και το εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας για την παροχή του εξοπλισμού που χρειάστηκε για την πραγματοποίηση των βιολογικών ελέγχων.

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

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για την στήριξή της.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
A.1. Δρογοβοτανική	1
A.2. Δρογοετυμολογία – Δρογοϊστορία	2
A.3. Δρογοφαρμακολογία	4
A.4. Δρογοχημεία	7
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	26
B.1. Τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν	27
B.2. Εκχύλιση της δρόγης	29
B.3. Χρωματογραφικός διαχωρισμός	30
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	43
Γ.Ι. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ	
Γ.Ι.1. Φλαβονοειδή	44
Ουσία 1: 5, 4' - διυδροξυ-3, 6, 7, 8-τετραμεθοξυ-φλαβόνη (=καλυκοπερίνη)	45
Ουσία 2: απιγενινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης	48
Ουσία 3: 5, 7, 4' - τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-φλαβόνη (=χρυσσοεριόλη)	50
Ουσία 4: χρυσσοεριολο-7-O-β-D-γλυκοσίδης	53
Ουσία 5: χρυσσοεριολο-7-O-β-D-(3''-E-π-κουμαροϋλο)-γλυκοπυρανοσίδης	56
Ουσία 6: Ισοσκουτελλαρεΐνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)] - β-D-γλυκοπυρανοσίδης	60
Ουσία 7: Ισοσκουτελλαρεΐνο 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-O-ακετυλο]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης	66
Ουσία 8: 4'-O-μεθυλοϊσοσκουτελλαρεΐνο- 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης	70

Ουσία 9 : 4'-Ο-μεθυλο-υπολαετινο- 7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης	74
Γ.Ι.2. Φαινολοαιθανοειδείς γλυκοσίδες	81
Ουσία 10 : 8-(3,4-διυδροξυ-φαινυλαιθυλο)-Ο-[α-L-ραμνοπυρανοσυλο-(1''→3')-(4'-Ο-Ε-καφεούλο)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης [=ακτεοσίδης, βερμπασκοσίδης]	82
Γ.Ι.3. Φαινολικά οξέα	88
Ουσία 11 : Χλωρογενικό οξύ [3-Ο-καφεούλοκινικό οξύ]	89

Δ. ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>STACHYS</i> ENANTI ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	93
Δ.1. Θεωρητικό μέρος	94
Δ.2. Υλικά και μέθοδοι	99
Δ.3. Αποτελέσματα	102
Δ.4. Συζήτηση	108
Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	109
ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	116

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η απομόνωση και ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων είναι μία από τις κύριες κατευθύνσεις του Εργαστηρίου Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών. Στα πλαίσια αυτής της έρευνας επιλέχθηκε προς μελέτη το είδος *S. candida* Bory & Chaub. της οικ. Lamiaceae.

Η επιλογή του φυτού έγινε με βάση τη γνώση ότι ορισμένα είδη του γένους *Stachys* L. χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική και ως συμβολή στη χημειοταξινομία του γένους αυτού. Το είδος *S. candida* είναι ενδημικό και μέχρι στιγμής υπάρχει μια φυτοχημική μελέτη.

A.1. ΔΡΟΓΟΒΟΤΑΝΙΚΗ

Το γένος *Stachys* L. είναι δικοτυλήδονο φυτό της οικογένειας των Χειλανθών (Lamiaceae), με 270 περίπου είδη ανά τον κόσμο. Η κύρια εξάπλωσή του εμφανίζεται σε εύκρατες περιοχές. Περισσότερα από 50 είδη και υποείδη φύονται στην ηπειρωτική και/ή νησιωτική Ελλάδα, πολλά από τα οποία είναι ενδημικά.

Πρόκειται για μονοετείς διάχυτες ή πολυετείς όρθιες πόες, σπανίως φρυγανώδεις, ή θαμνώδεις, οι οποίες σχεδόν πάντα φέρουν χνούδι. Έχουν φύλλα οδοντωτά, πριονωτά, ή ακέραια. Τα άνθη τους είναι πορφυρίζοντα, ιώδη, ωχροκίτρινα, ή λευκωπά, κατά σπονδύλους, σχηματίζοντας διακοπτόμενο στάχυ. Σπανίως εμφανίζονται μονήρη ή ανά δύο μασχαλαία, με κάλυκα σωληνοειδή ή κωδωνοειδή, με 5 έως 10 νευρώσεις και 5 οδόντες, ισομήκεις ή λίγο άνισους ακιδωτούς. Η στεφάνη είναι δίχειλος, με σωλήνα συσφιγμένο πάνω από τη βάση, ενώ διαθέτει τρίχες στον εσωτερικό δακτύλιο της συσφίξεως. Τα άνω χείλος της στεφάνης είναι συνήθως θολωτό, το κάτω τρίλοβο, με το μεσαίο λοβό μεγαλύτερο και ακτινοειδή. Το κάθε άνθος φέρει τέσσερις παράλληλους στήμονες, από τους οποίους, οι εξωτερικοί (κατώτεροι) είναι μακρύτεροι και κατά την ωρίμανση κυρτώνουν προς τα έξω. Οι ανθήρες είναι συνεστώτες ανά δύο, με γυρεόκοκκους αντιθέτως διεστώτες, οι οποίοι ανοίγουν μέσω κοινής κατά μήκος σχισμής. Τέλος, τα καρπίδια παρουσιάζονται αποστρογγυλεμένα στην κορυφή. Μερικά από τα φυτά του γένους είναι φαρμακευτικά, ενώ τα περισσότερα είναι καλλωπιστικά. Κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των φυτών είναι η πικρή τους γεύση και η έντονη, διαπεραστική τους οσμή (Bhattacharjee, 1980, Καββάδας, 1956, Mabberley, 1997, Persson, 1981).



Το είδος *Stachys candida* Bory & Chaub. είναι πολυετής θάμνος 20-50 εκ. με βλαστό που φέρει έντονο χνούδι. Τα φύλλα είναι πλατιά, ωοειδή, στίλβοντα και αβαθώς οδοντωτά. Τα άνθη φύονται ανά 4-6 κατά σπονδύλους, σχηματίζοντας διακοπτόμενο προμήκη, έμφυλο στάχυ. Η στεφάνη είναι λευκή με ερυθρό το άνω χείλος. Φύεται σε ορεινούς, βραχώδεις τόπους της Αρκαδίας, Μεσσηνίας και Λακωνίας (Καββάδας 1956).

Α.2. ΔΡΟΓΟΕΤΥΜΟΛΟΓΙΑ - ΔΡΟΓΟΪΣΤΟΡΙΑ

Η ετυμολογία του ονόματος για το γένος *Stachys* L. προκύπτει από το είδος της ταξιανθίας, η οποία χαρακτηρίζεται ως "στάχυς", καθώς ομοιάζει με τις ταξιανθίες, που εμφανίζονται στα σιτηρά και κυρίως στο γένος *Triticum* L. της οικογένειας Gramineae. Το είδος αυτό της ταξιανθίας είναι παρόμοιο σε όλα τα φυτά της οικογένειας Lamiaceae. Στην αρχαιότητα το όνομα "στάχυς" αναφερόταν κυρίως για τον *Stachys germanica* L., η ταξιανθία του οποίου έχει τη μορφή στάχυος και είναι καλυμμένη από χνούδι υπόλευκου χρώματος (Carnoy, 1959). Το λατινικό συνώνυμο του ονόματος "στάχυς" είναι *trifarium* (= χνουδωτό) (André, 1956).

Ο Διοσκουρίδης απέδιδε την ονομασία "στάχυς" στο είδος *S. germanica* L. (Γεννάδιος, 1914). Όμως στον Κωνσταντινοπολιτικό κώδικα (Guenther, 1959) στο λήμμα *Πολύκνεμον* ενώ απεικονίζεται ένα είδος *Stachys*, η περιγραφή του φυτού που έπεται δεν αντιστοιχεί στο γένος. Σύμφωνα με τον ίδιο σε κάποιες άλλες αναφορές (Wellmann, 1958, Berendes, 1970) ο στάχυς ομοιάζει με το είδος *Marrubium vulgare* L. της οικογένειας Lamiaceae, επονομαζόμενο και *πράσιον*. Είναι θάμνος με μικρότερα και περισσότερα φυλλάρια από το πράσιον, χνουδωτά, σκληρά, ευώδη, χρώματος λευκού με ραβδία τα περισσότερα από τα οποία φύονταν από την ίδια ρίζα. Τα ραβδία αυτά είχαν ανοιχτότερο χρωματισμό από αυτά του πράσιου. Φύεται σε ορεινούς και τραχείς τόπους. Χρησιμοποιείτο ως θερμαντικό και εμμηναγωγό (Wellmann, 1958, III 106). Επίσης αναφέρεται ως συστατικό του ελλεβορίτη οίνου, που χρησιμοποιείτο ως καθαρτικό (Wellmann, 1958, V72). Εκτός από τον Διοσκουρίδη, παλαιός μελετητής φαρμακευτικών φυτών ήταν και ο Θεόφραστος (Theophrastos, 1866) ο οποίος δεν αναφέρεται

όμως στο γένος *Stachys*. Επίσης, ούτε στη Βίβλο έχουν βρεθεί αναφορές για το γένος (Moldenke 1952).

Αναφορές του γένους *Stachys* L. βρέθηκαν πρόσφατα στο έργο *Δυναμερόν* του Νικόλαου Μυρεψού. Ειδικότερα στο κεφάλαιο "περί Αντιδότων" εμφανίζονται 11 αναφορές πιθανότατα του είδους *S. officinalis* (L.) Trevis. με τις ονομασίες *βεττονίκη*, *δροσιοβότανον*, *λαουριόλε*, *κακάμπρι*, πχ.

"κζ' Αντίδοτος ή διά καστορίου ώφελει, πρός τε σκοτωματικοῖς, ἐπιληπτικοῖς, ἀποπληκτικοῖς, παραλυτικοῖς, τρομικοῖς καὶ παραπληκτικοῖς. Ἡ δόσις καρῦου ποντικοῦ τὸ μέγεθος, μετὰ ἀποζέματος ἀψίνθου, ἐλελισφάκου, ἀδιάντου, μακεδονησίου καὶ γρανασόλης. Ἔχει δὲ οὗτος, **Καστόριν** μυροβάλανον,(...), ἐπίθυμον, πολυπόδιν κεκαθαρμένον ὀποβάλαμον ἀνὰ σιταρόκοκκα, ιγ', **λαουριόλε ἦτοι κάκαμπρι ἦτοι δροσιοβότανον** ἀνὰ σιταρόκοκκα ια', ἀνακάρδιον, σαβίνα, ζεντζιάνε, μανδραγόρας, φύλλα ἀνὰ ξυλοκόκκων β', μετάξιν κεκαυμένον σιταρόκοκκα, ιβ', πευκέδανον, ἀψίνθιον ἀνὰ σιταρόκοκκα ζ', ἴρεως, σιταρόκοκκα γ', μέλιτος ἀπτικοῦ ἢ σάχαρ τὸ ἄρκοῦν, σκευάσας δίδου".

Επίσης υπάρχει και μια αναφορά του είδους *S. germanica* L. με την ονομασία στάχυς (Valiakos *et al.*, 2015).

Ακόμη, μέχρι και το στοιχείο "Δέλτα" εμφανίζονται αναφορές για τα είδη *S. officinalis* (L.) Travis και *S. alopecuros* (L.) Benth. για τη χρήση τους σε αλοιφές και ως συστατικά σε αφέψημα (Valiakos *et al.*, 2017).

A.3. ΔΡΟΓΟΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ

Πολλά είδη του γένους *Stachys* L. χρησιμοποιούνται στη λαϊκή θεραπευτική:

<i>S. alopecuros</i> (L.) Benth. (= <i>Betonica alopecuros</i> L.) κν. Kestron, ή Psychotrophon, ή Roman betony	Κατά των όγκων των γεννητικών οργάνων, κατά της σκλήρυνσης της σπλήνας, του ήπατος και κατά των σαρκωμάτων (Hartwell, 1982).
<i>S. acerosa</i> Boiss.	Κατά του κοινού κρυολογήματος (Asghari <i>et al.</i> , 2017).
<i>S. annua</i> L. subsp. <i>annua</i>	Αντιπυρετικό, τονωτικό, επουλωτικό και σε περιπτώσεις ρινικής καταρροής (Venditti <i>et al.</i> , 2015).
<i>S. balansae</i> Boiss & Kotschy	Κατά της υπότασης και των καρδιακών νευρώσεων (Kartsev <i>et al.</i> , 1994).
<i>S. bogotensis</i> H.B.K., κν. Asnac-ccora, ή cancer-ccora	Σε περιπτώσεις καρκίνου γενικά (Hartwell, 1982).
<i>S. betoniciflora</i> Rupr.	Ενίσχυση της συστολής της μήτρας και αιμοστατική δράση (Kartsev <i>et al.</i> , 1994).
<i>S. byzantina</i> K. Koch.	Χρήση του εκχυλίσματος ως αντιφλεγμονώδες (Teixeira Duarte <i>et al.</i> , 2005).
<i>S. cretica</i> L.	Κατά της δυσπεψίας (Sarac <i>et al.</i> , 2007).
<i>S. glutinosa</i> L.	Κατά των όγκων [υπό μορφή καταπλάσματος] (Hartwell, 1982).
<i>S. germanica</i> L.	Για την αντιμετώπιση γαστρεντερικών διαταραχών, επώδυνης εμμηνόρροιας και δερματικών διαταραχών (Naghibi <i>et al.</i> 2005, Mulas, 2006).
<i>S. heraclea</i> All.	Κατά των φλεγμονωδών όγκων (Hartwell 1982).
<i>S. inflata</i> Benth.	Στο Ιράν χρησιμοποιούνται τα υπέργεια τμήματα για την θεραπεία μολύνσεων, άσθματος, ρευματισμών, άλλων φλεγμονωδών νοσημάτων και γρίπης (Maleki <i>et al.</i> , 2001, Lazarevic <i>et al.</i> 2010, Naghibi <i>et al.</i> 2005). Χρησιμοποιείται επίσης ως αναλγητικό και για την υψηλή αρτηριακή πίεση (Asghari <i>et al.</i> , 2017).
<i>S. kurdica</i> Boiss & Hohen var. <i>kurdica</i>	Για κρύωμα και πόνους στομάχου (Mukerme <i>et al.</i> 2015).

<i>S. lavandulifolia</i> Vahl.	<p>Αγχολυτικό και κατευναστικό (Amin 1991, Rabbani <i>et al.</i>, 2003).</p> <p>Αντιφλεγμονώδες (Hajhashemi <i>et al.</i>, 2006).</p> <p>Σε γαστρεντερικές και αναπνευστικές διαταραχές (Fouladvand <i>et al.</i>, 2014).</p> <p>Κατά των όγκων των γεννητικών οργάνων (Taghikhani <i>et al.</i>, 2014).</p> <p>Αντιπυρετικό, αντισπασμωδικό, κατά της δυσπεψίας και του τυμπανισμού (Naghibi <i>et al.</i> 2005).</p> <p>Για την αντιμετώπιση του πονοκεφάλου, του κοινού κρυολογήματος, της νεφρολιθίασης και του κοιλιακού άλγους (Asghari <i>et al.</i>, 2017).</p> <p>Για την καταπολέμηση δερματικών μολύνσεων, έντονης αιμορραγίας κατά την εμμηνόρροια και ως αντιβακτηριδιακό (Pirbalouti <i>et al.</i>, 2011).</p>
<i>S. pilifera</i> Benth.	Τονωτικό, αναλγητικό, αποχρεμπτικό, κατά του οιδήματος και του πονόδοντου (Asghari <i>et al.</i> 2017).
<i>S. palustris</i> L. (marsh woundwort)	Αντισπασμωδικό και εμμηναγωγό, σε προβλήματα της εμμηνόπαυσης (Hartwell, 1982), απολυμαντικό, επουλωτικό (Gruenwald <i>et al.</i> , 2000), αντιπυρετικό (Khanavi <i>et al.</i> , 2009), κατά αφροδίσιων νοσημάτων (Luczaj <i>et al.</i> , 2011), για την ανακούφιση της ουρικής αρθρίτιδας (Rustaiyan <i>et al.</i> , 2006).
<i>S. pumila</i> Banks & Sol.	Σε γαστρεντερικές διαταραχές (Kerekcı <i>et al.</i> , 2016).
<i>S. sylvatica</i> L., kv.woundwort	Κατά των αδενωμάτων [υπό μορφή καταπλάσματος] (Hartwell, 1982). Απολυμαντικό, επουλωτικό (Gruenwald <i>et al.</i> , 2000). Αντιπυρετικό (Khanavi <i>et al.</i> , 2009). Στη γυναικολογική πρακτική κατά τη διάρκεια της λοχείας (Kartsev <i>et al.</i> , 1994).
<i>S. schtschegleevii</i> Sosn. ex Grossh.	Για τη θεραπεία άσθματος, μολυσματικών, ρευματικών και άλλων φλεγμονωδών διαταραχών (Ferhat <i>et al.</i> , 2016).
<i>S. sieboldii</i> Miq. (chorogi)	Αποτελεσματικό κατά του κοινού κρυολογήματος και των καρδιακών παθήσεων, αναλγητικό (Harada <i>et al.</i> , 2015).
<i>S. fruticulosa</i> M. Bieb.	Αντιφλεγμονώδης δράση (Lotfipour <i>et al.</i> , 2008).

<i>S. tibetica</i> Vatke	Ως αφέψημα για αντιμετώπιση πυρετού, βήχα, φοβιών και διάφορων ψυχικών διαταραχών (Kumar <i>et al.</i> , 2014).
<i>S. turcamanica</i> Trautv.	Για μολύνσεις των ποδιών, πονόδοντο, βρογχίτιδα και γρίπη (Naghibi <i>et al.</i> , 2005).
<i>S. officinalis</i> (L.) Trevisan (= <i>S. betonica</i> Benth.), κν. Betony	<p>Ως υποκατάστατο του τσαγιού, για γαργάρες ή για στοματικές πλύσεις και για τα ούλα. Κατά της διάρροιας και άλλων πολλαπλών ερεθισμών των βλεννογόνων (Duke, 1986).</p> <p>Επίσης, σε όγκους των γεννητικών οργάνων, σε σκλήρυνση του σπλήνα και του ήπατος, τη θέρμη, τους λίθους της ουροδόχου κύστεως, τον καταρράχτη, τα κρυολογήματα, τους σπασμούς, το βήχα, την υδρωπικία, τη δυσπεψία, την επιληψία, την επίσταξη, την αρθρίτιδα, την κεφαλαλγία, το οισοφαγικό καύσος, την αιμόπτυση, την υστερία, τη νεφρολιθίαση, το νεφροσικό σύνδρομο, τη νευραλγία, τη νεύρωση, την ταχυπαλμία, την παράλυση, τους ερεθισμούς, τα κοιλιακά άλγη και τα οδοντικά άλγη (Hartwell, 1982).</p> <p>Στη Δανία χρησιμοποιείται ως τονωτικό των νεύρων (Duke, 1986).</p> <p>Στην ομοιοπαθητική χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του άσθματος και της ατονίας (Duke, 1986).</p>

Τα άλλα είδη του γένους *Stachys* L. εμφανίζουν γενικά παρόμοιες θεραπευτικές ιδιότητες:

Τα φυτά που εκφύονται σε βαλτώδεις περιοχές, συνιστώνται ως ηρεμιστικά και εμμηναγωγά, κατά της υστερίας, των νευρικών προβλημάτων, των σπασμών, του άγχους, της αμηνόρροιας και της δυσμηνόρροιας.

Τα φυτά που εκφύονται σε δασικές περιοχές έχουν διουρητική και αντιασθματική δράση, χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις εμβοής των ώτων, σε προβλήματα εμμηνόπαυσης, κατά της ακράτειας των ούρων, η οποία προκαλείται από νευρικότητα και κατά των νευρώσεων του στομάχου (Fournier, 1948).

A.4. ΔΡΟΓΟΧΗΜΕΙΑ

Από είδη του γένους *Stachys* L., έχουν μελετηθεί κυρίως φλαβονοειδή, τερπένια, αιθέρια έλαια, καθώς και άλλοι εμπιερχόμενοι σε μικρότερες αναλογίες δευτερογενείς μεταβολίτες.

Στην παρούσα εργασία θα επικεντρώσουμε τη βιβλιογραφική μας ανασκόπηση στα:

- α. φαινολικά παράγωγα - φλαβονοειδή, λιγνάνια και φαινυλοαιθανοειδείς γλυκοσίδες
- β. τερπένια - ιριδοειδή, διτερπένια και τριτερπένια.

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

ΠΙΝΑΚΑΣ Α. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ:
[η ταξινόμηση σε sectiones βασίστηκε στη βιβλιογραφία: **Bhattacharjee, 1980**]

Iα. Φλαβονοειδή		
sectio Ambleia		
<i>Stachys aegyptiaca</i> L.	<p>βικενίνη-2, λουκενίνη-2, απιγενίνο 7-γλυκοσίδης, λουτεολινο-7-O-γλυκοσίδης (XVII), λουτεολινο-7-διγλυκοσίδης, χρυσοεριολο-7-γλυκοσίδης (XVI), ισοσκουτελλαρεΐνο-7-αλλοσυλο (1→2) γλυκοσίδης, ισοσκουτελλαρεΐνο-7-[6'''-ακετυλο-αλλοσυλο (1→2)] γλυκοσίδης (I), υπολαετινο-7-[6'''-ακετυλο-αλλοσυλο (1→2)] -3'''-ακετυλο]γλυκοσίδης (VIIa), απιγενίνο-7-[6'''-ακετυλο-αλλοσυλο (1→2)] γλυκοσίδης, λουτεολινο-7-[6'''-ακετυλο-αλλοσυλο (1→2)] γλυκοσίδης, απιγενίνη, λουτεολίνη (XXIX), χρυσοεριολή (XIV), ξανθομικρόλη (XIII), σιδεριτιφλαβόνη, 5, 4'-διυδροξυ - 6,7,8,3'-τετραμεθοξυφλαβόνη, 5-υδροξυ-6,7,8,3',4'- πενταμεθοξυφλαβόνη, καλυκοπερίνη (XV), χρυσοσπλενετίνη, 5-υδροξυ -3,6,7,8,4'- πενταμεθοξυφλαβόνη, 5,3',4'-τριυδροξυ -3,6,7,8-τετραμεθοξυφλαβόνη, 5,4'-διυδροξυ -3,6,7,8,3'- πενταμεθοξυφλαβόνη,</p> <p>διαπιγενίνο-7-O-(6''-trans, 6''-cis-π,π'-διυδροξυ -μ-τρουξινυλο) γλυκοσίδης [= σταχυσετίνη] (VIII), απιγενίνο-7-O-(6''-π-κουμαροϋλο) γλυκοσίδης, απιγενίνο-7-O-(3''-π-κουμαροϋλο) γλυκοσίδης, ναριγγενίνη</p> <p>5,7,3'-τριυδροξυ-6,4'-διμεθοξυφλαβόνη, 5,7,3'-τριυδροξυ-6,8,4'-τριμεθοξυφλαβόνη, ισοσκουτελλαρεΐνη 3',4'-διμεθυλο-λουτεολινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης (XXXI)</p> <p>ισοσκουτελλαρεΐνο-8-O-(6''-trans-π-κουμαροϋλο)-β-D-γλυκοσίδης (XX)</p>	<p>El-Ansari <i>et al.</i>, 1991</p> <p>El-Ansari <i>et al.</i>, 1995</p> <p>El Desoky <i>et al.</i>, 2007</p> <p>Sharaf, 1998</p>
<i>S. inflata</i> Benth.	<p>σταχυφλασιδής (IX)</p> <p>ισοσκουτελλαρεΐνη, σκουτελλαρεΐνη, 4'-μεθοξυ-ισοσκουτελλαρεΐνη</p>	<p>Komissarenko <i>et al.</i>, 1976</p> <p>Komissarenko <i>et al.</i>, 1978</p>
<i>S. schtschegleevii</i> Sosn. ex Grossh.	<p>3'-υδροξυ-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-O-(6'''-ακετυλοξυ)-β-D-γλυκοκυρανοσιδής, 7-O-β-γλυκοκυρανοσιδής της απιγενίνης, 7-O-[6''(E)-π-κουμαροϋλο]-β-D-γλυκοκυρανοσιδής της απιγενίνης, χρυσιοεριολο-7-O-[6''(E)-π-κουμαροϋλο]-β-D-γλυκοκυρανοσιδής, ξανθομικρόλη (XIII), σιρσιμαριτίνη</p>	<p>Nazemiyeh <i>et al.</i>, 2006</p>

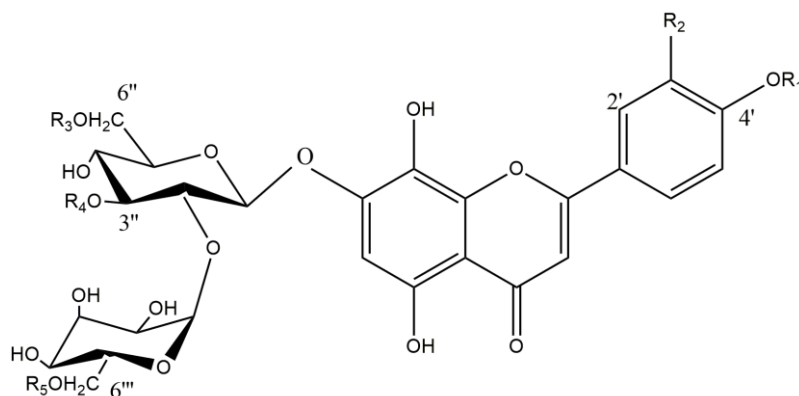
sectio Betonica		
<i>S. alopecuroides</i> (L.) Bentham, <i>S. monieri</i> (Gouan) P. W. Ball., <i>S. officinalis</i> (L.) Trevisan	π-κουμαροϋλογλυκοσίδες (δεν προσδιορίζονται)	Tomás-Barberán <i>et al.</i> , 1992
<i>S. alopecuroides</i> (L.) Bentham	7- <i>O</i> -γλυκουρονίδιο της τρικίνης 7- <i>O</i> -γλυκοσίδες των: τρικίνης, σελγίνης, λουτεολίνης, ισοσκουτελλαρεΐνης, χρυσοεριοΐλης, υπολαετίνης, 7- <i>O</i> -π-κουμαροϋλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. foliosa</i> Regel = <i>Betonica foliosa</i> C.Presl.	4 φλαβονοειδή (δεν προσδιορίζονται)	Litvinenko and Aronova, 1968
<i>S. officinalis</i> (L.) Trevisan <i>Betonica officinalis</i> L.	απιγενίνη, 5, 4'-διυδροξυ-7, 3', 5'-τριμεθοξυφλαβόνη, 5, 6, 4'-τριυδροξυφλαβονο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοκυρανοσίδης 7- <i>O</i> -γλυκουρονίδιο της τρικίνης, 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της τρικίνης, 3', 4', 5'-τριμεθυλο 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της τρικετίνης, 7- <i>O</i> -γλυκουρονίδιο της λουτεολίνης, 6- <i>C</i> -γλυκοσίδης της λουτεολίνης (ισοοριεντίνη), 8- <i>C</i> -γλυκοσίδης της απιγενίνης (βτεξίνη), 7- <i>O</i> -π-κουμαροϋλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Kobzar and Nikonov, 1986 Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. glutinosa</i> L. = <i>Betonica glutinosa</i>	ξανθομικρόλη (XIII), σιδεριτυφλαβόνη, 8-μεθοξυσιρσιλινεόλη (XXXIII), ευπατιλίνη (XXXIV)	Ruiu <i>et al.</i> , 2015
sectio Campanistrum		
<i>S. arvensis</i> L. <i>S. ocymastrum</i> (L.) Briq.	8-υδροξυφλαβονο-αλλοσυλογλυκοσίδες (δεν προσδιορίζονται)	Tomás-Barberán <i>et al.</i> , 1992
sectio Candida		
<i>S. candida</i> Bory & Chaubard	ξανθομικρόλη (XIII), χρυσοεριοΐλη (XIV), καλκοπτερίνη (XV), χρυσιοεριο-7- <i>O</i> -β-D-(3''-E-π-κουμαροϋλο)- γλυκοκυρανοσίδης (XVIII)	Skaltsa <i>et al.</i> , 2000
<i>S. chrysantha</i> Boiss. & Heildr.	ξανθομικρόλη (XIII), χρυσοεριοΐλη (XIV), καλκοπτερίνη (XV), χρυσιοεριο-7- <i>O</i> -β-D-(3''-E-π-κουμαροϋλο)- γλυκοκυρανοσίδης (XVIII), χρυσιοεριο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοκυρανοσίδης (XVI), λουτεολινο-7- <i>O</i> -β-D- γλυκοκυρανοσίδης (XVII), ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο (1→2) 6''- <i>O</i> -ακετυλο-γλυκοσίδης] (II)	Skaltsa <i>et al.</i> , 2000
Sectio Corsica		
<i>S. corsica</i> Pers.	ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοκυρανοσυλο-(1→2)- β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
sectio Eriostomum		
<i>S. byzantina</i> K. Koch.	απιγενινο-7- <i>O</i> -γλυκοσίδης, απιγενινο-7- <i>O</i> -(6''-E-π-κουμαροϋλο)-β-D- γλυκοκυρανοσίδης, απιγενίνη (XXX) απιγενινο-7- <i>O</i> -(6''-Z-π-κουμαροϋλο)-β-D-γλυκοσίδης, 4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[β-D-αλλοκυρανοσυλο-(1→2) -6''- <i>O</i> -ακετυλο-β-O-γλυκοκυρανοσίδης], ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[β-D-αλλοκυρανοσυλο (1→2)- 6''- <i>O</i> -ακετυλο- β-O-γλυκοκυρανοσίδης]	Asnaashari <i>et al.</i> , 2010 Demirtas <i>et al.</i> , 2013
<i>S. alpina</i> L., <i>S. germanica</i> L., <i>S. heraclea</i> All.	8-υδροξυφλαβονο-αλλοσυλογλυκοσίδες (δεν προσδιορίζονται)	Tomás-Barberán <i>et al.</i> , 1992

<i>S. alpina</i> L.	7-Ο-ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της υπολαετίνης (VI), 7-Ο-ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της ισοσκουτελλαρεΐνης (I), 4'-μεθυλο 7-Ο-ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της υπολαετίνης	Marin <i>et al.</i> , 2004 Vundač <i>et al.</i> , 2005
<i>S. germanica</i> L.	7-Ο-γλυκοσίδης της απιγενίνης, 7-Ο-ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της χρυσοεριόλης, 4'-μεθυλο 7-Ο-ακετυλαλλοσυλογλυκοσίδης της υπολαετίνης, 7-Ο-π-κουμαροΐλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. lanata</i> Crantz = <i>S. germanica</i> L. subsp. <i>germanica</i>	εχινακίνη, απιγενινο-7-Ο-(6-Ο-π-Z-κουμαροΐλο)-β-D- γλυκοκυρανοσίδης, απιγενινο-7-Ο-β-D-γλυκοκυρανοσίδης, απιγενινο-7-Ο-(3-Ο-π-Z-κουμαροΐλο)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης, ανισοφολίνη Α, σταχυσετίνη (VIII), ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο)- (1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 4-Ο-μεθυλο-υπολαετινο 7-Ο-[6-Ο-ακετυλ-β-D-αλλοκυρανοσυλο)- (1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης], ισοσκουτελλαρεΐνο 4-μεθυλο- 7-Ο-[6-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III)	Murata <i>et al.</i> , 2008
<i>S. spectabilis</i> Choisy ex DC.	σταχυφλασιΐδης (IX), ισοσταχυφλασιΐδης, σπεκταβοφλασιΐδης [5,8,4'-τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-7-(Ο-β-D- γλυκοκυρανο-2''-Ο-β-D-μαννοκυρανοσυλο)-φλαβόνη]	Derkach <i>et al.</i> , 1980
<i>S. tymphaea</i> Hausskn	ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο-(1→2)- β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[2''-Ο-6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III), 3'-υδροξυ-4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-6''-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (V)	Venditti <i>et al.</i> , 2014
sectio Olisia		
<i>S. atherocalyx</i> C. Koch	σταχυφλασιΐδης (IX) ακετυλοσπεκταφλασιΐδης [= 5,8,4'-τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-7-Ο-(β-D- γλυκοκυρανοσυλο-2''-Ο-β-D-μαννοκυρανοσυλοακετυλο)-φλαβόνη] ακετυλοσπεκτραβιφλασιΐδης [= 4',5,7,8-τετραυδροξυ-3'-μεθοξυ-7-Ο- (ακετυλο-Ο-β-D-γλυκοκυρανοσυλο-(1→2)-β-D- μαννοκυρανοσυλο)φλαβόνη] διακετυλοϊσοσταχυφλασιΐδης (XI), σπεκταβιφλασιΐδης (XII), ακετυλοϊσοσταχυφλασιΐδης (X) 4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III), ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β- D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (IV)	Komissarenko 1976 Kostyuchenko <i>et al.</i> , 1982a Kostyuchenko <i>et al.</i> , 1982b Lenherr <i>et al.</i> , 1984b
<i>S. angustifolia</i> M.B., <i>S. tetragona</i> Boiss. & Hayek	4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III), ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)- β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. annua</i> L.	σταχαννίνη, σταχανοσίδης Β 4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III), ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)- β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D- αλλοκυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (IV)	Sheremet & Komissarenko, 1971 Lenherr <i>et al.</i> , 1984a

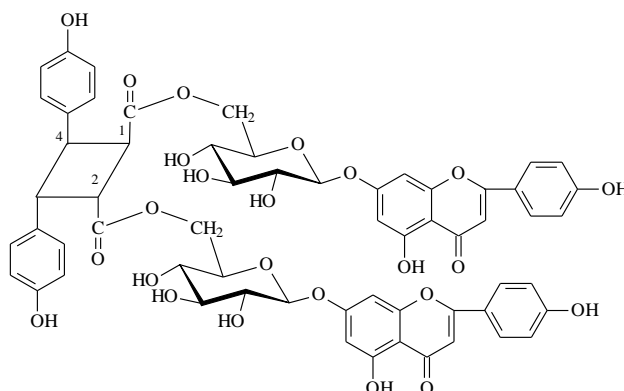
<i>S. annua</i> (L.) L. subsp. <i>annua</i>	υπολαετινο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)- 6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (VIIb), 4'- <i>O</i> -μεθυλο-υπολαετινο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Venditti <i>et al.</i> , 2015
<i>S. neglecta</i> Klok. ex Kossko = <i>St. annua</i> (L.) L.	λουτεολινο-7- <i>O</i> -D-γλυκοπυρανοσίδης (XVII), απιγενινο-7- <i>O</i> -D-γλυκοπυρανοσίδης, 7-μεθοξυβαϊκαλεϊνο-6- <i>O</i> -D-ακυλογλυκοβιοσίδης, απιγενίνη, λουτεολίνη.	Zinchenko, 1970
<i>S. beckeana</i> Dörfler & Hayek	ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. parolinii</i> Vis.	ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. leucoglossa</i> Griseb.	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης (III), ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. recta</i> L.	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (III), ισοσκουτελλαρεϊνή, 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνή	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a;
	ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984b
<i>S. recta</i> L.	υπολαετινο-7- <i>O</i> -(2-αλλοσυλο)-γλυκοπυρανοσίδης, ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[αλλοσυλο(1→2)]- γλυκοπυρανοσίδης, 3'-υδροξυ -4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> - αλλοσυλο -(1→2)-γλυκοπυρανοσίδης, ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[6'', 6'''-δι-ακετυλο -αλλοσυλο(1→2)]-γλυκοπυρανοσίδης (II) 3'- υδροξυ -4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[6'', 6'''-δι-ακετυλο -αλλοσυλο- (1→2)]-γλυκοπυρανοσίδης (V) ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[6'''- ακετυλο-αλλοσυλο -(1→2)]-γλυκοπυρανοσίδης (I), 3'- υδροξυ -4'- <i>O</i> -μεθυλο- ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- ακετυλο-αλλοσυλο-(1→2)]- γλυκοπυρανοσίδης (IV), 4'- <i>O</i> - μεθυλο- ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[αλλοσυλο -(1→2)]-γλυκοπυρανοσίδης, 3'- υδροξυ -4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -(6''- ακετυλο -εξοσυλο)-εξοσίδης (ισομερές), 4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[6'''- ακετυλο - αλλοσυλο -(1→2)]-γλυκοπυρανοσίδης, 4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -[6'',6'''-δι-ακετυλο -αλλοσυλο-(1→2)]- γλυκοπυρανοσίδης, απιγενινο-7- <i>O</i> -(6''-π- <i>E</i> -κουμαροϋλο)-γλυκοπυρανοσίδης, 4'- <i>O</i> - μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο -7- <i>O</i> -(εξοσυλο)-εξοσίδης (ισομερές), απιγενινο -7- <i>O</i> -(3''-π- <i>E</i> - κουμαροϋλο) - γλυκοπυρανοσίδης	Karioti <i>et al.</i> , 2010
<i>S. labiosa</i> Bertol. = <i>S. recta</i> L. subsp. <i>grandiflora</i> (Cruel) Arcangeli <i>S. subcrenata</i> Vis.= <i>S. recta</i> L. subsp. <i>subcrenata</i> (Vis.) Briq.	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης], ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I), 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a

<i>S. baldacii</i> (Maly) Hand.-Mazz. = <i>S. recta</i> L. subsp. <i>baldacii</i> (K. Maly) Hayek	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης], ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. spinosa</i> L.	σταχυσπινοςίδης [=χρυσοεριολο-7-[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (XIXα), ισοσταχυσπινοςίδης [= χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -β-αλλοπυρανοσυλο-(1'→2'')][6''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (XIXβ)	Kotsos <i>et al.</i> , 2001, Kotsos <i>et al.</i> , 2007
<i>S. bombycina</i> Boiss.	χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης (XXXVI), απιγενινο-7- <i>O</i> -β-D-(6-π-κουμαροϋλο)-γλυκοπυρανοσίδης (XXXV)	Tundis <i>et al.</i> , 2014 Delazar <i>et al.</i> , 2005
Sectio Macrostachya		
<i>S. scardica</i> (Griseb.) Hayek	7- <i>O</i> -γλυκουρονίδης της τρικίνης, 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της τρικίνης, 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της σελγίνης, 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της υπολαετίνης, 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της λουτεολίνης (XVII), 3',4',5'-τριμεθυλο 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της τρικετίνης, 6- <i>C</i> -γλυκοσίδης της λουτεολίνης (=ισσοριεντίνη), 8- <i>C</i> -γλυκοσίδης της απιγενίνης (=βιτεξίνη), 7- <i>O</i> -π-κουμαροϋλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. ocymastrum</i> (L.) Briq.	απιγενινο-7- <i>O</i> -β-D-6''- <i>O</i> -π-κουμαροϋλογλυκοπυρανοσίδης, ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-γλυκοπυρανοσίδης, λουτεολίνη (XXIX),απιγενίνη(XXX)	Lakhal <i>et al.</i> , 2011
Sectio Swainsoniana		
<i>S. anisochila</i> Vis. & Pancic	ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I) , 3'-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (IV) υπολαετινο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοσυλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (VI), υπολαετινο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοσυλοπυρανοσυλο)-(1→2)- 6''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (VII), ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-6''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (III), 3-υδροξυ-4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)- 6''- <i>O</i> -ακετυλο -β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (V) 7- <i>O</i> -ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της ισοσκοτελλαρεϊνης (I) 4'-μεθυλο-7- <i>O</i> -ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της ισοσκοτελλαρεϊνης, 7- <i>O</i> -π-κουμαροϋλογλυκοσίδης της απιγενίνης.	Lenherr and Mabry 1987 Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. decumbens</i> Pers.	8-υδροξυφλαβονο-αλλοσυλογλυκοσίδες (δεν προσδιορίζονται)	Tomás-Barberán <i>et al.</i> , 1992
<i>S. menthifolia</i> Vis.	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης], ισοσκοτελλαρεϊνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο)-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] (I)	Lenherr <i>et al.</i> , 1984a
<i>S. swainsonii</i> Benth. subsp. <i>swainsonii</i>	απιγενίνη, κοσμοσίδης, λουτεολινο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης (XVII) χρυσοεριολή (XIV), ισοραμεντίνη (XXII), πεντουλετίνη (XXIV), εριοδικτυόλη, ευπατορίνη (XXIII), 5-υδροξυαουρανετίνη (XXVII)	Skaltsa <i>et al.</i> , 2007
<i>S. swainsonii</i> ssp. <i>argolica</i> (Boiss.) Phitos and Damboldt	απιγενίνη, χρυσοεριολή, ξανθομικρόλη (XIII), σαλβιγενίνη (XXI), εριοδικτυόλη, ευπατορίνη, κοσμοσίδης, λουτεολινο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης (XVII), χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης (XVI), χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -(3''- <i>O</i> -E-π-κουμαροϋλο)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης(XVIII)	Skaltsa <i>et al.</i> , 2007

