



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Φυτοχημική ανάλυση - Βιολογικές δράσεις σπερμάτων του
ενδημικού φυτού *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud.



Βηθλέμ Κ. Κλώντζα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2021

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ ΚΑΙ ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Φυτοχημική ανάλυση - Βιολογικές δράσεις σπερμάτων του ενδημικού
φυτού *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

της

Βηθλεέμ Κ. Κλώντζα

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπουσα: Ι.Β. Χήνου, Καθηγήτρια Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ

Μέλη: Ο. Γκορτζή, Καθ. Γεωπονίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ν. Αληγιάννης, Αναπλ. Καθ. Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας, που διεξήχθη στο Τμήμα της Φαρμακευτικής, στον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων της Σχολής Υγείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ), θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνησή της.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κα Ιωάννα Χήνου, που με δέχτηκε στην επιστημονική της ομάδα και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε εξ' αρχής, αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα. Την ευχαριστώ για την επιστημονική της καθοδήγηση, τις υποδείξεις και το αμείωτο ενδιαφέρον της από την αρχή μέχρι το τέλος της μελέτης.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Καθ., κα Ο. Γκορτζή (Χημεία Τροφίμων, Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας) και τον Αναπλ. Καθ. κ Ν. Αληγιάννη (Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ), που δέχτηκαν να αξιολογήσουν την παρούσα μελέτη, ως μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Επιπλέον, ευχαριστώ ιδιαίτερα τη Δρα κα Κωνσταντία Γκραϊκού για την συνεχή παρακολούθηση και πολύτιμη καθοδήγηση της, σε όλη τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης τον Αναπλ Καθ κ Π. Μαγιάτη για τη καθοριστική βοήθεια του στην ποσοτική μελέτη των δευτερογενών μεταβολιτών με τη χρήση NMR,

καθώς και την μεταδιδάκτορα ερευνήτρια κα Αργυρώ Βοντζαλίδου για την πραγματοποίηση του ελέγχου μέρους των βιολογικών δράσεων του φυτού.

Επιπλέον, ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στους φαρμακοποιούς κους Κυριάκο και Βασίλη Κασάπη για την συλλογή του φυτικού υλικού και ειδικότερα του Βασίλη όπου ουσιαστικά συνέχισα τη προπτυχιακή του έρευνα στο φυτό που μελετήθηκε.

Ακόμη, θα ήθελα να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ την υποψήφια διδάκτορα κα Ελισάβετ-Φωτεινή Βαρβούνη για την συμπαράσταση και την αμέτρητη βοήθεια της καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας.

Ένα ευχαριστώ επίσης και στους δικούς μου κοντινούς ανθρώπους για το κουράγιο και την ψυχική υποστήριξη τους.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη, στη μητέρα μου Μαρία Κλώντζα για όλη την αγάπη, τη στήριξη και την κατανόησή της, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
Σκοπός μελέτης.....	5
1.Θεωρητικό μέρος.....	6
1.1 Εισαγωγή	6
1.2 Δρογοετυμολογία	6
1.3 Δρογοϊστορία.....	7
1.4 Δρογοβοτανική	12
1.5 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	13
1.6 Γεωγραφική κατανομή	15
1.7 Ελληνικές παιώνιες.....	15
1.7.1 <i>Raeonia. clusii</i> subsp. <i>rhodia</i> (Stearn) Tzanoud	19
1.8 Δρογοχημεία.....	21
1.8.1 Χημικές ενώσεις που έχουν απομονωθεί από σπέρματα του γένους <i>Raeonia</i>	21
1.8.2 Στιλβένια και παράγωγα Ρεσβερατρόλης	46
1.9 Δρογοφαρμακολογία.....	51
1.9.1 Παραδοσιακές δράσεις των ριζών.....	52
1.9.2 Φαρμακολογικές δράσεις ειδών <i>Raeonia</i>	53
1.9.1 Φαρμακολογικές δράσεις παιωνιφλορίνης.....	58
1.10 Εμπορικά σκευάσματα με παιώνια	61
2 Πειραματικό μέρος	63
2.1 Όργανα & Τεχνικές Εκχύλισης, Διαχωρισμού και Απομόνωσης Δευτερογενών Μεταβολιτών ..	63
2.1.1 Εκχύλιση φυτικού υλικού	63
2.1.2 Συμπύκνωση υπό κενό	63
2.1.3 Χρωματογραφικές τεχνικές	63
2.1.4 Όργανα &Τεχνικές Ταυτοποίησης Φυσικών Προϊόντων	64
2.2 Αποτελέσματα φυτοχημικών μελετών	66
2.2.1 Συλλογή δειγμάτων	66
2.2.2 Εκχυλίσεις φυτικών υλικών	66
2.2.3 Ανάλυση μεθανολικού εκχυλίσματος μαύρων σπερμάτων	67
2.2.4 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων κόκκινων σπερμάτων	111
2.2.5 Ποσοτικοποίηση με φασματοσκοπία NMR (quantitative NMR)	119
3. Βιολογικές μελέτες.....	123
3.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Total Phenolic Content–TPC	123
3.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυσικών συστατικών (μέθοδος DPPH)	124
3.3 Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης	125
3.4 Αποτελέσματα βιολογικών μελετών	127
3.4.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Total Phenolic Content–TPC.....	127

3.4.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυσικών συστατικών (μέθοδος DPPH).....	127
3.4.3 Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης	128
4. Συζήτηση- Συμπεράσματα.....	130
5. Βιβλιογραφία.....	132

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε φυτοχημικά το ενδημικό Ελληνικό υποείδος *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. της οικογένειας *Raeoniaceae* που δεν έχει μελετηθεί προηγούμενα, με στόχο την απομόνωση και τον προσδιορισμό της δομής των δευτερογενών μεταβολιτών του. Ειδικότερα, μελετήθηκαν τα σπέρματα της παραπάνω παιώνιας, που διακρίνονται σε δύο είδη: τα αναπαραγωγικώς γόνιμα **μαύρα** σπέρματα και τα **κόκκινα** άγονα σπέρματα.

Τα σπέρματα του φυτού συλλέχθηκαν στο όρος Προφήτης Ηλίας στην Ρόδο, την Άνοιξη του 2019.

Αρχικά στο θεωρητικό μέρος αναπτύσσεται η βιβλιογραφική ανασκόπηση της ιστορίας της παιώνιας, των βοτανικών χαρακτήρων και της δρογοχημείας της με ιδιαίτερη έμφαση στη δρογοχημεία των σπερμάτων. Επιπλέον, παρουσιάζονται οι παιώνιες που αυτοφύονται στην Ελλάδα καθώς και οι φαρμακολογικές δράσεις διαφόρων ειδών παιώνιας.

Το πειραματικό μέρος περιλαμβάνει τις διαδικασίες απομόνωσης και τον καθορισμό δομής των δευτερογενών μεταβολιτών, μέσω χρωματογραφικών και φασματοσκοπικών μεθόδων που περιγράφονται στο γενικό πειραματικό μέρος.