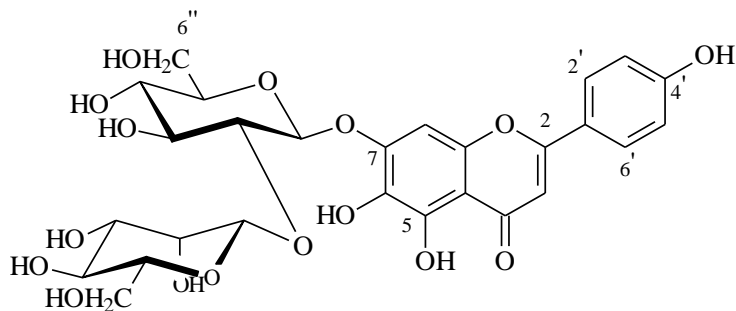
<i>S. swainsonii</i> subsp. <i>melangavica</i> D. Persson	απιγενίνη, πεντουλετίνη (XXIV), εριοδικτυόλη, ευπατορίνη (XXIII), 5-υδροξυαουρανετίνη (XXVII), κοσμοσίδης, σταχυσπινοσίδης (XIXa), λουτεολινο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης, χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης	Skaltsa <i>et al.</i> , 2007
<i>S. swainsonii</i> subsp. <i>scyronica</i> (Boiss.) Phitos and Damboldt	απιγενίνη, πεντουλετίνη, εριοδικτυόλη (XXIV), ευπατορίνη (XXIII), 5-υδροξυαουρανετίνη (XXVII), κοσμοσίδης, λουτεολινο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης (XVII), χρυσοεριολο-7- <i>O</i> -β-D-γλυκοσίδης (XVI), σταχυσπινοσίδης (XIXa)	Skaltsa <i>et al.</i> , 2007
<i>S. ionica</i> Halácsy	απιγενίνη, 5- <i>O</i> -υδροξυ-3,6,7,4'-τετραμεθοξυφλαβόνη (XXVIII), σαλβιγενίνη (XXI), ξανθομικρόλη (XIII), χρυσοσπλενετίνη (XXV), καστικήνη (XXVI), απιγενινο-7- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> - <i>E</i> -π-κουμαρούλο)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης, ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο (1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I), 4'- <i>O</i> -μεθυλοϊσοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης]	Meremeti <i>et al.</i> , 2004
sectio Stachys		
<i>S. mialhesi</i> de Noé	απιγενινο-7- <i>O</i> -(6''- <i>E</i> -π-κουμαρούλο)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I)	Laggoune <i>et al.</i> , 2016
<i>S. palustris</i> L.	παλουστρίνη= 5-(γλυκουρονογλυκοσυλο)-7-μεθοξυβαϊκαλεΐνη παλουστρινοςίδης= 5-(γλυκουρονοσυλο)-7-μεθοξυβαϊκαλεΐνη βικενίνη-2=6,8-δι- <i>C</i> -γλυκοσίδης της απιγενίνης ισοραμνετινο-3- <i>O</i> -ρουτινοσίδης, κερκετινο-3- <i>O</i> -ρουτινοσίδης απιγενινο-7- <i>O</i> -π-κουμαρούλογλυκοσίδης	Zinchenko, 1970 Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. sylvatica</i> L.	8-υδροξυφλαβονο-αλλοσυλογλυκοσίδες (δεν προσδιορίζονται) 7- <i>O</i> -ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της χρυσοεριολής 7- <i>O</i> - <i>p</i> -κουμαρούλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Tomás-Barberán <i>et al.</i> , 1992 Marin <i>et al.</i> , 2004
<i>S. plumosa</i> Griseb.	7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της λουτεολίνης (XVII), 7- <i>O</i> -γλυκοσίδης της απιγενίνης, 7- <i>O</i> -ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της χρυσοεριολής, 7- <i>O</i> -ακετυλο-αλλοσυλο-γλυκοσίδης της ισοσκουτελλαρεΐνης (I), 7- <i>O</i> - <i>p</i> -κουμαρούλογλυκοσίδης της απιγενίνης	Marin <i>et al.</i> , 2004
Sectio Zietenia		
<i>S. tibetica</i> Vatke	απιγενινο-7-γλυκοσίδης (XXXII)	Kumar <i>et al.</i> , 2014
Άγνωστο sectio		
<i>S. sieboldii</i> Miq.	4'- <i>O</i> -μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (III), ισοσκουτελλαρεΐνο-7- <i>O</i> -[6'''- <i>O</i> -ακετυλο-β-D-αλλοκυρανοσυλο(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης] (I)	Takeda, 1985



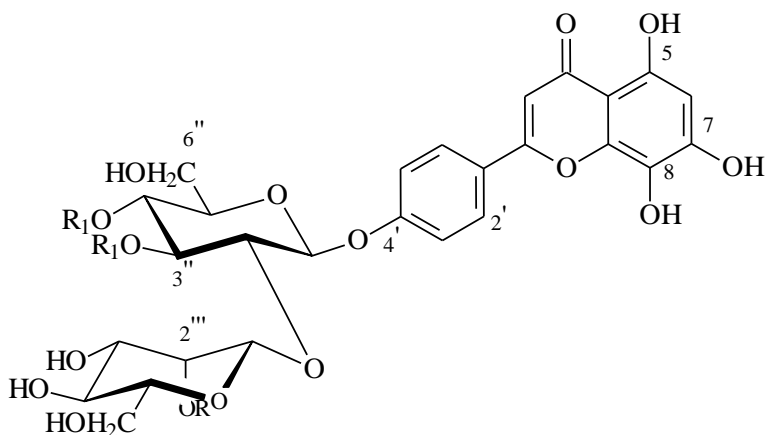
I: R ₁ = R ₂ = R ₃ = R ₄ = H, R ₅ = Ac	ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
II: R ₁ = R ₂ = R ₄ = H, R ₃ = R ₅ = Ac	ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
III: R ₁ = Me, R ₂ = R ₃ = R ₄ = H, R ₅ = Ac	4'-Ο-μεθυλο-ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
IV: R ₁ = Me, R ₂ = OH, R ₃ = R ₄ = H, R ₅ = Ac	4'-Ο-μεθυλο-υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
V: R ₁ = Me, R ₂ = OH, R ₃ = Ac, R ₄ = H, R ₅ = Ac	4'-Ο-μεθυλο-υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
VI: R ₁ = R ₃ = H, R ₂ = OH, R ₄ = H, R ₅ = Ac	υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
VIIa: R ₁ = H, R ₂ = OH, R ₃ = H, R ₄ = Ac, R ₅ = Ac	υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-3''-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]
VIIb: R ₁ = H, R ₂ = OH, R ₃ = Ac, R ₄ = H, R ₅ = Ac	υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-Ο-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης]



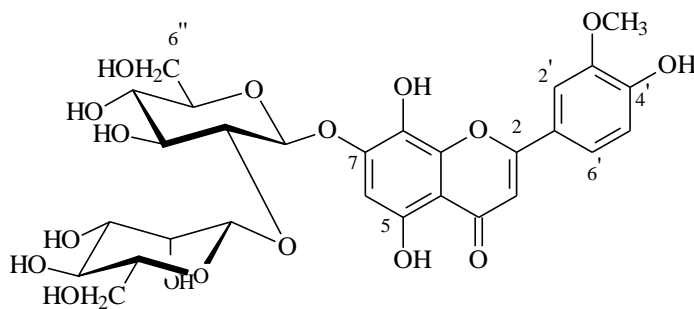
VIII : σταχυσεΐνη = διαπιγενινο-7-Ο-(6''-trans, 6''-cis-π,π'-διυδροξυ-μ-τρουξινυλο)-γλυκοσίδης



IX: σταχυφλασίδης

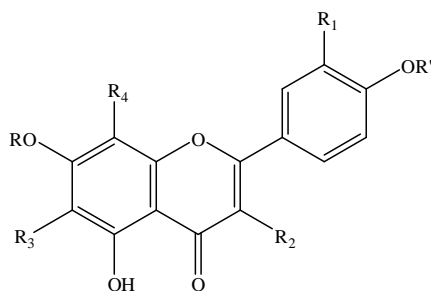


X R = Ac, R ₁ = H	ακετυλοϊσοσταχυφλασίδης
XI R = H, R ₁ = Ac	διακετυλοϊσοσταχυφλασίδης

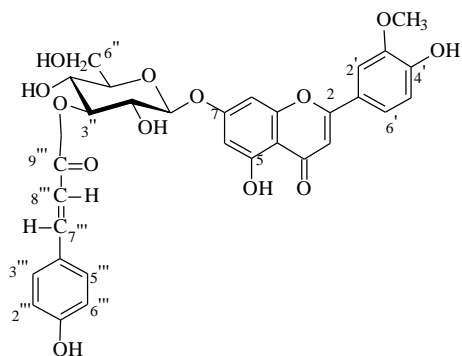


XII: σπεκταβιφλασίδης =

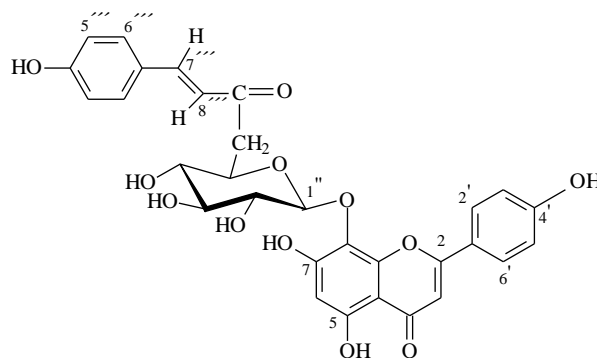
5,8,4'-τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-7-Ο-(β-D-γλυκοκυρανο-2''-Ο-β-D-μαννοκυρανοσυλο) φλαβόνη



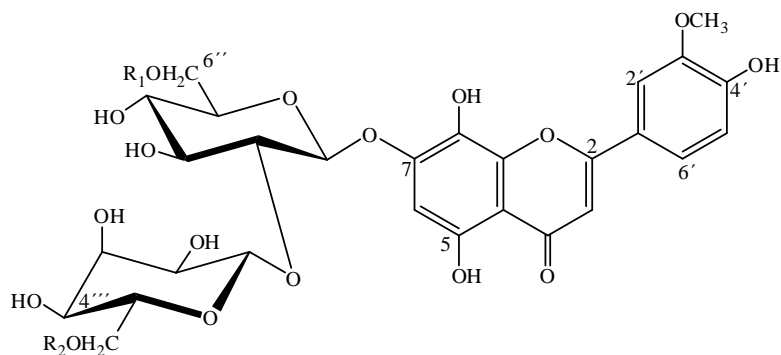
	R1	R2	R3	R	R4	R'	
XIII	OH	H	OMe	Me	OMe	H	ξανθομικρόλη
XIV	OMe	H	H	H	RH	H	χρυσοεριόλη
XV	H	Ome	OMe	Me	OMe	H	καλκοπτερίνη
XVI	OMe	H	H	glu	H	H	χρυσοεριολο-7-O-β-D-γλυκοπυρανοσίδης
XVII	OH	H	H	glu	H	H	λουτεολινο-7-O-β-D- γλυκοπυρανοσίδης
XXI	H	H	OMe	Me	H	Me	σαλβιγενίνη
XXII	OMe	OH	H	H	H	H	ισοραμενίνη
XXIII	OH	H	OMe	Me	H	Me	ευπατορίνη
XXIV	H	Ome	OMe	Me	H	H	πεντουλετίνη
XXV	OMe	Ome	OMe	Me	H	H	χρυσοσπλενετίνη
XXVI	OH	Ome	OMe	Me	H	Me	καστικήνη
XXVII	OMe	Ome	OMe	Me	OMe	Me	5-υδροξυ-αουρανετίνη
XXVIII	OH	Ome	OMe	Me	H	Me	5-υδροξυ-3, 6, 7, 4'-τετραμεθοξυ-φλαβόνη
XXIX	OH	H	H	H	H	H	λουτεολίνη
XXX	H	H	H	H	H	H	απιγενίνη
XXXI	OMe	H	H	glu	H	Me	3',4'-διμεθυλαιθερας-7-O-γλυκοσίδης της λουτεολίνης
XXXII	H	H	H	glu	H	H	απιγενινο-7-γλυκοσίδης
XXXIII	OMe	H	OMe	Me	OMe	H	8-μεθοξυσιριλινεόλη
XXXIV	OMe	H	OMe	H	H	Me	ευπατιλίνη



XVIII: χρυσοεριολο-7-O-β-D-(3''-E-π-κουμαροϋλο)-γλυκοπυρανοσίδης

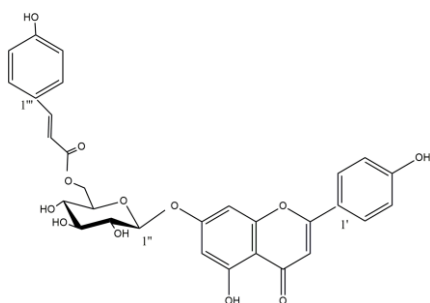


XX: ισοσκουτελλαρεΐνο-8-O-(6''-trans-π-κουμαροϋλο)-β-D-γλυκοσίδης

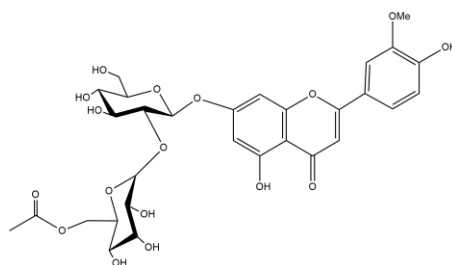


XIXα: R₁=H, R₂=Ac σταχυσπινοσίδης

XIXβ: R₁= Ac, R₂= H ισοσταχυσπινοσίδης



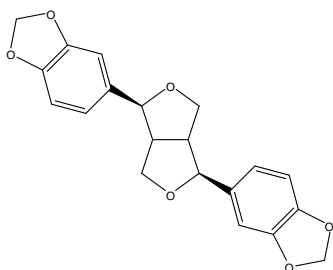
XXXV: απιγενινο-7-*O*-β-D-(6-π-κουμαροϋλο)-
γλυκοκυρανοσίδης



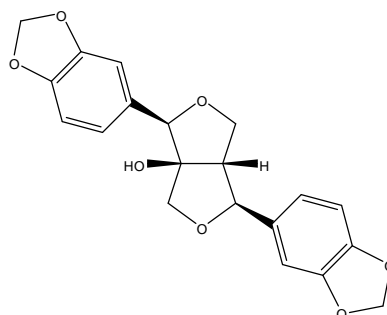
XXXVI: χρυσοεριολο-7-*O*-[6-*O*-ακετυλο-β-D-
αλλοπυρανοσυλο]-(1→2)-β-D-γλυκοκυρανοσίδης

Ιβ. Λιγνάνια

<i>S. mialhesi</i> de Noé	(+)-σεσαμίνη (I), (±)- παουλοσυνίνη (II)	Laggoune <i>et al.</i> , 2016
---------------------------	--	-------------------------------



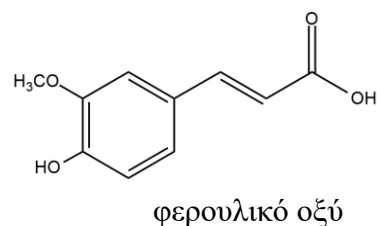
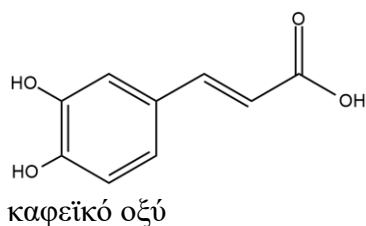
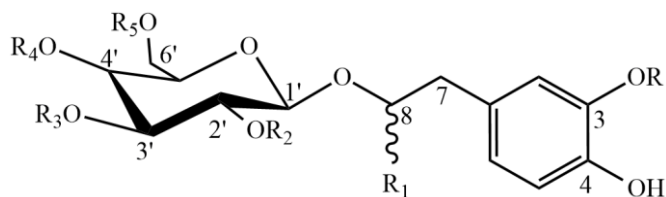
(+)-σεσαμίνη (I)



(±)- παουλοσυνίνη (II)

Ιγ. Φαινυλοαιθανοειδείς γλυκοσίδες

<i>S. schtschegleevii</i>	Ακτεοσίδης (I), μπετονουοσίδης F (X)	Nazemiyeh <i>et al.</i> , 2006
<i>S. macrantha</i> (C. Koch.) Stearn [= <i>Betonica grandiflora</i> Willd.]	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I), λευκοσεπτοσίδης A (XIV), μαρτυνοσίδης (XV), λαβαντουλιφολιοσίδης [=σταχυσοσίδης A] (XIII)	Çalis <i>et al.</i> , 1992
<i>S. byzantina</i> K. Koch.	2'-O-αραβινοσυλο-βερμπασκοσίδης (XI), ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I) αισχυνανθοσίδης C (XII)	Asnaashari <i>et al.</i> , 2010 Takeda <i>et al.</i> , 1997
<i>S. officinalis</i> (L.) Trevis.	βυζαντιοσίδης A, βυζαντιοσίδης B, ικαρισίδης B2 μπετονουοσίδης A-F (VI-X), ακτεοσίδης (I), ισο ακτεοσίδης (II), καμπνεοσίδης II (III), φορσουθοσίδης B (IV), λευκοσεπτοσίδης (V)	Miyase <i>et al.</i> , 1996
<i>S. sieboldii</i> Miq.	σταχυσοσίδης A [=λαβαντουλιφολιοσίδης (XIII)], σταχυσοσίδης B, σταχυσοσίδης C (XVII), σταχυσοσίδης D (XVIII), δεκαφεούλο-ακτεοσίδης (XVI), ακτεοσίδης (I), <i>cis</i> -ακτεοσίδης, ισοακτεοσίδης (II), λευκοσεπτοσίδης A (XIV), μαρτυνοσίδης (XV)	Nishimura <i>et al.</i> , 1991
<i>S. parviflora</i>	παρβιφοροσίδης A (XIX), παρβιφοροσίδης B (XX)	Uddin Ahmad <i>et al.</i> 2005
<i>S. lavandulifolia</i> Vahl.	λαβαντουλιφολιοσίδης A [=σταχυσοσίδης A] (XIII), ακτεοσίδης (I), λευκοσεπτοσίδης A (XIV), λαβαντουλιφολιοσίδης B [= 4,3',4'- τριμεθοξυ-λαβαντουλιφολιοσίδης A]	Başaran and Çaliş, 1988 Delazar <i>et al.</i> 2011 Tundis <i>et al.</i> 2015
<i>S. recta</i> L.	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I), φορσουθοσίδης B (IV), β -OH-φορσουθοσίδης B (XXI), καμπνεοσίδης I (XXIII), καμπνεοσίδης II (III), μπετονουοσίδης E (IX), ισοακτεοσίδης (II)	Karioti <i>et al.</i> , 2010
<i>S. lanata</i> Crantz.	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I), νταρεντοσίδης B (XXII), ισοακτεοσίδης (II), μαρτυνοσίδης (XV), σταχυσοσίδης C (XVII), λεονοσίδης B (XIX), καμπνεοσίδης II (III), καμπνεοσίδης I (XXIII), ροδιολοσίδης (XXIV), 2-φαινυλο-αιθυλο- β -D-ξυλοπυρανοσυλο-(1→6) - β -D-γλυκοπυρανοσίδης (XXV)	Murata <i>et al.</i> , 2008
<i>S. tymphaea</i> Hausskn.	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I), σταχυσοσίδης A	Venditti <i>et al.</i> , 2014
<i>S. alopecuros</i> (L.) Bentham subsp. <i>divulsa</i> (Ten.) Grande	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I)	Venditti <i>et al.</i> , 2013a
<i>S. germanica</i> L. subsp. <i>salviifolia</i> (Zen.) Gams	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I)	Venditti <i>et al.</i> , 2013b
<i>S. affinis</i> Bunge	ακτεοσίδης [=βερμπασκοσίδης] (I), λευκοσεπτοσίδης A (XIV), μαρτυνοσίδης (XV)	Venditti <i>et al.</i> , 2017



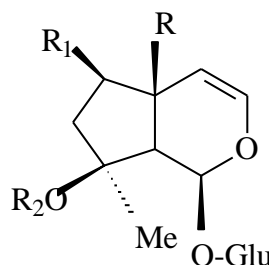
	R	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	
I	H	H	H	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	H	Ακτεοσίδης
II	H	H	H	ραμνόση	H	καφεϊκό οξύ	Ισοακτεοσίδης
III	H	OH	H	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	H	καμπνεοσίδης II (β-υδροξυακτεοσίδης)
IV	H	H	H	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	απίοση	φορσυθοσίδης B
V	Me	H	H	ραμνόση	φερουλικό οξύ	απίοση	λευκοσεπτοσίδης B
VI	H	OH	H	ραμνόση	φερουλικό οξύ	H	μπετονουσίδης A
VII	H	OH	H	ραμνόση	H	φερουλικό οξύ	μπετονουσίδης B, C (πιθανόν ισομερή)
VIII	Me	H	H	ραμνόση	<i>cis</i> -φερουλικό οξύ	απίοση	μπετονουσίδης D
IX	OMe	H	H	ραμνόση	φερουλικό οξύ	απίοση	μπετονουσίδης E
X	H	H	H	ραμνόση (1→2) απίοση	καφεϊκό οξύ	H	μπετονουσίδης F
XI	H	H	αραβινόση	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	H	2'-Ο-αραβινουλο- βερμπασκοσίδης
XII	Me	H	H	ξυλόση	φερουλικό οξύ	H	αισχυνανθοσίδης C
XIII	H	H	H	ραμνόση (1→2) αραβινόση	καφεϊκό οξύ	H	λαβαντουλιφολιοςίδης=σταχυ σοσίδης A
XIV	H	H	H	ραμνόση	φερουλικό οξύ	H	λευκοσεπτοσίδης A
XV	Me	H	H	ραμνόση	φερουλικό οξύ	H	Μαρτυνοσίδης
XVI	H	H	H	ραμνόση	H	H	δεκαφεούλο-ακτεοσίδης
XVII	H	H	H	ραμνόση (1→2) αραβινόση	φερουλικό οξύ	R ₅ = H	σταχυσοσίδης C
XVIII	Me	H	H	ραμνόση (1→2) αραβινόση	φερουλικό οξύ	H	σταχυσοσίδης D= λεονοσίδης B
XIX	H	H	ραμνόση	H	καφεϊκό οξύ	H	παρβιφλοροσίδης A
XX	H	H	ραμνόση	H	H	καφεϊκό οξύ	παρβιφλοροσίδης B
XXI	H	OH	H	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	απίοση	β-OH-φορσυθοσίδης B
XXII	Me	H	H	ραμνόση	H	H	νταρεντοσίδης B
XXIII	H	OMe	H	ραμνόση	καφεϊκό οξύ	H	καμπνεοσίδης I

ΠΙΝΑΚΑΣ II ΤΕΡΠΗΝΙΑ: ιριδοειδή, διτερπένια, τριτερπένια, που έχουν αναφερθεί στο γένος *Stachys* L.

IIα. Ιριδοειδή

<i>Stachys atherocalyx</i> C. Koch., <i>S. balansae</i> Boiss., <i>S. lavandulifolia</i> Vahl, <i>S. germanica</i> L., <i>S. spectabilis</i> Choisy ex DC.	αγιουγκόλη (I), αγιουγκοσίδης (II) αγιουγκόλη, αγιογγοσίδης αγιουγκόλη, αγιογγοσίδης αρπαγίδης (III) αρπαγίδης, αγιογγοσίδης, αγιογγοσίδης	Derkach <i>et al.</i> , 1987
<i>S. foliosa</i> Rupr. [= <i>Betonica foliosa</i>], <i>S. betonicaeflora</i> Rupr.	8-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αρπαγίδης (III)	Livinenko and Aronova, 1968
<i>St. ionica</i> Halácsy	8-επι-λογανικό οξύ (Va), γαρδοσίδης (VI)	Meremeti <i>et al.</i> , 2003
<i>S. macrantha</i> (C. Koch.) Stearn [= <i>Betonica grandiflora</i> Willd.]	αρπαγίδης, αλλοβετονικοσίδης (VIII), αγιουγκόλη, αγιογγοσίδης (II), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), ρεπτοσίδης (VII), μακρανθοσίδης [=8-O- (3, 4-διμεθοξυ- κινναμοϋλο-αρπαγίδης)] (IX)	Çalis <i>et al.</i> , 1992
<i>S. officinalis</i> (L.) Trevis.= <i>Betonica officinalis</i> L.	8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), ρεπτοσίδης (VII), αγιογγοσίδης (II), αγιογγοσίδης (II), μελιττοσίδης (XIII), αρπαγίδης (III), ακετυλοαρπαγίδης, αλλοβετονικοσίδης (VIII), 6-O-ακετυλομοιοποροσίδης, σουκουμπίνη (XVI), αρπαγοσίδης (XVII)	Jeker <i>et al.</i> , 1989 Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. sieboldii</i> Miq.	(6' → 1'' γλυκοσυλο)-αρπαγίδης (X)	Miyase <i>et al.</i> , 1990
<i>S. spinosa</i> L.	7-O-ακετυλο-8-επι-λογανικό οξύ (Vb), αγιουγκόλη (I), αρπαγίδης (III),	Kotsos <i>et al.</i> , 2001
<i>S. grandidentata</i> Lindl.	καταλόλη (XI), μονομελιττοσίδης (XII), μελιττοσίδης (XIII), αρπαγίδης (III), 8-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αγιουγκόλη (I), 5(?)-δεσοξυ-αρπαγίδης (XII), 5-δεσοξυ-8-ακετυλο-αρπαγίδης (IVb)	Muñoz <i>et al.</i> , 2001
<i>S. lanata</i> Crantz.	σταχυσσοσίδης E-H (XIVa-d)	Murata <i>et al.</i> , 2008
<i>S. recta</i> L.	μελιττοσίδης (XIII), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa) αρπαγίδης (III), αγιογγοσίδης (I), αγιογγοσίδης (II), σουκουμπίνη (XVI), αρπαγοσίδης (XVII)	Karioti <i>et al.</i> , 2010 Lenher <i>et al.</i> , 1984 Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. officinalis</i> (L.) Trevis., <i>S. grandiflora</i> Willd & Benth., <i>S. recta</i> L., <i>S. palustris</i> L., <i>S. macrantha</i> (K. Koch) Stearn, <i>S. sylvatica</i> L., <i>S. germanica</i> L., <i>S. byzantina</i> K. Koch.	8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αρπαγίδης (III)	Háznagy-Radnai <i>et al.</i> , 2007
<i>S. tymphaea</i> Hausskn.	αρπαγίδης (III)	Venditti <i>et al.</i> , 2014
<i>S. alopecuros</i> (L.) Bentham subsp. <i>divulsa</i> (Ten.) Grande	αρπαγίδης (III), ακετυλοαρπαγίδης, 4'-O-β-D-γαλακτοπυρανοσυλο-τευρκοσίδης (XV) αλλοβετονικοσίδης (VIII), τευρκοσίδης	Venditti <i>et al.</i> , 2013a Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. germanica</i> L. subsp. <i>salviifolia</i> (Zen.) Gams	αρπαγίδης (III), 7β-υδροξυ-αρπαγίδης, αγιουγκόλη (I), 5-αλλοσυλοξυ-σουκουμπίνη (XVI)	Venditti <i>et al.</i> , 2013b

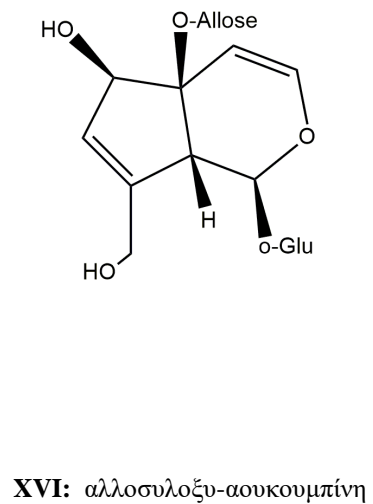
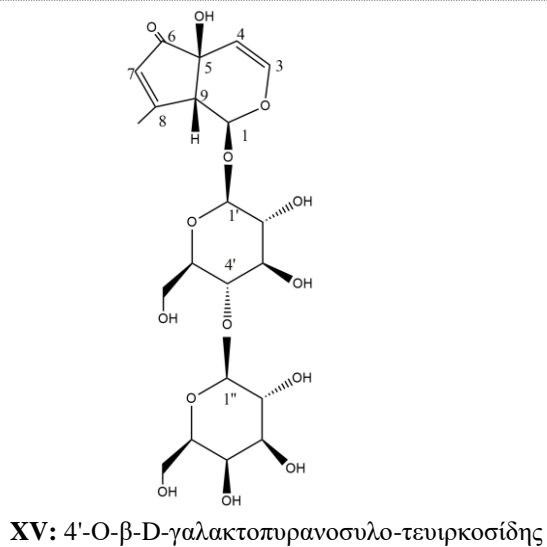
<i>Stachys affinis</i> Bunge	αρπαγίδης (III), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), μελιττοσίδης (XIII), 5-αλλοσυλοξυ-αουκουμπίνη (XVI)	Venditti <i>et al.</i> , 2017
<i>S. lavandulifolia</i> Vahl.	μονομελιττοσίδης (XII), μελιττοσίδης (XIII), 5-αλλοσυλοξυ-αουκουμπίνη (XVI)	Tundis <i>et al.</i> , 2015
<i>S. germanica</i> L.	αρπαγίδης (III), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αουκουμπίνη (XVI), αγιογκοσίδης (II), αρπαγοσίδης (XVII)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. alpina</i> L.	αρπαγίδης (III), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αουκουμπίνη (XVI), αγιογκοσίδης (II), αρπαγοσίδης (XVII)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. glutinosa</i> L.	5-αλλοσυλοξυ-οκουμπίνη (XVI), αρπαγίδης (III), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αγιογκόλη (I), μονομελιττοσίδης (XII), μελιττοσίδης (XIII), καταλόλη (XI), αλλοβετονικοσίδης (VIII)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. corsica</i> L.	αρπαγίδης (III), 8-O-ακετυλο-αρπαγίδης (IVa), αγιογκόλη (I), μονομελιττοσίδης (XII), μελιττοσίδης (XIII), καταλόλη (XI)	Tundis <i>et al.</i> , 2014



I	R=H, R ₁ =OH, R ₂ =H	Αγιογκόλη
II	R=H, R ₁ =OH, R ₂ =Ac	Αγιογκοσίδης
III	R=OH, R ₁ =OH, R ₂ =H	Αρπαγίδης
IVa	R=OH, R ₁ =OH, R ₂ =Ac	8-ακετυλο-αρπαγίδης
IVb	R=H, R ₁ =OH, R ₂ =Ac	5-δεσοξυ-8-ακετυλο-αρπαγίδης
VII	R=OH, R ₁ =H, R ₂ =Ac	Ρεπτοσίδης
XVII	R=OH, R ₁ =OH, R ₂ =cinnamoyl	αρπαγοσίδης

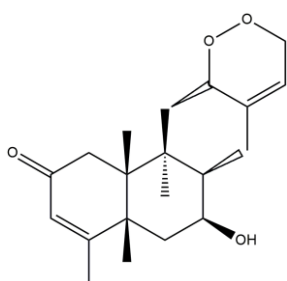
<p>Va: 8-επι-λογανικό οξύ, R=H</p>	<p>VI: γαρδοσίδης</p>
<p>Vb: 7-O-ακετυλο-8-επι-λογανικό οξύ, R= Ac</p>	<p>IX: μακρανθοσίδης</p>
VIII: αλλοβετονικοσίδης	

<p style="text-align: center;">X</p>	<p style="text-align: center;">XI: καταλόγη</p>
<p style="text-align: center;">XII: μονομελιττοσίδης</p>	<p style="text-align: center;">XIII: μελιττοσίδης</p>
<p style="text-align: center;">Σταχυσοσίδης E (XIVa)</p>	<p style="text-align: center;">Σταχυσοσίδης F [R₁=H, R₂= O-π-(Z)-κουμαροϋλο, R₃=H] (XIVb) Σταχυσοσίδης G [R₁=H, R₂=H, R₃= O-π-(Z)-κουμαροϋλο] (XIVc) Σταχυσοσίδης H [R₁= O-π-(Z)-κουμαροϋλο, R₂=H, R₃=H] (XIVd)</p>

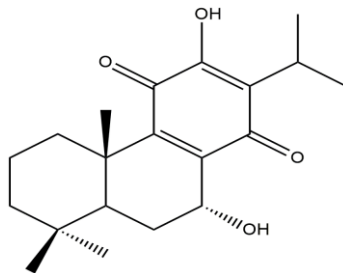


Πβ. Διτερπένια

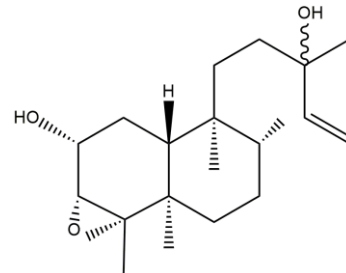
<i>S. aegyptiaca</i>	σταχυσπεροξίδης (I)	Abou El-Hamd <i>et al.</i> , 2014
<i>S. mialhesi de Noé</i>	ορμινόνη (II)	Laggoune <i>et al.</i> , 2016
<i>S. glutinosa</i> L.= <i>Betonica glutinosa</i>	3α,4α-εποξυροζεοσταχενόλη (III), ροζεοσταχενόνη (IV)	Ruiu <i>et al.</i> , 2015
<i>S. lavandulifolia</i> Vahl.	σταχυσολόνη (V)	Tundis <i>et al.</i> , 2015
<i>S. annua</i>	σταχυσολόνη (V), διακετυλ-σταχυσολόνη (VI), 7- μονοακετυλο-σταχυσολόνη (VII), 13-μονοακετυλο- σταχυσολόνη (VIII), αννουανόνη (XVI), σταχυλόνη (XVII), σταχόνη (XVIII)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. sylvatica</i>	αννουανόνη (XVI), σταχυλόνη (XVII), σταχόνη (XVIII), σταχυσικό οξύ (IX), 6β-υδροξυ-εντ-καουρ-16-ένιο (X), 6β, 18-διυδροξυ-εντ-καουρ-16-ένιο (XI), μετολιδής (XIX)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>Betonica officinalis</i>	μπετονικολιδής (XX), μπετονικοσίδης A-D (XI-XV)	Tundis <i>et al.</i> , 2014
<i>S. balansae</i>	αννουανόνη (XVI), σταχυλόνη (XVII)	Tundis <i>et al.</i> , 2014



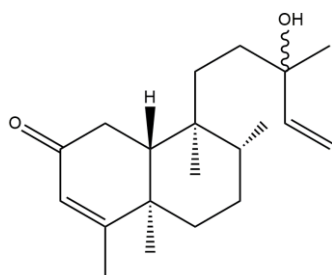
I: σταχυσπεροξίδης



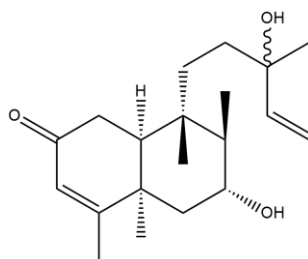
II: ορμινόνη



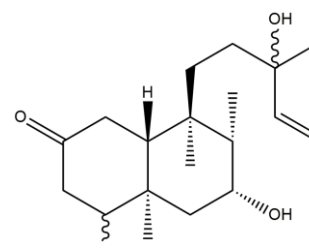
III: 3α,4α-εποξυροζεοσταχενόλη



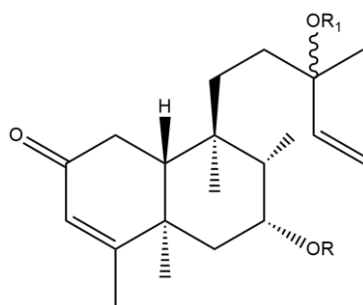
IV: ροζεοσταχενόνη



XVI: αννουανόνη

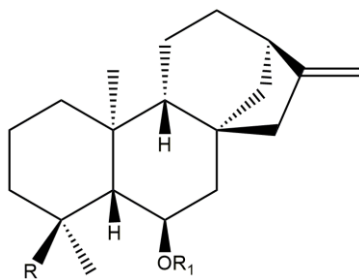


XVII: σταχυλόνη

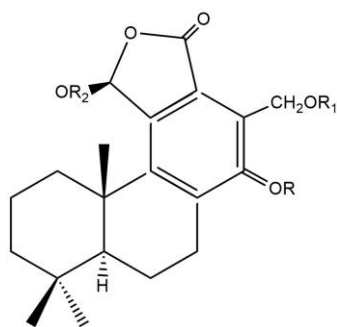


V	R=R ₁ =H	σταχυσολόνη
VI	R=R ₁ =Ac	διακετυλ-σταχυσολόνη
VII	R=Ac, R ₁ =H	7-μονοακετυλο-σταχυσολόνη
VIII	R=H, R ₁ =Ac	13-μονοακετυλο-σταχυσολόνη

XVIII: σταχόνη	XIX: μπετολίδης	XX: μπετονικολίδης



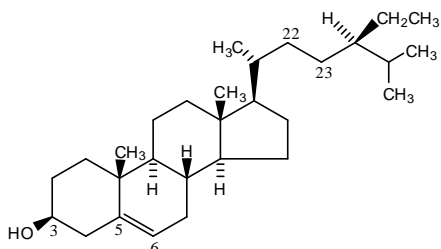
IX	R=COOH, R ₁ =Ac	σταχυσικό οξύ
X	R=Me, R ₁ =H	6β-υδροξυ-εντ-καουρ-16-ένιο
XI	R=CH ₂ OH, R ₁ =H	6β, 18-δωδροξυ-εντ-καουρ-16-ένιο



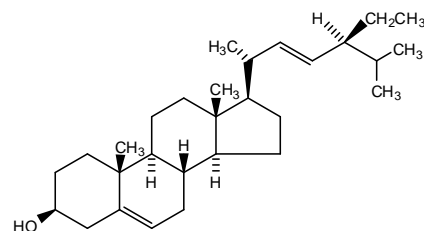
XII	R=R ₂ = Glc, R ₁ =H	μπετονικοσίδης Α
XIII	R=Glc, R ₁ =R ₂ =H	μπετονικοσίδης Β
XIV	R=R ₁ =H, R ₂ = Glc	μπετονικοσίδης C
XV	R=R ₂ =H, R ₁ =Glc	μπετονικοσίδης D

Πγ. Τριτερπενικά οξέα & Στερόλες

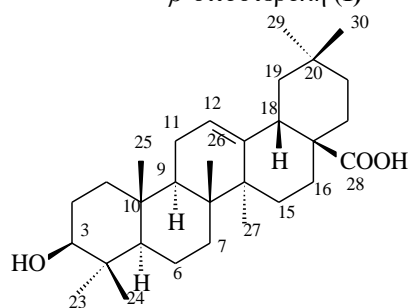
<i>S. mialhesi</i> de Noé	β -σιτοστερόλη (I), στιγμαστερόλη (II)	Laggoune <i>et al.</i> , 2016
<i>S. spinosa</i> L.	ολεανολικό οξύ (III), 12 α -υδροξυ-ολεανολική λακτόνη (IV), στιγμαστερόλη (II), β -σιτοστερόλη (I)	Kotsos <i>et al.</i> , 2007
<i>S. byzanthina</i> C. Koch.	στιγμαστερόλη (II), λαουσαριτόλη (V)	Khanavi <i>et al.</i> , 2005
<i>S. alopecuross</i> (L.) Bentham subsp. <i>divulsa</i> (Ten.) Grande	3-O- β -σιτοστερολο-γλυκοσίδης	Venditti <i>et al.</i> 2013a



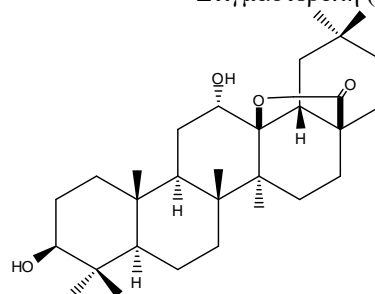
β -σιτοστερόλη (I)



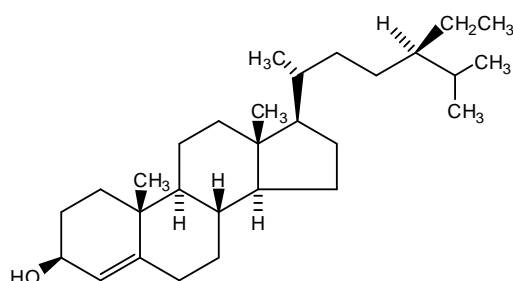
Στιγμαστερόλη (II)



ολεανολικό οξύ (III)



12 α -υδροξυ-ολεανολική λακτόνη (IV)



λαουσαριτόλη (V)

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1. ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ

B.1.1. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

α. Χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας

- 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 σε γυάλινες πλάκες 5 x 10cm (Kieselgel F₂₅₄, Merck, Art. 15685) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Μικροκρυσταλλική κυταρίνη (cellulose) χωρίς δείκτη φθορισμού σε φύλλα αλουμινίου 20 x 20 cm. Πάχος στιβάδος 0.1 mm (Merck, Art. 5552) (αναλυτική χρωματογραφία).
- Γέλη οξειδίου του πυριτίου με δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 20 x 20cm. Πάχος στιβάδας 0.25mm (Kieselgel F₂₅₄, Merck, Art. 5715) (παρασκευαστική χρωματογραφία).
- Μικροκρυσταλλική κυταρίνη (cellulose) χωρίς δείκτη φθορισμού σε γυάλινες πλάκες 20 x 20cm. Πάχος στιβάδος 0.25mm (Merck, Art. 5716) (παρασκευαστική χρωματογραφία).