Ειδικότερα, από το μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων απομονώθηκαν και προσδιορίστηκαν οι δομές επτά (7) φαινολικών παραγώγων: *trans*-ρεσβερατρόλη, γνετίνη Η, βινιφερίνη, 4'-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της *trans*-ρεσβερατρόλης, λουτεολίνη, 3'-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης και 3',4'-δι-*O*-β-D γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης και ενός μονοτερπενικού γλυκοσίδη (παιωνιφλορίνη), ενώ από το μεθανολικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων απομονώθηκαν οι μεταβολίτες παιωνιφλορίνη και βενζοϊκό οξύ.

Επίσης έγινε ανίχνευση συνολικά 19 πτητικών συστατικών στα κόκκινα σπέρματα με τη μέθοδο GC-MS και HS-SPME, καθώς και ποσοτικοποίηση με τη μέθοδο qHNMR της περιεχόμενης γνετίνης Η στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων και της περιεχόμενης παιωνιφλορίνης στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων του μελετώμενου υποείδους *Paeonia*.

Τέλος στο μεθανολικό εκχύλισμα και των δύο ειδών σπερμάτων προσδιορίστηκαν τα ολικά φαινολικά με τη μέθοδο Folin-Cioalteau, όπου την υψηλότερη περιεκτικότητα εμφάνισαν τα μαύρα σπέρματα.

Τα ίδια εκχυλίσματα καθώς και απομονωμένες ουσίες (*trans*-ρεσβερατρόλη, γνετίνη Η, βινιφερίνη, 4'-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της *trans*-ρεσβερατρόλης, λουτεολίνη και παιωνιφλορίνη) υποβλήθηκαν σε έλεγχο αντιοξειδωτικής δράσης (DPPH) όπου τα κόκκινα σπέρματα εμφάνισαν μέτρια αναστολή σε σχέση με την πρότυπη ένωση gallic acid, ενώ η λουτεολίνη χαρακτηρίστηκε ως ισχυρός αντιοξειδωτικός παράγοντας. Επίσης, έγινε έλεγχος και *in vitro* ικανότητας αναστολής του ενζύμου της τυροσινάσης των δύο εκχυλισμάτων καθώς και των απομονωμένων ενώσεων (γνετίνη Η, βινιφερίνη, 4'-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της *trans*-ρεσβερατρόλης), με τα μαύρα σπέρματα να εμφανίζουν ικανοποιητική ανασταλτική δράση ενώ είναι αξιοσημείωτο, ότι η γνετίνη Η και η βινιφερίνη εμφάνισαν ισχυρότατη αναστολή του ενζύμου, ισχυρότερη και από εκείνη του πρότυπου αναστολέα Kojic acid.

ABSTRACT

In the context of the present master's thesis, the Greek endemic subspecies *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. of the family Paeoniaceae, has been studied, towards its chemical profile. To the best of our knowledge, this is the first report of phytochemical study of this subspecies. In particular, two different types of peony seeds were studied: the black fertile seeds, responsible for reproduction of the plant, and the red infertile ones.

The seeds of the plant were collected at Mount Prophet Elias in the island of Rhodes where is endemic, in spring of 2019.

In the first part, the theoretical part, is cited the literature review of the history of the peony, its botanical characteristics as well as the chemistry of previously isolated or detected secondary metabolites, with special emphasis on the chemistry of the seeds. In addition, the Greek peonies are presented along with the pharmacological actions of various species of peony and their bioactive constituents.

In the experimental part the isolation procedures as well as structural determination of all secondary metabolites are cited.

Conclusively, seven (7) phenolic derivatives have been isolated and structurally determined as: trans-resveratrol, gnetin H, viniferin, trans-resveratrol-4'-*O*- β -D-glucopyranoside, luteolin, luteolin 3'-*O*- β -D-glucopyranoside and luteolin 3',4'-di-*O*- β -D-glucopyranoside from the methanolic extract of black seeds along with one monoterpene glycoside (paeoniflorin), while from the methanolic extract of red seeds paeoniflorin and benzoic acid) respectively.

A total of 19 volatile components in the red seeds were also detected by the GC-MS and HS-SPME methods, as well as the quantification by the qHNMR method of the gnetin H content in the total methanolic extract of the black seeds and the paeoniflorin content in the total methanolic extract of the red seeds.

Finally, in the methanolic extract of both types of seeds, the total phenolic profile was determined by the Folin-Cioalteau method, where the highest content was detected in black seeds. The same extracts as well as isolated substances (trans-resveratrol, gnetin H, viniferin, trans-resveratrol-4'-*O*- β -D-glucopyranoside, luteolin and paeoniflorin) were tested for antioxidant activity (DPPH) where the red seeds showed moderate inhibition compared to the standard compound gallic acid whereas component luteolin was characterized as a strong antioxidant. Also, the *in vitro* ability of the two extracts and isolated components (gnetin H, viniferin and trans-resveratrol-4'-*O*- β -D-glucopyranoside) to inhibit the enzyme tyrosinase was tested, where the black seeds exerted moderate inhibitory effect while it is remarkable that gnetin H and viniferin exhibited stronger enzyme inhibition compared with the standard compound Kojic acid.

Σκοπός μελέτης

Η οικογένεια *Raeoniaceae* περιλαμβάνει πολλά φυτικά είδη αποκλειστικά του γένους *Paeonia*, οι ρίζες των οποίων είναι γνωστές ήδη από την αρχαιότητα για τη φαρμακολογική τους δράση. Οι ρίζες, αποτελούν μία από τις σημαντικότερες πηγές φαρμάκου και αξιοποιούνται στην παραδοσιακή κινέζικη ιατρική. Μια πληθώρα μελετών που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα, έχουν οδηγήσει στην ανίχνευση και απομόνωση μεγάλου αριθμού ενώσεων υπεύθυνων για αυτή την βιολογική δράση, αλλά ελάχιστες από αυτές αφορούν ενδημικά είδη της Ελλάδας (Papandreou *et al.*, 2002; Kritsanida *et al.*, 2006; Chaita *et al.*, 2017; Letsiou *et al.*, 2020; Michalea *et al.*, 2020), ενώ **καμία δεν** αναφέρεται ή επικεντρώνεται στα σπέρματα.

Σε συνέχεια των μελετών που αφορούν είδη παιώνιας της ελληνικής χλωρίδας, **διερευνήθηκε για πρώτη φορά το φυτοχημικό προφίλ** των σπερμάτων της *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud, που αποτελεί ενδημικό υποείδος της Ρόδου.

Αναλύθηκαν φυτοχημικά με σκοπό την ανίχνευση, απομόνωση και τον προσδιορισμό της δομής δευτερογενών μεταβολιτών τους. Επίσης, διερευνήθηκαν οι βιολογικές δράσεις τους, αφού προσδιορίστηκαν τα ολικά φαινολικά φορτία, οι αντιοξειδωτικές τους δράσεις καθώς και η *in vitro* ανασταλτική ικανότητα των εκχυλισμάτων καθώς και των εξ αυτών απομονωμένων ενώσεων έναντι του ενζύμου τυροσινάση.

Συμπερασματικά, κύριοι στόχοι της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτέλεσαν η ανίχνευση και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών των υπο μελέτη σπερμάτων (μαύρα γόνιμα και κόκκινα άγωνα σπέρματα) του ενδημικού της Ρόδου υποείδους *Paeonia clusii* subsp. *rhodia*, καθώς και η καταγραφή των αποτελεσμάτων αξιολόγησης επιλεγμένων βιολογικών τους δράσεων.