β. Χρωματογραφία στήλης

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

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

δ. Υγρή Χρωματογραφία Μέσης Απόδοσης (MPLC)

Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας μέσης πίεσης (MPLC) σε σύστημα Büchi C-615 & αντλία 688, με στήλη γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (Büchi Borosilikat 3.3, Code No. 17981) (41.0 cm x 4.0 cm).

Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν μίγματα H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας, με ταχύτητα ροής 10.0 ml/min.

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

Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) σε χρωματογράφο με ανιχνευτή διαθλασίμετρου RID Shimadzu 10A και με αντλία Jasco PU-2080 Plus Isocratic.

Στήλη αντιστρόφου φάσης (reversed phase): Kromasil C₁₈ Semi-prep (250 x10 mm).

Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν τα κατάλληλα μίγματα διαλυτών ανάλογα με την πολικότητα του κάθε δείγματος, όπως περιγράφονται παρακάτω στην πορεία απομόνωσης.

Ταχύτητα ροής: 1.5 ml/min. Περιεκτικότητα των προς μελέτη κλασμάτων: 7 mg/ml.

στ. Χρωματογραφικά αντιδραστήρια

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

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

- αντιδραστήριο βανιλίνης:

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

Διάλυμα Β: π. H₂SO₄ 5% σε μεθανόλη (Stahl, 1969).

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

B.1.2. ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

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

β. Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

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

- Φασματογράφος Bruker AC 200 (200.13 MHz για ¹H-NMR και 50.3 MHz για ¹³C-NMR)

- Φασματογράφος Bruker DRX 400 (399.95 MHz για ¹H-NMR).

Τα φάσματα ελήφθησαν με τους ακόλουθους διαλύτες: CDCl₃ δίχως εσωτερικό πρότυπο, λαμβάνοντας το σήμα του διαλύτη ως αναφορά (7.24 ppm για ¹H-NMR και 77.0 ppm για ¹³C-NMR) & CD₃OD (3.31 ppm για ¹H-NMR και 49.5 ppm για ¹³C-NMR).

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

Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες τεχνικές:

- COSY (COrrelation SpectroscopY).
- HSQC (Heteronuclear Single Quantum Correlation).
- HSBC (Heteronuclear Single Bond Correlation).
- NOESY (Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY).
- ROESY (Rotating-frame Overhauser Effect SpectroscopY).

γ. Ειδική γωνία στροφής $[\alpha]_D$

Πολωσίμετρο Perkin-Elmer Polarimeter 341. Κυψελίδα 1 ml, μήκους 10 cm. Χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα των ουσιών σε CH₃OH (g/100ml).

B.1.3. ΔΙΑΛΥΤΕΣ

Η χρήση των διαλυτών έγινε κατόπιν αποστάξεως με εξαίρεση τη μεθανόλη (Panreac, ref. 131091.0716).

Για την HPLC χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι διαλύτες: μεθανόλη, οξικό οξύ, ακετονιτρίλιο, νερό. Πριν χρησιμοποιηθούν οι διαλύτες στην HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν.

B.2. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΗΣ ΔΡΟΓΗΣ

- *Stachys candida* Bory & Chaubard

Το φυτό συλλέχθηκε τον Ιούνιο του 2010 στον Ταΰγετο, σε υψόμετρο περίπου 500 μέτρων. Το φυτό ταυτοποιήθηκε από τον Αν. Καθηγητή Θ. Κωνσταντινίδη.

Χρησιμοποιήθηκαν 0.5 Kg υπεργείων τμημάτων ξηρού φυτού, αδρομερώς τετμημένων.

Η δρόγη υποβλήθηκε σε διαδοχική εκχύλιση εν ψυχρώ με τους εξής διαλύτες: διγλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂) και μεθανόλη (MeOH).

Από αυτά επιλέχθηκε το εκχύλισμα μεθανόλης (55.21 g) για περαιτέρω μελέτη.

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 (P₂O₅, Chemlab, Belgium).

B.3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ

Το μεθανολικό εκχύλισμα υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης υπό κενό (V.L.C., 10.0 cm x 3 cm) επί κυτταρίνης με υγρό έκλυσης νερό και μεθανόλη με στόχο την απομάκρυνση της χλωροφύλλης από το δείγμα. Τα δείγματα που ελήφθησαν είναι τα εξής: **STAM** (4.228 g) και **STAW** (31.7695 g).

Το κλάσμα STAW υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης πίεσης (MPLC, Medium Pressure Liquid Chromatography) σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 x 4.0 cm) με υγρό έκλυσης μίγματα διαλυτών H₂O: MeOH μειούμενης πολικότητας και ροή 10 ml/min.

Συλλέχθηκαν συνολικά 9 κλάσματα. Από αυτά, τα πρώτα 7 κλάσματα ήταν μέσου όγκου 500 ml και τα 2 τελευταία κλάσματα ήταν μέσου όγκου 1 L.

Κλάσμα	H ₂ O	MeOH	Κωδικός	Βάρος (g)
1	100	0	STAW-A	0.5128
2	90	10	STAW-B	4.7983
3	80	20	STAW-C	6.0915
4	70	30	STAW-D	4.6223
5	50	50	STAW-E	7.2354
6	20	80	STAW-F	6.2393
7	0	100	STAW-G	1.2009
8	0	100	STAW-H	0.0723
9	100	0	STAW-I	0.0690

Τα ληφθέντα κλάσματα, κατόπιν συμπύκνωσης, ελέγχθηκαν με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και επιλέγησαν για περαιτέρω μελέτη τα εξής: **STAW-C, STAW-E, STAW-G, STAW-I**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-C (6.0915 g)

Λόγω μεγάλης ποσότητας του κλάσματος STAW-C επεξεργαστήκαμε τη μισή ποσότητα. Αυτή υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.9 cm x 3 cm). Για την έκλυση χρησιμοποιήθηκαν MeOH 100% και μίγμα MeOH:H₂O (80:20). Ελήφθησαν συνολικά 47 κλάσματα μέσου όγκου 3 ml. Τα πρώτα 40 κλάσματα ήταν με διαλύτη έκλυσης

MeOH 100% και τα υπόλοιπα 7 κλάσματα εκλούστηκαν με το μίγμα διαλυτών MeOH/H₂O (80:20). Τα 47 κλάσματα κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου και επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→15	STAW-CA	1208.9
16→30	STAW-CB	1831.1
31→34	STAW-CC	5.0
35→37	STAW-CD	3.1
38→47	STAW-CE	8.2

Το κλάσμα **STAW-CC** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 11 (χλωρογενικό οξύ)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-E (7.2354 g)

Υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία μέσης πίεσης (MPLC, Medium Pressure Liquid Chromatography) σε στήλη γέλης οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως (41.0 x 4.0 cm) με υγρό έκλουσης μίγματα διαλυτών H₂O: MeOH μειούμενης πολικότητας και ροή 10 ml/min. Συλλέχθηκαν συνολικά 6 κλάσματα μέσου όγκου 1 L.

Κλάσμα	H ₂ O	MeOH	Κωδικός	Βάρος (mg)
1	100	0	STAW-EA	2252.1
2	90	10	STAW-EB	811.1
3	80	20	STAW-EC	728.1
4	70	30	STAW-ED	2945.4
5	50	50	STAW-EE	234.8
6	0	100	STAW-EF	1794.0

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου με διαλύτη ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O (7:3:0.3) και επί κυτταρίνης με διαλύτη ανάπτυξης AcOH 30% επιλέγη το κλάσμα STAW-EE για περαιτέρω μελέτη.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-EE (0.2348 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (26.9cm x 3cm), με υγρό έκλουσης 3 μίγματα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας:

α) EtOAc/MeOH (20:80). Ελήφθησαν 42 κλάσματα μέσου όγκου 4 ml.

β) MeOH (100%). Ελήφθησαν 6 κλάσματα μέσου όγκου 20 ml.

γ) MeOH:H₂O (80:20). Ελήφθησαν 4 κλάσματα μέσου όγκου 70 ml.

Τα κλάσματα αυτά κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας συνενώθηκαν στις ακόλουθες ομάδες:

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→5	STAW-EEA	12.1
6→10	STAW-EEB	14.4
11→15	STAW-EEC	22.7
16→20	STAW-EED	25.7
21→25	STAW-EEE	42.1
26→30	STAW-EEF	89.9
31→35	STAW-EEG	27.5
36→40	STAW-EEH	19.5
41	STAW-EEI	1.9
42	STAW-EEJ	10.8
43→47	STAW-EEK	88.6
48→52	STAW-EEL	4.3

Τα κλάσματα αυτά που προέκυψαν υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε περαιτέρω συνενώσεις ως εξής: STAW-EEA και STAW-EEB σε **STAW-EEA'**, STAW-EEC και STAW-EED σε **STAW-EEC'**, STAW-EEF και STAW-EEG σε **STAW-EEF'**, STAW-EEI και STAW-EEJ σε **STAW-EEI'**.

Από αυτά, κατόπιν ελέγχου με χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας, επιλέγη το κλάσμα STAW-EEC' για περαιτέρω μελέτη.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-EEC' (0.047 g)

Το κλάσμα αυτό, σε συγκέντρωση 7 mg/ml, υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈-HPLC) συνδεδεμένη με ανιχνευτή διαθλασίμετρο (Refractive Index Detector), με ροή 1.5 ml/min και με διαλύτη έκλουσης το ισοκρατικό μίγμα μεθανόλης:οξικού οξέος 2% (MeOH:CH₃COOH 2%) σε αναλογία 1:1. Προέκυψαν τα ακόλουθα εκλούσματα:

STAW_I-1α (1.3 mg), STAW_I-1β (0.1 mg), STAW_I-2 (1.3 mg), STAW_I-3 (0.7 mg), STAW_I-4 (0.2 mg), STAW_I-5 (0.2 mg), STAW_I-6 (0.2 mg), STAW_I-7 (0.1 mg), STAW_I-7α (1mg), STAW_I-7β (0.2 mg), STAW_I-8 (0.2 mg), STAW_I-B0 (0.8 mg), STAW_I-B1 (1.3 mg), STAW_I-B1β (0.3 mg), STAW_I-B2 (5.6 mg), STAW_I-B2β (0.1 mg), STAW_I-B3α (0.3mg), STAW_I-B3β (0.8mg), STAW_I-B4 (20.7mg), STAW_I-B5 (1.4mg), STAW_I-B6 (0.4mg).

Το έκλουσμα STAW_I-B2 (Rt 7.54) ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 10 (ακτεοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-G (1.2009 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (13cm x 3cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγμα διαλυτών DM/ MeOH αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν συνολικά 164 κλάσματα μέσου όγκου 10ml.

Κλάσματα	DM	MeOH	H ₂ O
1→7	100	0	0
8→18	98	2	0
19→121	95	5	0
122→140	90	10	0
141→147	80	20	0
148→156	70	30	0
157→160	50	50	0
160→162	0	100	0
163	0	0	100
164	0	0	100

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις:

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→12	STAW-GA	2.5
13→28	STAW-GB	36.0
29→40	STAW-GC	49.4
41→50	STAW-GD	16.3
51→76	STAW-GE	47.8
77→128	STAW-GF	68.9
129→139	STAW-GG	41.3
140→144	STAW-GH	41.4
145→148	STAW-GI	159.0
149→152	STAW-GJ	98.1
153→156	STAW-GK	94.9
157→162	STAW-GL	163.5
163→164	STAW-GM	86.2

Περαιτέρω, τα κλάσματα STAW-GC και STAW-GD συνενώθηκαν στο STAW-GD' και τα κλάσματα STAW-GI και STAW-GJ συνενώθηκαν στο STAW-GJ'.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GB (0.036 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας γέλης οξειδίου του πυριτίου σε γυάλινες πλάκες 20 x 20 cm με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: DM:MeOH 9:1, οπότε προέκυψαν 5 ζώνες. Στη συνέχεια μετά από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης, εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα εξής υπολείμματα με τα αντίστοιχα βάρη:

STAW-GB1 (0.7 mg), STAW-GB2 (2.1 mg), STAW-BG3 (6.0 mg), STAW-GB4 (8.9 mg), STAW-GB5 (1.4 mg).

Δεν προέκυψε κάποια καθαρή ουσία.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GD' (0.0657 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (14cm x 2cm) με ισοκρατική έκλουση, με MeOH 100%. Ελήφθησαν συνολικά 15 κλάσματα μέσου όγκου 10 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου και επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→3	STAW-GD'A	47.7
4	STAW-GD'B	5.5
5	STAW-GD'C	3.2
6	STAW-GD'D	1.8
7	STAW-GD'E	0.4
8	STAW-GD'F	1.1
9→15	STAW-GD'G	0.9

Το κλάσμα **STAW-GD'B** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 1 (καλυκοπτερίνη)**.

Το κλάσμα **STAW-GD'E** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 3 (χρυσοεριοόλη)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GF (0.0689 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (8cm x 1cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγμα διαλυτών DM:EtOAc αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν συνολικά 24 κλάσματα μέσου όγκου 30 ml.

Κλάσματα	DM	EtOAc	MeOH: H ₂ O 1:1
1→2	100	0	0
3	95	5	0
4	90	10	0
5→6	80	20	0
7→8	70	30	0
9→11	60	40	0
12→17	50	50	0
18→19	40	60	0
20→21	30	70	0
22→23	0	100	0
24	0	0	100

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω συνενώσεις:

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→3	STAW-GFA	0.1
4→7	STAW-GFB	0.6
8→11	STAW-GFC	0.3
12→13	STAW-GFD	4.7
14→16	STAW-GFE	4.3
17→18	STAW-GFF	4.8
19→21	STAW-GFG	5.0
22→24	STAW-GFH	22.7

Το κλάσμα **STAW-GFD** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 5 (χρυσοεριολο-7-O-β-D-(3'-E-π-κουμαροϋλο)-γλυκοκυρανοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GFF (0.0048 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας γέλης οξειδίου του πυριτίου σε γυάλινες πλάκες 20 x 20 cm με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: DM:EtOAc 2:8, οπότε προέκυψαν 2 ζώνες. Στη συνέχεια μετά από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα εξής υπολείμματα με τα αντίστοιχα βάρη: STAW-GFF1 (1.2 mg), STAW-GFF2 (0.9 mg).

Δεν προέκυψε κάποια καθαρή ουσία.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GG (0.0413 g)

Το κλάσμα αυτό, σε συγκέντρωση 7 mg/ml, υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως (RP₁₈- HPLC) συνδεδεμένη με ανιχνευτή διαθλασίμετρο (Refractive Index Detector), με ροή 1.5 ml/min και με διαλύτη έκλουσης το ισοκρατικό μίγμα ακετονιτρίλιο:νερό (ACN:H₂O) σε αναλογία 95:5. Προέκυψαν τα ακόλουθα εκλούσματα:

STAW_II-1α (1.4 mg), STAW_II-1' (0.4 mg), STAW_II-2' (1.0 mg), STAW_II-3' (1.2 mg), STAW_II-1 (1.3 mg), STAW_II-2 (0.9 mg), STAW_II-3 (0.7 mg), STAW_II-4 (0.4 mg), STAW_II-5 (0.2 mg), STAW_II-6 (0.7 mg), STAW_II-B1 (4.5 mg), STAW_II-B2 (3.2 mg),

STAW_II-B3 (2.5 mg), STAW_II-B4 (2.3 mg), STAW_II-B5 (1.8 mg), STAW_II-B6 (1.0 mg).

Στη συνέχεια, αφού πραγματοποιήθηκε αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, έγιναν οι εξής συνενώσεις: **STAW -GGBA (B4→ B6) (5.1 mg)** και STAW-GGBB (2→3) (1.6 mg).

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GGBA (0.0051 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: CH₃COOH:H₂O 30:70, οπότε προέκυψαν 3 ζώνες. Ύστερα από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης, εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα αντίστοιχα υπολείμματα:

STAW-GGBA1 (1.5 mg), STAW-GGBA2 (1.2 mg), STAW-GGBA3 (0.6 mg)

Η μελέτη της ουσίας STAW-GGBA3 συνεχίζεται.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GH (0.0414 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (6cm x 3cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλυσης μίγμα διαλυτών DM/MeOH/H₂O αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν συνολικά 12 κλάσματα μέσου όγκου 30 ml.

Κλάσματα	DM	MeOH	H ₂ O
1→2	100	0	0
3→6	90	10	1
7→9	80	20	2
10→11	70	30	3
12	0	100	0

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH:H₂O (8:2:0.2), παρατηρήθηκαν κηλίδες μόνο στα κλάσματα 4 έως 7.

Επομένως προκύπτει ο παρακάτω πίνακας:

Κωδικός	Βάρος (mg)
STAW-GH4	8.5
STAW-GH5	6.5
STAW-GH6	5.1
STAW-GH7	2.0

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GH5 (0.0065 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: CH₃COOH:H₂O 30:70, οπότε προέκυψαν 3 ζώνες. Ύστερα από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης, εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα αντίστοιχα υπολείμματα:

STAW-GH5-1 (0.9 mg), STAW-GH5-2 (3.9 mg), STAW-GH5-3 (0.7 mg).

Η ζώνη **STAW-GH5-1** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 4 (χρυσοεριολο-7-O-β-D-γλυκοσίδης)**.

Η ζώνη **STAW-GH5-2** ταυτοποιήθηκε ως η **ουσία 7 (ισοσκουτελλαρεϊνο-7-O-[6'''-O-ακέτυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο(1→2) 6''-O-ακετυλο]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GH7 (0.002 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: CH₃COOH:H₂O 30:70, οπότε προέκυψαν 3 ζώνες. Ύστερα από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης, εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα αντίστοιχα υπολείμματα:

STAW-GH7-i (0.4 mg), STAW-GH7-ii (0.2 mg), STAW-GH7-iii (0.7 mg).

Δεν προέκυψε κάποια καθαρή ουσία.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GJ' (0.2571 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (14cm x 2cm) με ισοκρατική έκλυση με διαλύτη MeOH 100%. Ελήφθησαν συνολικά 18 κλάσματα μέσου όγκου 5 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου και επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→3	STAW-GJ'A	7.6
4→6	STAW-GJ'B	80.3
7→8	STAW-GJ'C	71.9
9→11	STAW-GJ'D	43
12→15	STAW-GJ'E	121.6
16→18	STAW-GJ'F	1.9

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GJ'E (0.1216 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (14cm x 2cm) με τους εξής δύο διαλύτες έκλουσης: μίγμα διαλυτών κυκλοεξάνιο:διχλωρομεθάνιο:μεθανόλη 7:4:0.5 και MeOH 100%. Ελήφθησαν συνολικά 28 κλάσματα μέσου όγκου 7 ml. Τα πρώτα 9 κλάσματα εκλούστηκαν με το μίγμα διαλυτών κυκλοεξάνιο:διχλωρομεθάνιο:μεθανόλη 7:4:0.5 και τα υπόλοιπα 18 με διαλύτη έκλουσης MeOH 100%.

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου και επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→7	STAW-GJ'EA	3.6
8→12	STAW-GJ'EB	15.8
13	STAW-GJ'EC	2.3
14	STAW-GJ'ED	3.4
15→23	STAW-GJ'EE	43.8
24→28	STAW-GJ'EF	2.1

Το κλάσμα **STAW-GJ'EA** ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **8 (4'-O-μεθυλοϊσοσκουτελλαρεΐνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GJ'EE (0.0438 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (14cm x 2cm) με ισοκρατική έκλουση με διαλύτη MeOH 100%. Ελήφθησαν συνολικά 13 κλάσματα μέσου όγκου 10 ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ομάδες, που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→2	STAW-GJ'EEA	3.9
3→5	STAW-GJ'EEB	18.4
6→7	STAW-GJ'EEC	10.8
8→10	STAW-GJ'EED	5.4
11→13	STAW-GJ'EEE	0.7

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GJ'EEB (0.0184 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί Sephadex LH-20 (14cm x 2cm) ισοκρατικής έκλουσης με μίγμα διαλυτών MeOH:H₂O 8:2. Ελήφθησαν συνολικά 15 κλάσματα μέσου όγκου 10ml. Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί κυτταρίνης συνενώθηκαν στις ομάδες που εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
0→3	STAW-GJ'EEBA	2.6
4	STAW-GJ'EEBB	0.8
5	STAW-GJ'EEBC	0.7
6	STAW-GJ'EEBD	0.9
7	STAW-GJ'EEBE	0.8
9	STAW-GJ'EEBF	1.9
8,10	STAW-GJ'EEBG	2.6
11→12	STAW-GJ'EEBH	2.9
13→15	STAW-GJ'EEBI	3.7

Το κλάσμα **STAW-GJ'EEBB** ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **9 (4'-Ο-μεθυλο-υπολαετινο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GJ'EEBF (0.0019 g)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευαστική χρωματογραφία επί λεπτής στιβάδας κυτταρίνης με σύστημα ανάπτυξης το μίγμα διαλυτών: CH₃COOH:H₂O 30:70, οπότε προέκυψαν 3 ζώνες. Ύστερα από απόξυση του προσροφητικού υλικού στην περιοχή της κάθε ζώνης, εκχύλιση με μεθανόλη, διήθηση και συμπύκνωση πήραμε τα αντίστοιχα υπολείμματα με τα αντίστοιχα βάρη:

STAW-GJ'EEB9-i (0.3 mg), STAW-G GJ'EEB9-ii (0.2 mg), STAW-G GJ'EEB9-iii (0.5 mg).

Η ζώνη **STAW-G GJ'EEB9-iii** ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **6 (ισοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-GK (0.0949 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης (10cm x 1cm) επί γέλης πυριτίου με υγρό έκλουσης μίγμα διαλυτών DM:MeOH αυξανόμενης πολικότητας. Ελήφθησαν συνολικά 22 κλάσματα μέσου όγκου 30 ml.

Κλάσματα	DM	MeOH
1→3	100	0
4	98	2
5→6	97	3
7→16	95	5
17→18	90	10
20	80	20
21	70	30
22	0	100

Κατόπιν ελέγχου με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας επί γέλης πυριτίου, με σύστημα διαλυτών ανάπτυξης DM:MeOH (8:2), προέκυψαν οι παρακάτω συνενώσεις:

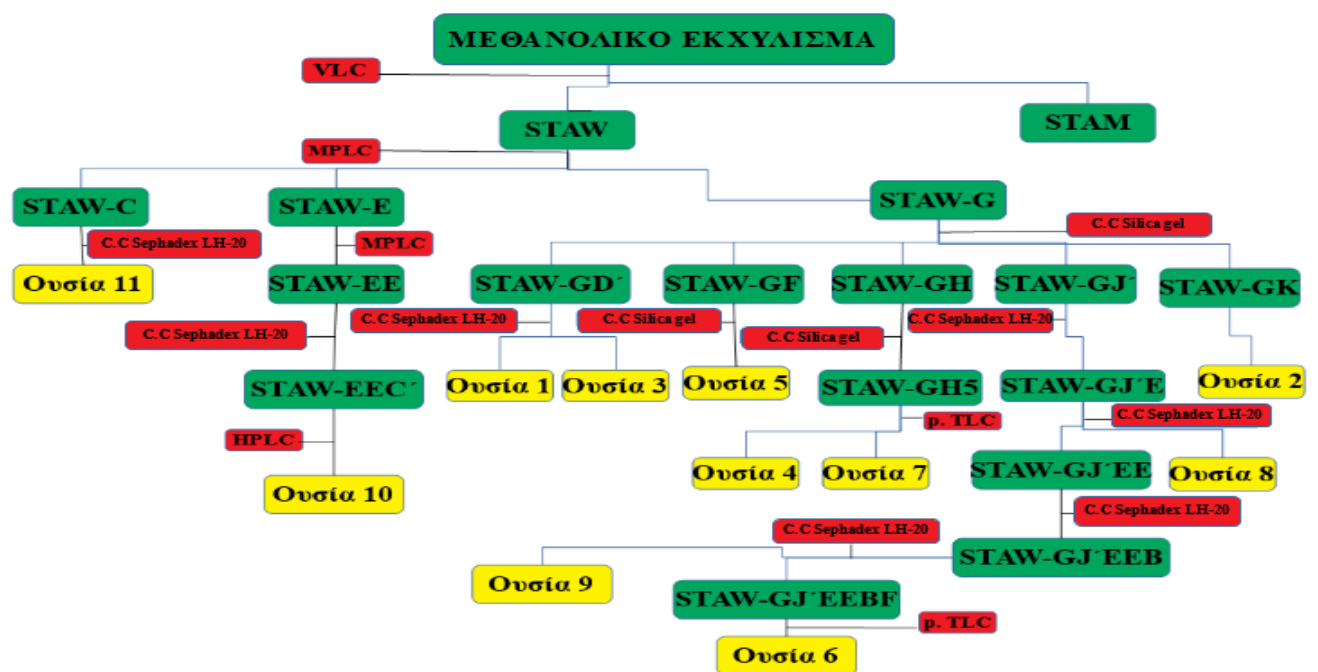
Συνενώσεις	Κωδικός	Βάρος (mg)
1→7	STAW-GKA	6.8
8	STAW-GKB	1.9
9	STAW-GKC	3.6
10	STAW-GKD	2.8
11→17	STAW-GKE	29.2
18→22	STAW-GKF	18.4

Το κλάσμα **STAW-GKD** ταυτοποιήθηκε ως η ουσία **2 (απιγενινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης)**.

ΚΛΑΣΜΑ STAW-I (0.069 g)

Υποβλήθηκε σε χρωματογραφία στήλης επί κυτταρίνης (9cm x 2cm) με υγρό έκλουσης AcOH 30%. Ελήφθησαν 36 κλάσματα μέσου όγκου 5ml, τα οποία ελέγχθηκαν με αναλυτική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Τα κλάσματα 3 έως 36 συνενώθηκαν σε μια ομάδα με κωδικό STAW-I-36 (47.4 mg) από την οποία δεν προέκυψε κάποια καθαρή ουσία.

ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ



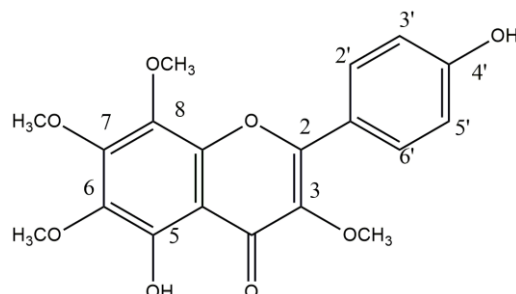
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ. Ι. ΦΑΙΝΟΛΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ

Γ.Ι.1. Φλαβονοειδή

Γ.1.1. Ουσία 1 : 5, 4'- διυδροξυ-3, 6, 7, 8-τετραμεθοξυ-φλαβόνη (=καλυκοπτερίνη)

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



Έχει βρεθεί στο γένος *Stachys* L. στα είδη *S. chrysantha* Boiss & Heildr. και *S. candida* Bory & Chaubard (Skaltsa *et al.*, 2000). Στην οικογένεια Lamiaceae απαντάται επίσης στο είδος *Dracocephalum kotschyi* (Fahani *et al.*, 2008). Στα είδη *Digitalis thapsi* L. (Schrophulariaceae) και *Calycopterus floribunda* Lamk. (Combretaceae) ανιχνεύθηκε πρώτη φορά και αποτελεί την κύρια φλαβονόλη των ειδών αυτών (Rodriguez *et al.*, 1972). Τέλος έχει βρεθεί στο *Herissantia tiubae* (Malvaceae) (Silva *et al.*, 2005) και σε ένα είδος της οικογένειας Cleamaceae, συγγενής της οικογένειας Brassicaceae, το *Cleome iberica* DC. (Farimani *et al.*, 2016).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) δεν παρουσιάζει κάποιο φθορισμό.

Από την υψηλή τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.94 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.4, 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		277	305sh	330	
MeONa	258sh	277		399↑	+69
AlCl ₃		286.5	309sh	363	+33
AlCl ₃ / HCl		287.5	309sh	359	+29
NaOAc		277	339sh	397	
NaOAc/ H ₃ BO ₃		278	337	357sh	+27

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (330 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες είτε στις φλαβονόλες με το -OH της θέσης 3 υποκατεστημένο (Mabry *et al.*, 1970). Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Voisin, 1983), η υποκατάσταση στη θέση 8 προκαλεί επιμερισμό της κορυφής I σε δύο επί μέρους κορυφές. Επίσης, επηρεάζεται η κορυφή II, η οποία εμφανίζει βαθυχρωμική μετατόπιση σε σχέση με τα παράγωγα που δε φέρουν υποκαταστάτη στη θέση 8. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 69 nm της I κορυφής, χωρίς ελάττωση της εντάσεώς της, κατόπιν προσθήκης MeONa. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 33 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη AlCl₃ οφείλεται στο σχηματισμό σταθερού συμπλόκου παρουσία HCl. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται από την κετονομάδα της θέσης 4 με το -OH της θέσης 5 και δείχνει την απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃. Επίσης η τιμή της μετατόπισης της κορυφής I ($\Delta\lambda=+29\text{nm}$) με τα αντιδραστήρια AlCl₃/HCl μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει μεθοξυ-ομάδα στη θέση 6 (Mears and Mabry, 1972, Sakakibara and Mabry, 1977).

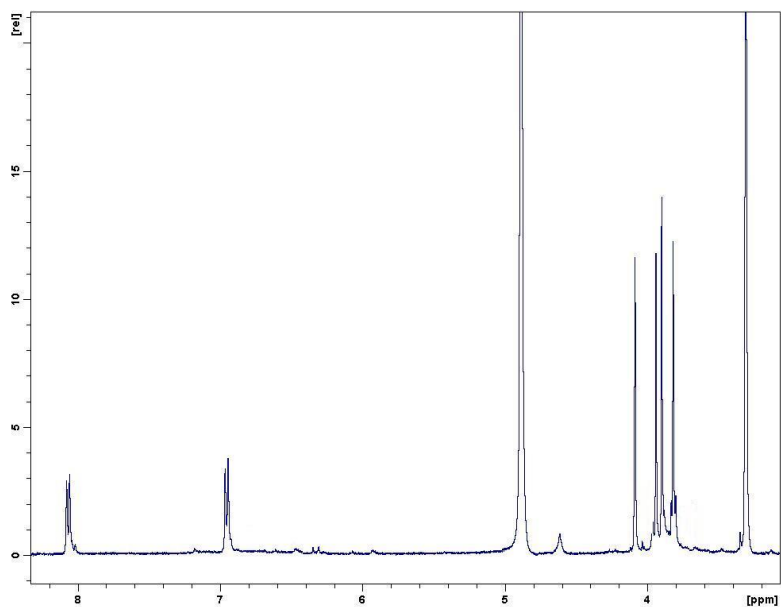
Τέλος, το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, διότι στο φάσμα με NaOAc δεν παρατηρείται μετατόπιση της κορυφής II (Mabry *et al.*, 1970).

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές σε δ 8.07 (J=9.2 Hz, H-2'/H-6'), και σε δ 6.96 (J=9.2 Hz, H-3'/H-5') Παρατηρούνται επίσης 4 απλές κορυφές σε δ 3.82, 3.91, 4.08 και 3.94 που ολοκληρώνουν προς τρία πρωτόνια η κάθε μια και αντιστοιχούν σε μεθοξυ-ομάδες. Στο φάσμα ROESY παρατηρείται μόνο ένα σήμα rOe μεταξύ των H-2'/H-6' και της μεθοξυ-ομάδας που συντονίζεται σε δ 3.94 και συμπεραίνεται ότι πρόκειται για την μεθοξυ-ομάδα της θέσης 3.

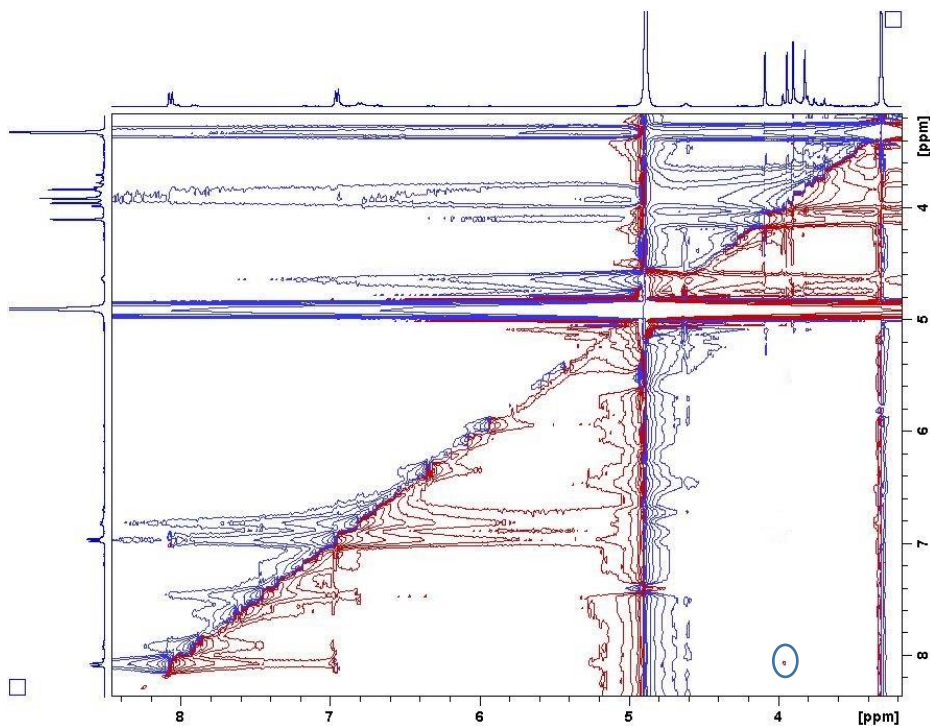
Η ουσία **1** συγχρωματογραφήθηκε με προηγουμένως απομονωμένη καλυκοπτερίνη (Skaltsa *et al.*, 2000) και ταυτίσθηκε πλήρως.

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται ότι η ουσία είναι η 5, 4'-διυδροξυ- 3, 6, 7, 8-τετραμεθοξυ-φλαβόνη (καλυκοπτερίνη).

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-1 : ¹ H-NMR ουσίας 1 (400MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
8.07	2	<i>d</i> (J = 9.2)	H-2' / H-6'
6.96	2	<i>d</i> (J = 9.2)	H-3' / H-5'
3.82	3	<i>s</i>	-OCH ₃
3.91	3	<i>s</i>	-OCH ₃
4.08	3	<i>s</i>	-OCH ₃
3.94	3	<i>s</i>	3-OCH ₃



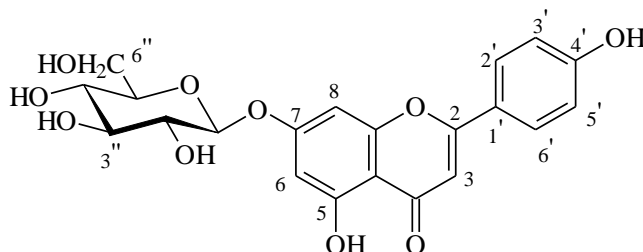
φάσμα ¹H-NMR ουσίας 1



φάσμα ROESY ουσίας 1

Γ.1.2. Ουσία 2 : απιγενινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης (κοσμοσίδης)

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



Η ουσία έχει απομονωθεί από πολλά είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία). Είναι κοινός μεταβολίτης, που απαντάται σε πληθώρα φυτών.

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) παρουσιάζει κιτρινοπράσινο φθορισμό.

Από την τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.72 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.12, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί 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	Δλ (Ia)
MeOH	270			330	
MeONa	269	299 sh		386 [↑]	+56
AlCl ₃	277	299 sh	342 sh	389	+61
AlCl ₃ /HCl	277	299 sh	338 sh	388	+60
NaOAc	271 (Δλ: +1)		348	381	
NaOAc/H ₃ BO ₃	269			331	

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (330 nm) φαίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 56 nm της I κορυφής με αύξηση της εντάσεως της μετά προσθήκη MeONa.

Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, εφόσον παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση μόνο κατά 1 nm της κορυφής II μετά από την προσθήκη NaOAc. Οι κορυφές του φάσματος με AlCl₃ παραμένουν σταθερές και μετά την προσθήκη π. HCl, επομένως στον B δακτύλιο δεν

υπάρχει σύστημα ο-OH. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 61 nm της I κορυφής μετά από την προσθήκη AlCl₃ οφείλεται στο σχηματισμό συμπλόκου ανάμεσα στο -OH της θέσης 5 και της κετονομάδας της θέσης 4, το οποίο παραμένει σταθερό μετά την προσθήκη π. HCl.

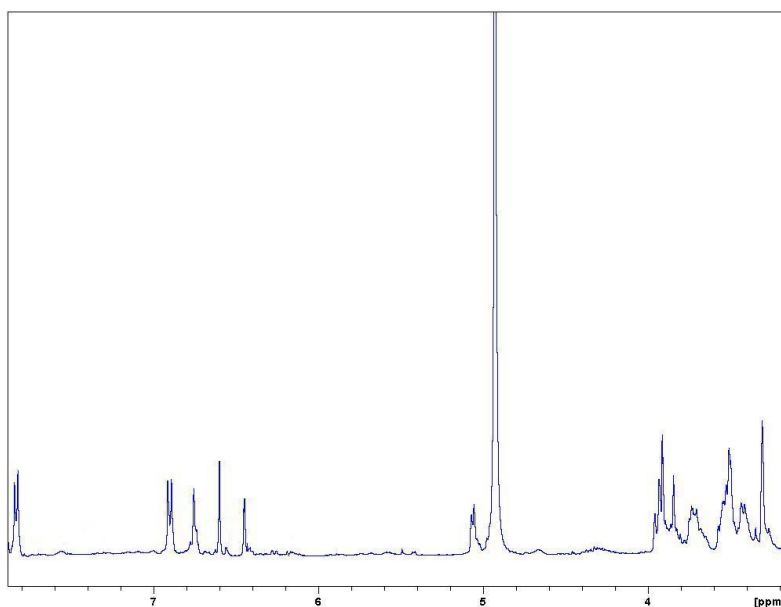
Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR, εμφανίζονται δύο διπλές κορυφές σε δ 7.94 (J=8.7 Hz) και 6.96 (J=8.7 Hz), που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2', H-6' και H-3', H-5', δύο διπλές κορυφές σε δ 6.95 και 6.68, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-6, καθώς και μία απλή κορυφή σε δ 6.71 που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3.

Επίσης, σε δ 5.08 (J=7.2 Hz) εμφανίζεται μια διπλή κορυφή, που αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόσης H-1''.

Η ουσία **2** συγχρωματογραφήθηκε με προηγούμενως απομονωμένο κοσμοσίδη και ταυτίστηκε πλήρως.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ¹ H-NMR ουσίας 2 (400MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
7.94	2	<i>d</i> (J = 8.7)	H-2', H-6'
6.96	2	<i>d</i> (J = 8.7)	H-3', H-5'
6.95	1	<i>d</i> (J = 1.7)	H-8
6.71	1	<i>s</i>	H-3
6.68	1	<i>d</i> (J = 1.7)	H-6
5.08	1	<i>d</i> (J = 7.2)	H-1''
3.45	1	*	H-2''
3.95-3.40	5	<i>m</i>	H-3'', H-4'', H-5'', 2H-6''

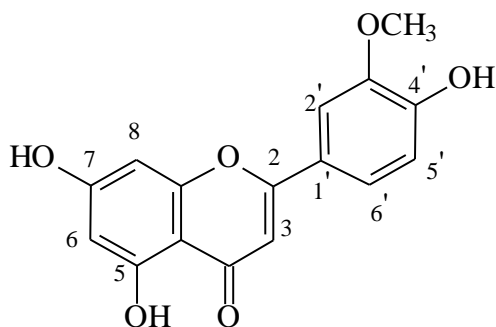
* επικαλυπτόμενο σήμα



φάσμα ¹H-NMR ουσίας **2** (400MHz, CD₃OD)

Γ.1.3. Ουσία 3 : 5, 7, 4'- τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-φλαβόνη (=χρυσοεριόλη)

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



Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) παρουσιάζει κιτρινοπράσινο φθορισμό.

Από την υψηλή τιμή Rf στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.88 και την τιμή Rf στο διαλύτη AcOH-15 : 0.04, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γενίνης.

Έχει βρεθεί στο γένος *Stachys* L. στα είδη *S. aegyptiaca* L. και *S. swainsonii* Benth. subsp. *swainsonii* (βλ. Δρογοχημεία) αλλά και σε άλλα είδη διαφορετικών οικογενειών όπως: *Coix lacryma-jobi* (Poaceae) (Chen *et al.*, 2011), *Medicago sativa* L. (alfalfa seeds, Fabaceae) (Hartwig *et al.*, 1990) και *Asphodelus tenuifolius* Cav. (Asphodelaceae) (Faidi *et al.*, 2014).

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

	Κορυφή II		Κορυφή I		
		II	Ib	Ia	Δλ (Ia)
MeOH		248sh	268	345	
MeONa	257sh	266	275sh	324sh	404↑ +59
AlCl ₃	259sh	273	293sh	360	380sh +35
AlCl ₃ / HCl	257sh	273	294sh	360	376sh +31
NaOAc	268sh	275 (Δλ:+27)		318sh	400
NaOAc/ H ₃ BO ₃	269			349	+4

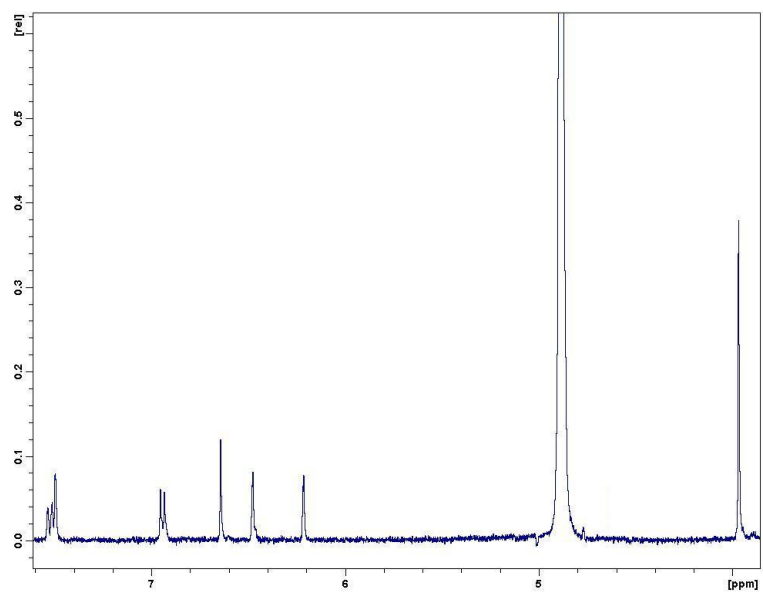
Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (345 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες, τύπου λουτεολίνης. Το -OH της θέσης

4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 59 nm της I κορυφής, χωρίς ελάττωση της εντάσεώς της, κατόπιν προσθήκης MeONa. Η βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 35 nm της I κορυφής μετά την προσθήκη AlCl₃ οφείλεται στο σχηματισμό σταθερού συμπλόκου παρουσία HCl. Το σύμπλοκο αυτό σχηματίζεται από την κετονομάδα της θέσης 4 με το -OH της θέσης 5 και δείχνει την απουσία συστήματος ο-OH στον Β δακτύλιο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ ($\Delta\lambda=4 < 10$ nm). Το -OH της θέσης 7 είναι ελεύθερο, διότι στο φάσμα με NaOAc παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά 27 nm (Mabry *et al.*, 1970).

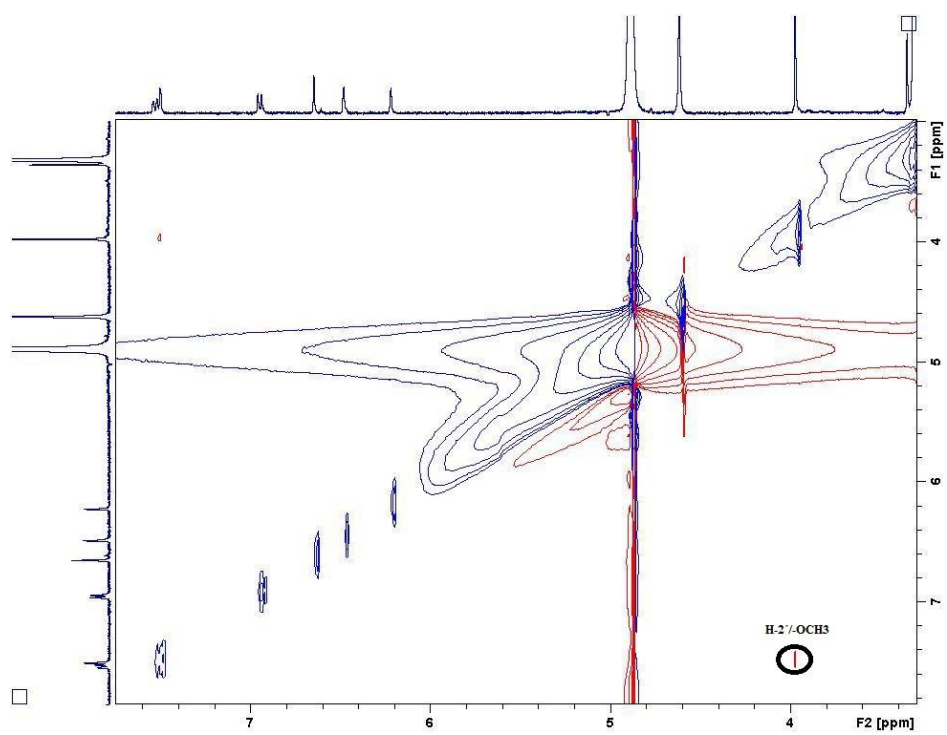
Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται μια διπλή κορυφή σε δ 7.54 (J=2.0 Hz, H-2'), μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 7.51 (J=8.0 Hz, 2.0 Hz, H-6') και 6.95 (J=8.0 Hz, H-5'), μία απλή κορυφή σε δ 6.64 (H-3), καθώς και δύο διπλές κορυφές σε δ 6.48 (J=2.5 Hz) και 6.22 (J=2.5 Hz), που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-6. Επίσης, παρατηρείται μια απλή κορυφή σε δ 3.97, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια. Από το φάσμα ROESY επιβεβαιώνεται ότι η μεθοξυ-ομάδα βρίσκεται στη θέση 3' του φλαβονοειδούς, λόγω σήματος ROE μεταξύ των πρωτονίων του μεθοξυλίου και του πρωτονίου H-2'.

Από τα ανωτέρω συμπεραίνεται ότι η ουσία είναι η 5, 7, 4'-τριυδροξυ-3'-μεθοξυ-φλαβόνη (χρυσοεριόλη).

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-3 : ¹ H-NMR ουσίας 3 (400MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
7.54	1	<i>d</i> (J = 2.0)	H-2'
7.51	1	<i>dd</i> (J = 8.0,2.0)	H-6'
6.95	1	<i>d</i> (J = 8.0)	H-5'
6.64	1	<i>s</i>	H-3
6.48	1	<i>d</i> (J = 2.50)	H-8
6.22	1	<i>d</i> (J = 2.50)	H-6
3.97	3	<i>s</i>	3'-OCH ₃



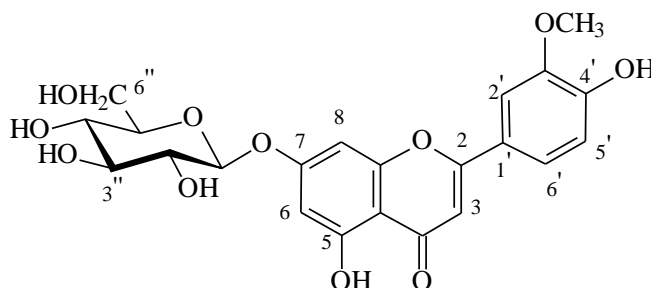
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **3**



φάσμα ROESY ουσίας **3** (400MHz, CD_3OD)

Γ.1.4. Ουσία 4 : χρυσοεριολο-7-O-β-D-γλυκοσίδη

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



Έχει βρεθεί σε ορισμένα είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία) αλλά και σε άλλα γένη της οικογένειας Lamiaceae, όπως το *Phlomis olivieri* Benth. (Sarkhail *et al.*, 2006). Η ουσία έχει ανιχνευτεί και ταυτοποιηθεί και σε είδη άλλων οικογενειών όπως στα *Artemisia spicigera* C.Koch (Afshar *et al.* 2015) και *Leontopodium alpium* Cass. (Schwaiger *et al.* 2006) της οικογένειας Asteraceae, αλλά και στο *Physalis alkekengi* var. *franchetii* (Jindenglong) της οικογένειας Solanaceae (Shu *et al.*, 2016).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) παρουσιάζει κιτρινοπράσινο φθορισμό.

Από την υψηλή τιμή Rf στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.39 και την τιμή Rf στο διαλύτη AcOH-15 : 0.1, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί 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	Δλ (Ia)
MeOH	254	267			342	
MeONa		263	299sh		404↑	+62
AlCl ₃	262sh	275	295sh	363	388	+46
AlCl ₃ /HCl	262sh	275	295sh	354	378	+36
NaOAc	256 (Δλ +3.0 nm)	266sh	305sh		408	
NaOAc/H ₃ BO ₃	250	267sh			348	+6

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (342 nm) φαίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες. Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο,

δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 62 nm της I κορυφής με αύξηση της εντάσεως της μετά προσθήκη MeONa.

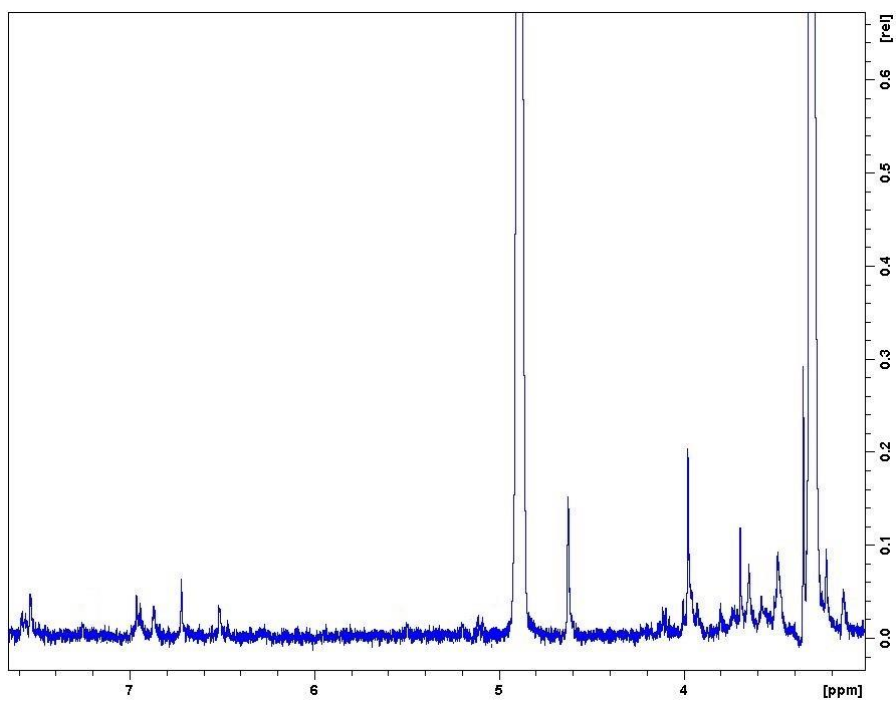
Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, εφόσον παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 3.0 nm της κορυφής II μετά από την προσθήκη NaOAc. Μετά την προσθήκη με AlCl₃ παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση, που οφείλεται στο σχηματισμό συμπλόκου ανάμεσα στο -OH της θέσης 5 και της κετονομάδας της θέσης 4, το οποίο παραμένει σταθερό μετά την προσθήκη του π. HCl. Συνεπώς δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στο Β δακτύλιο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το φάσμα με NaOAc/H₃BO₃, στο οποίο παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση μικρότερη από 10 nm.

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR, εμφανίζονται μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 7.57 (J=1.7, 7.8 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6', μια διπλή κορυφή σε δ 7.53 (J=1.7 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-2', μια διπλή κορυφή σε δ 6.95 (J=7.8 Hz), που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-5', μία απλή κορυφή σε δ 6.72, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3, καθώς και δύο διπλές κορυφές σε δ 6.86 και 6.51, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-6. Επίσης, σε δ 5.08 εμφανίζεται μια διπλή κορυφή (J=8.1 Hz), που οφείλεται στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόσης H-1''. Σε δ 3.98 εμφανίζεται μια απλή κορυφή που ολοκληρώνει για 3 πρωτόνια και αντιστοιχεί στο 3'-OCH₃.

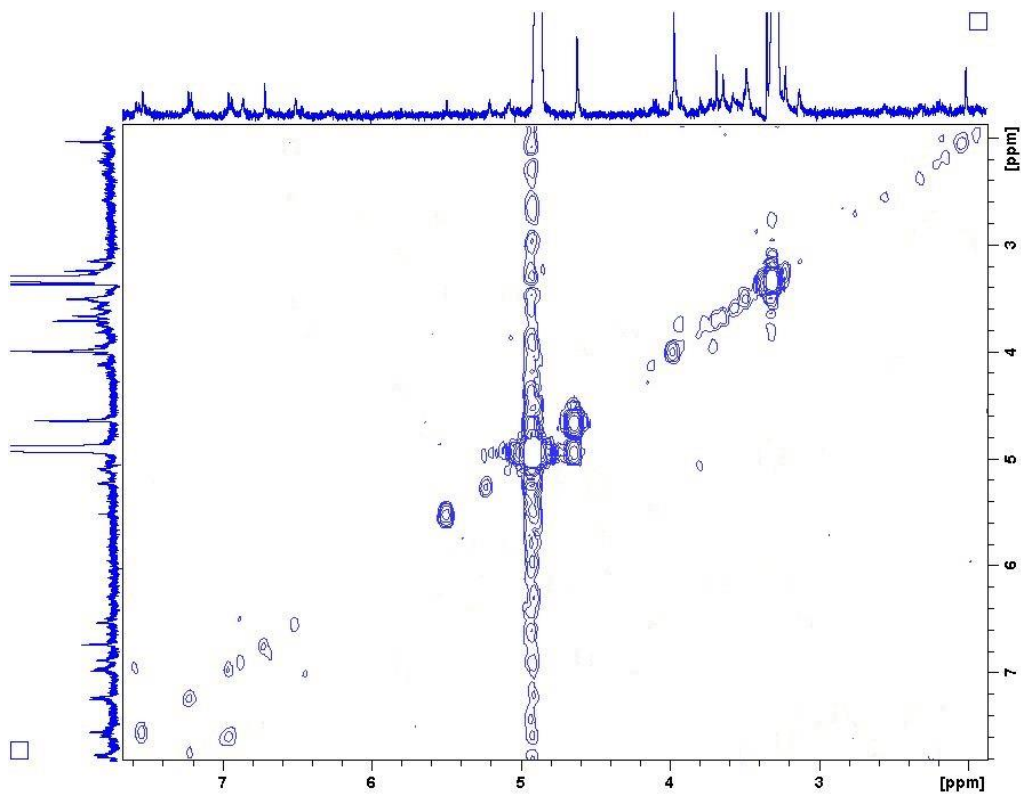
Από το φάσμα COSY διαπιστώθηκε η χημική μετατόπιση του H-2'' σε δ 3.80.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4 : ¹ H-NMR ουσίας 4 (400MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
7.57	1	dd (J = 7.8, 1.7)	H-6'
7.53	1	d (J = 1.7)	H-2'
6.95	1	d (J = 7.8)	H-5'
6.72	1	s	H-3
6.86	1	d (J = 2.1)	H-8
6.51	1	d (J = 2.1)	H-6
3.98	3	s	-OCH ₃
5.08	1	d (J = 8.1)	H-1''
3.80	1	*	H-2''
3.98-3.45	5	m	H-3'', H-4'', H-5'', 2H-6''

* επικαλυπτόμενο σήμα



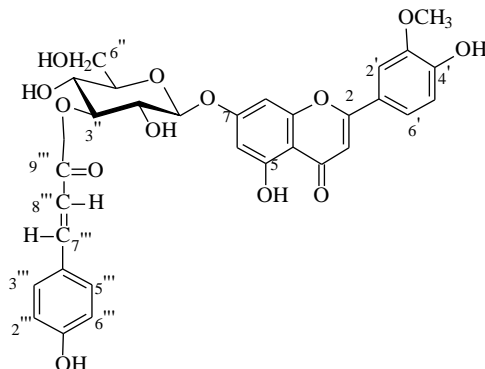
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **4**



φάσμα COSY ουσίας **4**

Γ.1.5. Ουσία 5: χρυσοεριολο-7-O-β-D-(3''-E-π-κουμαροϋλο)-γλυκοκυρανοσίδης

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



Η ουσία έχει απομονωθεί από τα φυτά *Phlomis lychnitis* (Tomás *et al.*, 1986), *Phlomis persica* Boiss. (Sarkhail *et al.*, 2006), *Phlomis aurea* Decne, *P. floccosa* D. Don (Ulubelen *et al.*, 2005) και από κάποια είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) παρουσιάζει κιτρινοπράσινο φθορισμό.

Rf : TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.90

Rf : AcOH-15 : 0.06.

Η χρωματογραφική συμπεριφορά της ουσίας αποκλίνει από αυτή των τυπικών γλυκοσιδών, δεδομένου ότι στο AcOH-15 εμφανίζει εξαιρετικά χαμηλή τιμή, ανάλογη αυτή των γενινών.

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

	Κορυφή II		Κορυφή I		
	II		Ib	Ia	Δλ (Ia)
MeOH	253sh, 271	299sh	318	348sh	
MeONa	257	264sh	300sh	375,405sh↑	+39
AlCl ₃	277	298	314	392sh	+39
AlCl ₃ /HCl	279	298	316	388	+38
NaOAc		299sh	316	358sh,405	
	270 (Δλ: -1.0 nm)				
NaOAc/H ₃ BO ₃	270	299sh	318	354sh	+8

Η μορφή του μεθανολικού φάσματος υποδηλώνει την παρουσία ακυλίου. Η κορυφή I εμφανίζεται διασπασμένη σε δύο επί μέρους κορυφές, από τις οποίες η Ia (346 nm) παρατηρείται υπό την μορφή ώμου και αντιστοιχεί στον Α-δακτύλιο του φλαβονοειδούς και η Ib (318 nm) εμφανίζεται ως κανονική κορυφή και οφείλεται στην παρουσία κάποιου φαινολοξέος. Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, εφόσον παρατηρείται υψιχρωμική μετατόπιση κατά 1.5 nm της κορυφής II μετά την προσθήκη NaOAc. Τα φάσματα με AlCl₃ και με AlCl₃ + π. HCl δεν εμφανίζουν κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ τους, που συνεπάγεται ότι δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Β-δακτύλιο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το φάσμα με NaOAc/H₃BO₃, στο οποίο παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση μικρότερη από 10 nm.

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR, εμφανίζονται τα ακόλουθα σήματα:

α. του φλαβονοειδούς:

μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 7.53 (J= 8.4, 1.2 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6', μια διπλή κορυφή σε δ 7.48 (J=1.2Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-2', μια διπλή κορυφή σε δ 6.81 (J=8.4 Hz), που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-5', μία απλή κορυφή σε δ 6.71, που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3, καθώς και δύο διπλές κορυφές σε δ 6.83 και 6.51, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-8 και H-6.

β. του φαινολοξέος:

μια διπλή κορυφή σε δ 7.70 (J=15.7 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-7''', μια διπλή κορυφή σε δ 7.49 (J=8.4 Hz), που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-3''', 5''', μια διπλή κορυφή σε δ 6.81 (J=8.4 Hz), που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-2''', 6''', και μια διπλή κορυφή σε δ 6.44 (J=15.9 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-8'''.

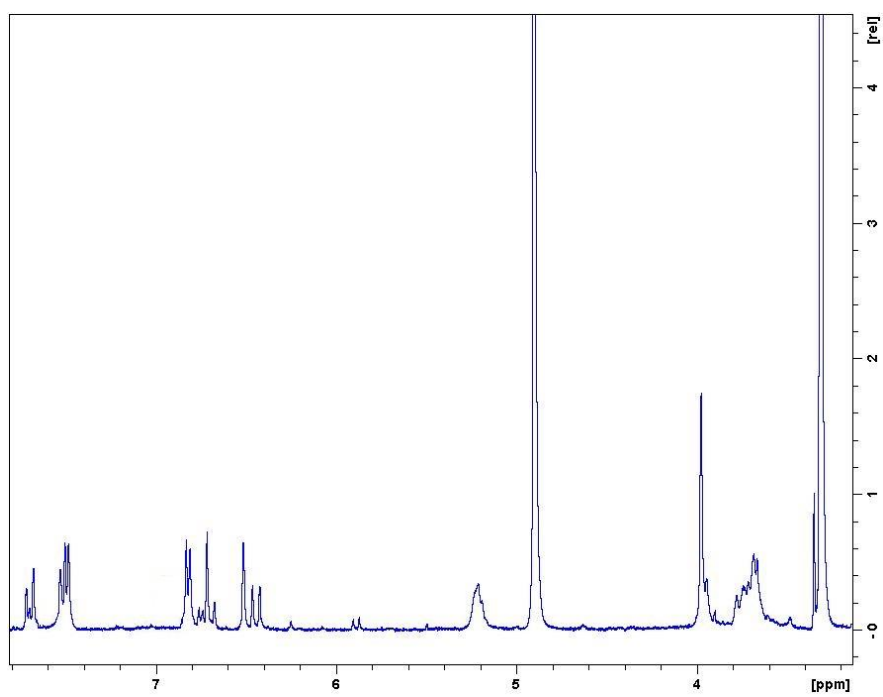
Επίσης, σε δ 5.21 εμφανίζεται μια διπλή κορυφή (J=8.1 Hz), που οφείλεται στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόσης H-1'', καθώς και μια απλή κορυφή σε δ 3.97, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια (-OCH₃).

Η θέση σύνδεσης του ακυλίου επί του σακχάρου υποδεικνύεται από την αποθωράκιση του H-3'' (δ 5.19), του οποίου η θέση προσδιορίστηκε μέσω του αντίστοιχου φάσματος COSY της ουσίας.

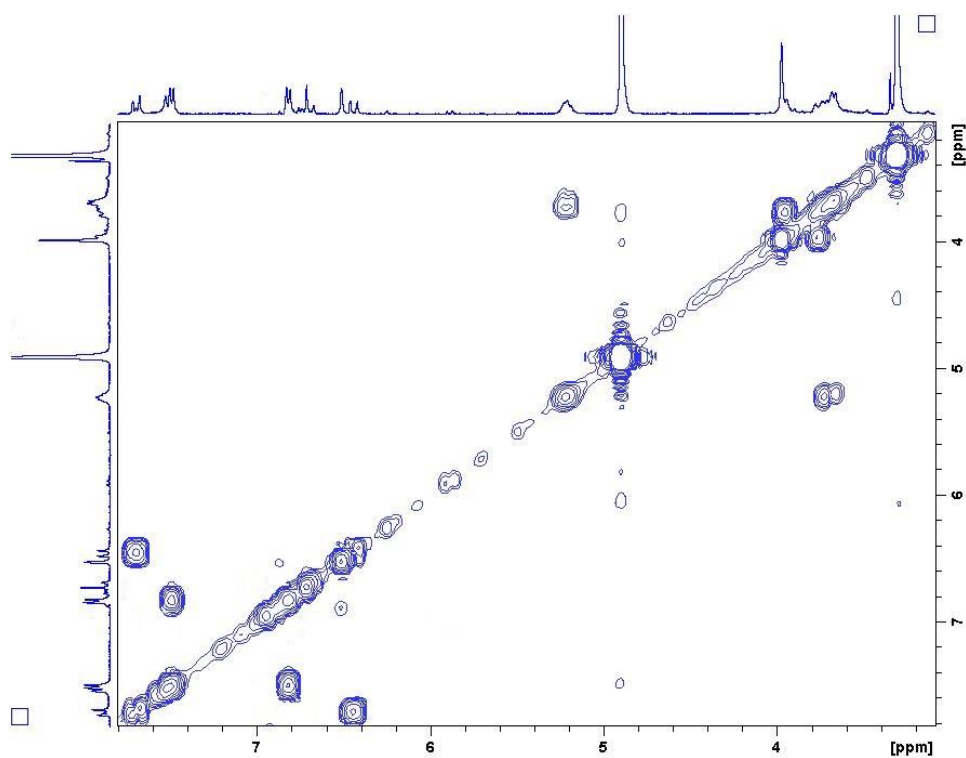
ΠΙΝΑΚΑΣ Η-5 : ¹ H-NMR ουσίας 5 (400MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
7.70	1	<i>d</i> (J=15.7)	H-7'''
7.49	2	<i>d</i> (J=8.4)	H-3''', 5'''
7.53	1	<i>dd</i> (J= 8.4, 1.2)	H-6'
7.48	1	<i>d</i> (J= 1.2)	H-2'
6.81	2	<i>d</i> (J=8.4)	H-2''', 6'''
6.83	1	<i>d</i> (J=2.0)	H-8
6.51	1	<i>d</i> (J=2.0)	H-6
6.81	1	<i>d</i> (J=8.4)	H-5'
6.71	1	<i>s</i>	H-3
6.44	1	<i>d</i> (J=15.9)	H-8'''
3.97	3	<i>s</i>	-OCH ₃
5.21	1	<i>d</i> (J=8.1)	H-1''
3.70	1	*	H-2'',
5.19	1	**	H-3''
3.75-3.65	2	<i>m</i>	H-4'' H-5''
3.98	1	*	H-6a''
3.76	1	*	H-6b''

*επικαλυπτόμενα σήματα

** μερικώς επικαλυπτόμενο σήμα με H-1''



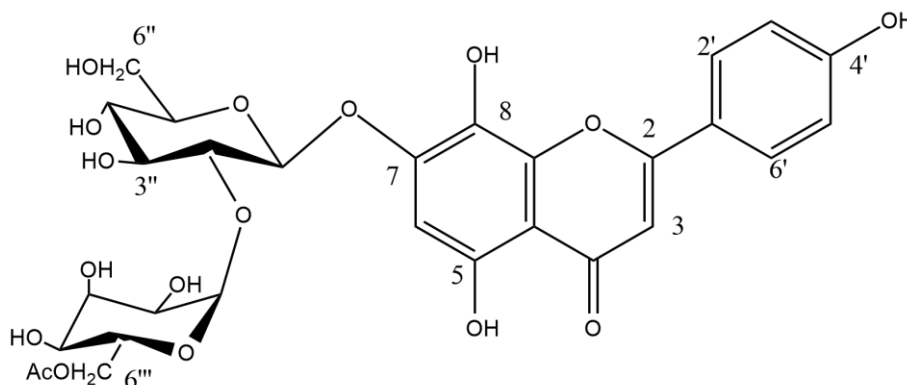
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **5**



φάσμα COSY ουσίας **5**

Γ.1.6. Ουσία 6 : Ισοσκουτελλαρεΐνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης

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



Η ουσία έχει απομονωθεί από αρκετά είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία). Έχει βρεθεί επίσης σε αρκετά είδη του γένους *Sideritis* L. όπως *S. hyssopifolia* (Luz Rodriguez-Lyon *et al.*, 2000), *S. caesarea* (Halfon *et al.*, 2013), *S. stricta* (Sahin *et al.*, 2006) και *S. trojana* (Kirmizibekmez *et al.*, 2012). Τέλος απαντάται και στα είδη *Veronica intercedens* και *V. orientalis* (Albach *et al.*, 2003).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) δεν παρουσιάζει κάποιο φθορισμό.

Από την τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.57 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.3, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γλυκοσίδη.

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	276	308	328	
MeONa	274.5	309.5	388↑	+60
AlCl ₃	279	323	353, 412sh	+74
AlCl ₃ /HCl	281	323	353, 412sh	+74
NaOAc	275 (Δλ: -1.0 nm)	309, 331sh	386	
NaOAc/ H ₃ BO ₃	276	307	330	+2

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (328 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες, τύπου απιγενίνης. Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Voiron, 1983), η υποκατάσταση στη θέση 8 προκαλεί επιμερισμό της κορυφής I σε δύο επί μέρους κορυφές. Επίσης, ο λόγος της κορυφής Ia προς την κορυφή II αποτελεί ένα κριτήριο για την διάκριση μεταξύ των 8-OH από τα 6-OH παράγωγα. Έτσι, όταν έχουμε υποκατάσταση στη θέση 8, ο λόγος μειώνεται, ενώ με υποκατάσταση στη θέση 6 αυξάνεται (Voiron, 1983). Στη παρούσα περίπτωση, ο λόγος των δύο κορυφών υποδεικνύει την παρουσία 8-OH. Επιπλέον, επηρεάζεται η κορυφή II, η οποία εμφανίζει βαθυχρωμική μετατόπιση σε σχέση με τα παράγωγα, που δεν φέρουν 8-OH.

Το -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο, δεδομένου ότι παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση κατά 60 nm της I κορυφής, χωρίς ελάττωση της εντάσεώς της, κατόπιν προσθήκης MeONa. Από τα φάσματα με τριχλωριούχο αργίλιο και μετά την προσθήκη διαλ. υδροχλωρικού οξέος συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Β δακτύλιο. Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃ (Δλ=2 < 10 nm). Το φάσμα AlCl₃/HCl υποδεικνύει την παρουσία υδροξυ-ομάδας στην θέση 8 [Δλ > 65 nm] (Sakakibara and Mabry, 1977). Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, διότι στο φάσμα με NaOAc δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά 5-20nm (Mabry *et al.*, 1970).

Από το φάσμα ¹H-NMR διαπιστώνεται η παρουσία των ακολούθων:

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος ¹H-NMR εμφανίζονται δυο διπλές κορυφές σε δ 7.95 (J=8.8 Hz, H-2', 6') και σε δ 6.96 (J=8.8 Hz, H-3', 5'), χαρακτηριστικό της π-υποκατάστασης του Β δακτυλίου και δύο απλές κορυφές σε δ 6.78 (H-6) και 6.63 (H-3) των δακτυλίων Α και C αντίστοιχα.

Επίσης, παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές σε δ 5.08 (J=8.2 Hz, H-1'') και 4.95 (J=8.2 Hz, H-1'), που αντιστοιχούν στα ανωμερικά πρωτόνια των σακχάρων και μια απλή κορυφή σε δ 1.99, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στην ακετυλομάδα.

Στο φάσμα COSY παρατηρούμε το διασταυρούμενο σήμα των πρωτονίων H-2'/H-6' και H-3'/H-5' γεγονός που μας επιβεβαιώνει την π-υποκατάσταση του Β δακτυλίου και παράλληλα στο φάσμα HSQC μπορούμε να αντιστοιχίσουμε τους πρωτονιωμένους άνθρακες C-2'/C-6' σε δ 129.5 και C-3'/C-5' σε δ 117.1.

Χαρακτηριστικό στο φάσμα COSY είναι ότι οι δύο απλές κορυφές των H-6 και H-3 δεν συζεύγγονται μεταξύ τους και οι άνθρακες των πρωτονίων αυτών στο HSQC εμφανίζονται σε δ 101.1 και 103.2, αντίστοιχα.

Επιπλέον στο φάσμα COSY παρατηρείται η σύζευξη του ανωμερικού πρωτονίου της γλυκόσης H-1'' με το H-2'' και του πρωτονίου H-2'' με το H-3''. Αντίστοιχα παρατηρούνται και οι συζεύξεις του ανωμερικού πρωτονίου της αλλόσης H-1''' με το H-2''' και το H-2''' με το H-3'''.

Στο HSQC αντιστοιχίζουμε τους πρωτονιωμένους άνθρακες της γλυκόσης C-1'' σε δ 103.1, C-2'' σε δ 83.4, C-3'' σε δ 77.8 και της αλλόσης C-1''' σε δ 104.6, C-2''' σε δ 73.4 και C-3''' σε δ 69.3.

Οι σταθερές σύζευξης μεταξύ των διαδοχικών πρωτονίων των δύο σακχάρων οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το αρχικό σάκχαρο είναι γλυκόση και το τελικό είναι αλλόση. Ειδικώς για την αλλόση, το H-2''' εμφανίζεται διπλώς διπλή κορυφή με μια μεγάλη σταθερά σύζευξης με το ανωμερικό πρωτόνιο και με μια μικρή σταθερά σύζευξης με το πρωτόνιο H-3'''. Το H-3''' εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή με μια μικρή σταθερά σύζευξης ($J = 3.2$ Hz), γεγονός που διαφοροποιεί ευκρινώς το μόριο της αλλόσης από την γλυκόση. Το H-3''' εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή με μικρή σταθερά σύζευξης, που υποδεικνύει ότι το πρωτόνιο αυτό βρίσκεται σε ισημερινή θέση σε αντίθεση με τα γειτονικά του, που βρίσκονται σε αξονική θέση. Στη γλυκόση το αντίστοιχο πρωτόνιο (H-3'') έχει μεγάλη σταθερά σύζευξης. Επίσης η έντονη αποθωράκιση του H-3''' αποδεικνύει την θέση σύνδεσης της αλλόσης με την γλυκόση.

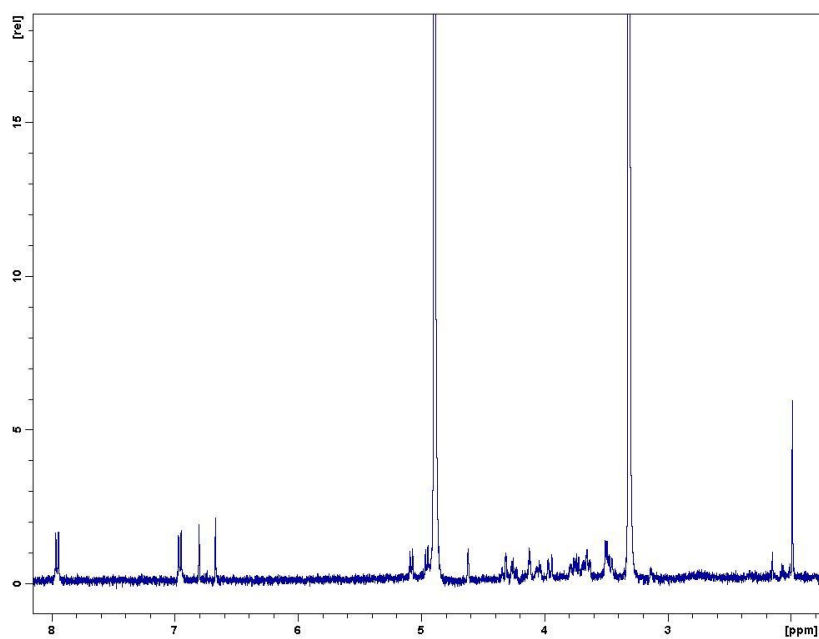
Η θέση του ακετυλίου στο μόριο της αλλόσης είναι εμφανής από την αποθωράκιση των πρωτονίων H-6a''' και H-6b''' σε $\delta > 4.0$ ppm.

Τα φάσματα HSQC, HSBC μας βοήθησαν να αποδώσουμε τους άνθρακες και να βρούμε τη σύνδεση των σακχάρων:

- Στο φάσμα HSBC χαρακτηριστικό είναι το σήμα μεταξύ του πρωτονίου H-1''' της αλλόσης με τον άνθρακα C-2'' της γλυκόσης. Άρα η σύνδεση των δύο σακχάρων είναι στις θέσεις 1''' \rightarrow 2''.
- Ο άνθρακας C-10 δίνει σήματα με τα H-3, H-6.
- Ο άνθρακας C-2 δίνει σήμα με το H-3.
- Ο άνθρακας C-1' δίνει σήμα με τα H-3', 5'.

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-6 : ¹ H-NMR ουσίας 6 (400 MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
άγλυκο			
7.95	2	<i>d</i> (J = 8.8)	H-2', 6'
6.96	2	<i>d</i> (J = 8.8)	H-3', 5'
6.63	1	<i>s</i>	H-3
6.78	1	<i>s</i>	H-6
γλυκόση			
4.95	1	<i>d</i> (J = 8.2)	H-1''
3.74	1	<i>t</i> (J = 8.2)	H-2''
3.68	1	<i>dd</i> (J = 8.2, *)	H-3''
3.50	1	*	H-4''
3.50	1	*	H-5''
3.97	1	<i>dd</i> (J = 11.8, 2.9)	H-6a''
3.75	1	<i>dd</i> (J = 11.8, 5.4)	H-6b''
αλλόση			
5.08	1	<i>d</i> (J = 8.2)	H-1'''
3.48	1	<i>dd</i> (J = 8.2, *)	H-2'''
4.12	1	<i>t</i> (J = 3.2)	H-3'''
3.65	1	*	H-4'''
4.05	1	*	H-5'''
4.31	1	<i>dd</i> (J = 11.0, 1.9)	H-6a'''
4.25	1	<i>dd</i> (J = 11.0, 5.2)	H-6b'''
1.99	3	<i>s</i>	CH ₃ COO-

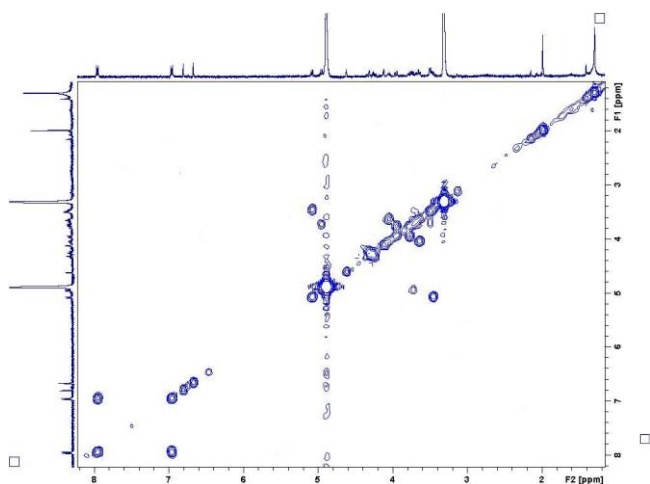
* επικαλυπτόμενα σήματα



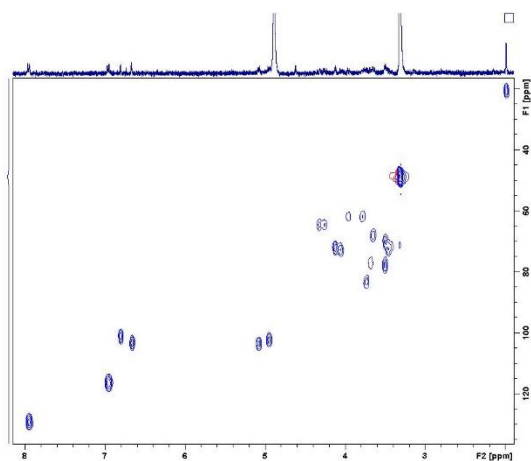
φάσμα ¹H-NMR ουσίας 6

ΠΙΝΑΚΑΣ C-6 : ¹³ C-NMR ουσίας 6 (400 MHz, CD ₃ OD)*		
δ (ppm)	Τύπος C	Ταυτοποίηση
166.7	C	C-2
103.2	CH	C-3
	C	C-4
152.5	C	C-5
101.1	CH	C-6
154.1	C	C-7
129.7	C	C-8
145.3	C	C-9
107.2	C	C-10
123.1	C	C-1'
129.5	CH	C-2'
117.1	CH	C-3'
162.3	C	C-4'
117.1	CH	C-5'
129.5	CH	C-6'
103.1	CH	C-1''
83.4	CH	C-2''
77.8	CH	C-3''
70.8	CH	C-4''
78.5	CH	C-5''
61.6	CH ₂	C-6''
104.6	CH	C-1'''
73.4	CH	C-2'''
69.3	CH	C-3'''
68.5	CH	C-4'''
73.4	CH	C-5'''
65.0	CH ₂	C-6'''
20.6	CH ₃	-OAc
172.9	CO	-OAc

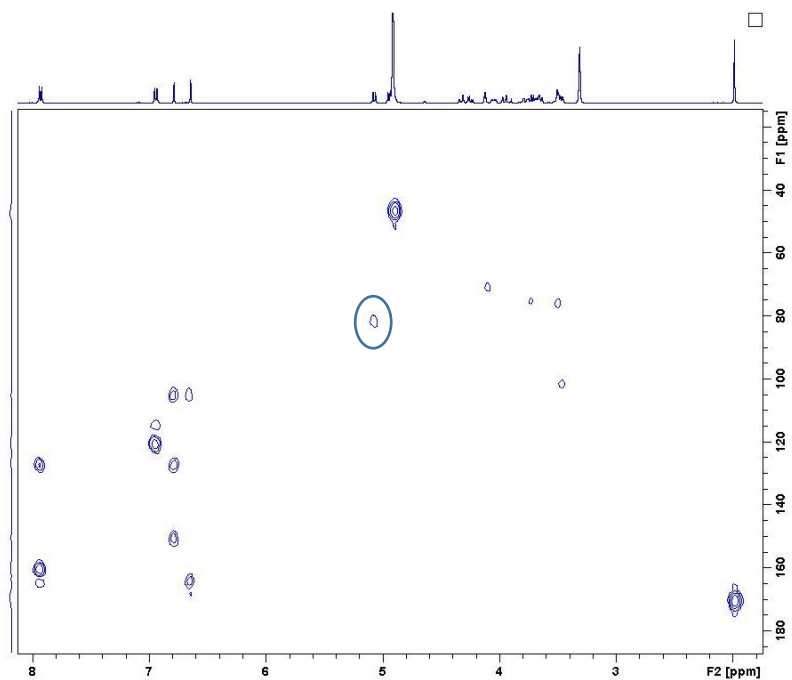
* οι τιμές αποδόθηκαν μέσω HSQC, HSBC.