1.Θεωρητικό μέρος

1.1 Εισαγωγή

Η οικογένεια *Raeoniaceae* περιλαμβάνει ανθοφόρα φυτά που ανήκουν στο γένος *Raeonia* το οποίο αποτελεί και το μοναδικό γένος της οικογένειας. Αρχικά η *Raeonia* είχε ταξινομηθεί το 1753 από τον Κάρολο Λινναίο ως γένος της οικογένειας *Ranunculaceae*. Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες στο γένος επιβεβαίωσαν επαρκή στοιχεία που το κατατάσσουν σε μια ανεξάρτητη οικογένεια. Χημειοταξινομικές μελέτες από τη δεκαετία του 1980 μέχρι σήμερα, έδειξαν ότι τα είδη της οικογένειας *Raeoniaceae* διαφέρουν από τα είδη της οικογένειας *Ranunculaceae*, αλλά έχουν ομοιότητες με εκείνα των οικογενειών *Dilleniaceae*, *Theaceae* και *Rosaceae*.

Φυτοχημικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στη ρίζα 19 ειδών και 6 ποικιλιών του γένους *Raeonia*, έδειξαν ότι η *raeoniflorin* εμφανίζεται σε όλα τα είδη που εξετάστηκαν ενώ δεν έχει βρεθεί σε κανένα άλλο γένος πέρα από αυτό της *Raeonia*. Ως εκ τούτου, η *raeoniflorin* είναι ο χαρακτηριστικός χημειοταξονομικός δείκτης του γένους *Raeonia* και κατ' επέκταση όλης της οικογένειας *Raeoniaceae* (He *et al.*, 2010).

1.2 Δρογοετυμολογία

Η ονομασία του φυτού παιώνια προέρχεται από τον Παίωνα (ή Παιώνα), μαθητή του Ασκληπιού και θεραπευτή των θεών του Ολύμπου όπου με το βότανο αυτό είχε θεραπεύσει τον Άδη και τον Άρη από τραύματα που είχαν προκληθεί από βέλη. Ο Ησίοδος τον χαρακτηρίζει «ός πάντα φάρμακα οίδεν» δηλαδή «αυτός που γνωρίζει όλα τα φάρμακα». Σύμφωνα με το μύθο από την Ιλιάδα του Ομήρου, η Λητώ, η μητέρα του Απόλλωνα και θεά της γονιμότητας, υπέδειξε στον Παίωνα πως να αποκτήσει μια μαγική ρίζα που φύτρωνε στον Όλυμπο, η οποία απάλυνε τον πόνο των γυναικών στη διάρκεια του τοκετού. Ο Ασκληπιός ζήλεψε και αποπειράθηκε να σκοτώσει τον μαθητή του. Ο Δίας για να τον σώσει, τον μετέτρεψε σε ένα πολύ όμορφο λουλούδι, την παιώνια ώστε να μπορεί να συνεχίσει να ανακουφίζει τον πόνο των γυναικών κατά τον τοκετό. Ορισμένες πηγές αναφέρουν ότι οι σπόροι παιώνιας ελήφθησαν από έγκυες γυναίκες στην αρχαία Ελλάδα.

Στην ελληνική θρησκεία και μυθολογία, ο γιατρός Παίωνας και ο θεός Απόλλωνας αφομοιώθηκαν αργότερα σε μια ιδέα, με τον Παίωνα ως εναλλακτικό όνομα για τον Απόλλωνα ο οποίος αποτελεί την ανώτερη βαθμίδα θεραπευτικής δύναμης στη θεϊκή τάξη. «Συ είσαι ο πιο κατάλληλος γιατρός και ο Απόλλωνας Παιάνας τιμά το φως σου», (Πίνδαρου, Πύθιαι Ωδαί, 4 επ. 12). Παιών ή παιάν ήταν και ένας ύμνος προς τιμήν του λυτρωτή Απόλλωνα.

Οι αρχαίοι ονόμαζαν επίσης και τη θεά Αθηνά Παιωνία μιας και αυτήν επικαλούνταν για θεραπεία των διαφόρων ασθενειών τους. Το ίδιο όνομα καθώς και τα Παιήων και Παίων συναντιούνται και ως επίθετα πολλών άλλων θεών και χρησιμοποιούνται με την έννοια της λέξης σωτήρας.

Ο William Turner (1508-1568) στο βιβλίο του *The Names of Herbes* (1548) δήλωσε ότι «*Peonia* is also named in greeke *Glicyside*, it is called in englishe *peony* or *ryony*, in duch *reoniense*, in french *reinoisne* and *riinoine*» Υπάρχουν επίσης αρκετές τοπικές παραλλαγές αυτών των ονομάτων, όπως στα ισπανικά *peronia* and *perguna*, στα καταλανικά *riorna*, *ramralonia* κ.α, στα γερμανικά *Pegunje*, *Pitonirose*, *Bigonje* κ.α που δεν προέρχονται από την ελληνική ονομασία παιώνια ή την λατινική *Raeonia*.

Σχετικά με την ετυμολογία του Παίωνα και της παιώνιας υπάρχουν δύο απόψεις. Η πρώτη είναι ότι προέρχονται από τη λέξη παιάν<παιώ=χτυτώ, "ότε ο Απόλλων εφόρευσε παίσας τον εν Δελφοίς Πύθωνα δράκοντα" και η δεύτερη από πάω, παύω με τη σημασία του καταπαύω τις αρρώστιες ή από το πάω= τρέφω, βοηθώ, άρα Παίων, Παιήων = σωτήρας, βοηθός. Με την έννοια αυτή συναντιέται στην αρχαιότητα και η λέξη Παιάν.

Όσον αφορά το όνομα του είδους *Paeonia clusii* που μελετάται στην παρούσα εργασία αποτελεί φόρο τιμής στον Δανό ιατρό και βοτανολόγο Κάρολο Κλούσιο, που ήταν ο πρώτος που κατέγραψε το 1601 την ύπαρξη μιας παιωνίας με λευκά άνθη στην Κρήτη. (Stearn *et al.*, 2012)

1.3 Δρογοϊστορία

Οι παιώνιες προσέλκυσαν για πρώτη φορά το ανθρώπινο ενδιαφέρον πριν από χιλιάδες χρόνια. Οι πρόγονοι μας τις θεωρούσαν ως σημαντικά φαρμακευτικά φυτά ενώ σήμερα χρησιμοποιούνται κυρίως ως καλλωπιστικά. Η διαδρομή της παιωνίας στην ιστορία αρχίζει με την αναφορά της στον Όμηρο και συνεχίζει μετέπειτα με την φαρμακευτική χρήση του φυτού σε όλο τον αρχαίο κόσμο, στη Ρώμη, στο Βυζάντιο, στην Αναγέννηση και στους νεότερους χρόνους. Οι Κινέζοι θα την ονομάσουν Hoa wang, «βασιλιά όλων των λουλουδιών», ενώ ένας ανώνυμος βουκολικός ποιητής του 3ου μ.Χ. αιώνα την ύμνησε σαν «πασάων βοτανέων βασιληίδα». Παρακάτω ακολουθεί μια σύντομη αναδρομή με αναφορές της παιωνίας ανά τους αιώνες (Stearn *et al.*, 2012).