φάσμα COSY ουσίας **6**



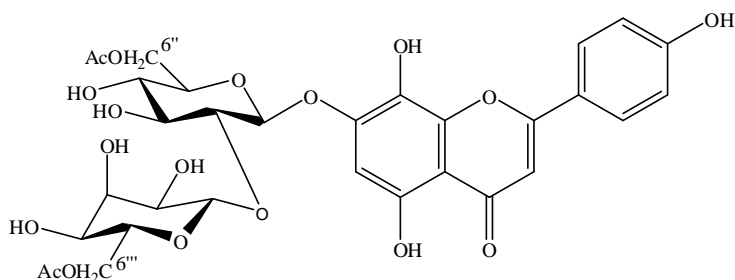
φάσμα HSQC ουσίας **6**



φάσμα HSBC ουσίας **6**

Γ.1.7. Ουσία 7: Ισοσκουτελλαρεινό 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-O-ακετυλο]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης

Η ουσία απομονώθηκε, όπως και η προηγούμενη, ως κόνις κίτρινου χρώματος και ταυτοποιήθηκε κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης.



Στο γένος *Stachys* L. έχει ευρεθεί στα είδη: *S. chrysantha* Boiss & Heildr (Skaltsa *et al.*, 2000), *S. recta* L. (Karioti *et al.*, 2010), *S. tetragona* (Αφουξενίδη, 2012) και *S. anisochila* (Lenherr and Mabry, 1987). Έχει βρεθεί επίσης σε είδη του γένους *Sideritis* L., όπως *S. caesarea* (Halfon *et al.*, 2013) και *S. stricta* (Sahin *et al.*, 2006).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) δεν παρουσιάζει κάποιο φθορισμό.

Από την τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.74 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.26, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γλυκοσίδη.

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	278	307	330	
MeONa	276	310	387 ↑	+57
AlCl ₃	278	323	351, 415sh	
AlCl ₃ / HCl	281	323	351,415sh	+85
NaOAc	275 (Δλ: -3.0 nm)	307, 330sh	386	
NaOAc/ H ₃ BO ₃	276	307	330	

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (330 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες, τύπου απιγενίνης. Επίσης και στην ουσία αυτή, ο επιμερισμός της κορυφής I σε δύο επί μέρους κορυφές, εκ των οποίων η εντονότερη εμφανίζεται περίπου σε λ 307 nm υποδεικνύει την υποκατάσταση στη θέση 8, καθώς και η βαθυχρωμική μετατόπιση σε σχέση με τα παράγωγα, που δεν φέρουν 8-OH της κορυφής II.

Η βαθυχρωμική και υπερχρωμική μετατόπιση της πρώτης κορυφής με προσθήκη μεθανολικού νατρίου δείχνει ότι -OH της θέσης 4' είναι ελεύθερο. Από τα φάσματα με τριχλωριούχο αργίλιο και μετά την προσθήκη διαλ. υδροχλωρικού οξέος συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Β δακτύλιο, το οποίο επίσης υποδεικνύεται από τη σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη NaOAc/H₃BO₃. Το φάσμα AlCl₃/HCl υποδεικνύει την παρουσία υδροξυ-ομάδας στην θέση 8 [$\Delta\lambda > 65$ nm] (Sakakibara and Mabry, 1977).

Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, διότι στο φάσμα με NaOAc δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά 5-20 nm (Mabry *et al.*, 1970).

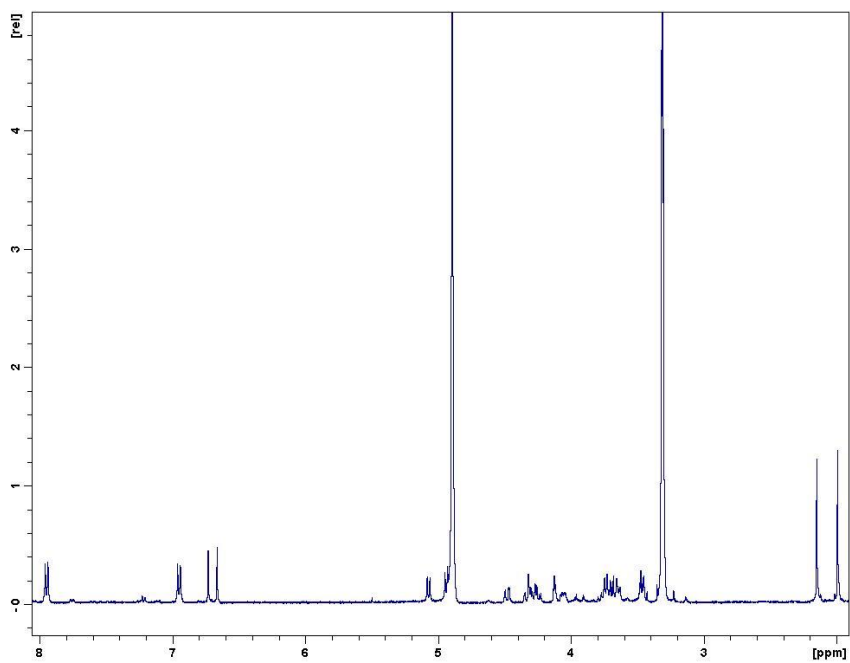
Το φάσμα ¹H-NMR της ουσίας είναι παρόμοιο με αυτό της προηγούμενης ουσίας. Παρατηρείται μια επιπλέον έντονη απλή κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια σε δ 2.15.

Γενίνη: δεν παρατηρούνται ουσιαστικές διαφορές. Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων εμφανίζονται μια διπλή κορυφή σε δ 7.95 (J=8.8 Hz, H-2', 6'), μια διπλή κορυφή σε δ 6.96 (J=8.8 Hz, H-3', 5') χαρακτηριστικές της π-υποκατάστασης και δύο απλές κορυφές σε δ 6.73 (H-6) και 6.67 (H-3) των δακτυλίων A και C.

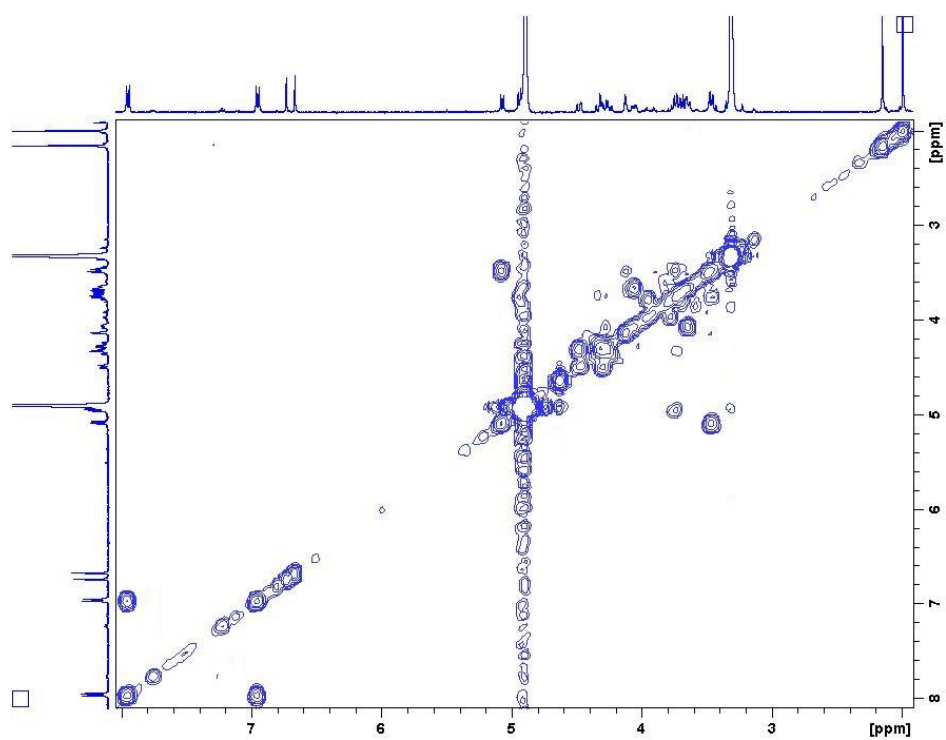
Σακχαριδικό τμήμα: Τα σήματα των δύο πρωτονίων H-6a, H-6b και του πρωτονίου H-5 της γλυκόσης είναι σαφώς αποθωρακισμένα σε σχέση με αυτά της προηγούμενης ουσίας, γεγονός που υποδεικνύει ότι το δεύτερο ακετύλιο βρίσκεται στην θέση 6 της γλυκόσης. Τα υπόλοιπα σήματα των δύο σακχάρων δεν έχουν σημαντικές διαφορές σε σχέση με αυτά της προηγούμενης ουσίας. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας (Şahin *et al.*, 2006).

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-7: ¹ H-NMR ουσίας 7 (400 MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
άγλυκο			
7.95	2	<i>d</i> (J = 8.8)	H-2', 6'
6.96	2	<i>d</i> (J = 8.8)	H-3', 5'
6.67	1	<i>s</i>	H-3
6.73	1	<i>s</i>	H-6
γλυκόση			
4.94	1	<i>d</i> (J = 7.6)	H-1''
3.74	1	<i>dd</i> (J = 7.6, *)	H-2''
3.68	1	*	H-3''
3.48	1	*	H-4''
3.72	1	*	H-5''
4.48	1	<i>dd</i> (J = 11.7, 2.0)	H-6a''
4.31	1	<i>dd</i> (J = 11.7, *)	H-6b''
αλλόση			
5.07	1	<i>d</i> (J = 8.0)	H-1'''
3.47	1	<i>dd</i> (J = 8.0, 3.6)	H-2'''
4.13	1	<i>dd</i> (J = 3.6, 2.8)	H-3'''
3.65	1	<i>dd</i> (J = 11.3, 2.8)	H-4'''
4.08	1	<i>m</i>	H-5'''
4.32	1	<i>dd</i> (11.7, 1.8)	H-6a'''
4.28	1	<i>dd</i> (J = 12.0, 4.8)	H-6b'''
1.99	3	<i>s</i>	CH ₃ COO-
2.15	3	<i>s</i>	CH ₃ COO-

* μερικώς επικαλυπτόμενα σήματα



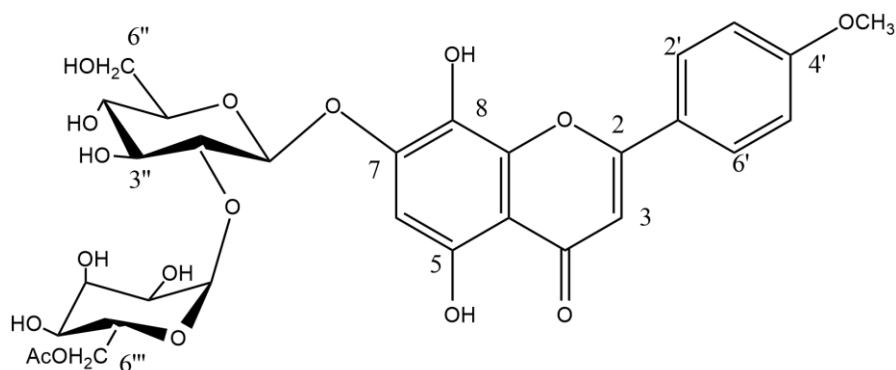
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **7**



φάσμα COSY ουσίας **7**

Γ.1.8. Ουσία 8: 4'-Ο-μεθυλοϊσοσκουτελλαρεΐνο- 7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης

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



Η ουσία έχει απομονωθεί από κάποια είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία), *S. tymphaea* Hausskn (Venditti *et al.* 2014), *S. recta* (Lenherr *et al.*, 1984a), από το φυτό *Veronica filiformis* [Scrophulariaceae] (Chari *et al.*, 1981) αλλά και από τα είδη *V. pectinata* var. *glandulosa* και *V. persica* (Saracoglu *et al.*, 2004). Τέλος έχει βρεθεί και στο είδος *S. trojana* (Kirmizibekmez *et al.*, 2012).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) δεν παρουσιάζει κάποιο φθορισμό.

Από την υψηλή τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.66 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.32, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γλυκοσίδης.

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

	Κορυφή II	Κορυφή I		Δλ (Ia)
		Ib	Ia	
MeOH	278	306	328	
MeONa	277.5	306	378sh ↓	+50
AlCl ₃	279	326	347, 414sh	
AlCl ₃ / HCl	280	324	349, 414sh	+86
NaOAc	276 (Δλ: -2.0 nm)		327sh, 390sh	
NaOAc/ H ₃ BO ₃	277	306	328sh	

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (328 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες, τύπου απιγενίνης. Το -OH της θέσης 4' είναι δεσμευμένο, δεδομένου ότι παρατηρείται υποχρωμική μετατόπιση της κορυφής I, κατόπιν προσθήκης MeONa. Επίσης και στην ουσία αυτή, ο επιμερισμός της κορυφής I σε δύο επί μέρους κορυφές, εκ των οποίων η εντονότερη εμφανίζεται περίπου σε λ 306 nm υποδεικνύει την υποκατάσταση στη θέση 8, καθώς και η βαθυχρωμική μετατόπιση σε σχέση με τα παράγωγα, που δεν φέρουν 8-OH της κορυφής II (Voïgin, 1983).

Από τα φάσματα με τριχλωριούχο αργίλιο και μετά την προσθήκη διαλ. υδροχλωρικού οξέος συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Β δακτύλιο. Το φάσμα $AlCl_3 / HCl$ υποδεικνύει την παρουσία υδροξυ-ομάδας στην θέση 8 [$\Delta\lambda > 65$ nm] (Sakakibara and Mabry, 1977). Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη $NaOAc/H_3BO_3$ ($\Delta\lambda < 10$ nm). Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, διότι στο φάσμα με $NaOAc$ δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά 5-20 nm (Mabry *et al.*, 1970).

Από το φάσμα ^1H-NMR διαπιστώνεται η παρουσία των ακολούθων:

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος εμφανίζονται μια διπλή κορυφή σε δ 8.04 με μεγάλη σταθερά σύζευξης ($J=8.6$ Hz, H-2', 6'), μια διπλή κορυφή σε δ 7.12 με επίσης μεγάλη σταθερά σύζευξης ($J=8.6$ Hz, H-3', 5') και δύο απλές κορυφές σε δ 6.80 (H-3) και 6.71 (H-6).

Παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές σε δ 5.08 ($J=8.8$ Hz, H-1'') και 4.96 ($J=8.5$ Hz, H-1'''), που αντιστοιχούν σε ανωμερικά πρωτόνια σακχάρων.

Επίσης, παρατηρούνται δύο μεγάλες απλές κορυφές: μια σε δ 3.90, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε μεθοξυ-ομάδα και μια σε δ 1.98, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ακετυλομάδα.

Από το φάσμα COSY της ουσίας παρατηρούνται τα spin συστήματα, που μας επέτρεψαν να εντοπίσουμε τις χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των δύο σακχάρων.

Τα πρωτόνια σε δ 8.04 (H-2', 6') συζεύγνυνται με τα πρωτόνια σε δ 7.12 (H-3', 5').

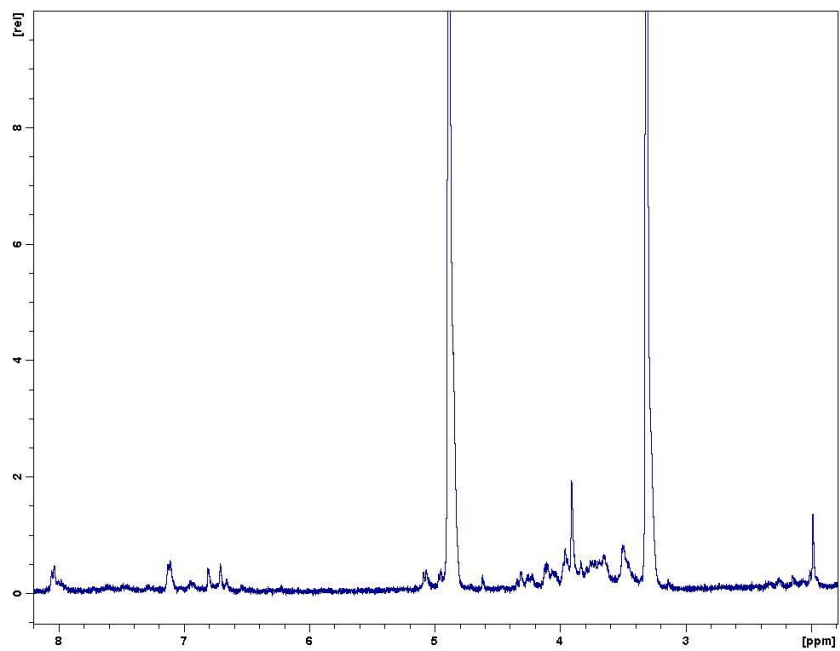
Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' (δ 4.96) του ενός σακχάρου με το γειτονικό H-2'' (δ 3.72) του ίδιου σακχάρου.

Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1''' (δ 5.08) του άλλου σακχάρου με το γειτονικό H-2''' (δ 3.48) του ίδιου σακχάρου.

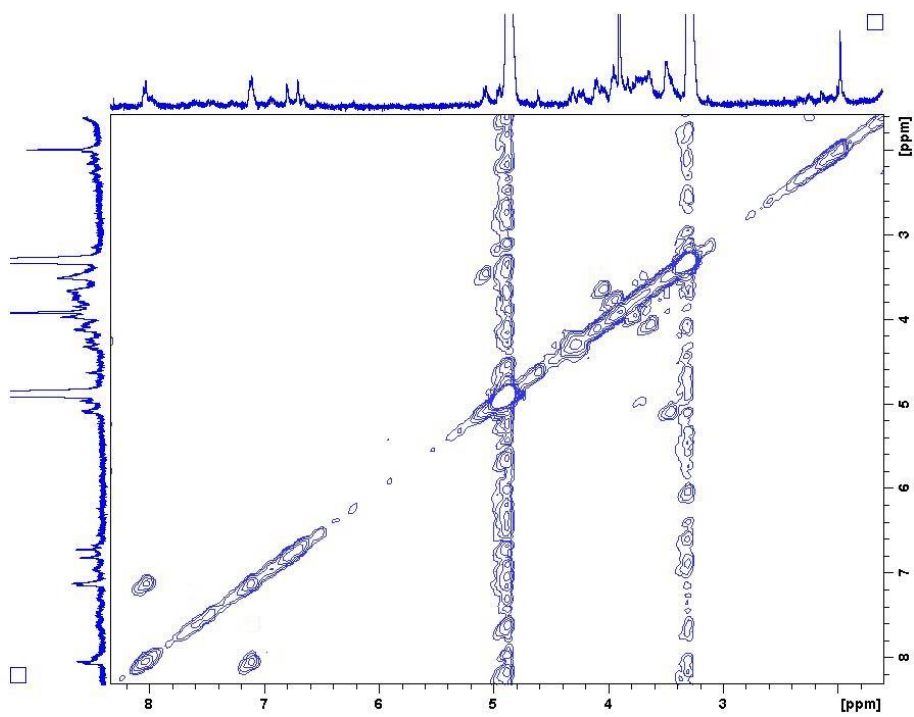
Η ουσία **8** συγχρωματογραφήθηκε με προηγουμένως απομονωμένο 4'-Ο-μεθυλοϊσοσκουτελλαρεΐνο-7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδη (Meremeti *et al.*, 2004) και ταυτίσθηκε πλήρως.

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-8 : ¹ H-NMR ουσίας 8 (400 MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
άγλυκο			
8.04	2	<i>d</i> (J = 8.6)	H-2', 6'
7.12	2	<i>d</i> (J = 8.9)	H-3', 5'
6.80	1	<i>s</i>	H-3
6.71	1	<i>s</i>	H-6
γλυκόση			
4.96	1	<i>d</i> (J = 7.4)	H-1''
3.72	1	*	H-2''
3.69	1	*	H-3''
3.49	1	*	H-4''
3.49	1	*	H-5''
3.96	1	<i>m</i>	H-6a''
3.76	1	<i>m</i>	H-6b''
αλλόση			
5.08	1	<i>d</i> (J = 8.6)	H-1'''
3.48	1	<i>dd</i> (J = 8.6, *)	H-2'''
4.12	1	<i>dd</i> (J = 3.5, 2.6)	H-3'''
3.65	1	*	H-4'''
4.05	1	<i>dd</i> (J = 11.1, *)	H-5'''
4.31	1	<i>dd</i> (J = 11.1, *)	H-6a'''
4.25	1	<i>dd</i> (J = 11.1, 3.7)	H-6b'''
3.90	3	<i>s</i>	4'-OCH ₃
1.98	3	<i>s</i>	CH ₃ COO-

*επικαλυπτόμενα σήματα



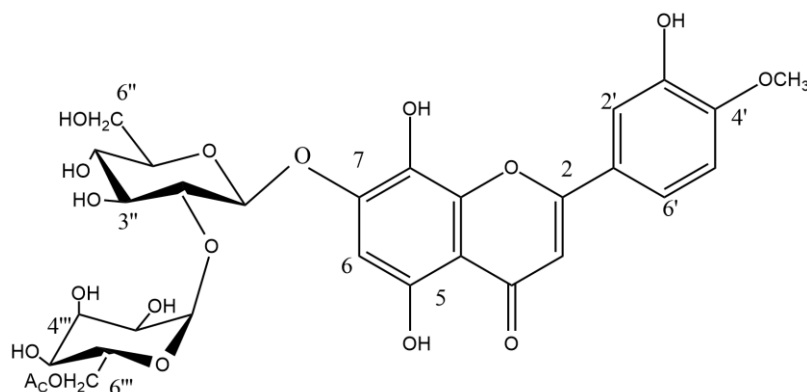
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **8**



φάσμα COSY ουσίας **8**

Γ.1.9. Ουσία 9 : 4'-Ο-μεθυλο-υπολαετινο- 7-Ο-[6'''-Ο-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης

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



Η ουσία έχει απομονωθεί από κάποια είδη του γένους *Stachys* L. (βλ. Δρογοχημεία). Έχει βρεθεί επίσης σε είδη του γένους *Sideritis* L. όπως *S. raeseri* Boiss.& Hedlr. subsp. *raeseri* (Pljevljakusic *et al.*, 2011), *S. scardica* (Stanoeva *et al.*, 2012) και *S. caesarea* (Halfon *et al.*, 2013).

Στο υπεριώδες φως εμφανίζεται ως σκοτεινή κηλίδα, η οποία με αντιδραστήριο Neu (Neu, 1957) δεν παρουσιάζει κάποιο φθορισμό.

Από την τιμή R_f στο διαλύτη TBA [t-BuOH: AcOH: H₂O 3:1:1] : 0.45 και την τιμή R_f στο διαλύτη AcOH-15 : 0.22, συμπεραίνεται ότι πρόκειται περί γλυκοσίδη.

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

	Κορυφή II	Κορυφή I		Δλ (Ia)
		Ib	Ia	
MeOH	277	306	334	
MeONa	275.5	306	335, 392.sh	+58
AlCl ₃	278	320sh	342sh, 400sh	
AlCl ₃ / HCl	266, 278	317sh	353, 400sh	+66
NaOAc	275 (Δλ: -2.0 nm)		334	
NaOAc/ H ₃ BO ₃	276	306	334	

Από την τιμή απορρόφησης της πρώτης κορυφής του μεθανολικού διαλύματος (334 nm) συμπεραίνεται ότι η ουσία ανήκει στις φλαβόνες, τύπου απιγενίνης. Το -OH της θέσης 4' είναι δεσμευμένο, δεδομένου ότι παρατηρείται υποχρωμική μετατόπιση της κορυφής I, κατόπιν προσθήκης MeONa. Επίσης και στην ουσία αυτή, ο επιμερισμός της κορυφής I σε δύο επί μέρους κορυφές, εκ των οποίων η εντονότερη εμφανίζεται περίπου σε λ 306 nm υποδεικνύει την υποκατάσταση στη θέση 8, καθώς και η βαθυχρωμική μετατόπιση σε σχέση με τα παράγωγα, που δεν φέρουν 8-OH της κορυφής II (Voïgin, 1983).

Από τα φάσματα με τριχλωριούχο αργίλιο και μετά την προσθήκη διαλ. υδροχλωρικού οξέος συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σύστημα ο-OH στον Β δακτύλιο. Το φάσμα $AlCl_3 / HCl$ υποδεικνύει την παρουσία υδροξυ-ομάδας στην θέση 8 [$\Delta\lambda > 65$ nm] (Sakakibara and Mabry, 1977). Αυτό επιβεβαιώνεται και από την σταθερότητα του φάσματος μετά την προσθήκη $NaOAc/H_3BO_3$ ($\Delta\lambda < 10$ nm). Το -OH της θέσης 7 είναι δεσμευμένο, διότι στο φάσμα με $NaOAc$ δεν παρατηρείται βαθυχρωμική μετατόπιση της κορυφής II κατά 5-20 nm (Mabry *et al.*, 1970).

Παρατηρήθηκε σημαντική ομοιότητα μεταξύ των φασμάτων της ουσίας **8** 4'-O-μεθυλοϊσοσκοτελλαρεϊνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδη και της ουσίας **9** 4'-O-μεθυλο-υπολαετινο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης με μόνη διαφορά την ύπαρξη ενός -OH στη θέση 3' του Β-δακτυλίου της φλαβόνης.

Πιο συγκεκριμένα, από το φάσμα ^1H-NMR της ουσίας **9** διαπιστώνεται η παρουσία των ακολούθων:

Στην περιοχή των αρωματικών πρωτονίων του φάσματος εντοπίζονται: μια διπλή κορυφή σε δ 7.48 ($J=1.8$ Hz, H-2'), μια διπλή κορυφή σε δ 7.10 ($J=8.2$ Hz, H-5') και μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 7.61 ($J=8.2, 1.8$, H-6'). Τα σήματα αυτά αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα της υποκατάστασης τύπου ABX σε αντίθεση με τα σήματα που εμφανίζονται στο φάσμα ^1H-NMR της ουσίας **8** και υποδεικνύουν π-υποκατάσταση του Β-δακτυλίου της φλαβόνης.

Στη συνέχεια εντοπίζονται δύο απλές κορυφές σε δ 6.79 και 6.66, που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-3 και H-6, αντίστοιχα. Επίσης παρατηρούνται σε δ 4.95 ($J=7.8$ Hz, H-1'') και 5.08 ($J=8.0$ Hz, H-1''') δύο διπλές κορυφές, που αντιστοιχούν σε ανωμερικά πρωτόνια σακχάρων.

Τέλος εμφανίζονται δύο μεγάλες απλές κορυφές: μια σε δ 3.96, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε μεθοξυ-ομάδα και μια σε δ 2.00, που ολοκληρώνει προς τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ακετυλομάδα.

Από το φάσμα COSY της ουσίας παρατηρούνται τα spin συστήματα, που μας επέτρεψαν να εντοπίσουμε τις χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων των δύο σακχάρων.

Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1'' (δ 4.95) του ενός σακχάρου με το γειτονικό H-2'' (δ 3.72) του ίδιου σακχάρου.

Το ανωμερικό πρωτόνιο H-1''' (δ 5.08) του άλλου σακχάρου με το γειτονικό H-2''' (δ 3.47) του ίδιου σακχάρου.

Επίσης, παρατηρείται η σύζευξη του πρωτονίου σε δ 7.61 (H-6') με το πρωτόνιο σε δ 7.10 (H-5').

Από το φάσμα HSQC έγινε αντιστοίχιση των πρωτονιωμένων ανθράκων. Οι άνθρακες του A-δακτυλίου του φλαβονοειδούς C-3 και C-6 εμφανίζονται σε δ 103.5 και δ 101.3, αντίστοιχα. Οι άνθρακες C-2', C-5' και C-6' του B-δακτυλίου εντοπίζονται σε δ 113.8, δ 112.4 και δ 120.3. Τέλος οι πρωτονιωμένοι άνθρακες της γλυκόσης C-1'' και της αλλόσης C-1''' εμφανίζονται σε δ 102.2 και δ 104.6.

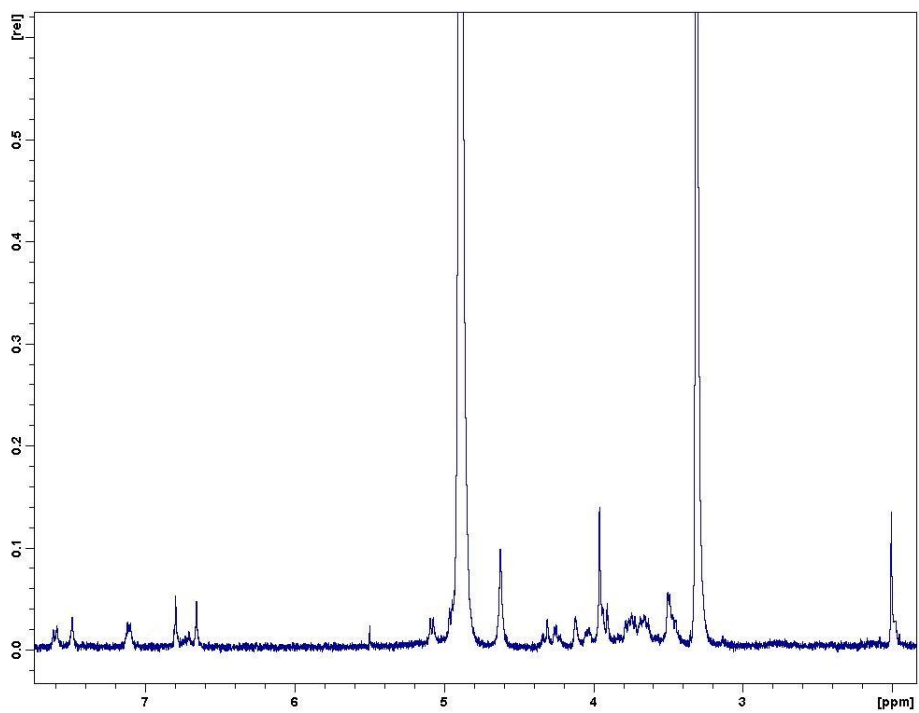
Από όλα τα παραπάνω στοιχεία και σε σύγκριση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Venditti *et al.*, 2015) συμπεραίνουμε ότι η ουσία **9** ταυτοποιείται ως 4'-O-μεθυλο-υπολαετινο-7-O-[6'''-O-ακετυλο- β -D-αλλοπυρανοσυλο (1 \rightarrow 2)]- β -D-γλυκοπυρανοσίδης.

ΠΙΝΑΚΑΣ Η-9 : ¹ H-NMR ουσίας 9 (400 MHz, CD ₃ OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
άγλυκο			
7.61	1	<i>dd</i> (J = 8.2, 1.8)	H-6'
7.48	1	<i>d</i> (J = 1.8)	H-2'
7.10	1	<i>d</i> (J=8.2)	H-5'
6.79	1	<i>s</i>	H-3
6.66	1	<i>s</i>	H-6
γλυκόση			
4.95	1	<i>d</i> (J = 7.8)	H-1''
3.72	1	*	H-2''
3.67	1	*	H-3''
3.50	1	*	H-4''
3.50	1	*	H-5''
3.96	1	<i>dd</i> (J = 12.5,*)	H-6a''
3.76	1	*	H-6b''
αλλόση			
5.08	1	<i>d</i> (J = 8.0)	H-1'''
3.47	1	*	H-2'''
4.12	1	<i>dd</i> (J = 3.1, 2.2)	H-3'''
3.66	1	*	H-4'''
4.05	1	<i>m</i>	H-5'''
4.31	1	<i>dd</i> (J = 12.0, 2.2)	H-6a'''
4.25	1	<i>dd</i> (J = 12.0, 5.7)	H-6b'''
3.96	3	<i>s</i>	4'-OCH ₃
2.00	3	<i>s</i>	CH ₃ COO-

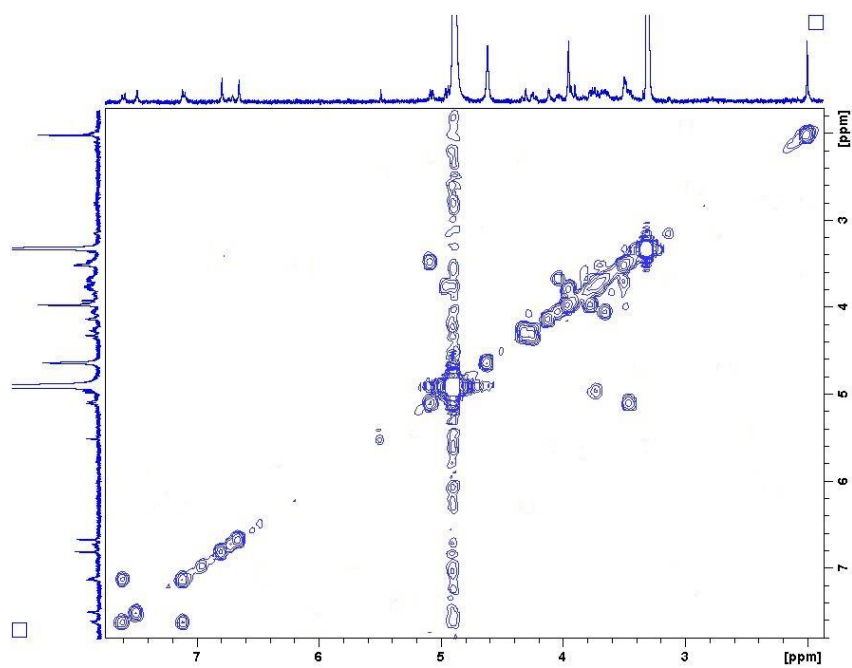
* επικαλυπτόμενα σήματα

ΠΙΝΑΚΑΣ C-9: ¹³ C-NMR ουσίας 9 (400 MHz, CD ₃ OD) ^{&}		
δ (ppm)	Τύπος C	Ταυτοποίηση
103.5	CH	C-3
101.3	CH	C-6
113.8	CH	C-2'
112.4	CH	C-5'
120.3	CH	C-6'
102.2	CH	C-1''
85.1	CH	C-2''
*	CH	C-3''
71.7	CH	C-4''
79.1	CH	C-5''
63.4	CH ₂	C-6''
104.6	CH	C-1'''
72.5	CH	C-2'''
72.3	CH	C-3'''
69.5	CH	C-4'''
72.9	CH	C-5'''
65.3	CH ₂	C-6'''
20.5	CH ₃	-OCO <u>CH</u> ₃
55.5	CH ₃	-OCH ₃

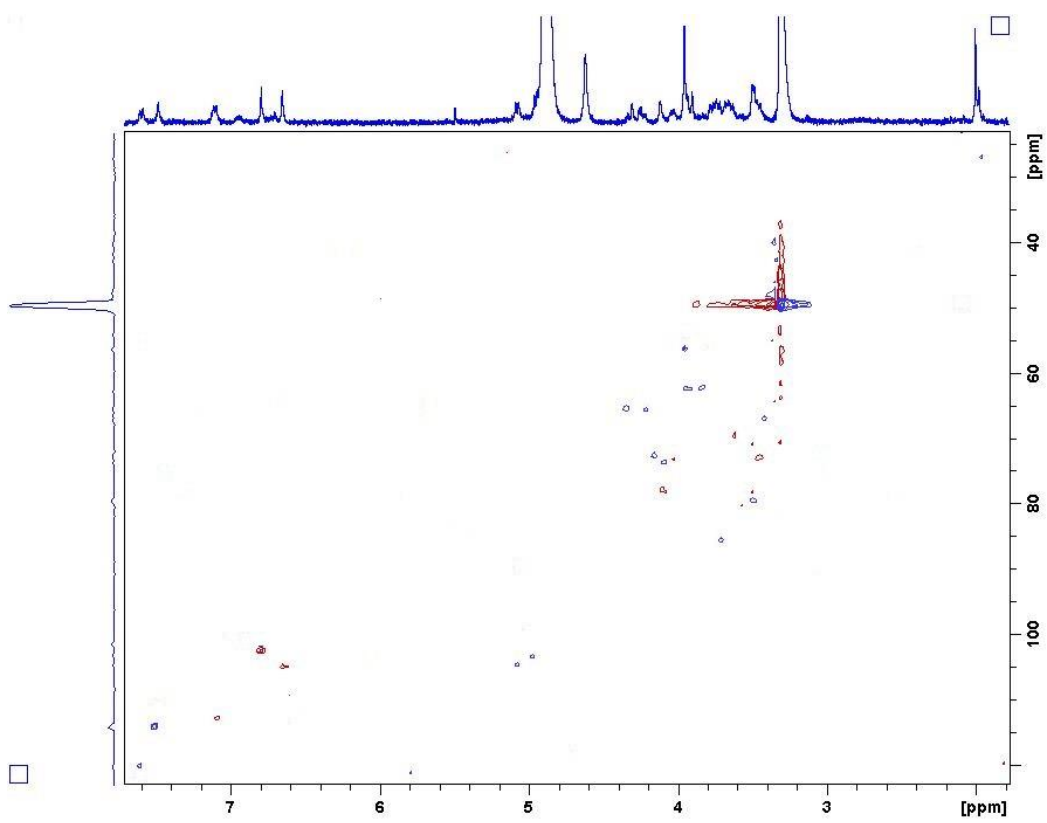
[&] οι τιμές προσδιορίστηκαν μέσω φάσματος HSQC



φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **9**



φάσμα COSY ουσίας **9**

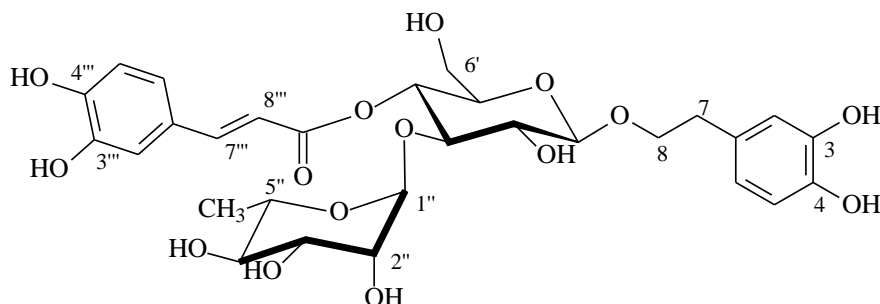


φάσμα HSQC ουσίας **9**

Γ.2. Φαινολοιθανοειδείς γλυκοσίδες

Γ.2.1. Ουσία 10: 8-(3,4-δihυδροξυ-φαιnyλαιθυλο)-O-[α-L-ραμνοπυρανοσυλο-(1''→3')]- (4'-O-E-καφεοϋλο)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης [=ακτεοσίδης, βερμπασκοσίδης]

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



Η ουσία αυτή απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1963 από το φυτό *Verbascum sinuatum* (Scrophulariaceae), από όπου πήρε το όνομα βερμπασκοσίδης. Το 1966 απομονώθηκε από το φυτό *Syringa vulgaris* (Oleaceae) με το όνομα ακτεοσίδης. Το 1982 βρέθηκε ότι οι δομές του βερμπασκοσίδη και του ακτεοσίδη είναι ταυτόσημες. Πρόκειται για έναν από τους πλέον διαδεδομένους φαιnyλοιθανοειδείς γλυκοσίδες. Έχει απομονωθεί από πληθώρα φυτών, που ανήκουν σε διάφορες οικογένειες, όπως Acanthaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Buddlejaceae, Cucurbitaceae, Gesneriaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Orobanchaceae, Pedaliaceae, Plantaginaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae (Jiménez *et al.*, 1994).

Τέλος έχει αναφερθεί ως κύριος φαιnyλοιθανοειδής γλυκοσίδης σε πολλά είδη του γένους *Stachys* L.(βλ. Δρογοχημεία).