Ελλάδα

Ο Ιπποκράτης (460 – 377 π.Χ.), στο «Περί φυτών ιστορίας», μεταξύ 234 θεραπευτικών φυτών αναφέρεται στην παιωνία ως το ιδανικό αντισπασμωδικό για την «ιερή νόσο», όπως ονόμαζαν τότε την επιληψία καθώς και για άλλες νευρολογικές παθήσεις.

Ο Θεόφραστος (370 – 288 π.Χ.) στην προσπάθειά του να προστατεύσει το πολύτιμο αυτό φυτό από αλόγιστη εκμετάλλευση, παραθέτει μια πρόληψη σχετικά με την συλλογή της παιωνίας: «νύκτωρ κελεύουσι ορύττειν, εάν γαρ ημέρας και οφθή τις υπό δρυοκολάπτου... κινδυνεύειν τοις οφθαλμοίς...» ότι κινδυνεύουν τα μάτια των συλλεκτών παιωνίας από επίθεση δρυοκολαπτών.

Ο πατέρας της φαρμακευτικής Διοσκουρίδης ο Πεδάνιος (1ος αιώνας μ.Χ.) στο έργο του «Περί ύλης Ιατρικής» (De Materia Medica) παραθέτει την πληρέστερη περιγραφή του φυτού ενώ παράλληλα αναφέρει και μερικές από τις θεραπευτικές του χρήσεις. Αναφέρεται σε διαφορετικά είδη παιωνιών με βάση το φύλλωμα τους χρησιμοποιώντας τους μεταφορικούς όρους: «παιωνία άρρηνη» και «παιωνία θήλεια». Η αρσενική παιωνία είχε φύλλα αντίστοιχα με εκείνα της καρυδιάς, τραχείας υφής, πτεροειδή με διακριτά πλατιά φυλλάρια, ενώ η θηλυκή είχε φύλλα πολυσχιδή αντίστοιχα με εκείνα του φυτού *Smyrniium*.

Στη συνταγή του, οι κόκκινοι σπόροι θεραπεύουν το έλκος του στομαχιού, ενώ οι μαύροι λιωμένοι σε μέλι ή κρασί διώχνουν τον εφιάλτη. Την ξεραμένη ρίζα την χρησιμοποιούσε ως αφέψημα στη μαιευτική, στους πόνους του στομαχιού, στον ίκτερο και στις παθήσεις των νεφρών και της κύστης. Επίσης μια προσθήκη στο έργο του ανέφερε ότι η παιωνία πρέπει να ξεριζώνεται πριν από την ανατολή του ηλίου και ότι είναι αποτελεσματική κατά των δηλητηρίων, της μαγείας, των πυρετών και των επιθέσεων των κακών πνευμάτων. Ο μύθος του φυτού περιπλέχθηκε με τον μύθο του μανδραγόρα και το ξερίζωμά του συνδέθηκε με μια πολύπλοκη ιεροτελεστία. Από έναν νεότερο κώδικα του Διοσκουρίδου (Codex patavinus) διασώθηκε η μοναδική απεικόνιση της παιωνίας του αρχαίου κόσμου.



Εικόνα 1: Απόσπασμα από το «Περί ύλης ιατρικής» του Διοσκουρίδη όπως εμφανίζεται σε εσώφυλλο του τόμου «Παιώνιες στην Ελλάδα» (Stearn et al., 2012)

Ο Νικάνδρος ο Κολοφώνιος (2ος αιώνας π.Χ.), ήταν Έλληνας μαθηματικός, φαρμακοποιός, γεωπόνος, βοτανολόγος, ιατρός και γραμματικός. Στο ποίημα του Θηριακά, περιγράφεται η φύση δηλητηριωδών ζώων και οι επιδράσεις των δηλητηρίων τους, καθώς και τα αντίστοιχα αντίδοτα. Σε αυτό το ποίημα η *Paeonia parnassica* χρησιμοποιείται ως αντίδοτο μετά από το δάγκωμα φιδιού.

Κίνα

Σ' ένα σημείωμα από μπαμπού (πριν εφευρεθεί το χαρτί, το 105 π.Χ. στην Κίνα) γράφτηκε μια ιατρική συνταγή που αφορά τη χρήση της φλούδας από τη ρίζα της παιώνιας, κατά πάσα πιθανότητα ποικιλίας *Paeonia lactiflora* ως αντιπηκτικού παράγοντα. Στα κινέζικα, οι χαρακτήρες τόσο για την «δενδρώδη παιώνια» όσο και για την «πωώδη παιώνια» δείχνουν επίσης ότι αυτά τα φυτά συσχετίστηκαν πρώτα με την ιατρική και τη θεραπεία. Στα κινέζικα, το δέντρο παιώνια είναι «muadan». Αυτή η σύνθετη λέξη αποτελείται από δύο χαρακτήρες. Το πρώτο «mu» αποτελείται από δύο ρίζες, μία που σημαίνει βόδι ή ταύρο, και η άλλη που σημαίνει κάτι της γης ή φτιαγμένο από γη. Ο δεύτερος χαρακτήρας, «dan» αντιπροσωπεύει ένα ιατρικό χάπι. Μπορεί επίσης να σημαίνει το κόκκινο χρώμα ή το ορυκτό κινναβαρίτη. Ο σύνθετος χαρακτήρας για την πωώδη παιώνια, «shao yao» αποκαλύπτει την αρχική ιατρική χρήση του φυτού. Ο πρώτος χαρακτήρας, «shao» αποτελείται από το σύμβολο για τα φυτά πάνω από το εικονόγραμμα για ένα πλήρες κουτάλι ή κουτάλα. Ο δεύτερος χαρακτήρας, «yao» σημαίνει ιατρική, και κυριολεκτικά «τα φυτά που φέρνουν την ευτυχία».

Στη διάρκεια της δυναστείας των Tang (618-907 π.Χ) η παιώνια ήταν το αγαπημένο λουλούδι των Κινέζων αυτοκρατόρων της εποχής και τότε ήταν που η «δενδρώδης παιώνια» αναγορεύεται ως Hua Wang, δηλαδή «βασιλέα όλων των λουλουδιών». Οι ποιητές έγραφαν ποιήματα, οι μουσικοί συνέθεταν τραγούδια, οι καλλιτέχνες ζωγράφιζαν πίνακες και οι συγγραφείς έγραφαν άρθρα για χάρη της. Είναι χαρακτηριστικά τα λόγια ενός ποιητή της εποχής: « Μόνον η παιώνια είναι άξια να αποκαλείται η Ομορφιά της Αυτοκρατορίας.»



Εικόνα 2:"Guo Se Tian Xiang Tu" 国色天香图 (Εθνική ομορφιά και θεϊκό άρωμα). Αποτελεί τον πιο σημαντικό πίνακα παιωνίας στην αρχαία κινεζική ιστορία και σχεδιάστηκε από τον ανώνυμο καλλιτέχνη Ma Yi (ανώνυμος) ο οποίος έζησε κατά τη δυναστεία του Qing (1644-1912) (Ying & Wang, 2018).

Ρώμη

Ο Ρωμαίος συγγραφέας Πλίνιος ο Πρεσβύτερος (1ος αιώνας μ.Χ.) ήταν σύγχρονος του Διοσκουρίδη. Και οι δύο άντλησαν από τις ίδιες παλαιότερες ελληνικές πηγές, ιδιαίτερα από ένα έργο του Sextius Niger του 1ου αιώνα μ.Χ. που δεν έχει διασωθεί σύμφωνα με τον Wellmann. Ο Πλίνιος συμπεριέλαβε στο έργο του την παιώνια δίνοντας, όπως και ο Διοσκουρίδης, τις εναλλακτικές ονομασίες *pentorobon* και *glycyside*. Η περιγραφή που δίνει, κατά την μετάφραση του H. S. Jones (1955), είναι η ακόλουθη: « Το πρώτο φυτό που ανακαλύφθηκε ήταν η παιώνια, η οποία διατηρεί ακόμη το όνομα αυτού που την ανακάλυψε (Παιών). Ορισμένοι την ονομάζουν πεντόροβον, άλλοι γλυκισίδη. Φυτρώνει σε σκιερά μέρη, έχοντας ανάμεσα στα φύλλα έναν βλαστό που φέρει στην κεφαλή του τέσσερις ή πέντε εκφύσεις, αμυγδαλόσχημες, που περιέχουν μεγάλο αριθμό ερυθρών και μαύρων σπερμάτων. Επίσης, αναφέρεται ότι το φυτό προλαμβάνει τις εμπαικτικές παραισθήσεις που οι Φαύνοι φέρνουν στον ύπνο μας. Ακόμη, συνιστάται η συλλογή του φυτού (και των ριζών του) να γίνεται την νύχτα, γιατί αν ο δρυοκολάπτης (*Picus martius*), το πτηνό του θεού Άρη, δει την πράξη, θα επιτεθεί στα μάτια του βοτανολέκτη για να προστατεύσει τη παιώνια». (Nat. Hist. XXV, cap. 10: Loeb Class, Βιβλ. 7:157, 1955).

16^{ος} με 20^{ος} αιώνας

Η πρώτη καταγραφή της παιωνίας σε ελληνικό έδαφος ανήκει στον Γάλλο φυσιολόγο Pierre Belon (1517-1564). Ο Belon περιηγήθηκε την Μέση Ανατολή μεταξύ 1546 και 1549 και το 1553 δημοσίευσε το «Les observations de plusieurs singularitez et choses mémorables

trouvées en Grèce, Asie, Judée, Égypte, Arabie et autres pays estranges», ένα βιβλίο ταξιδιωτικών εντυπώσεων. Είχε επισκεφθεί την Κρήτη τότε υπό την κυριαρχία των Ενετών, παρατήρησε μία παιώνια με λευκά άνθη, χωρίς αμφιβολία το είδος εκείνο που αργότερα έλαβε την ονομασία *Paeonia clusii*.

Ο John Parkinson (1567-1650) στο βιβλίο του «Paradisi in Sole Paradisus terrestris. A Garden of pleasant Flowers » (1629) το οποίο ήταν για μεγάλο χρονικό διάστημα το πιο γνωστό βιβλίο στην αγγλική ανθοκομία κάνει μια περιγραφή της *Paeonia* (σελ.341-344) κάνοντας λόγο για δύο κύρια είδη παιώνιας το αρσενικό και το θηλυκό όπως ο Διοσκουρίδης. Αναφέρει τα εξής: «Το αρσενικό έχει ακέραιο φύλλο, χωρίς ιδιαίτερη διαίρεση, εγκοπή ή οδόντωση στην περιφέρεια και οι ρίζες του είναι μακρές και στρογγυλές και διαιρούνται σε πολλές διακλαδώσεις, κάπως σαν τις ρίζες της γεντιανής ή της ελεκαμπάνης (*Inula helenium*, Asteraceae) και καθόλου κονδυλώδεις. Το θηλυκό είδος όλων των τύπων έχει φύλλα διηρημένα λίγο ή πολύ με εγκοπές στην περιφέρεια και έχει πάντοτε κονδυλώδεις ρίζες, δηλαδή σαν κούτσουρα ή σαν τις ρίζες του ασφόδελου, με πολλά μεγάλα στρογγυλά τμήματα να κρέμονται ή να φυτρώνουν στις άκρες μικρότερων νημάτων και όλα συνδεδεμένα με την κορυφή της κύριας ρίζας».

Κατά τον Κάρολο Λινναίο (1707-1778), όλες οι μορφές παιώνιας που είχαν διακρίνει οι προκάτοχοι του ανήκαν σε ένα είδος που το ονόμασε *Paeonia officinalis* στο βιβλίο του *Species Plantarum* 1:530 (1753), που αποτελεί την απαρχή της σύγχρονης βοτανικής επιστήμης: «limites inter species non reperi, hinc conjunxi» δηλαδή «δεν διαπίστωσα όρια μεταξύ των ειδών, συνεπώς τα συνένωσα». Το προσδιοριστικό όνομα *officinalis* αναφέρεται στη φαρμακευτική τους φήμη. Διατήρησε όμως ο Λινναίος την παραδοσιακή διάκριση μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών παιωνιών που ξεκινούσε από τον Διοσκουρίδη, θεωρώντας τις ως ποικιλίες, με την ονομασία var. α *feminea* και var. β *mascula*. Μεταγενέστεροι συγγραφείς τις διαχώρισαν σε είδη και περιόρισαν την ονομασία είδους *P. officinalis* στην ποικιλία var. α, όπως εικονογραφήθηκε από τον Leonhart Fuchs (1501-1566), στα έργα του *De Historia Stirpium* το 1542 και *New Kreüterbuch*, το 1543.

Ο P. Miller (1691-1771), σύγχρονος αλλά πρεσβύτερος του Λινναίου, είχε μοναδική γνώση των καλλιεργούμενων φυτών, μεγάλο μέρος των οποίων δημοσίευσε σε διαδοχικές εκδόσεις του *Gardeners Dictionary*, από το 1731 έως το 1768. Στην έκτη έκδοση του Dictionary (1752) κατέγραψε δώδεκα είδη παιώνιας. Αγνόησε την άποψη του Λινναίου ότι τα φυτά εκείνα που διέφεραν μεταξύ τους, ως προς τις ρίζες και τα φύλλα, ήταν ποικιλίες του ίδιου είδους, καθώς και πολλές από τις ευρείες έννοιες γενών και ειδών που έρχονταν σε σύγκρουση με τις προσωπικές του παρατηρήσεις και την δική του κρίση. Στην έβδομη έκδοση (1759), η οποία προσφέρει εκτενέστερη περιγραφή του γένους, κατέταξε τις παιώνιες σε έξι είδη, διακρινόμενα με μικρά διαγνωστικά κείμενα. Διατήρησε τα ίδια αυτά έξι είδη και στην όγδοη έκδοση που κυκλοφόρησε το 1768, όταν ήταν ήδη 77 αποδέχτηκε την διωνυμική ονοματολογία του Λινναίου, και τους πρόσθεσε επίθετα είδους, όπως 1) *mascula*, 2) *foemina*, 3) *peregrina*, 4) *hirsute*, 5) *tatarica*, 6) *lusitanica*. Έτσι, καθυστερημένα, ο Miller έγινε ο δημιουργός των ονομάτων που επικράτησαν έως σήμερα: *P. mascula* για την «αρσενική παιώνια», η οποία αργότερα ονομάστηκε από τον Retzius και *P. corallina*, και *P. peregrina* για την βαλκανική παιώνια του Clusius που αργότερα ονομάστηκε από τον George Anderson *P. decora*.