Στο φάσμα ¹H-NMR διαπιστώνεται η παρουσία δύο συστημάτων ABX στο μόριο, ενός καφεϊκού οξέος, καθώς και ενός φαιnyλικού δακτυλίου συνδεδεμένου σε ένα αιθύλιο.

- *καφεϊκό οξύ*: σήματα στην αρωματική περιοχή του φάσματος
 - σε δ 7.05 εμφανίζεται το πρωτόνιο H-2''' ως μία διπλή κορυφή (J=2.0 Hz)
 - σε δ 6.96 εμφανίζεται το πρωτόνιο H-6''' ως μία διπλώς διπλή κορυφή (J=8.2, 2.0 Hz)
 - σε δ 6.78 εμφανίζεται το πρωτόνιο H-5''' ως μία διπλή κορυφή (J=8.0 Hz).η μεγάλη σταθερά σύζευξης μεταξύ των πρωτονίων H-7''' και H-8''' (J=15.7 Hz) υποδηλώνει την ύπαρξη *trans*-καφεϊκού οξέος.

Στο φάσμα COSY εντοπίζονται τα διασταυρούμενα σήματα των πρωτονίων H-5''' / H-6''' του αρωματικού δακτυλίου, όπως και των πρωτονίων του trans διπλού δεσμού H-7'''/H-8'''. Οι άνθρακες που συμμετέχουν στον trans διπλό δεσμό αντιστοιχίζονται στο φάσμα HSQC σε δ 148.0 για τον C-7''' και 114.7 για τον C-8'''.

- *φαινυλοαιθυλο-τμήμα*: τα πρωτόνια του εμφανίζονται σε λίγο υψηλότερα πεδία
 - μία διπλή κορυφή σε δ 6.69 (J=2.0 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-2,
 - μία διπλή κορυφή σε δ 6.67 (J=8.0 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-5 και τέλος,
 - μία διπλώς διπλή κορυφή δ 6.57 (J=8.0, 2.0 Hz), που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-6.

Στο φάσμα COSY εντοπίζονται τα διασταυρούμενα σήματα των πρωτονίων H-5/H-6, που επιβεβαιώνουν την υποκατάσταση ABX του δακτυλίου.

Τα πρωτόνια των θέσεων 7 και 8 έχουν χαρακτηριστική μορφή και θέση και αποτελούν τα χαρακτηριστικά σήματα των φαινυλοαιθανοειδών γλυκοσιδών:

- τα πρωτόνια H-7 εμφανίζονται μαζί σε δ 2.80 ως μία σχεδόν τριπλή κορυφή,
- τα πρωτόνια της θέσεως 8 εμφανίζονται χωριστά σε δ 4.05 και 3.73, ως πολλαπλές κορυφές.

Στο φάσμα COSY επιβεβαιώνονται οι συζεύξεις των πρωτονίων αυτών μέσω των spin spin συστημάτων H-7/ H-8a, H-7/ H-8b και H-8a/H-8b.

Από το φάσμα HSQC οι πρωτονιωμένοι αυτοί άνθρακες αντιστοιχίζονται σε δ 37.0 (C-7) και 72.0 (C-8).

Στην κεντρική περιοχή του φάσματος $^1\text{H-NMR}$ εντοπίζονται χαρακτηριστικά σήματα της παρουσίας δύο σακχάρων.

- *γλυκόση*:
 - σε δ 4.38 εμφανίζεται ως μία ευρεία διπλή κορυφή το ανωμερικό πρωτόνιο. Από τη μεγάλη σταθερά σύζευξης (J=7.8 Hz) συμπεραίνεται ότι πρόκειται για β -γλυκόση.
 - σε δ 3.39 και 3.82 εμφανίζονται αντίστοιχα τα πρωτόνια H-2' και H-3' ως δύο διπλώς διπλές κορυφές (φάσμα COSY). Από το μέγεθος των σταθερών σύζευξης (*dd*, J= 9.2 & 8.0 Hz, H-2', *t*, J=9.2 Hz, H-3') προκύπτει ότι τα πρωτόνια H-2', H-3' και H-4' βρίσκονται σε αντιπαράλληλη διάταξη, κάτι που χαρακτηρίζει το σάκχαρο της γλυκόσης.
 - σε δ 4.94 έντονα αποθωρακισμένο εμφανίζεται το πρωτόνιο H-4' καλυμμένο από την κορυφή της υγρασίας της μεθανόλης. Η έντονη αποθωράκιση του σήματος μαρτυρεί την παρουσία κάποιας αρωματικής ομάδας στη θέση 4 της γλυκόσης, πιθανότατα του καφεϊκού οξέος.
 - σε δ 3.63 και 3.53 (μερικώς επικαλυπτόμενο σήμα) εμφανίζονται τα πρωτόνια του μεθυλενίου της γλυκόσης ως δύο διπλώς διπλές κορυφές (J=10.4, 5.0 Hz H-6'a και J= *, 6.2 Hz H-6'b). Τα

πρωτόνια αυτά ουδέποτε συμπίπτουν, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν έχουν το ίδιο χημικό περιβάλλον. Αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό στο φάσμα HSQC, όπου εύκολα διακρίνονται οι μετατοπίσεις των δύο σημάτων. Στις περιπτώσεις, που στη θέση 6 της γλυκόσης προστεθεί κάποια άλλη ομάδα, σάκχαρο ή ακύλιο, η μεταξύ τους απόσταση αυξάνεται και αποθωρακίζονται και τα δύο.

- *ραμνóση:*

- σε δ 5.19 εμφανίζεται το ανωμερικό πρωτόνιο ως μία διπλή κορυφή ($J=1.8$ Hz).

σε δ 3.92 εμφανίζεται το πρωτόνιο της θέσεως 2" (φάσμα COSY) ως μία διπλώς διπλή κορυφή ($J= 3.5, 2.0$ Hz), λόγω των μικρών συζεύξεων *axial-equatorial* που παρουσιάζει, τόσο με το ανωμερικό πρωτόνιο ($J=2.0$ Hz), όσο και με το πρωτόνιο H-3" ($J=3.5$ Hz).

- σε δ 3.58, 3.55 και 3.30, μερικώς αλληλοεπικαλυπτόμενα, εμφανίζονται τα πρωτόνια H-3", H-4" και H-5" (φάσμα COSY).

- σε δ 1.09 εμφανίζεται μία διπλή κορυφή, που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια, και αντιστοιχεί στα πρωτόνια του μεθυλίου της ραμνóσης. Ο άνθρακας του μεθυλίου της ραμνóσης εντοπίζεται στο φάσμα HSQC σε δ 18.5.

Στο φάσμα COSY παρατηρείται εμφανώς το σήμα μεταξύ του του μεθυλίου της ραμνóσης με το γειτονικό πρωτόνιό του H-5'' σε δ 3.55.

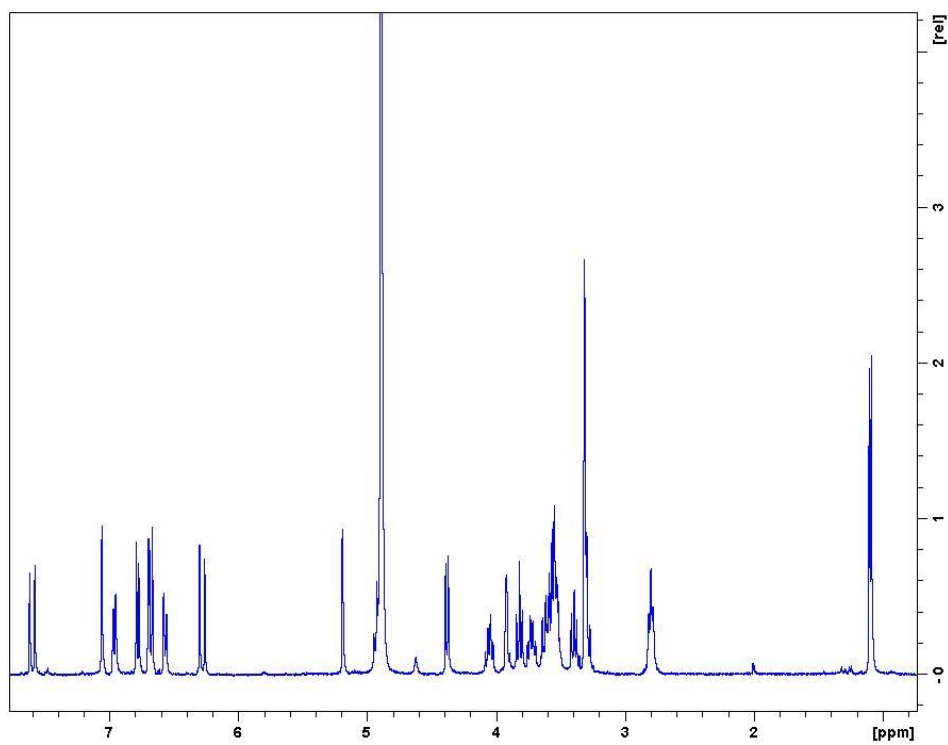
ΠΙΝΑΚΑΣ Η-10 : ¹ H-NMR ουσίας 10 (CD ₃ OD, 400 MHz)			
Χημική μετατόπιση δ (ppm)	Αρ. Η	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
άγλυκο			
6.69	1	<i>d</i> (J=2.0)	H-2
6.67	1	<i>d</i> (J=8.0)	H-5
6.57	1	<i>dd</i> (J=8.0, 2.0)	H-6
2.80	2	<i>dd</i> (J=7.6, 5.3)	H-7
4.05	1	<i>m</i>	H-8a
3.73	1	<i>m</i>	H-8b
γλυκόση			
4.38	1	<i>d</i> (J=7.8)	H-1'
3.39	1	<i>dd</i> (J=9.2, 8.0)	H-2'
3.82	1	<i>t</i> (J=9.2)	H-3'
4.94	1	<i>d^c</i> (J=9.2, *)	H-4'
3.54 ^b	1	<i>m</i>	H-5'
3.63	1	<i>dd</i> (J=10.4, 5.2)	H-6a'
3.53 ^b	1	<i>dd</i> (J=*, 6.2)	H-6b'
ραμνόση			
5.19	1	<i>d</i> (J=1.8)	H-1''
3.92	1	<i>dd</i> (J=3.5, 2.0)	H-2''
3.58 ^b	1	<i>dd</i> (J=9.5, 3.5)	H-3''
3.30 ^a	1	<i>t</i> (J=10.0)	H-4''
3.55 ^b	1	<i>m</i>	H-5''
1.09	3	<i>d</i> (J=6.6)	H-6''
καφεοϋλο- ομάδα			
7.05	1	<i>d</i> (J=2.0)	H-2'''
6.78	1	<i>d</i> (J=8.0)	H-5'''
6.96	1	<i>dd</i> (J=8.2, 2.0)	H-6'''
7.59	1	<i>d</i> (J=15.7)	H-7'''
6.27	1	<i>d</i> (J=15.7)	H-8'''

^a σήμα μερικώς επικαλυπτόμενο από την CD₃OD

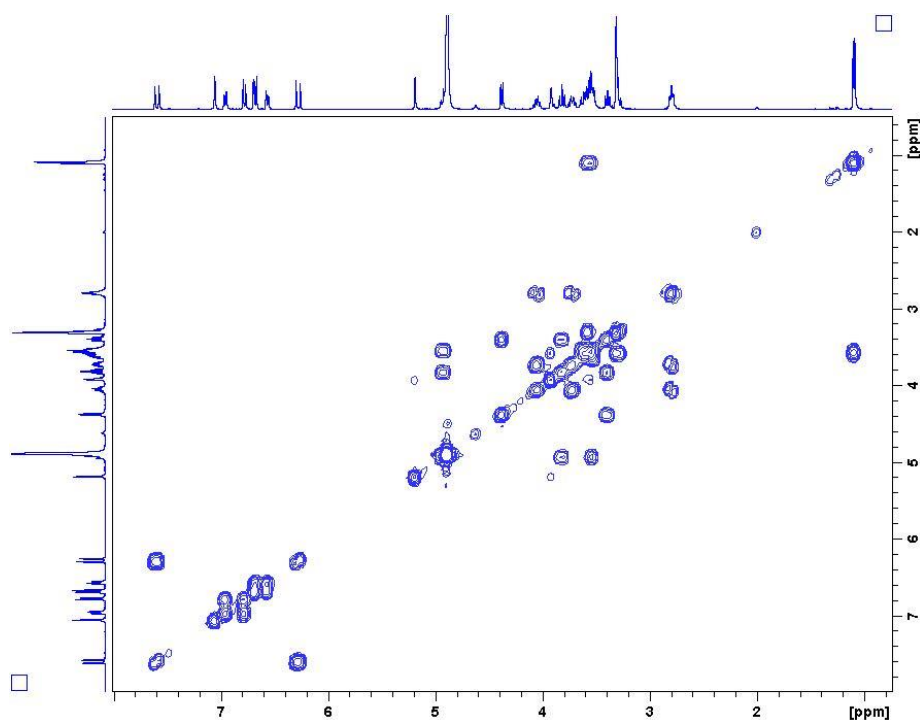
^b μερικώς επικαλυπτόμενα σήματα

^c σήμα μερικώς επικαλυπτόμενο από την υγρασία της CD₃OD

*μη εμφανής σταθερά σύζευξης



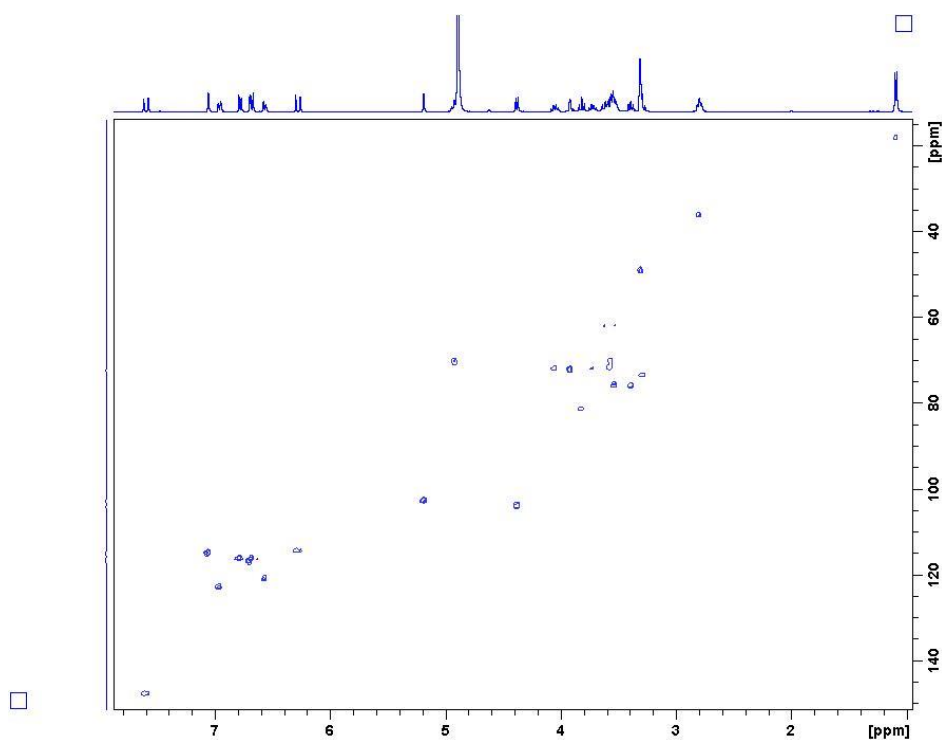
φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **10**



φάσμα COSY ουσίας **10**

ΠΙΝΑΚΑΣ ^{13}C -NMR ουσίας 10 (CD_3OD)*		
Χημική μετατόπιση δ (ppm)	Τύπος C	Ταυτοποίηση
άγλυκο		
117.0	CH	C-2
116.4	CH	C-5
120.8	CH	C-6
37.0	CH_2	C-7
72.0	CH_2	C-8
γλυκόση		
104.3	CH	C-1'
76.0	CH	C-2'
81.5	CH	C-3'
70.5	CH	C-4'
75.8	CH	C-5'
62.1	CH_2	C-6'
ραμνόση		
102.8	CH	C-1''
72.2	CH	C-2''
71.8	CH	C-3''
73.5	CH	C-4''
70.5	CH	C-5''
18.5	CH_3	C-6''
καφεοϋλο-ομάδα		
115.2	CH	C-2'''
116.2	CH	C-5'''
122.9	CH	C-6'''
148.0	CH	C-7'''
114.7	CH	C-8'''

* οι τιμές αποδόθηκαν μέσω φάσματος HSQC

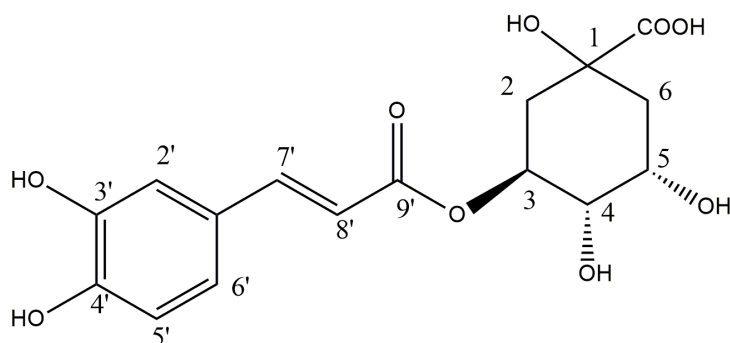


φάσμα HSQC ουσίας **10**

Γ. 3. Φαινολικά οξέα

Γ.3.1. Ουσία 11 : Χλωρογενικό οξύ [3-O-καφεϋλοκινικό οξύ]

Η ουσία απομονώθηκε ως καστανό υπόλειμμα και ταυτοποιήθηκε ως 3-O-καφεϋλοκινικό οξύ, κατόπιν φασματοσκοπικής μελέτης και σύγκρισης με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Almeida *et al.*, 1998, Jung *et al.*, 1999).



Το χλωρογενικό οξύ αποτελεί έναν από τους πιο κοινούς εστέρες του κινικού και του καφεϊκού οξέος. Έχει απομονωθεί από αρκετά είδη του γένους *Stachys* L. όπως *S. recta* L. (Karioti *et al.*, 2010), *S. alpina*, *S. officinalis*, *S. palustris*, *S. salvifolia* και *S. sylvatica* (Vundać *et al.*, 2005). Έχει βρεθεί ωστόσο και σε φυτά διάφορων άλλων οικογενειών, όπως *Lonicera japonica* Thumb. (Caprifoliaceae) (Zhang *et al.*, 2008), *Persea americana* (Lauraceae) (Almeida *et al.*, 1998), *Eriobotrya japonica* (Rosaceae) (Jung *et al.*, 1999) και *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Η ουσία αυτή έχει μελετηθεί εκτενώς, καθώς αποτελεί συστατικό της καθημερινής διατροφής του ανθρώπου. Έχει βρεθεί κυρίως σε ροφήματα, όπως καφέ και τσάι, αλλά και σε φρούτα και λαχανικά (Liang *et al.*, 2016).

UV_{λmax} (MeOH) nm: 244 (sh), 299 (sh), 328.

[α]_D: -12.0 (CH₃OH, c 0.125).

Από το φάσμα ¹H-NMR εντοπίζεται η παρουσία ενός αρωματικού συστήματος, το οποίο εμφανίζει υποκατάσταση τύπου ABX με σήματα σε δ 7.05 (*d*, J=2.0 Hz), 6.77 (*d*, J=8.2 Hz), 6.95 (*dd*, J=8.2, 2.2 Hz), τα οποία αποδίδονται στα πρωτόνια H-2', H-5' και H-6', αντίστοιχα. Επιπλέον στο φάσμα εντοπίζονται δύο πρωτόνια (H-7', H-8') τα οποία ανήκουν σε *trans*-διπλό δεσμό, καθώς δίνουν δύο διπλές κορυφές σε δ 7.57 και δ 6.29 με J=16.1 Hz.

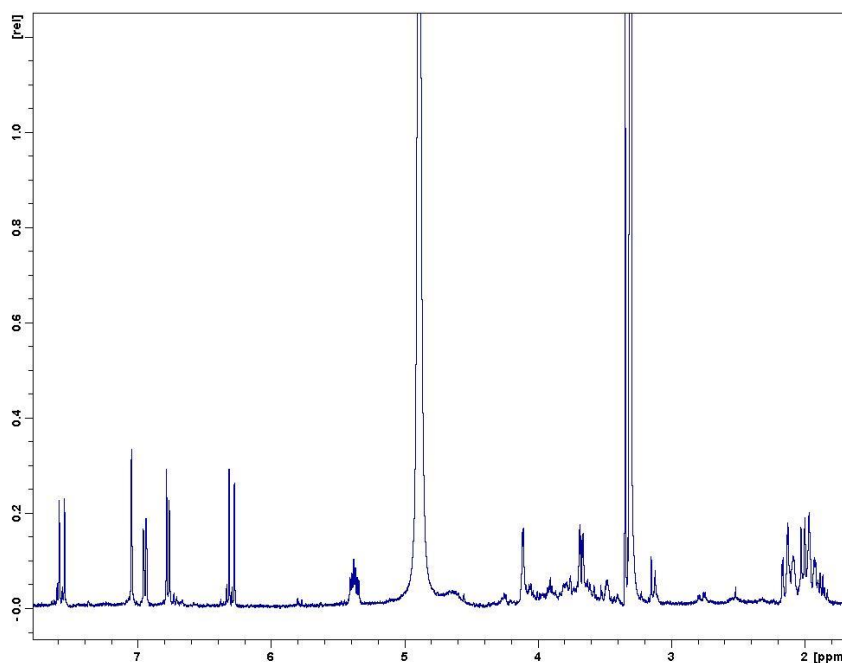
Παράλληλα παρατηρούνται σε υψηλότερα πεδία, μία πολλαπλή κορυφή σε δ 5.37, μια ευρέως διπλή κορυφή σε δ 4.11 (*brd*, J=3.2 Hz), μια διπλώς διπλή κορυφή σε δ 3.67 (*dd*, J=9.7,

3.2 Hz). Από τη χημική μετατόπιση των πρωτονίων αυτών συμπεραίνεται ότι πιθανώς να ανήκουν σε οξυγονωμένους άνθρακες. Τέλος παρατηρείται και ένα σύνολο κορυφών, οι οποίες εμφανίζονται σε δ 2.16-1.93 και ολοκληρώνουν για 4 πρωτόνια. Τα παραπάνω δεδομένα παραπέμπουν στη δομή του κινικού οξέος.

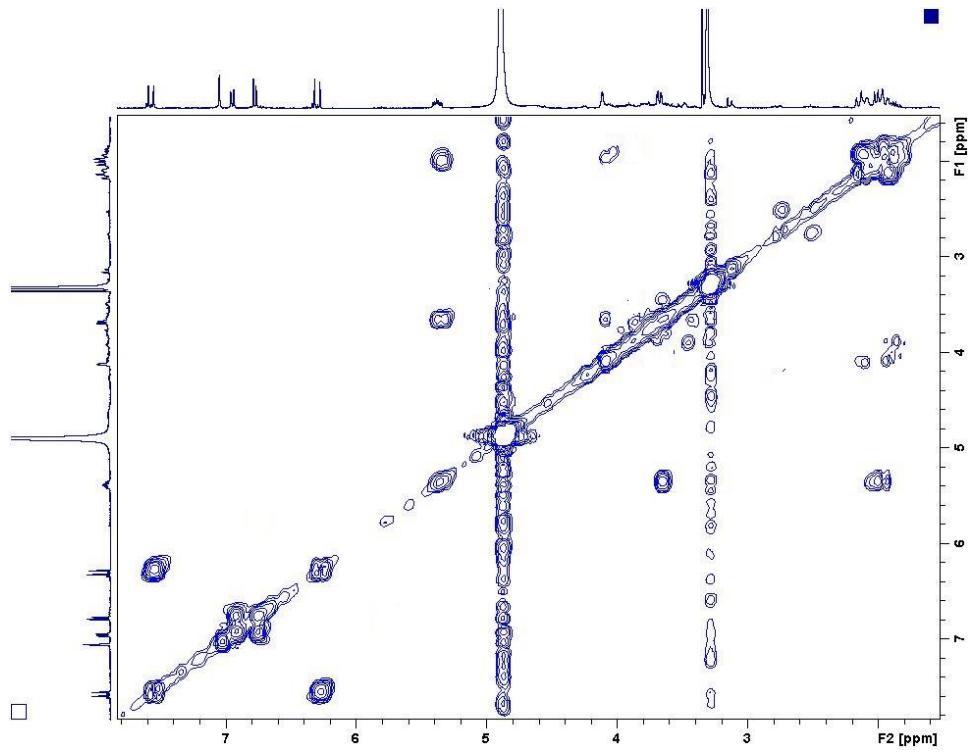
Από το φάσμα COSY επιβεβαιώνεται η ύπαρξη κινικού οξέος στο μόριο, δεδομένου ότι παρατηρούνται οι εξής συζεύξεις: το πρωτόνιο σε δ 5.37 (H-3) συζεύγνυται με τα πρωτόνια του μεθυλενίου της θέσεως 2 (H-2a, H-2b), καθώς και με το πρωτόνιο σε δ 3.67 (H-4). Το H-4 εμφανίζει διασταυρούμενο σήμα με το πρωτόνιο σε δ 4.11 (H-5), το οποίο συζεύγνυται με τα πρωτόνια του μεθυλενίου της θέσεως 6 (H-6a, H-6b). Επίσης στο φάσμα COSY παρατηρείται η σύζευξη μεταξύ των πρωτονίων H-2a και H-2b, όπως και των πρωτονίων H-6a και H-6b. Τέλος, τα σήματα που εμφανίζονται στην αρωματική περιοχή εμφανίζουν τις αναμενόμενες συζεύξεις των πρωτονίων H-7'/H-8' του *trans*-διπλού δεσμού, όπως και των γειτονικών πρωτονίων H-5'/H-6'.

Από το φάσμα NOESY της ουσίας παρατηρείται ότι το πρωτόνιο σε δ_{H} 3.67 (H-4) δίνει σήμα διασταύρωσης με το πρωτόνιο δ_{H} 4.11 (H-5), επομένως συμπεραίνουμε ότι αυτά τα δύο πρωτόνια είναι σε *cis* διάταξη, άρα επιβεβαιώνεται ότι πρόκειται για χλωρογενικό οξύ.

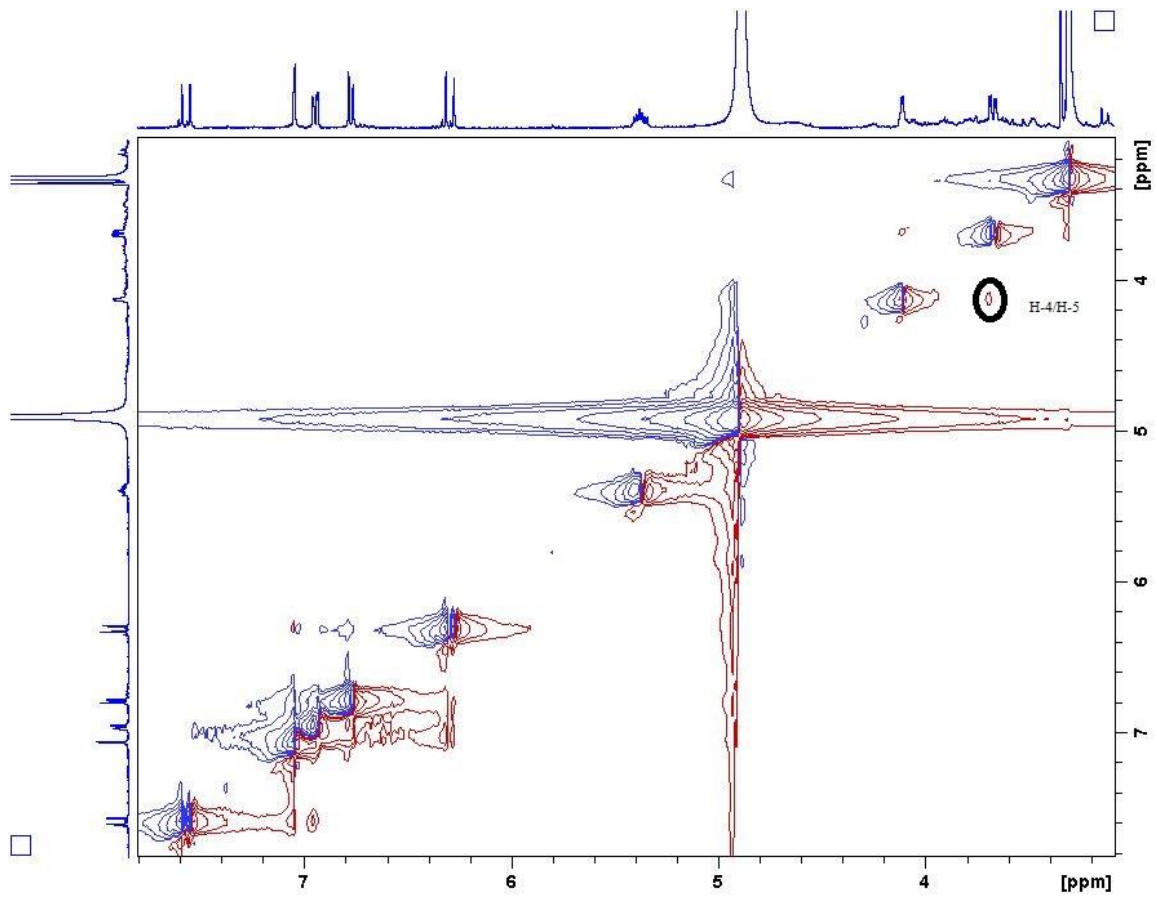
ΠΙΝΑΚΑΣ Η-11 : $^1\text{H-NMR}$ ουσίας 11 (400MHz, CD_3OD)			
δ (ppm)	n ^o H	Πολλαπλότητα, J (Hz)	Ταυτοποίηση
2.13-2.01	2	<i>m</i>	H-2a/H-2b
5.38	1	<i>m</i>	H-3
3.67	1	<i>dd</i> (J = 9.7, 3.2)	H-4
4.11	1	<i>brd</i> (J=3.2)	H-5
2.16-1.93	2	<i>m</i>	H-6a/H-6b
7.05	1	<i>d</i> (J = 2.0)	H-2'
6.77	1	<i>d</i> (J = 8.2)	H-5'
6.95	1	<i>dd</i> (J = 8.2, 2.0)	H-6'
7.57	1	<i>d</i> (J = 16.1)	H-7'
6.29	1	<i>d</i> (J = 16.1)	H-8'



φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ουσίας **11**



φάσμα COSY ουσίας 11



φάσμα NOESY ουσίας 11

**Δ. ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *STACHYS* L.
ΕΝΑΝΤΙ ΦΥΤΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ**

Δ.1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

α. Αντιμικροβιακή δράση του γένους *Stachys* L.

Η χρήση θεραπευτικών φυτών και βοτάνων για την αντιμετώπιση προβλημάτων υγείας ήταν γνωστή από την αρχαιότητα. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, στο κεφάλαιο της Δρογοφαρμακολογίας παρουσιάζονται παραδοσιακές χρήσεις αρκετών ειδών του γένους *Stachys*. Γενικά τα είδη του γένους *Stachys* L. αναφέρονται στη λαϊκή θεραπευτική για αντιμετώπιση όγκων γεννητικών οργάνων, καρκινικά έλκη, φλεγμονές και σκληρύνσεις του σπλήνα (Dulger and Aki, 2009). Το φυτό είτε ολόκληρο είτε μέρη του χρησιμοποιούνταν στη φυτοθεραπευτική, ενώ το αφέψημά του αναφερόταν ως ηρεμιστικό, διουρητικό, αντισπασμωδικό και εμμηναγωγό (Skaltsa *et al.*, 2000).

Έχουν γίνει αρκετές μελέτες για αντιμικροβιακή δράση ειδών του γένους *Stachys* έναντι παθογόνων βακτηρίων και μυκήτων που προσβάλλουν τον ανθρώπινο οργανισμό. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι τα εκχυλίσματα αλλά και τα αιθέρια έλαια ειδών του γένους *Stachys* έχουν μικρή έως καθόλου αντιμυκητιακή δράση σε μύκητες που προσβάλλουν και δημιουργούν ασθένειες στον άνθρωπο (π.χ. μύκητες του γένους *Candida*) (Digrak *et al.*, 2001, Kursat and Erecevit, 2009, Skaltsa *et al.*, 2003, Sarac *et al.*, 2007).

Όσον αφορά την αντιβακτηριακή τους δράση, τα είδη του γένους *Stachys* έχουν δώσει κάποια ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Οι Fooladvand *et al.*, 2014 αναφέρουν πως στη μελέτη του *S. lavandulifolia* Vahl. subsp. *lavandulifolia* για αντιβακτηριακή δράση προέκυψε μεγαλύτερη ευαισθησία των Gram αρνητικών βακτηρίων στο εκχύλισμα. Με το ίδιο συμπέρασμα συμφωνούν και οι Alavi *et al.*, 2015 που μελέτησαν εκχυλίσματα του *S. turcomanica*.

Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν μελέτες των Saeedi *et al.*, 2008, Abdel-Sattar *et al.*, 2008 και Mahdavi *et al.*, 2014 που καταλήγουν στο συμπέρασμα της μεγαλύτερης ευαισθησίας των Gram θετικών βακτηρίων έναντι των Gram αρνητικών στα εκχυλίσματα *Stachys*. Μια αιτιολόγηση γι' αυτό δίνεται από τους Abdel-Sattar *et al.*, 2008 όπου αναφέρεται πως το στρώμα των λιποπολυσακχαριτών μαζί με τις πρωτεΐνες και τα φωσφολιπίδια που διαθέτουν τα Gram αρνητικά βακτήρια, παρεμποδίζει την πρόσβαση των περισσότερων ενώσεων στο εσωτερικό τους. Έτσι εξηγείται η αντίσταση των Gram-αρνητικών βακτηρίων στη δράση των περισσότερων εκχυλισμάτων που παρουσιάζουν αντιβακτηριακές ιδιότητες.

β. Δράση εκχυλισμάτων του γένους *Stachys* σε φυτοπαθογόνους οργανισμούς

Οι ασθένειες των φυτών οδηγούν σε απώλειες μεγάλων ποσοτήτων παραγωγής παγκοσμίως. Επομένως τα συνθετικά φυτοφάρμακα είναι μία αρκετά άμεση λύση για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού. Το γεγονός όμως ότι η χρήση συνθετικών φυτοφαρμάκων δημιουργεί προβλήματα τόσο στη δημόσια υγεία όσο και στο περιβάλλον έχει προβάλλει την ανάγκη για υιοθέτηση μίας πιο ήπιας (για το περιβάλλον και τον άνθρωπο) αλλά εξίσου αποτελεσματικής προσέγγισης της φυτοπροστασίας μέσω σκευασμάτων φυτικής προέλευσης (Bahraminejad *et al.*, 2011). Ένα άλλο πρόβλημα που αντιμετωπίζει ο τομέας της φυτοπροστασίας είναι η ανθεκτικότητα που εμφανίζουν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί έναντι των φυτοφαρμάκων. Έτσι πολλοί ερευνητές έχουν στραφεί στην απομόνωση ουσιών από φυτά που εμφανίζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού.

Συγκεκριμένα για το εκχύλισμα φυτών του γένους *Stachys* έχουν γίνει μελέτες από Bahraminejad *et al.*, 2011 και Insunza *et al.*, 2001 για την αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μυκήτων και του νηματώδη *Xiphinema americanum s.l.* που προσβάλλει την άμπελο. Στην περίπτωση των φυτοπαθογόνων μυκήτων τα αποτελέσματα που προέκυψαν ταυτίζονται με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αναφέρθηκαν προηγουμένως, καθώς τα εκχυλίσματα των ειδών *S. lavandulifolia* Vahl. και *S. inflata* Benth. εμφάνισαν ελάχιστη έως καθόλου παρεμποδιστική δράση στην ανάπτυξη των μυκήτων (Bahraminejad *et al.*, 2011). Στην περίπτωση του νηματώδη της αμπέλου το υδατικό εκχύλισμα του *S. albicaulis* Lindl. σε συγκέντρωση 62.500 ppm προκάλεσε αδρανοποίηση του οργανισμού (και όχι θανάτωσή του) ένα 24ωρο μετά την εφαρμογή του (Insunza *et al.*, 2001).

γ. Το πρόβλημα των βακτηριώσεων στα φυτά και η αντιμετώπισή τους.

Ένα μεγάλο μέρος των καλλιεργούμενων φυτών είναι ευαίσθητα σε ασθένειες που προκαλούνται από βακτήρια. Οι βακτηριώσεις των φυτών παρά το γεγονός ότι είναι μικρότερες σε αριθμό από εκείνες που προκαλούνται από τους μύκητες ή τους ιούς, είναι ασθένειες που αντιμετωπίζονται πολύ δύσκολα και συχνά καταλήγουν σε καταστροφικές άμεσες ή έμμεσες απώλειες της γεωργικής παραγωγής. Το γεγονός αυτό οφείλεται τόσο στην έλλειψη ή στην αδυναμία χρήσης δραστικών βακτηριοτοξικών χημικών ενώσεων όσο και στον γρήγορο ρυθμό πολλαπλασιασμού των βακτηρίων, όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές.

Μεταξύ των σημαντικότερων βακτηριώσεων που συναντάμε στις καλλιέργειες σήμερα είναι αυτές που οφείλονται στα φυτοπαθογόνα βακτήρια *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* είναι Gram αρνητικό βακτήριο και η ταξινόμηση του είναι η εξής (Brenner *et al.*, 2005):

Domain: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Είναι υπεύθυνο για την καρκίνωση ή φυματίωση της ελιάς (olive knot). Τα συμπτώματα που εμφανίζει είναι ο σχηματισμός στα κλαδιά, στον κορμό και στις ρίζες μικρών όγκων γνωστά ως καρκινώματα ή εκσαρκώσεις όπου στο εσωτερικό τους (όταν είναι ακόμα μικροί σε μέγεθος) βρίσκονται κατά τόπους μικρές υδατώδεις περιοχές που περιέχουν σε μεγάλες συγκεντρώσεις το βακτήριο. Στους καρπούς η ασθένεια μπορεί να εμφανιστεί με τη μορφή καστανόμαυρων κυκλικών κηλίδων. Δεν υπάρχουν αποτελεσματικά μέτρα αντιμετώπισης γι'αυτό μεγάλη προσοχή δίνεται στα καλλιεργητικά μέτρα και τα μέτρα πρόληψης (Παναγόπουλος, Αθήνα 2007).



Το *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* είναι Gram θετικό βακτήριο και η ταξινόμηση του είναι η εξής (Whitman *et al.*, 2012):

Domain: Bacteria

Phylum: Actinobacteria

Class: Actinobacteria

Order: Micrococcales

Family: Microbacteriaceae

Είναι υπεύθυνο για το βακτηριακό έλκος της τομάτας (tomato canker). Προκαλεί μάρανση των φύλλων της τομάτας που οδηγεί σε νέκρωση αυτών. Στο στέλεχος δημιουργεί επιμήκη έλκη και κίτρινο μεταχρωματισμό των αγγείων του ξύλου. Στους καρπούς παρατηρείται

χαρακτηριστική κηλίδωση. Δεν υπάρχουν αποτελεσματικά μέτρα αντιμετώπισης γι'αυτό μεγάλη προσοχή δίνεται στα καλλιεργητικά μέτρα και τα μέτρα πρόληψης (Τζάμος, Αθήνα 2007).



Τα μέτρα αντιμετώπισης των βακτηριώσεων μπορούν να χωριστούν σε τέσσερις κατηγορίες: χημικά, βιολογικά, γενετικής βελτίωσης για τη δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών και μέτρα πρόληψης και υγιεινής. Τα πλέον αποτελεσματικά χημικά μέσα βασίζονται στη χρήση χαλκούχων σκευασμάτων και αντιβιοτικών. Έχουν παρατηρηθεί όμως προβλήματα φυτοτοξικότητας και ανάπτυξης ανθεκτικότητας από την εφαρμογή τους (Τζάμος, Αθήνα 2007, Cooksey, 1990).

Σημαντική στρατηγική πρόληψης των βακτηριώσεων αποτελούν η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών αλλά και μέτρων προστασίας κατά την εγκατάσταση και ανάπτυξη της καλλιέργειας όπως υγιές πολλαπλασιαστικό υλικό, εξασφάλιση σωστών συνθηκών ανάπτυξης και καλλιέργειας των φυτών και ορθός τρόπος χειρισμού φυτικού υλικού και εργαλείων.

Τέλος η βιολογική καταπολέμηση περιλαμβάνει την εφαρμογή ειδικών ανταγωνιστών μικροοργανισμών επί του φυτού ή στο περιβάλλον του με στόχο τον περιορισμό εμφάνισης και εξάπλωσης της ασθένειας (Τζάμος, Αθήνα 2007). Στα πλαίσια της βιολογικής καταπολέμησης θα ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθούν φυτικά εκχυλίσματα ή και αιθέρια έλαια που έχουν εμφανίσει ισχυρή αντιβακτηριακή δράση ως μια εναλλακτική και πιο φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση συγκριτικά με τα χημικά μέσα και τα προβλήματα που συνεπάγεται η χρήση τους.