Ο F. W. Sieber (1785-1844) από την Πράγα, ο οποίος το 1817 επισκέφθηκε την Κρήτη για να συλλέξει φυτά, βρήκε τότε την λευκή κρητική παιώνια και από το υλικό του ο συμπατριώτης του I.F. Tausch (1793-1848) την ονόμασε το 1828 *P. cretica*. Ατύχως ο Sabine είχε δημοσιεύσει το 1824 την ονομασία *P. cretica* για μια παιώνια με ροδόχροα άνθη που είχε καλλιεργηθεί στον Βοτανικό Κήπο της Οξφόρδης, που δεν είχε όμως κρητική προέλευση. Εφόσον η κρητική παιώνια στερείτο έγκυρης ονομασίας, ονομάστηκε *P. clusii* προς τιμήν του Κάρολου Κλούσιου.

Η συνεργασία του O. Stapf (1857-1933) με την Royal Horticultural Society και η μοναδική φήμη του ως βοτανικής αυθεντίας για την *Paeonia* οδήγησαν τον Frederick Claude Stern

(1884-1967), έναν εύπορο τραπεζίτη και πρώην αξιωματικό του στρατού που διατηρούσε έναν σπουδαίο κήπο, να του προτείνει να εκδώσουν από κοινού ένα έργο, στο οποίο ο Starf θα συνεισέφερε την ταξινομική αναθεώρηση και ο Stern τις ανθοκομικές σημειώσεις, που θα συνόψιζαν την πείρα που είχε αποκτήσει στην καλλιέργεια παιωνιών από το 1919 στον κήπο του με το ασβεστώδες έδαφος στο Hoghdown κοντά στο Worthing του Sussex στην Αγγλία.

Ο Stern είχε ανακαλύψει ότι οι παιώνιες ευδοκίμουν εκεί και με μεγάλο ενθουσιασμό προμηθεύτηκε όσο το δυνατόν περισσότερα είδη για καλλιέργεια και μελέτη. Στο άρθρο του με τίτλο «*Paemony species*» στο Journal of the Royal Horticultural Society of London 56:71-77 (1931) εξέφρασε την δυσκολία που αντιμετώπιζε σχετικά με την ονοματολογία των ειδών θίγοντας ταυτοχρόνως και τις αντιπαραθέσεις μεταξύ των επιστημόνων σχετικά με τις ονομασίες. Επίσης πρότεινε στους βοτανικούς μία επιστημονική μονογραφία του γένους, μονογραφία που θα είναι εκσυγχρονισμένη και κατανοητή στον ερασιτέχνη κηπουρό. Ανέθεσε στην διάσημη βοτανική ζωγράφο Lilian Snelling (1879-1972), την απεικόνιση εκ του φυσικού των παιωνιών για το βιβλίο αυτό.

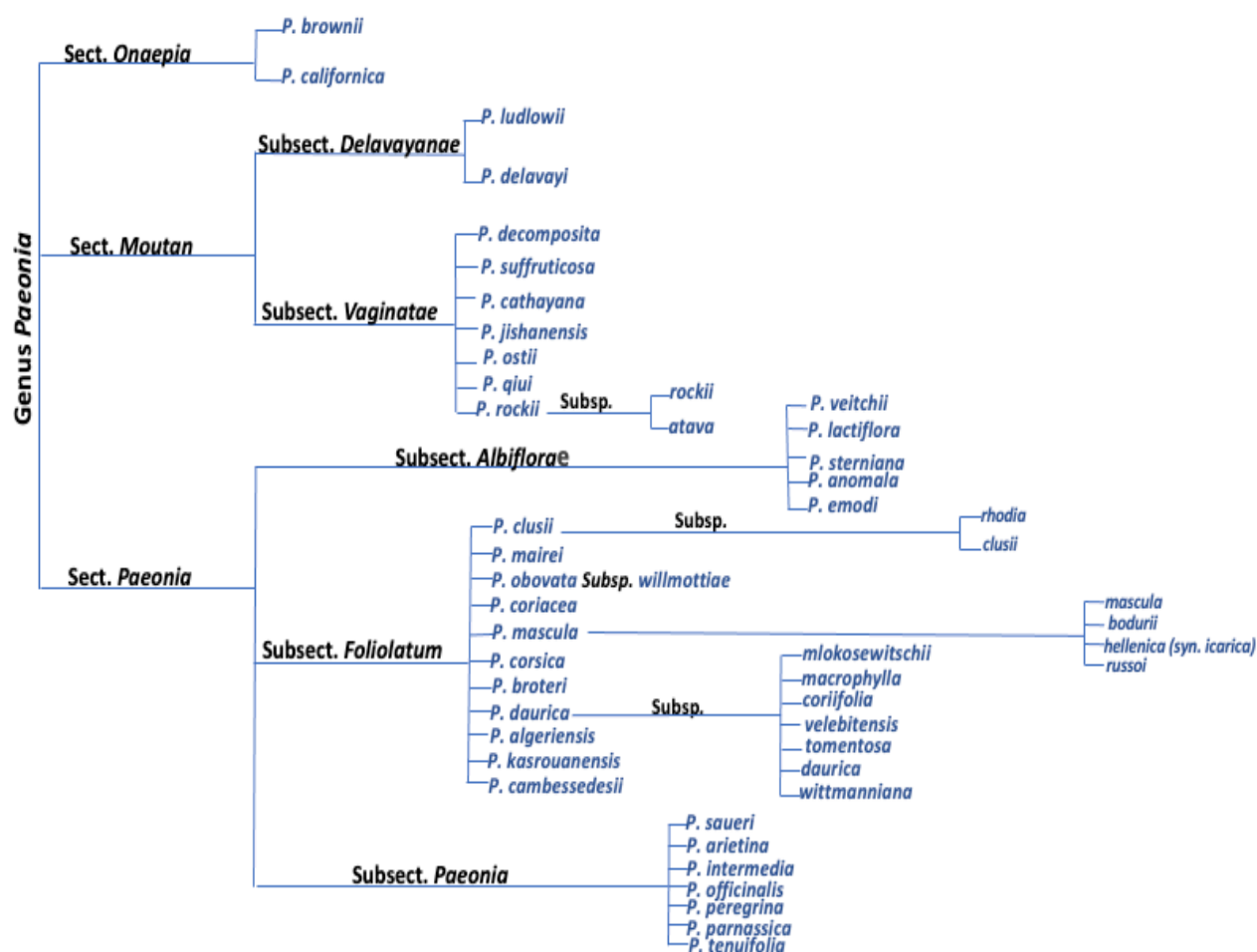
Ο ξαφνικός θάνατος του Starf στις 3 Αυγούστου 1933 στο Innsbruck, οδήγησε τον Stern το 1935 να προτείνει στον βρετανό βοτανολόγο William Thomas Stearn (1911-2001) να ετοιμάσει το βοτανικό κείμενο που θα καθιστούσε δυνατή την ολοκλήρωση του έργου του. Ωστόσο, οι διαφωνίες των δυο σχετικά με την ονομασία διαφόρων ειδών, οδήγησαν σε μία πρόωρη λήξη της συνεργασίας τους. Παρά τα όσα συνέβησαν, ο W. Stearn στο βιβλίο του «Οι Παιώνιες στην Ελλάδα» εκθειάζει τον πρώην συνεργάτη του. Όπως αναφέρει για να τιμήσει την προσφορά του, ο F. Stern είχε την πολύ μεγάλη τύχη να εξασφαλίσει την συνεργασία του J. Robert Sealy, ο οποίος συνέταξε την κλείδα του γένους, έκανε τις περιγραφές, ερεύνησε τη βιβλιογραφία και κατέγραψε σε κατάλογο τα δείγματα της φυτοθήκης (βοτανολογίου) του Kew. Το 1946 η Royal Horticultural Society δημοσίευσε τον εξαιρετο τόμο του Stern A Study of the Genus *Paenonia* με εικονογράφηση της Lilian Snelling και της Stella Ross-Craig. Μία παιώνια, η *P. Sterniana* Fletcher (1959), τιμά με την ονομασία της την συνεισφορά του F. Stern.