δ. Στόχος των βιολογικών ελέγχων του είδους *Stachys candida* Bory & Chaubard

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως έχουν υπάρξει αρκετές μελέτες για την αποτελεσματική δράση εκχυλισμάτων ειδών του γένους *Stachys* L. έναντι παθογόνων, για τον άνθρωπο, βακτηρίων. Επίσης έχει διαπιστωθεί η δράση του αιθερίου ελαίου του είδους *S. candida* Bory & Chaubard έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων (Skaltsa *et al.*, 1999). Τα παραπάνω σε συνδυασμό με το γεγονός της ανθεκτικότητας των βακτηρίων στα χημικά μέσα προστασίας αποτέλεσαν το κίνητρο για τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Στόχος των βιολογικών αυτών ελέγχων ήταν η διερεύνηση πιθανής παρεμποδιστικής δράσης των μεθανολικών εκχυλισμάτων των ειδών *S. candida* Bory & Chaubard και *S. iva* Griseb. στον πολλαπλασιασμό δύο φυτοπαθογόνων βακτηρίων, ήτοι *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Α.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

α. Φυτικό υλικό και προετοιμασία εκχυλίσματος

Για τον έλεγχο αντιβακτηριακής δράσης έναντι φυτοπαθογόνων βακτηρίων χρησιμοποιήθηκαν δύο φυτικά εκχυλίσματα, του *S. candida* Bory & Chaubard και του *S. iva* Griseb. και δύο κλάσματα από την προαναφερθείσα φυτοχημική μελέτη του *S. candida*, τα STAW-H και STAW-GL (σελ. 30). Η διαδικασία για τη συλλογή και προετοιμασία του *Stachys candida* αναφέρεται στο πειραματικό μέρος της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Από το υπολειπόμενο εκχύλισμα του φυτού που δεν υποβλήθηκε σε περαιτέρω επεξεργασία στη φυτοχημική μελέτη, παραλήφθηκε ποσότητα 210 mg και αφού διαλύθηκε σε 42 ml μεθανόλης, παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης 5.000 µg/ml (ppm).

Από το είδος *S. iva* Griseb. χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 10 g υπέργειων τμημάτων ξηρού φυτικού υλικού αδρομερώς τετμημένων. Η δρόγη χορηγήθηκε από το Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, Τμήμα Φαρμακευτικών & Αρωματικών Φυτών-ΕΛΓΟ «ΔΗΜΗΤΡΑ». Η δρόγη υποβλήθηκε σε εκχύλιση εν ψυχρώ με μεθανόλη. Από το εκχύλισμα που προέκυψε, αφού συμπυκνώθηκε σε χαμηλή θερμοκρασία σε περιστροφική συσκευή αποστάξεως υπό κενό, παραλήφθηκε ποσότητα 400 mg και διαλύθηκε σε 40 ml μεθανόλη. Έτσι παρασκευάστηκε διάλυμα σε συγκέντρωση 10.000 µg/ml (ppm).

Τέλος από τα κλάσματα STAW-H και STAW-GL παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης 10.000 ppm. Και τα τέσσερα διαλύματα αποθηκεύτηκαν σε γυάλινα φιαλίδια με αεροστεγές πώμα και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη μέχρι να χρησιμοποιηθούν.

β. Μικροοργανισμοί

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικά είδη βακτηρίων, το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και το *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Οι καλλιέργειες βακτηρίων προέρχονται από τη συλλογή του εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου φυλάσσονταν στους -80°C. Αναγεννήθηκαν σε στερεό θρεπτικό υλικό Nutrient Agar. Αφού ελέγχθηκε η καθαρότητά τους με γραμμική διασπορά σε στερεό θρεπτικό υλικό, παρασκευάστηκαν υγρές καλλιέργειες λαμβάνοντας μεμονωμένη αποικία από τα τρυβλία ελέγχου καθαρότητας και μεταφέροντάς τη σε υγρό θρεπτικό υλικό Nutrient Broth. Στη συνέχεια έγιναν προκαταρκτικά πειράματα για να εκτιμηθούν παράμετροι της κινητικής αύξησης των βακτηρίων και να ληφθούν υπόψη για το σχεδιασμό του πειράματος ελέγχου βιοδραστικότητας των εκχυλισμάτων.

γ. Πειραματική πορεία

Για την μελέτη της βιοδραστικότητας των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος μέτρησης οπτικής πυκνότητας καλλιέργειας με Microplate reader (Κατσικογιάννης, 2003). Χρησιμοποιήθηκαν δύο αποστειρωμένα τρυβλία 96 μικροθέσεων (Microplate: 96 multi-well plate with U-shaped sterilized with lid), ένα για κάθε βακτήριο για να αποφύγουμε τον κίνδυνο επιμολύνσεων.

Όλες οι διαφορετικές επεμβάσεις με τα εκχυλίσματα έγιναν σε τρεις επαναλήψεις.

Όλοι οι χειρισμοί με τα εκχυλίσματα και τα αντιβιοτικά τοποθετήθηκαν στα microplates με τη βοήθεια αυτόματου σιφώνιου ρυθμιζόμενου όγκου με ένα ακροφύσιο, έτσι ώστε οι μεν συγκεντρώσεις των εκχυλισμάτων να είναι 1000 µg/ml (ppm), οι δε συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών να είναι 0.5 µg/ml (ppm) και 1 µg/ml (ppm). Μετά την τοποθέτησή τους αφήθηκαν σε θάλαμο νηματικής ροής προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης τους (μεθανόλη). Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 200 µl θρεπτικού υλικού Nutrient Broth που είτε δεν περιείχε εμβόλιο, είτε περιείχε εμβόλιο σε διαφορετικά επίπεδα πληθυσμού.

Οι χειρισμοί για το κάθε microplate φαίνονται στην παρακάτω διάταξη:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B1	B1	B1	B2	B2	B2	B3	B3	B3	B4	B4	B4
B	a1	a1	a1	a2	a2	a2	a3	a3	a3	a4	a4	a4
C	b1	b1	b1	b2	b2	b2	b3	b3	b3	b4	b4	b4
D	c1	c1	c1	c2	c2	c2	c3	c3	c3	c4	c4	c4
E	d1	d1	d1	d2	d2	d2	d3	d3	d3	d4	d4	d4
F	a	a	a	b	b	b	c	c	c	d	d	d
G	N.B.	N.B.	N.B.	a I	a I	b I	b I	c I	c I	d I	d I	
H	a II	a II	N.B.II	b II	b II	N.B.II	c II	c II	N.B.II	d II	d II	

Στην σειρά **A** τοποθετήθηκαν όλα τα εκχυλίσματα χωρίς να εμβολιαστούν (ως τυφλό (B)).

Στην παραπάνω διάταξη τα εκχυλίσματα αναφέρονται ως:

1 : *Stachys candida* Bory & Chaubard

2 : *Stachys iva* Griseb.

3 : STAW-H

4 : STAW-GL

Από καλλιέργεια που βρισκόταν στην αρχή της φάσης στασιμότητας (stationary phase) παρασκευάστηκαν δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις σε θρεπτικό υλικό Nutrient Broth και στην παραπάνω διάταξη αναφέρονται ως:

a: 10^7

b: 10^6

c: 10^5

d: 10^4

Οι τέσσερις αυτές αραιώσεις αποτελούν εκτιμώμενα επίπεδα πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή του πειράματος.

Στη σειρά F τοποθετήθηκαν οι καλλιέργειες των διαφορετικών πληθυσμών χωρίς την προσθήκη κάποιου βιοδραστικού παράγοντα (αρνητικός μάρτυρας).

N.B.: 200 μl θρεπτικού υλικού Nutrient Broth (ως τυφλό).

Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το αντιβιοτικό Enrofloxacin το οποίο ανήκει στην ομάδα των φλουοροκινολών και λειτουργεί ως βακτηριοκτόνος παράγοντας σε συγκεντρώσεις:

I: 0.5 ppm

II: 1 ppm

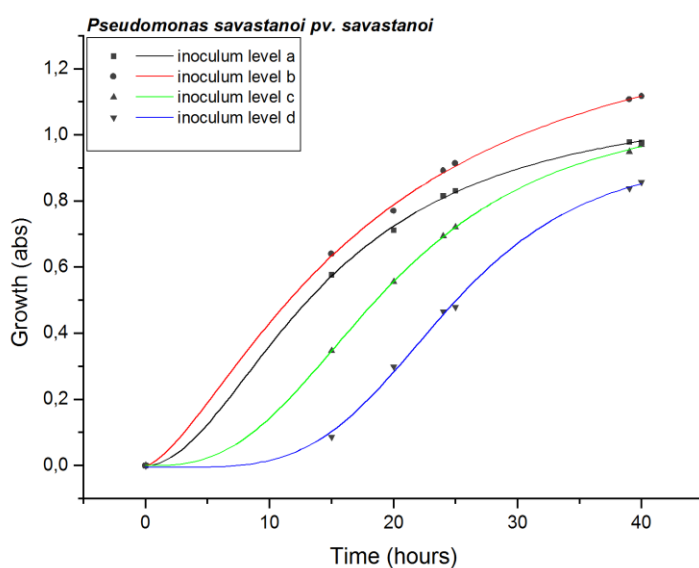
Όταν ετοιμάστηκαν τα τρυβλία πολλαπλών θέσεων, μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα των κελιών τους στο Microplate Reader DYNEX MRX στα 570 nm. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 21°C. Οι μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων επαναλαμβάνονταν σε διάφορες χρονικές στιγμές για διάστημα 40 ωρών.

Δ.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

α. Κινητική αύξησης των βακτηρίων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

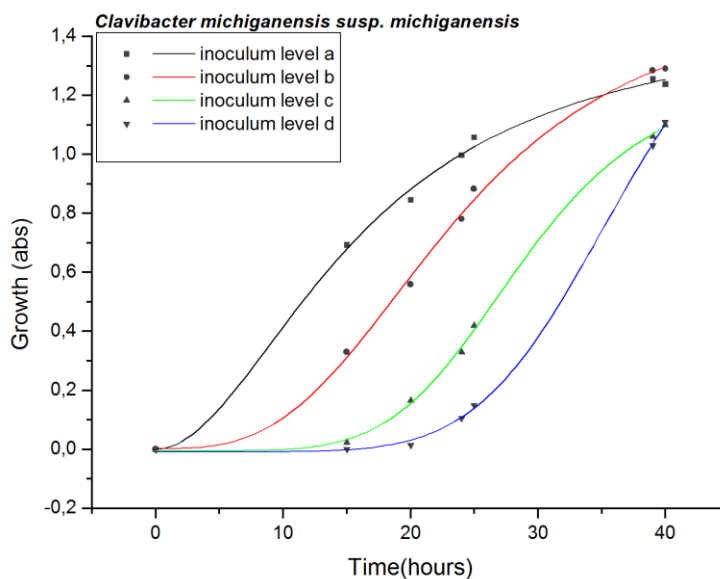
Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό μέρος, έγιναν προκαταρκτικά πειράματα για να αποκτηθεί σαφής εικόνα της κινητικής αύξησης των υπό μελέτη βακτηρίων.

Απεικόνιση της κινητικής αυτής αύξησης παρουσιάζεται στα παρακάτω γραφήματα.



Γράφημα 1: Κινητική αύξησης τεσσάρων επιπέδων πληθυσμού του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

Στο γράφημα 1 για το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, διαπιστώνεται μια άμεση εκθετική αύξηση στους χειρισμούς που εμβολιάστηκαν με εμβόλιο επιπέδου a: 10^7 και b: 10^6 . Οι χειρισμοί που εμβολιάστηκαν με εμβόλιο της τάξης c: 10^5 και d: 10^4 εμφάνισαν μια φάση υστέρησης (lag phase) περίπου 6-10 ωρών. Ο ρυθμός αύξησης για όλα τα επίπεδα εμβολίου που χρησιμοποιήθηκαν φαίνεται να επιβραδύνεται λίγο μετά τις 30 ώρες και πλέον στις 40 ώρες όλα τα επίπεδα εμβολίου έχουν μπει στη φάση στασιμότητας.

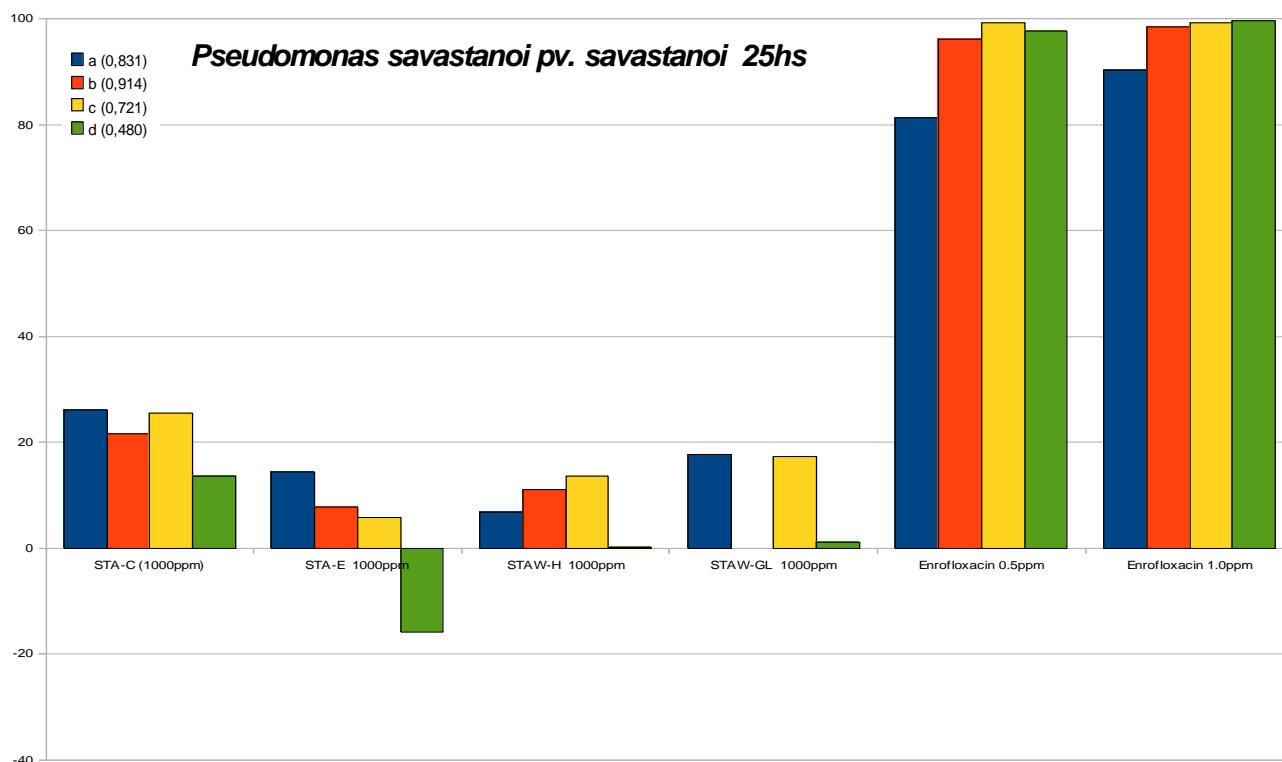


Γράφημα 2: Κινητική αύξησης τεσσάρων επιπέδων πληθυσμού του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Ανάλογη εικόνα εμφανίζεται στο γράφημα 2 για το *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Εδώ άμεση αύξηση παρατηρείται στον χειρισμό που εμβολιάστηκε με εμβόλιο επιπέδου a: 10^7 ενώ για το επίπεδο εμβολίου b: 10^6 εμφανίζεται μία φάση υστέρησης της τάξης των 8 ωρών περίπου. Για το χειρισμό με εμβόλιο της τάξης c: 10^5 η φάση υστέρησης ήταν 15 ώρες ενώ για το d: 10^4 ήταν 20 ώρες. Για τα 3 επίπεδα εμβολίου a,b,c στις 40 ώρες οι καλλιέργειες είχαν μπει στη φάση στασιμότητας ενώ η καλλιέργεια με το εμβόλιο επιπέδου d δε φαίνεται να έχει μπει ακόμα στη φάση στασιμότητας.

β. Επίδραση των εκχυλισμάτων του *Stachys L.* στην κινητική αύξηση του *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

Όπως περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος, οι μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας των καλλιεργειών γίνονταν σε διαφορετικές χρονικές στιγμές για ένα διάστημα 40 ωρών. Οι διαφορετικές αυτές μετρήσεις έδειξαν ότι η μετρούμενη βιοδραστικότητα των εκχυλισμάτων (και των αντιβιοτικών) εξαρτιόταν και από το διαφορετικό επίπεδο πληθυσμού στο εμβόλιο που είχε χρησιμοποιηθεί και από το χρόνο μέτρησης της οπτικής πυκνότητας. Στο γράφημα 3 επιλέχθηκε να απεικονισθούν οι μετρήσεις που λήφθηκαν κατά τη χρονική στιγμή των 25 ωρών για το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Οι μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας για τα 4 επίπεδα εμβολίου κυμαίνονταν από 0.480 έως 0.914.

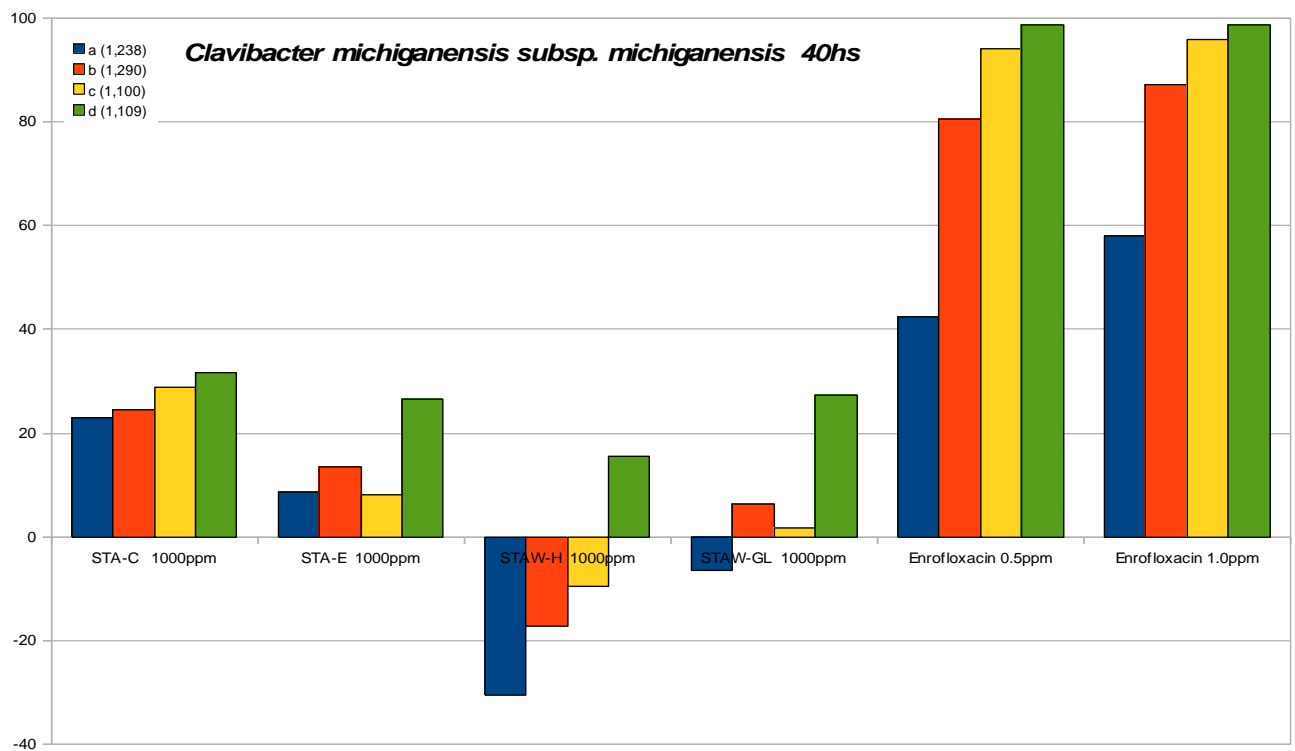


Γράφημα 3: Παρεμποδιστική δράση (επί τοις 100 του μάρτυρα) των εκχυλισμάτων και του αντιβιοτικού σε 4 διαφορετικά επίπεδα πληθυσμού του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* μετά από 25 ώρες επώασης.

Μια γενική εικόνα που προκύπτει από την παρατήρηση του γραφήματος 3 είναι ότι για όλα τα εκχυλίσματα εμφανίζεται μια παρεμποδιστική δράση, μικρότερη ή μεγαλύτερη, με μοναδική εξαίρεση το εκχύλισμα STA-E που δείχνει να έχει μια ευνοϊκή επίδραση στην καλλιέργεια με την χαμηλότερη αύξηση (OD: 0.480). Από όλα τα εκχυλίσματα και κλάσματα, τη μεγαλύτερη παρεμποδιστική δράση δείχνει το εκχύλισμα STA-C που κυμάνθηκε σε επίπεδα 15-25%. Η επίδραση των υπολοίπων εκχυλισμάτων και κλασμάτων STA-E, STAW-H και STAW-GL ήταν μικρότερη του 20% ή αμελητέα. Τέλος, το αντιβιοτικό Enrofloxacin χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας και όπως φαίνεται στο γράφημα 3 το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* φαίνεται να είναι ευαίσθητο στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό.

γ. Επίδραση των εκχυλισμάτων του *Stachys L.* στην κινητική αύξηση του *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

Για την επίδραση των εκχυλισμάτων του *Stachys L.* στην κινητική αύξηση του *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* επιλέχθηκε να αποτυπωθεί σε γράφημα η οπτική πυκνότητα που μετρήθηκε κατά τη χρονική στιγμή των 40ωρών. Το βακτήριο αυτό είναι πιο αργό σε ανάπτυξη από το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* κι έτσι στο διάστημα των 40 ωρών οι πληθυσμοί έχουν αναπτυχθεί αρκετά ώστε να αποτυπωθεί καθαρά η επίδραση των εκχυλισμάτων αλλά δεν έχουν αναπτυχθεί τόσο ώστε να έχουν μπει στη φάση στασιμότητας (stationary phase).



Γράφημα 4: Παρεμποδιστική δράση (επί τοις 100 του μάρτυρα) των εκχυλισμάτων και του αντιβιοτικού σε 4 διαφορετικά επίπεδα πληθυσμού του βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* μετά από 40 ώρες επώασης.

Στην περίπτωση του *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, οι μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας για τα 4 επίπεδα εμβολίου κυμαίνονταν από 1.100 έως 1.290.

Το εκχύλισμα STA-C για το βακτήριο αυτό φαίνεται ότι εμφανίζει παρεμποδιστική δράση της τάξης των 20-30% η οποία είναι ανάλογη των αραιώσεων του πληθυσμού. Για το εκχύλισμα STA-E παρατηρούμε μια λιγότερο παρεμποδιστική δράση με μεγαλύτερη επίδραση στους πληθυσμούς b και d. Η εικόνα αλλάζει στα κλάσματα STAW-H και STAW-GL καθώς στο

πρώτο κλάσμα παρατηρείται ευνοϊκή για τους πληθυσμούς a,b και c δράση ενώ στο δεύτερο κλάσμα παρατηρείται ευνοϊκή δράση μόνο για τον πληθυσμό a. Και τα δύο κλάσματα φαίνεται ότι λειτουργούν σαν παρεμποδιστικός παράγοντας ανάπτυξης μόνο για το επίπεδο πληθυσμού d. Το αντιβιοτικό Enrofloxacin χρησιμοποιήθηκε και εδώ ως θετικός μάρτυρας και από το γράφημα 4 φαίνεται πως το *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* είναι λιγότερο ευαίσθητο στο αντιβιοτικό αυτό απ' ότι το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*

δ. Αξιολόγηση της βιοδραστικότητας των εκχυλισμάτων του γένους *Stachys* L. και κλασμάτων τους.

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παρουσίαση των αποτελεσμάτων η μετρούμενη βιοδραστικότητα (παρεμπόδιση ή ευνοϊκή επίδραση) εξαρτάται και από το επίπεδο εμβολίου που χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμή και από το χρόνο μέτρησης της δραστηριότητας. Για να ληφθεί λοιπόν μια όσο γίνεται πιο αντικειμενική εικόνα της βιοδραστικότητας, προχωρήσαμε στην καταγραφή της ελάχιστης, μέγιστης και μέσης παρεμπόδισης (ανάλογα με το επίπεδο εμβολίου) από όλες τις διαφορετικές χρονικές στιγμές μέτρησης.

<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>				
	Δράση	Minimum	Maximum	Mean
STA-C	παρεμποδιστική	13.69	41.07	27.38
STA-E	ευνοϊκή	8.86	15.91	12.38
	παρεμποδιστική	1.31	31.38	16.34
STAW-H	παρεμποδιστική	0.14	30.9	15.52
STAW-GL	ευνοϊκή	1.11	1.36	1.23
	παρεμποδιστική	0.0	27.4	13.7
Enrofloxacin 0.5ppm	παρεμποδιστική	77.04	99.35	88.20
Enrofloxacin 1.0ppm	παρεμποδιστική	88.82	100.0	94.41

<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>				
	Δράση	Minimum	Maximum	Mean
STA-C	παρεμποδιστική	22.82	75.10	48.96
STA-E	παρεμποδιστική	5.38	63.80	34.59
STAW-H	ευνοϊκή	3.44	51.65	27.54
STAW-GL	ευνοϊκή	0.06	16.59	8.32
	παρεμποδιστική	9.0	38.14	23.57
Enrofloxacin 0.5ppm	παρεμποδιστική	4.79	98.88	51.83
Enrofloxacin 1.0ppm	παρεμποδιστική	18.72	98.83	58.77

Συνολικά εμφανίζεται η μέγιστη παρεμποδιστική αλλά και ευνοϊκή δράση των εκχυλισμάτων και των κλασμάτων να συμβαίνει στο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* καθώς η παρεμπόδιση του φτάνει το 75.10% που προκαλείται από το εκχύλισμα STA-C και η ευνοϊκή επίδραση το 51.65% προερχόμενη από το κλάσμα STA-H. Τα εκχυλίσματα και τα κλάσματα του *Stachys* L. εμφάνισαν μικρότερη ευνοϊκή δράση για το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Η ανώτερη παρεμποδιστική δράση που παρατηρήθηκε για το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* προέκυψε από το εκχύλισμα STA-C και ήταν της τάξης του 41.07%.

Δ.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

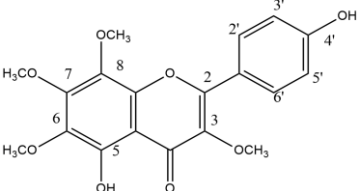
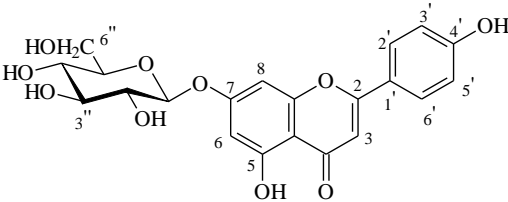
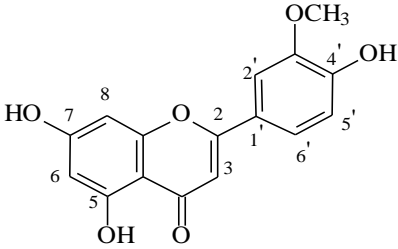
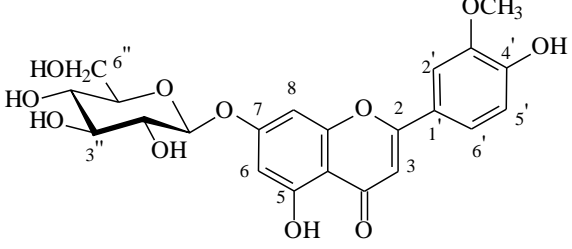
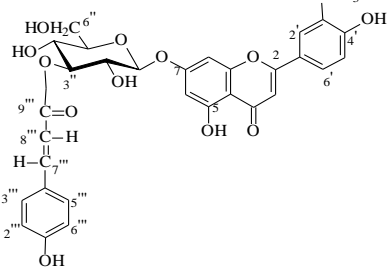
Όπως προέκυψε από τα αποτελέσματα, η μεγαλύτερη παρεμποδιστική δράση είναι αυτή του STA-C (δηλαδή του μεθανολικού εκχυλίσματος του *Stachys candida* Bory & Chaubard) που ασκείται στο *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* σε ένα μέσο ποσοστό της τάξης του 48.6%. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με αυτά των Saeedi *et al.*, 2008, Abdel-Sattar *et al.*, 2008 και Mahdavi *et al.*, 2014 για το επίπεδο της ευαισθησίας των Gram-θετικών βακτηρίων έναντι των Gram-αρνητικών στα εκχυλίσματα *Stachys* L. Το *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* είναι ένα Gram θετικό είδος βακτηρίου το οποίο φαίνεται ότι παρουσίασε ευαισθησία στο εκχύλισμα STA-C. Μικρότερη παρεμποδιστική δράση του εκχυλίσματος STA-C παρατηρήθηκε στο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (αρνητικό κατά Gram βακτήριο).

Από τη βιβλιογραφία παρατηρείται ότι εκχυλίσματα ειδών του γένους *Stachys* L. δοκιμάστηκαν για την αντιβακτηριακή τους δράση με διαφορετικές μεθόδους ελέγχου παρεμπόδισης και σε υψηλές συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν σε μία κλίμακα της τάξης των 50.000 έως 200.000 ppm (Alavi *et al.*, 2015, Askun *et al.*, 2012, Dulger *et al.*, 2005, Nostro *et al.*, 2000, Bahraminejad *et al.*, 2011, Insunza *et al.*, 2001). Η μέθοδος μέτρησης της οπτικής πυκνότητας που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη δε μπορούσε να υποστηρίξει τόσο υψηλές συγκεντρώσεις καθώς εξαιτίας του έντονου σκούρου χρώματος του εκχυλίσματος, η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας για να παρατηρηθεί η επίδραση του εκχυλίσματος στην ανάπτυξη του πληθυσμού θα ήταν αδύνατη. Έτσι, με μία συγκέντρωση 1000 ppm για το καθένα από τα τέσσερα εκχυλίσματα, παρατηρήθηκε αντιβακτηριακή δράση των εκχυλισμάτων έναντι φυτοπαθογόνων βακτηρίων. Τέλος σύμφωνα με τη μελέτη των Yasar *et al.*, 2005, ενδιαφέρον για περαιτέρω έρευνα παρουσιάζει το φαινόμενο της συνέργειας ειδών της ίδιας οικογένειας, καθώς θα μπορούσε να αυξήσει την ένταση της αντιβακτηριακής δράσης.

Ε. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αντικείμενο της παρούσης διπλωματικής εργασίας υπήρξε η μελέτη των δευτερογενών μεταβολιτών του ενδημικού είδους *Stachys candida* Bory & Chaub.

Μελετήθηκε το μεθανολικό εκχύλισμα του φυτού. Συνολικά απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν: εννέα φλαβονοειδή (**1-9**), ένας φαινυλοαιθανοειδής γλυκοσίδης (**10**) και ένα φαινολοξύ (**11**).

1		Καλυκοπερίνη
2		Απιγενίνο-7-Ο-β-D-γλυκοσίδης
3		Χρυσοερίολη
4		Χρυσοεριολο-7-Ο-β-D-γλυκοσίδης
5		Χρυσοεριολο-7-Ο-β-D-(3''-E-π-κουμαρούλο)- γλυκοκυρανοσίδης

<p>6</p>	<p>The structure shows a central flavone core (isochlorogenic acid) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6''').</p>	<p>Ισοσκουτελλαρεΐνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης</p>
<p>7</p>	<p>The structure shows a central flavone core (isochlorogenic acid) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6''').</p>	<p>Ισοσκουτελλαρεΐνο 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6'''-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης</p>
<p>8</p>	<p>The structure shows a central flavone core (4'-O-methylisochlorogenic acid) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6'''). A methoxy group (OCH₃) is attached to the C4' position of the flavone core.</p>	<p>4'-O-Μεθυλοΐσοσκουτελλαρεΐνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης</p>
<p>9</p>	<p>The structure shows a central flavone core (4'-O-methyl-7-O-caffeoylshikimic acid) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6'''). A methoxy group (OCH₃) is attached to the C4' position of the flavone core.</p>	<p>4'-O-Μεθυλο-υπολαετινο- 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο(1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης</p>
<p>10</p>	<p>The structure shows a central flavone core (acteoside) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6''').</p>	<p>Ακτεοσίδης</p>
<p>11</p>	<p>The structure shows a central flavone core (chlorogenic acid) with a 7-O-glycosidic linkage to a disaccharide. The disaccharide consists of a beta-D-glucopyranoside unit linked at its C1 position to the C2 position of a beta-D-allopyranoside unit. Both sugar units have acetyl groups (AcOH₂C) attached to their C6 positions (labeled 6'' and 6''').</p>	<p>Χλωρογενικό οξύ</p>

Χημειοταξινόμική διερεύνηση των αποτελεσμάτων

Η ουσία **1** [**καλυκοπτερίνη**] έχει απομονωθεί ξανά από το *S. candida* Bory & Chaubard [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000). Επίσης έχει αναφερθεί στα είδη *S. aegyptiaca* L. [sectio **Ambleia**] (El-Ansari *et al.*, 1991) και *S. chrysantha* Boiss. & Heildr. [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000).

Επισημαίνεται ότι η παρουσία φλαβονολών δεν είναι συνήθης στα Lamiaceae στα οποία απαντώνται κυρίως φλαβόνες. Εξ άλλου η καλυκοπτερίνη απομονώθηκε σε σχετικά μικρή ποσότητα.

Η ουσία **2** [**απιγενινο-7-O-β-D-γλυκοσίδης**] έχει αναφερθεί σε αρκετά είδη στο γένος *Stachys* L.: *S. aegyptiaca* L. [sectio **Ambleia**] (El-Ansari *et al.*, 1991), *S. schtschegleevii* Sosn. ex Grossh. [sectio **Ambleia**] (Nazemiyeh *et al.*, 2006), *S. alopecuros* (L.) Benth. [sectio **Betonica**] (Marin *et al.*, 2004), *S. byzantina* K. Koch. [sectio **Eriostomum**] (Asnaashari *et al.*, 2010), *S. germanica* L. [sectio **Eriostomum**] (Marin *et al.*, 2004), *S. lanata* Crantz. [sectio **Eriostomum**] (Murata *et al.*, 2008), *S. neglecta*=*S. annua* L. [sectio **Olisia**] (Zinchenko 1970), *S. plumosa* Griseb. [sectio **Stachys**] (Marin *et al.*, 2004) και *S. tibetica* Vatke [sectio **Zietenia**] (Kumar *et al.*, 2014).

Η ουσία **3** [**χρυσοεριοίλη**] έχει απομονωθεί ξανά από το *S. candida* Bory & Chaubard [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000). Επίσης έχει αναφερθεί στα είδη *S. chrysantha* Boiss. & Heildr. [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000), *S. aegyptiaca* L. [sectio **Ambleia**] (El-Ansari *et al.*, 1991), *S. swainsonii* Benth. ssp. *swainsonii* και *S. swainsonii* Benth. ssp. *argolica*. (Boiss.) Phitos et Damboldt [sectio **Swainsoniana**] (Skaltsa *et al.*, 2007).

Η ουσία **4** [**χρυσοεριολο-7-O-β-D-γλυκοσίδης**] και η ουσία **5** [**χρυσοεριολο-7-O-β-D-(3'-E-π-κουμαροϋλο)-γλυκοκυρανοσίδης**] έχουν αναφερθεί ως επί το πλείστον σε είδη του γένους *Stachys* L. που είναι ενδημικά διαφόρων περιοχών της Ελλάδας. Η ουσία **4** έχει απομονωθεί από τα: *S. aegyptiaca* L. [sectio **Ambleia**] (El-Ansari *et al.*, 1991), *S. chrysantha* Boiss. & Heildr. [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000), *S. swainsonii* Benth. ssp. *argolica*. (Boiss.) Phitos et Damboldt, *S. swainsonii* Benth. ssp. *melangavica* D. Perss. και *S. swainsonii* Benth.ssp. *scyronica* (Boiss.) Phitos et Damboldt, [sectio **Swainsoniana**] (Skaltsa *et al.*, 2007).

Η ουσία **5** έχει βρεθεί έως τώρα αποκλειστικά σε ενδημικά είδη της χώρας μας και αυτά είναι: *S. chrysantha* Boiss. & Heildr. και *S. candida* Bory & Chaubard [sectio **Candida**] (Skaltsa *et*

al., 2000) και *S. swainsonii* Benth. ssp. *argolica*. (Boiss.) Phitos et Damboldt [sectio **Swainsoniana**] (Skaltsa *et al.*, 2007).

Η ουσία **6** [ισοσκουτελλαρεϊνο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] είναι το κύριο προϊόν του φυτού. Μέχρι στιγμής έχει απομονωθεί από αρκετά είδη του γένους *Stachys* L., που ανήκουν σε διάφορα sectiones:

sectio **Ambleia**: *S. aegyptiaca* L. (El-Ansari *et al.*, 1991).

sectio **Eriostomum**: *S. alpina* L. (Marin *et al.*, 2004), *S. lanata* Crantz (Murata *et al.*, 2008), *S. tymphaea* Hausskn. (Venditti *et al.*, 2014).

sectio **Olisia**: *S. atherocalyx* C. Koch. (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. tetragona* Boiss & Hayek, *S. angustifolia* M.B., *S. annua* L, *S. beckeana* Dörfler & Hayek, *S. recta* L., *S. parolinii* Vis., *S. leucoglossa* Griseb., *S. labiosa* Bertol., *S. subcrenata* Vis., *S. baldaccii* (Maly) Hand.-Mazz. (Lenherr *et al.*, 1984a, 1984b, Karioti *et al.* 2010).

sectio **Corsica**: *S. corsica* (Tundis *et al.*, 2014).

sectio **Stachys**: *S. mialhesi* de Noé (Takeda *et al.*, 1985), *S. plumosa* Griseb. (Marin *et al.*, 2004).

sectio **Swainsoniana**: *S. mentifolia* Vis. (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. anisochila* Vis. & Pancic (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. ionica* Halácsy (Meremeti *et al.*, 2004).

και από το είδος *S. sieboldii* Miq, για το ποίο δεν γνωρίζουμε σε ποίο sectio ανήκει.

Η ουσία **7** [ισοσκουτελλαρεϊνο 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο-(1→2)-6''-O-ακετυλο-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] έχει απομονωθεί από τα είδη:

S. chrysantha Boiss. & Heidr. [sectio **Candida**] (Skaltsa *et al.*, 2000), *S. recta* L. (Karioti *et al.*, 2010) [sectio **Olisia**] και *S. anisochila* Vis. & Pancic [sectio **Swainsoniana**] (Lenherr and Mabry, 1987).

Η ουσία **8** [4'-O-μεθυλοϊσοσκουτελλαρεϊνο- 7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] έχει απομονωθεί από τα είδη:

sectio **Eriostomum**: *S. lanata* Crantz. (Murata *et al.*, 2008), *S. tymphaea* Hausskn. (Venditti *et al.*, 2014)

sectio **Olisia**: *S. atherocalyx* C. Koch. (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. tetragona* Boiss & Hayek, *S. angustifolia* M.B., *S. annua* L, *S. recta* L., *S. leucoglossa* Griseb., *S. labiosa* Bertol., *S. subcrenata* Vis. και *S. baldaccii* (Maly) Hand.-Mazz. (Lenherr *et al.*, 1984a, 1984b, Karioti *et al.* 2010).

sectio **Corsica**: *S. corsica* (Tundis *et al.*, 2014).

sectio **Swainsoniana**: *S. menthifolia* Vis. (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. ionica* Halácsy (Meremeti *et al.*, 2004) και από το είδος *S. sieboldii* Miq, για το οποίο δεν γνωρίζουμε σε ποιά sectio ανήκει (Takeda, 1985).

Η ουσία **9** [4'-O-μεθυλο-υπολαετινο-7-O-[6'''-O-ακετυλο-β-D-αλλοπυρανοσυλο (1→2)]-β-D-γλυκοπυρανοσίδης] έχει αναφερθεί στα παρακάτω είδη του γένους *Stachys* L. :

sectio **Eriostomum**: *S. alpina* L. και *S. germanica* L. (Marin *et al.*, 2004), *S. lanata* Crantz. (Murata *et al.*, 2008)

sectio **Olisia**: *S. atherocalyx* C. Koch., *S. annua* L. (Lenherr *et al.*, 1984a), *S. annua* L. subsp. *annua* (Venditti *et al.*, 2015), *S. recta* L., *S. parolinii* Vis., *S. leucoglossa* Griseb., *S. labiosa* Bertol. και *S. subcrenata* Vis. (Lenherr *et al.*, 1984a, 1984b, Karioti *et al.* 2010).

sectio **Swainsoniana**: *S. anisochila* Vis. & Pancic (Lenherr and Mabry, 1987).

Η ουσία **10** [ακτεοσίδης] έχει αναφερθεί στα είδη:

S. lanata Crantz. [sectio **Eriostomum**] (Murata *et al.*, 2008),

S. recta L. [sectio **Olisia**] (Karioti *et al.*, 2010),

S. sieboldii Miq. [άγνωστο sectio] (Nishimura *et al.*, 1991),

S. schtschegleevii Sosn. ex Grossh. [sectio **Amblesia**] (Nazemiyeh *et al.*, 2006),

S. macrantha (K. Koch) Stearn [sectio **Betonica**] (Çalis *et al.*, 1992),

S. officinalis (L.) Trevisan [sectio **Betonica**] (Miyase *et al.*, 1996),

S. byzantina K. Koch. [sectio **Eriostomum**] (Asnaashari *et al.*, 2010).

S. lavandulifolia Vahl. [sectio **Zietenia**] (Delazar *et al.*, 2011, Tundis *et al.*, 2015).

S. tymphaea Hausskn. [sectio **Eriostomum**] (Venditti *et al.*, 2014).

S. alopecuros (L.) Benth. subsp. *divulsa* (Ten.) Grande [sectio **Betonica**] (Venditti *et al.*, 2013a).

S. germanica L. subsp. *salviifolia* (Zen.) Gams [sectio **Eriostomum**] (Venditti *et al.*, 2013b)

S. affinis Bunge [sectio **Stachys**] (Venditti *et al.*, 2017)

Τέλος, η ουσία **11** [χλωρογενικό οξύ] έχει απομονωθεί από τα είδη: *S. recta* L. [sectio **Olisia**] (Karioti *et al.*, 2010), *S. alpina* [sectio **Eriostomum**], *S. officinalis* [sectio **Betonica**], *S. salvifolia* [sectio **Campanistrum**], *S. sylvatica* και *S. palustris* [sectio **Stachys**] (Vundač *et al.*, 2005).

Το χημικό προφίλ του *S. candida* Bory & Chaubard (sectio *Candida*) συγκρίθηκε με αυτό των άλλων ελληνικών ειδών, που έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής:

S. chrysantha Boiss. & Heildr. (Skaltsa *et al.*, 2000- sectio Candida)

S. tetragona Boiss. & Heldr. (Αφουξενίδη, 2012-sectio Olisia)

S. spinosa L. (Kotsos *et al.*, 2001, Kotsos *et al.*, 2007- sectio Olisia),

τα τέσσερα υποείδη του γένους *Stachys swainsonii* Benth., που ανήκουν στο sectio *Swainsoniana* Bhattacharjee (Skaltsa *et al.*, 2007), ήτοι:

- *S. swainsonii* Benth. ssp. *swainsonii*,
- *S. swainsonii* Benth.ssp. *scyronica* (Boiss.) Phitos et Damboldt,
- *S. swainsonii* Benth. ssp. *melangavica* D. Perss.,
- *S. swainsonii* Benth. ssp. *argolica*. (Boiss.) Phitos et Damboldt

καθώς και το είδος *S. ionica* Halácsy (Meremeti *et al.*, 2004), που επίσης ανήκει στο sectio *Swainsoniana* Bhattacharjee.

Διαπιστώθηκαν τα ακόλουθα:

Το είδος *S. candida* Bory & Chaubard βιοσυνθέτει παράγωγα ισοσκουτελλαρεΐνης, όπως το *S. chrysantha* Boiss. & Heildr. και το *S. ionica* Halácsy, ενώ τα υπόλοιπα μελετημένα ενδημικά είδη που ανήκουν στο sectio *Swainsoniana* και στο sectio *Olisia* έχουν παράγωγα χρυσοεριόλης. Επίσης το είδος που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία έχει παρόμοιο χημικό προφίλ, ως προς τα φλαβονοειδή, με το είδος *S. ionica* Halácsy αν και ανήκουν σε διαφορετικά sectiones. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα παράγωγα ισοσκουτελλαρεΐνης και τα παράγωγα χρυσοεριόλης θεωρούνται σημαντικοί χημειοταξινομικοί δείκτες για το γένος *Stachys* L. (Tundis *et al.*, 2014).

Ο ακτεοσίδης που ανήκει στην χημική ομάδα των φαινυλοαιθανοειδών γλυκοσιδών, είναι ευρέως διαδεδομένος στην οικογένεια *Lamiaceae* και απαντάται σε αρκετά είδη του γένους *Stachys* L., που ανήκουν σε διάφορα sectiones. Τέλος, καθώς το χλωρογενικό οξύ αποτελεί έναν από τους πιο κοινούς εστέρες του κινικού και του καφεϊκού οξέος, έχει βρεθεί και στην οικογένεια *Lamiaceae* σε κάποια είδη του γένους *Stachys* L. είτε ως βασικό συστατικό, είτε σε μικρότερες ποσότητες.

Στα πειράματα βιοδραστικότητας διερευνήθηκε η πιθανή παρεμποδιστική δράση των μεθανολικών εκχυλισμάτων των ειδών *S. candida*, *S. iva* και των κλασμάτων STAW-H και STAW-GL στον πολλαπλασιασμό δύο φυτοπαθογόνων βακτηρίων, των *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν ότι το είδος *S. candida* ασκεί τη μεγαλύτερη παρεμποδιστική δράση στην ανάπτυξη του Gram-θετικού βακτηρίου *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* με ένα μέσο ποσοστό της τάξης του 48.6%.

Στ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abdel-Sattar, E., Harraz, F. M., El Gayed, S.H., 2008. Antimicrobial Activity of Extracts of some Plants Collected from the Kingdom of Saudi Arabia. *JKAU: Med. Sci.*, **15**, (1), 25-33.

Abou El-Hamd, H. M., Naglaa, S. M., 2014. A new trans-neoclerodane diterpene from *Stachys aegyptiaca*. *Natural Product Research*, **28**, (1), 30–34.

Afshar, F. H., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Khodaie, L., Moghaddam, S. B., 2015. Phenolic Derivatives of *Artemisia Spicigera* C. Koch Growing in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **14**, (4), 1241-1246.

Ahmad, U., Arshad, S., Bader, S., Ahmed, A., Iqbal, S., Tareen, R., 2006. New phenethyl alcohol glycosides from *Stachys parviflora*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **8**, 105–111.

Alavi, F., Sani, A. M., Yavarmanesh, M., Yaghooti, F., 2015. Antibacterial activity of different extracts from *Stachys turcomanica* aerial parts on typical food-borne pathogens. *International Journal of Advanced Life Sciences*, **8**, (4), 416-423.

Albach, D. C., Grayer, R. J., Jensen, S. R., Ozgokce, F., Veitch, N. C., 2003. Acylated flavone glycosides from *Veronica*. *Phytochemistry*, **64**, 1295–1301.

Amin, G., 1991. *Popular medicinal plants of Iran*, Iranian Research Institute of Medicinal Plants. Tehran, p.80.

André, J., 1956. *Lexique des termes de botanique en latin. Etudes et commentaires*. Librairie C. Klincksieck, Paris, p. 79.

Asghari, G., Akbari, M., Asadi-Samani, M., 2017. Phytochemical analysis of some plants from Lamiaceae family frequently used in folk medicine in Aligudarz region of Lorestan province. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **21**, (3), 506-514.

Askun, T., Tumen, G., Satil, F., Modanlioglu, S., Yalcin, O., 2012. Antimycobacterial Activity Some Different Lamiaceae Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds. *Understanding Tuberculosis – New Approaches to Fighting Against Drug Resistance*, chapter **14**, 309-336.

Asnaashari, S., Delazer, A., Seyed Alipour, S., Nahar, L., Williams, A.S., Pasdran, A., Mojarab, M., Fathi Azad, F., Sarker, S.D., 2010. Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial part of *Stachys byzantina*. *Archive of*

Biological Science, **62**, 653-662.

Bahraminejad, S., Abbasi, S., Fazlali, M., 2011. In vitro antifungal activity of 63 Iranian plant species against three different plant pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, Vol. **10**, (72), 16193-16201.

Başaran, A. A., Çalış F., 1988. Lavandulifolioside: A New Phenylpropanoid Glycoside from *Stachys lavandulifolia*. *Helvetica Chimica Acta*, **71**, 1483-1490.

Berendes, J. (Ed.), 1970. *Des Pedianos Dioskurides aus Anazarbos Arzneimittellehre*. Stuttgart 1902, ανατύπωση Dr. Martin Sandig, Wiesbaden, p. 335.

Bhattacharjee, R., 1980. Taxonomic studies in *Stachys* II. A new infragenic classification of *Stachys* L. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh*, **38**, p. 65.

Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Garrity, G.M., 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed., vol. **2**, parts A, B and C, Springer-Verlag, New York, NY, pp. 372-373.

Çalis, I., Basaran, A., A., Saracoglu, C., Sticher, O., 1992. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from *Stachys macrantha*. *Phytochemistry*, **31**, 167-169.

Carnoy, A., 1959. *Dictionnaire étymologique des noms grecs de plantes*. Bibliothèque du Muséon, Louvain, p. 70.

Chari, V. M., Grayer-Barkmeijer, R. J., Harborne, J. B., Osterdahl, B., 1981. An acylated allose-containing 8-hydroxyflavone glycoside from *Veronica filiformis*. *Phytochemistry*, **20**, (8), 1977-1979.

Chen, H. J., Chung, C. P., Chiang, W., Lin, Y. L., 2011. Anti-inflammatory effects and chemical study of a flavonoid-enriched fraction from adlay bran. *Food Chemistry*, **126**, 1741-1748.

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.

Cooksey, D.A., 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **28**, 201-219.

Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., Heinrich, M., 2014. *Hibiscus*

- sabdariffa* L.- A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, **165**, 424-443.
- De Almeida, A. P., Miranda, M. M. F. S., Simoni, I. C., Wigg, M. D., Lagrota, M. H. C., Costa, S. S., 1998. Flavonol Monoglycosides Isolated from the Antiviral Fractions of *Persea Americana* (Lauraceae) Leaf Infusion. *Phytotherapy Research*, **12**, 562-567.
- Delazar, A., Celik, S., Gokturk, R. S., Unal, O., Nahar, L., Sarker, S. D., 2005. Two acylated flavonoid glycosides from *Stachys bombycina*, and their free radical scavenging activity. *Pharmazie*, **60**, 878–880.
- Delazar, A., Delnavazi, M.R., Nahar, L., Moghadam, S.B., Mojarab, M., Gupta, A., Williams, A.S., Rahman, M.M., Sarker, S.D., 2011. Lavandulifolioside B: a new phenylethanoid glycoside from the aerial parts of *Stachys lavandulifolia* Vahl. *Natural Product Research*, **25**, (1), 8–16.
- Demirtas, I., Gecibesler, I.H., Yaglioglu, A.S., 2013. Antiproliferative activities of isolated flavone glycosides and fatty acids from *Stachys byzantina*. *Phytochemistry Letters*, **6**, (2), 209-214.
- Derkach, A. I., Komissarenko, N. F., Gordienko, V. G., Sheremet, I. P., Kovalem, I. P., Pakaln, D. A., 1980. Flavonoids from *Stachys spectabilis*. *Khim. Prir. Soedin*, **2**, 172. [CA: **93**, 110557 (1980)].
- Derkach, A.I., Komissarenko, N.F., Pakaln, D.A., 1987. Iridoids from some *Stachys* L. species. *Rast. Nye Resursy* **23**, 92-95 [CA: 106, 192778m].
- Digrak, M., Alma, M. H., İlçim, A., 2001. Antibacterial and Antifungal Activities of Turkish Medicinal Plants. *Pharmaceutical Biology*, **39**, (5), 346-350.
- Duke, A. J., 1986. *Handbook of medicinal herbs*. CRC, p. 457.
- Dulger, B., Ugurlu, E., Aki, C., Suerdem, T. B., Camdeviren, A., Tazeler, G., 2005. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Sideritis* and *Stachys* Species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, **43**, (3), 270-274.
- Dulger, G., Aki, C., 2009. Antimicrobial Activity of the Leaves of Endemic *Stachys pseudopinardii* in Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **8**, (4), 371-375.
- El-Ansari, M. A., Barron, D., Abdalla M. F., Saleh, N. A. M., Le Quéré J. L., 1991. Flavonoid

Constituents of *Stachys aegyptiaca*. *Phytochemistry*, **30**, 1169-1173.

El-Ansari, M.A., Nawwar, M.A., Saleh, N.A.M., 1995. Stachysetin, a diapigenin-7-glucoside-*p*, *p'*-dihydroxy-truxinate from *Stachys aegyptiaca*. *Phytochemistry*, **40**, 1543-1548.

El-Desoky, S. K Hawas, W.U., Sharaf, M., 2007. A new flavone glycoside from *Stachys aegyptiaca*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43**, 5, 542-543.

Fahani, N., Javidnia, K., Bahmani, M., Amirghofran, Z., 2008. Calycopterin, an Immunoinhibitory Compound from the Extract of *Dracocephalum kotschyi*. *Phytotherapy Research*, **22**, 1154-1158.

Faidi, K., Hammami, S., Salem, A. B., El Mokni, R. Garrab, M., Mastouri, M., Gorcii, M., Ayedi, M. T., Tagliatalata-Scafati, O., Mighri, Z., 2014. Polyphenol derivatives from bioactive butanol phase of the Tunisian narrow-leaved asphodel (*Asphodelus tenuifolius* Cav., Asphodelaceae). *Journal of Medicinal Plant Research*, **8**, (14), 550-557.

Farimani, M.M., Nazarianpoor, E., Rustaie, A., Akhbari, M., 2016. Phytochemical constituents and biological activities of *Cleome iberica* DC., *Natural Product Research*, **31**, (11), 1329-1332.

Ferhat, M., Erol, E., Beladjila, K.A., Cetintas, Y., Duru, M.E., Ozturk, M., Kabouche, A., Kabouche, Z., 2016. Antioxidant, anticholinesterase and antibacterial activities of *Stachys guyoniana* and *Mentha aquatica*. *Pharmaceutical Biology*, **55**, (1), 324–329.

Fooladvand, Z., Fazeli-nasab, B., 2014. Antibacterial activities of *Stachys lavandulifolia* Vahl. extract against eight bacteria. *Journal of Herbal Drugs*, **5**, (1), 13-18.

Fournier, P., 1948. *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Ed. Lechevalier P., Paris, Tome I, p. 319.

Gruenwald, J., Brendleer, T., Jaenicke, T., *et al.*, 2000. *PDR for herbal Medicines*, Medical Economics Company, Montvale, p.832.

Guenther, R. T., 1959. *The Greek herbal of Dioscorides*. Hafner Publishing Co., New York, p. 339.

- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sedighifar, S., 2006. Analgesic and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic, polyphenolic and boiled extracts of *Stachys lavandulifolia*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, **2**, 92-98.
- Halfon, B., Cifci, E., Topcu, G., 2013. Flavonoid constituents of *Sideritis caesarea*. *Turkish Journal of Chemistry*, **37**, 464- 472.
- Harada, S., Tsujita, T., Ono, A., Miyagi, K., Mori, T., Tokuyama, S., 2015. *Stachys sieboldii* (Labiatae, Chorogi) protects against Learning and Memory dysfunction associated with ischemic brain injury. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **61**, 167-174.
- Hartwell, L. J., 1982. *Plants used against cancer. A survey*. Quarterman Publications Inc., Massachusetts, p. 274.
- Hartwig, U. A., Maxwell, C. A., Joseph, C. M., Phillips, D. A., 1990. Chrysoeriol and Luteolin Released from Alfalfa Seeds Induce nod Genes in *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiol.*, **92**, 116-122.
- Háznagy-Radnai, E., Czige, Sz., Máthe, I., 2007. Analysis of the essential oil of downy woundwort (*Stachys germanica* L.), *Acta Facultis Pharmaceuticae Universitatis Comeniae*, LIV, 78-82.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A., 1998. *Preperative Chromatographique Techniques: Application in Natural Product Isolation*. Sptinger-Verlag, Berlin.
- Insunza, V., Aballay, E., Macaya, J., 2001. *In Vitro* nematocidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum sensu lato*. *Nematropica*, **31**, (1), 47-54.
- Jeker, A., Sticher, O., Çalis, I., Ruedi, P., 1989. Allobetonicoside and 6-O-acetylmiosporoside: two new iridoid glycosides from *Betonica officinalis* L. *Helv. Chim. Acta*, **72**, 8, 1787.
- Jiménez, C., Riguera, R., 1994. Phenylethanoid Glycosides in Plants: Structure and Biological Activity. *Natural Product Reports*, 591-606.
- Jung, H. A., Park, J. C., Chung, Y. H., Kim, J., Choi, J. S., 1999. Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. *Archives of Pharmacal Research* **22**, (2), 213-218.

- Karioti, A., Bolognesi, L., Vincieri, F. F., Bilia A. R., 2010. Analysis of the constituents of aqueous preparations of *Stachys recta* by HPLC–DAD and HPLC–ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **53**, 15–23.
- Kartsev, V.G., Stepanichenko, N.N., Auelbekov, S.A., 1994. Chemical composition and Pharmacological properties of plants of the genus *Stachys*. *Chemistry of Natural Compounds*, **30**, (6), 645-654.
- Kepekci, R.A., Polat, S., Coskun, G., Celik, A., Bozkurt, A.S., Yumrutas, O., Pehlivan, M., 2016. Preliminary characterization of phenolic acid composition and hepatoprotective effect of *Stachys pumila*. *Journal of Food Biochemistry*, **41**, (2). doi: 10.1111/jfbc 12286.
- Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A., Oveisi, M.R., 2009. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. *African Journal of Biotechnology*, **8**, (6), 1143-1147.
- Khanavi, M., Sharifzadeh, M., Hadjiakhoondi, A., Shafiee, A., 2005. Phytochemical investigation and anti-inflammatory activity of aerial parts of *Stachys byzanthina* C. Koch. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**, 463–468.
- Kirmizibekmez, H., Ariburnu, E., Masullo, M., Festa, M., Capasso, A., Yesilada, E., Piacente S., 2012. Iridoid, phenylethanoid and flavonoid glycosides from *Sideritis trojana*. *Fitoterapia*, **83**, 130–136.
- Kobzar, A. Ya. and Nikonov, G. K., 1986. Flavonoids from the aerial parts of *Betonica officinalis*. *Khim. Prir. Soedin.* **5**. [CA: **106**, 135240f (1987)].
- Komissarenko, N. F., Derkach, A. I., Sheremet, I. P., Kovalev, I. P., Gordienko, V. G., Pakaln, D. A., 1978. Flavonoids of *Stachys inflata*. *Khim. Prir. Soedin*, **4**, 521. [CA: **89**, 211933 (1978)].
- Komissarenko, N. F., Sheremet, I. P., Derkach, A. I., Pakaln, D. A., 1976. Stachyflaside from *Stachys inflata* and *St. atherocalyx*. *Khim. Prir. Soedin*, **1**, 98. [CA: **85**, 59562 (1976)].
- Kostyuchenko, O. I., Komissarenko, N. F., Kovalev, I. P., Derkach, A. I., Gordienko, V. G., 1982a. Acetylspectabiflaside from *Stachys atherocalyx*. *Khim. Prir. Soedin*, **2**, 187-9. [Chem. Abst., **97**, 123925 (1982)].

Kostyuchenko, O. I., Komissarenko, N. F., Zinchenko, T.V., Derkach, A. I., Gordienko, V.G., 1982b. Diacetylisolostachyflaside and acetylisolostachyflaside from *Stachys atherocalyx*. *Khim. Prir. Soedin*, **2**, 254-255. [CA: **97**, 159179 (1982b)].

Kotsos, M. P., Aligiannis, N., Mitakou, S., 2007. A new flavonoid diglycoside and triterpenoids from *Stachys spinosa* (Lamiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, **35**, 381-385.

Kotsos, M. P., Aligiannis, N., Skaltsounis, A. L., Mitakou, S., 2001. Chemistry of Plants from Crete: Stachyspinoside, a new flavonoid glycoside and iridoids from *Stachys spinosa*. *Nat. Prod. Lett.*, **15** (6), 377-386.

Kumar, D., Ali Bhat, Z., 2014. Apigenin 7-glucoside from *Stachys tibetica* Vatke and its anxiolytic effect in rats. *Phytomedicine*, **21**, 1010-1014.

Kursat, M., Erecevit, P., 2009. The Antimicrobial Activities of Methanolic Extracts of Some Lamiaceae Members Collected from Turkey. *Turkish Journal of Science & Technology*, **4**, (1), 81-85.

Laggoune, S., Brouard, I., Leon, F., Calliste C.A., Duroux, I. J., Bermejo, J., Kabouche, Z., Kabouche, A., 2011. Lignans and an Abundant flavone glycoside with Free-Radical Scavenging Activity from the Roots of the Endemic Species *Stachys mialhesi* de Noé. *Records of Natural Products*, **5**, 238-241.

Laggoune, S., Zeghib, A., Kabouche, A., Kabouche, Z., Maklad, Y.A., Leon, F., Brouard, I., Bermejo, J., Calliste, C.A., Duroux, J.L., 2016 (available on line 2011). Components and antioxidant, anti-inflammatory, anti-ulcer and antinociceptive activities of the endemic species *Stachys mialhesi* de Noe'. *Arabian Journal of Chemistry*, **9**, S191–197.

Lakhal, H., Boudiar, T., Kabouche, A., Laggoune, S., Kabouche, Z., Topcu, G., 2011. Antioxidant activity and flavonoids of *Stachys ocymastrum*. *Chemistry of Natural Compounds*, **46**, (6), 964-965.

Lazarevic, J.S., Palic, R.M., Radulovic, N.S., Ristic, N.R., Stojanovic, G.S., 2010. Chemical composition and screening of the antimicrobial and antioxidative activity of extracts of *Stachys* species. *Journal of the Serbian Chemical Society*, **75**, (10), 1347–1359.

Lenherr, A., Lahloub, M. F., Sticher, O., 1984a. Three flavonoid glucosides containing acetylated allose from *Stachys recta*. *Phytochemistry*, **23**, 2343-2345.

- Lenherr, A., Lahloub, M. F., Sticher, O., 1984b. Modern HPLC as a Tool for Chemotaxonomical Investigations: Iridoid Glucosides and Acetylated Flavonoids in the Group of *Stachys recta*. *Planta Med.*, **50**, 403-409.
- Lenherr, A., Mabry, T. J., 1987. Acetylated allose-containing flavonoid glucosides from *Stachys anisochila*. *Phytochemistry*, **26**, 1185-1188.
- Liang, N., Xue, W., Kennepohl, P., Kitts, D. D., 2016. Interactions between major chlorogenic acid isomers and chemical changes in coffee brew that affect antioxidant activities. *Food Chemistry*, **213**, 251-259.
- Litvinenko, V. I. and Aronova, B. N., 1968. Phenolic compounds of *Betonica foliosa*. *Khim. Prir. Soedin*, **4**, 319. [CA: **70**, 75084 (1969)].
- Lotfipour, F., Nazemiyeh, H., Fathi-Azad, F., Garaei, N., Arami, S., Talat, S., Sadegpour, F., Hasanpour, R., 2008. Evaluation of antibacterial activities of some medicinal plants from North-West Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **11**, (2), 80-85.
- Luczaj, L.J., Svanberg, I., Kohler, P., 2011. Marsh woundwort, *Stachys palustris* L. (Lamiaceae): an overlooked food plant. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **58**, 783–793.
- Mabberley, D. J., 1997. *The Plant-Book*, Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne (2nd edition).
- Mabry, T. G., Markham, K. R., Thomas, M. B., 1970. *The systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Mahdavi, S., Mehmannaavaz, Y., Taheri, M., 2014. Antibacterial activity of different extracts from the aerial parts and roots of *Stachys lavandulifolia* Vahl. harvested at two stages of growth. *Journal of Herbal Drugs*, **5**, (1), 7-12.
- Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyeh, H., Nilfouroushan, N., Eftekhar Sadat, AT., Allameh, Z., Hasannia, N., 2001. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. *J Ethnopharmacol*, **75** (2-3), 213-218.
- Marin, P., Grayer, R., Grujic-Jovanovic, S., Kite, G., Veitch, N., 2004. Glycosides of tricetin methyl ethers as chemosystematic markers in stachys subgenus *Betonica*. *Phytochemistry*, **65**, 1247-1253.

- Mears, J. A. and Mabry, T. J., 1972. A procedure for the UV detection of hydroxyl and methoxyl groups at C6 in flavones and 3-O-substituted flavonols. *Phytochemistry*, **11**, 411.
- Meremeti, A., Karioti, A., Skaltsa, H., Heilmann, J., Sticher, O., 2004. Secondary metabolites from the aerial parts of *Stachys ionica*, a Greek endemic species. *Biochemical Systematics & Ecology*, 139-151.
- Miyase, T., Ueno, A., Kitani, T., Kobayashi, H., Kawahara, Y., Yamahara, J., 1990. Studies on *Stachys sieboldii* Miq. I. Isolation and structures of new glycosides. *Yagugaku Zasshi* **110**, 652-657. [CA 114: 78651]
- Miyase, T., Yamamoto, R., Ueno, A., 1996. Phenylethanoid glycosides from *Stachys officinalis*. *Phytochemistry*, **43**, 475-479.
- Moldenke, H. N. & Moldenke, A. L., 1952. Plants of the Bible. The Ronald Press Company, New York, p. 70.
- Mükemre, M., Behçet, L., Çakılcıoğlu, U., 2015. Ethnobotanical study on medicinal plants in villages of Çatak (Van-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **166**, 361–374.
- Mulas, M., 2006. Traditional Uses of *Labiatae* in the Mediterranean Area. *Acta Horticulturae*, **723**, 25-32.
- Muñoz, O., Peña, C., R., Montenegro, G., 2001. Iridoids from *Stachys grandidentata* (Labiatae). *Z. Naturforsch*, **56c**, 902-903.
- Murata, T., Endo, Y., Miyase, T., Yoshizaki, F., 2008. Iridoid Glycoside Constituents of *Stachys lanata*, *Journal Natural Products*, **71**, 1768–1770.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Saeed Mohammadi Motamed, S.M., Ghorbani, A., 2005. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **2**, 63-79.
- Nazemiyeh H., Shoeb M., Movahhedini N., Kumarasamy Y., Talebpour A., Delazar A., Lutfun N., Sarker S., 2006. Phenolic compounds and their glycosides from *Stachys schtscheglevii* (Lamiaceae), *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**, 721-723.

- Neu, R., 1957. Chelate von Diarylborsäuren mit aliphatischen oxyalkylaminen als reagenzien für den nachweis von oxyphenyl-benzo- γ -pyronen, *Die Naturwissenschaften*, **44**, 181-182.
- Nishimura, H., Sasaki, H., Inagaki, N., Chin, M., (CHEN ZHENGXIONG), Mitsushashi, H., 1991. Nine phenethyl alcohol glycosides from *Stachys sziboldii*. *Phytochemistry*, **30**, 3, 965-969.
- Nostro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M.A., 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, **30**, 379-384.
- Persson, D., 1981. Biosystematics of *Stachys swainsonii* Benth. (Lamiaceae) and its relations to some other chasmophytic *Stachys* species. *Ph.D. thesis*. University of Lund, Sweden.
- Pirbalouti, A.G., Koohpyeh, A., 2011. Wound Healing Activity of Extracts of *Malva sylvestris* and *Stachys lavandulifolia*. *International Journal of Biology*, Vol. **3**, (1), 174-179.
- Plevljakusic, D., Savikin, K., Jankovic, T., Zdunic, G., Ristic, M., Godjevac, D., Konic-Ristic, A., 2011. Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *raeseri*. *Food Chemistry*, **124**, 226-233.
- Rabbani, M., Sajjadi, S.E., Zarei, H.R., 2003. Anxiolytic effects of *Stachys lavandulifolia* Vahl on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**, 271–276.
- Rodriguez, E., Vander Velde, G., Mabry, T. J., Sankara Subramanian, S., Nair, A. G. R., 1972. The structure of calycopterin. *Phytochemistry*, **11**, 2311-2312.
- Rodriguez-Lyon, M. L., Diaz-Lanza, A. M., Bernabe, M., Villaescusa-Castillo, L., 2000. Flavone glycosides containing acetylated sugars from *Sideritis hyssopifolia*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **38**, 684-687.
- Ruiu, S., Anzani, N., Orrù, A., Floris, C., Caboni, P., Alcaro, S., Maccioni, E., Distinto, S., Cottiglia, F., 2015. Methoxyflavones from *Stachys glutinosa* with Binding Affinity to Opioid Receptors: In Silico, in Vitro, and in Vivo Studies. *Journal of Natural Products*, **78**, (1), 69-76.

- Rustaiyan, A., Masoudi, S., Ameri, N., Samiee, K., Monfared, A., 2006. Volatile Constituents of *Ballota aucheri* Boiss., *Stachys benthamiana* Boiss. and *Perovskia abrotanoides* Karel. Growing Wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, **18**, 218-221.
- Saeedi, M., Morteza-Semnani, K., Mahdavi, M.R., Rahimi, F., 2008. Antimicrobial studies on extracts of four species of *Stachys*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **70**, (3), 403-406.
- Şahin, F. P., Ezer, N., Çalis, I., 2006. Terpenic and Phenolic Compounds from *Sideritis stricta*. *Turk J Chem.* **30**, 495-504.
- Sakakibara, A. & Mabry, T. J., 1977. A UV procedure for distinguishing 5-hydroxyl-6-methoxyl from 5,6-dihydroxyl systems in flavones and 3-O-substituted flavonols. *Rev. Latinoam. Quim.*, **8**, 99.
- Sarac, N., Ugur, A., 2007. Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences*, **4**, 28-37.
- Saracoglu, I., Harput, U. S., Ogihara, Y., 2004. Acylated Flavone Glycosides from *Veronica pectinata* var. *glandulosa* and *V. persica*. *Turkish Journal of Chemistry*, **28**, 751-759.
- Sarkhail, P., Monsef- Esfehiani, H. R., Amin, G., Salehi Surmaghi, M. H., Shafiee, A., 2006. Phytochemical study of *Phlomis olivieri* Benth. and *Phlomis persica* Boiss. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **14**, (3), 115-121.
- Schwaiger, S., Seger, C., Wiesbauer, B., Schneider, P., Ellmerer, E., Sturm, S., Stuppner, H., 2006. Development of an HPLC-PAD-MS Assay for the Identification and Quantification of Major Phenolic Edelweiss (*Leontopodium alpinum* Cass.) Constituents. *Phytochemical Analysis*, **17**, 291-298.
- Sharaf, M., 1998. Isoscutellarein 8-O-(6''-*trans-p*-coumaroyl)- β -D-glucoside from *Stachys aegyptiaca*. *Fitoterapia*, **69**, 355-357.
- Sheremet, I. P., Komissarenko, N. F., 1971. Flavonoid glucosides of *Stachys annua*. *Khim. Prir. Soedin*, **5**, 583. [CA: **76**, 59966 (1972)].
- Shu, Z., Xing, N., Wang, Q., Li, X., Xu, B., Li, Z., Kuang, H., 2016. Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of *Physalis Alkekengi* var. *franchetii* and Its Main Constituents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, A. doi:10.1155/2016/4359394.

- Silva, D.A., Chaves, M.C.O., Costa, D.A., De Moraes, M.R.R., Da Nobrega, F.B.P., De Souza, M.F.V., 2005. Flavonoids from *Herissantia tiubae*. *Pharmaceutical Biology*, **43**, (3), 197–200.
- Skaltsa, H. D., Demetzos, C., Lazari, D., Sokovic, M., 2003. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. *Phytochemistry*, **64**, 743-752.
- Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Chinou, I. B., Loukis, A. E., 1999. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Stachys candida* and *S. chrysantha* from Southern Greece. *Planta Medica*, **65**, 255-256.
- Skaltsa, H., Bermejo, P., Lazari, D., Silvan, A.-M., Skaltsounis, A.-L., Sanz, A., Abad, M. J., 2000. Inhibition of prostaglandin E₂ and leukotriene C₄ in mouse peritoneal macrophages and thromboxane B₂ production in human platelets by flavonoids from *Stachys chrysantha* and *Stachys candida*. *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 47-53.
- Skaltsa, H., Georgakopoulos, P., Lazari, D., Karioti, A., Heilmann, J., Sticher, O., Constantinidis, Th., 2007. Flavonoids as chemotaxonomic markers in the polymorphic *stachys swainsonii* (Lamiaceae). *Biochemical systematics and ecology*, **35**, 317-320.
- Stahl, E., 1969. *Thin-Layer Chromatography* (Berlin-Heidelberg-N. York). p. 904.
- Stanoeva, J. P., Bagashovska, D., Stefova, M., 2012. Characterization of urinary bioactive phenolic metabolites excreted after consumption of a cup of mountain tea (*Sideritis scardica*) using liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **31**, (2), 229-243.
- Taghikhani, A., Afrough, H., Ansari-Samani, R., Shahinfard, N., Rafi eian-Kopaei, M., 2014. Assessing the toxic effects of hydroalcoholic extract of *Stachys lavandulifolia* Vahl on rat's liver. *Bratisl Lek Listy*, **115**, (3), 121 – 124.
- Takeda, Y., Fujita, T., Satoh, T., Kakegawa, H., 1985. On the glucosidic constituents of *Stachys sieboldi* Miq. and their effects on hyaluronidase activity. *Yakugaku Zasshi*, **105**, 955-9. [CA: **104**, 74872 (1986)].
- Takeda, Y., Zhang, H., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E., Yesilada, E., Sun, H., 1997. Megastigmane glucosides from *Stachys byzantina*. *Phytochemistry*, **44**, 1335-1337.

- Teixeira Duarte, M.C., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Garcia Rehder, V.L., Delarmelina, C., 2005. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**, 305–311.
- Tomás, F., Nieto, J. L., Barberan, F. A. T., Ferreres, F., 1986. Flavonoids from *Phlomis lichnitys*. *Phytochemistry*, **25**, (5), 1253-1254.
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Ferreres, F., Tomás-Lorente, F., 1992. Flavonoid *p*-coumaroylglucosides and 8-hydroxyflavone allosylglucosides in some Labiatae. *Phytochemistry*, **31**, 3097-3102.
- Tundis, R., Bonesi, M., Pugliese, A., Nadjafi, F., Menichini, F., Loizzo, M.R., 2015. Tyrosinase, Acetyl- and Butyryl-Cholinesterase Inhibitory Activity of *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae) and Its Major Constituents. *Records of Natural Products*, **9**, (1), 81-93.
- Tundis, R., Peruzzi, L., Menichini, F., 2014. Phytochemical and biological studies of *Stachys* species in relation to chemotaxonomy: A review. *Phytochemistry*, **102**, 7-39.
- Ulubelen, A., Topcu, G., Kolak, U., 2005. Labiatae flavonoids and their bioactivity. *Studies in Natural Products Chemistry*, **30**, 233-302.
- Valiakos, E., Marselos, M., Sakellaridis, N., Constantinidis, Th., Skaltsa, H., 2015. Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the “Antidotes” in Nikolaos Myrepsos' Dynameron. *Journal of Ethnopharmacology*, **163**, 68–82.
- Valiakos, E., Marselos, M., Sakellaridis, N., Constantinidis, Th., Skaltsa, H., 2017. Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the “Elements Alpha to Delta” in Nikolaos Myrepsos' Dynameron. Part II. *Journal of Ethnopharmacology*, **205**, 246-260.
- Venditti, A., Bianco, A., Nicoletti, M., Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Vitali, L.A., Petrelli, D., Papa, F., Vittori, S., Lucarini, D., Bini, L.M., Giuliani, C., Maggi, F., 2013a. Phytochemical analysis, biological evaluation and 2 micromorphological study of *Stachys alopecuros* (L.) Benth. subsp. *divulsa* (Ten.) Grande endemic to central Apennines, Italy. *Fitoterapia*, **90**, 94-103.

- Venditti, A., Serrilli, A. M., Di Cecco, M., Ciaschetti, G., Andrisano, T., Bianco, A., 2013b. Phytochemical composition of polar fraction of *Stachys germanica* L. subsp. *salviifolia* (Ten.) Gams, a typical plant of Majella National Park. *Natural Product Research*, **27** (2), 190-193.
- Venditti, A., Bianco, A., Nicoletti, M., Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Vitali, L.A., Papa, F., Vittori, S., Petrelli, D., Bini, L.M., Giuliani, C., Maggi, F., 2014. Characterization of Secondary Metabolites, Biological Activity and Glandular Trichomes of *Stachys tymphaea* Hausskn. from the Monti Sibillini National Park (Central Apennines, Italy). *Chemistry & Biodiversity*, **11**, 245-261.
- Venditti, A., Bianco, A., Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Damiano, S., Papa, F., Vittori, S., Bini, L.M., Giuliani, C., Lucarini, D., Maggi, F., 2015. Phytochemical Analysis, Biological Activity, and Secretary Structures of *Stachys annua* (L.) L. subsp. *annua* (Lamiaceae) from Central Italy. *Chemistry & Biodiversity*, **12**, 1172-1183.
- Venditti, A., Frezza, C., Celona, D., Bianco, A., Serafini, M., Cianfaglione, K., Fiorini, D., Ferraro, S., Maggi, F., Lizzi, A.R., Celenza, G., 2017. Polar constituents, protection against reactive oxygen species, and nutritional value of Chinese artichoke (*Stachys affinis* Bunge). *Food Chemistry*, **221**, 473–481.
- Voirin, B., 1983. A UV spectral differentiation of the 5-hydroxy- and 5-hydroxy-3-methoxyflavones with mono-(4), di-(3,4) or tri-(3,4,5)-substituted B rings. *Phytochemistry*, **22**, (10), 2107.
- Vundać, V. B., Maleš, Ž, Plazibat, M., Golja, P., Cetina-Čižmek, B., 2005. HPTLC Determination of Flavonoids and Phenolic Acids in Some Croatian *Stachys* Taxa. *Journal of Planar Chromatography*, Vol. **18**, 269-273.
- Wellmann, M. (Ed.). 1958. Pedanii Dioscuridis Anazarbei, *De Materia Medica* **III 106** (118:1), **V 72** (36,9). Berlin.
- Whitman, W.B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M.E., Ludwig, W. & Suzuki, K., 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. **5**, parts A and B, Springer-Verlag, New York, NY, p. 877-883.
- Wimmer Fr. (Ed.), 1866. Theophrasti Eresii, *Opera quae supersunt omnia*. Paris.

Yasar, S., Sagdic, O., Kisioglu, A.N., 2005. *In vitro* antibacterial effects of single or combined plant extracts. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, **3**, (1), 39-43.

Zhang, B., Yang, R., Liu, C., 2008. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb. *Separation and Purification Technology*, **62**, 480-483.

Zinchenko, T. V., 1970. Flavonoids of *Stachys neglecta*. *Farm. Zh*, **25**, 81. [CA: **74**, 28804 (1971)].

Zinchenko, T. V., 1970. Phenolic compounds of *Stachys palustris*. *Khim. Prir. Soedin*, **6**, 266. [CA: **73**, 63195v (1970)].

Αφουξενίδη, Α., 2012. Φυτοχημική Μελέτη: *Stachys tetragona* Boiss. & Heldr. Lamiaceae Μ.Δ.Ε., Ε.Κ.Π.Α.

Γεννάδιος Π., 1914. *Λεξικόν Φυτολογικόν*, Αθήνα, σελ. 912.

Καββάδας, Δ., 1956. *Εικονογραφημένον Βοτανικόν - Φυτολογικόν Λεξικόν*. Τόμος Η', Τεύχος 119. Αθήνα, σελ. 3784.

Παναγόπουλος, Γ. Χ., 2007. *Ασθένειες Καρποφόρων Δενδρων & Αμπέλου*, Εκδόσεις Σταμούλη, Δ' έκδοση, Αθήνα, 447-455.

Κατσικογιάννης, Γ., 2003. *Επίδραση των μυκητοκτόνων δραστικών ουσιών: azoxystrobin, captan, fenarimol, folpet, metalaxyl-M, penconazole, propineb, spiroxamine, tebuconazole, triadimefon και triadimenol, στην αύξηση ενός στελέχους της ζύμης οиноποίησης Saccharomyces cerevisiae ph.v. bayanus*, Μ.Δ.Ε. Γ.Π.Α. 101-108.

Τζάμος, Κ. Ε., 2007. *Φυτοπαθολογία*, Εκδόσεις Σταμούλη, Β' έκδοση, Αθήνα, 277, 528-529.

Φωτογραφίες φυτικού υλικού από : <http://www.greekflora.gr/el/flowers/0671/Stachys-candida>