Ο Δ. Τζανουδάκης στην διδακτορική του διατριβή «Κυτταροταξινομική Μελέτη του γένους *Paenonia* L. εν Ελλάδι» (1983) μελέτησε κυτταρολογικά 34 πληθυσμούς και τα άτομα του καθενός διακρίθηκαν είτε σε διπλοειδή ($2n=10$) είτε σε τετραπλοειδή ($2n=20$). Στο έργο αυτό, ο Τζανουδάκης περιέγραψε την παιώνια με τα σκούρα ερυθρά άνθη, γνωστή από παλαιότερες αναφορές από τον Παρνασσό, ως νέο είδος *P. parnassica* και τις παιώνιες με τα λευκά άνθη του συμπλέγματος *P. mascula* ως subsp. *hellenica* και subsp. *icarica*. Στον Τζανουδάκη αποδίδεται και η διάκριση της *P. clusii* σε δύο υποείδη subsp. *clusii* και subsp. *rhodia*.

1.4 Δρογοβοτανική

Η οικογένεια Paeoniaceae που ανήκει στην τάξη των Saxifragales αποτελείται μόνο από το γένος *Paeonia* το οποίο κατανέμεται σε τρεις τομείς: *Moutan*, *Onaeria* και *Paeonia*. Υπάρχει μια διαφωνία σχετικά με τον αριθμό των ειδών που κυμαίνονται από 25 έως 40, αν και η πλέον αποδεκτή σύμβαση είναι πως υπάρχουν 33 γνωστά διακριτά είδη.

Η παιωνιφλορίνη αποτελεί τον χημειοταξονομικό δείκτη του γένους ενώ διάκριση των παιωνιών στους τομείς υποστηρίζεται και από χημικά δεδομένα σχετικά με την περιεκτικότητα κάθε είδους σε παιωνόλη και παράγωγα της. Τα ξυλώδη και θαμνώδη είδη παιώνιας του τομέα *Moutan* έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε παιωνόλη και παράγωγα της, ενώ στα ποώδη είδη του τομέα *Paeonia* οι ενώσεις αυτές βρίσκονται σε χαμηλά αλλά ανιχνεύσιμα επίπεδα. Αντίθετα στα ποώδη είδη του τομέα *Onaeria* δεν έχει απομονωθεί η παιωνόλη ή παράγωγα της. Οι τομείς *Onaeria* και *Moutan* περιέχουν μόνο διπλοειδή είδη, ενώ το ένα τρίτο των ειδών στον τομέα *Paeonia* είναι τετραπλοειδή. Στο διάγραμμα που ακολουθεί (Εικ. 3) φαίνονται τα είδη όπως κατανέμονται στους τομείς (<https://www.peonysociety.eu/species/>):



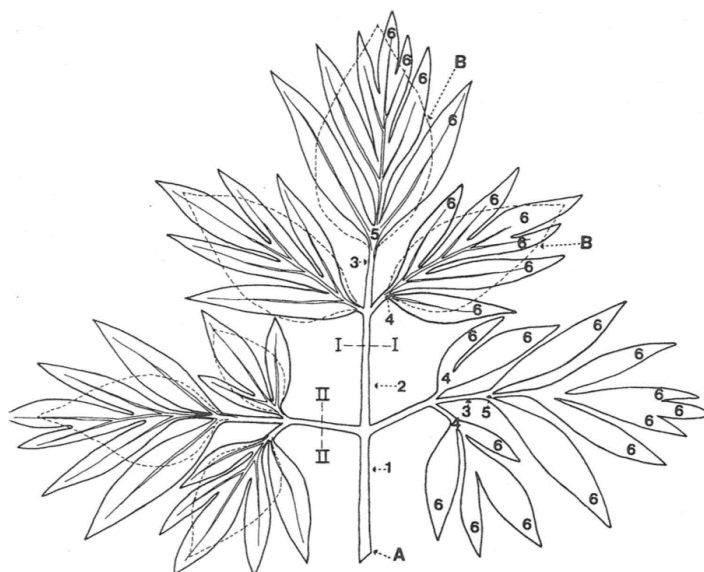
Εικόνα 3: Διαγραμματική απεικόνιση ειδών του γένους *Paeonia*

1.5 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

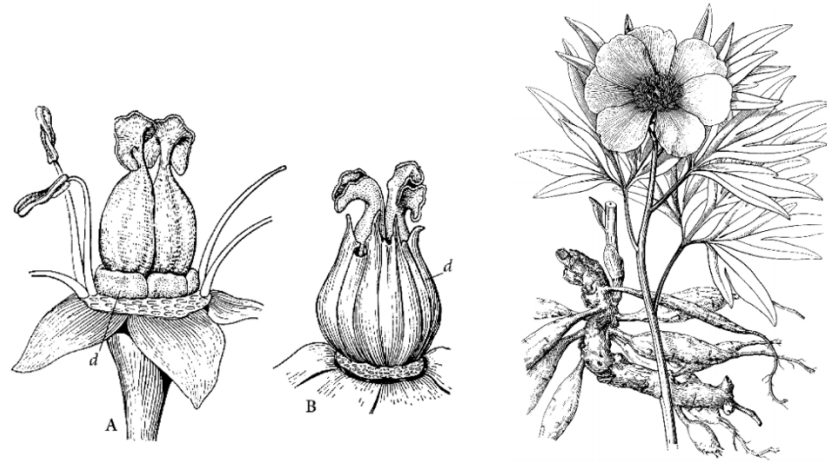
Οι παιώνιες είναι φυλλοβόλα, πολυετή βότανα, θάμνοι με ποώδη ή ξυλώδη στελέχη που μπορεί να φτάσουν και το ύψος των 2 μέτρων. Ανθίζουν την άνοιξη έως αρχές του καλοκαιριού και η καρποφορία διαρκεί από το καλοκαίρι έως το φθινόπωρο. Έχουν ένα υπόγειο παχύ και ανθεκτικό ρίζωμα που χρησιμεύει στην αποθήκευση και λεπτές ρίζες για τη συλλογή νερού και μετάλλων. Ένας λεπτός σχοινοειδής σύνδεσμος ξεκινά από την κύρια ρίζα και βαθμιαία ή απότομα εξελίσσεται σε διογκωμένο σχηματισμό και ξανά στενεύει καταλήγοντας σε ριζικά τριχίδια απ' όπου κρέμονται κόνδυλοι.

Τα φύλλα σύνθετα τρισχιδή ή πτεροσχιδή παράγονται κατ' εναλλαγήν κατά μήκος ενός μακρού κοινού μίσχου, από τον οποίον ξεκινούν τρία πρωτογενή μισχάρια, όπου το καθένα διαιρείται και χωρίζεται περαιτέρω σε τρεις μικρότερους λοβούς δημιουργώντας έτσι 9 τελικά τμήματα, ένα κεντρικό και δύο πλευρικά.. Μερικές φορές μπορεί να σχηματισθεί ένα πιο πολύπλοκο σύνθετο φύλλο όπου πραγματοποιείται μεγαλύτερος αριθμός αρχικών διαιρέσεων συνθέτοντας ένα πολλαπλώς διηρημένο φύλλο όπως στην *P. clusii*, που μπορεί να έχει μέχρι και 80 τελικούς λοβούς.

Τα άνθη είναι ακτινωτά συμμετρικά, αμφιφυλόφιλα και μεγάλα, με 5 σέπαλα, 5 πέταλα (μερικές φορές 10), και έναν απεριόριστα μεγάλο αριθμό από στήμονες (περίπου 140), με λεπτά νημάτια, λευκά, κίτρινα ή ροδόχροα και κίτρινους ανθήρες που ανοίγουν περιφερειακά ελευθερώνοντας άφθονη κίτρινη γύρη. Τα λουλούδια κλείνουν τη νύχτα ή όταν υπάρχει περιορισμένη ηλιοφάνεια.



Εικόνα 4: Φύλλο της *Paeonia clusii* : 1. κοινός μίσχος, 2. πρωτογενές μισχάριο, 3. δευτερογενές μισχάριο, 4. πλευρικό δευτερογενές τμήμα, 5. κεντρικό δευτερογενές τμήμα, 6. τελικός λοβός. I-I περίγραμμα του κεντρικού πρωτογενούς τμήματος, II-II πλευρικό πρωτογενές τμήμα



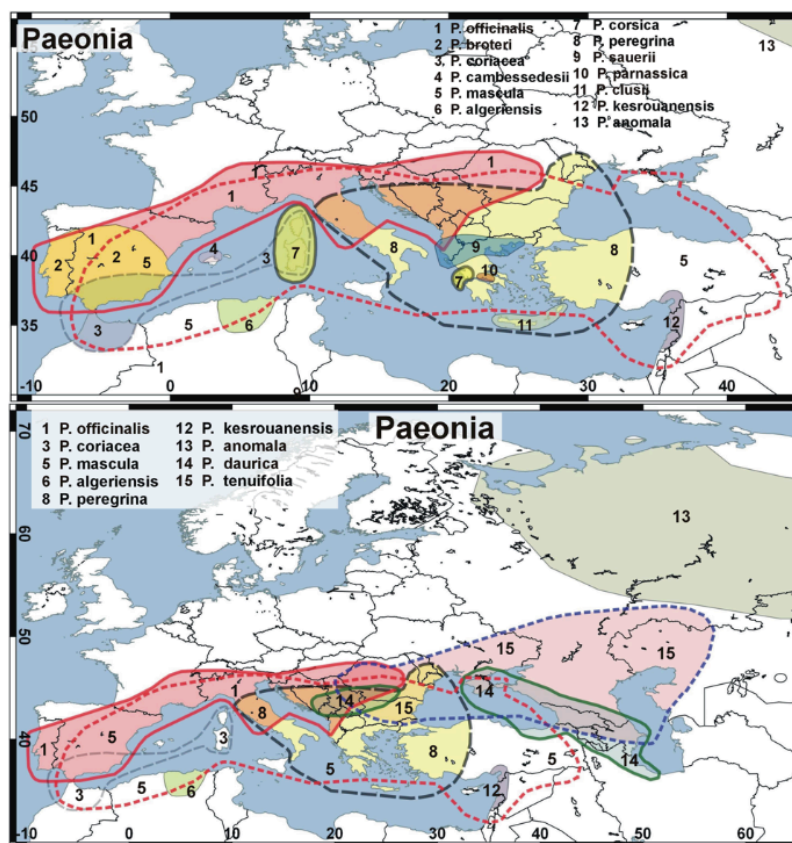
Εικόνα 5: (A) *P. anomala*, άνθος χωρίς πέταλα με αφηρημένους τους στήμονες όπως και στην (B) *P. Suffruticosa* . d=disc. Δεξιά ανθισμένο στέλεχος της *P. intermedia* με το ρίζωμα και τους κονδύλους (Tamura, 2007).

Στους κήπους η γύρη προσελκύει τις μέλισσες που κάνουν σύντομες επισκέψεις και σπάνια ακουμπούν το στίγμα. Στην ύπαιθρο και στους αυτοφυείς πληθυσμούς οι κύριοι επισκέπτες είναι τα μεγάλα κολεόπτερα που αναρριχώνται στους στήμονες γύρω από το στίγμα, τρώγοντας τη γύρη που βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες. Τα άνθη της παιώνιας είναι ειδικά διαμορφωμένα ώστε να επικονιάζονται από κολεόπτερα. Οι γυρεόκοκκοι είναι επιμήκεις, σφαιροειδείς με τρεις στενές εγκολπώσεις που εκτείνονται σχεδόν μέχρι τους πόλους. Η επιφάνειά τους είναι λεπτά δικτυωτή. Το πάχος τους είναι 25 έως 40 χιλιοστά του χιλιοστού.

Οι θύλακες που περιέχουν τα σπέρματα είναι μεγάλοι, πεπλατυσμένοι, συνήθως 2 έως 5 στον αριθμό και περιέχουν ελλειψοειδή ή σχεδόν σφαιρικά σπέρματα με πολύ ενδοσπέρμιο και μικρό φυτικό έμβρυο. Τα γόνιμα σπέρματα είναι μαύρα ή πολύ σκούρα καστανά, σχήματος πολύ ευρέως ελλειψοειδούς. Η επιφάνειά τους είναι στιλπνή και γεμάτη μικροσκοπικά βοθρία σε μεγάλη πυκνότητα. Αντίθετα, τα κόκκινα σπέρματα είναι άγονα. (Tamura, 2007; Stearn *et al.*, 2012)

1.6 Γεωγραφική κατανομή

Τα φυτά που ανήκουν στο γένος *Peaonia* είναι εγγενή στην Ασία, Ευρώπη καθώς και Δυτική Βόρεια Αμερική. Τα διάφορα είδη με την αντίστοιχη γεωγραφική τους εξάπλωση συνοψίζεται στους παγκόσμιους χάρτες.



Εικόνα 6: Γεωγραφική εξάπλωση φυτών γένους *Peaonia* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Peony>)

Συγκεκριμένη, είδη του τομέα *Onearpia* είναι ενδημικά της Βορείου Αμερικής ενώ ο τομέας *Moutan*, απαντάται σε κεντρική και δυτική Κίνα. Τέλος ο τομέας *Peaonia*, εξαπλώνεται στην ανατολική και κεντρική Ασία, στα δυτικά Ιμαλάια και την περιοχή της Μεσογείου (<https://en.wikipedia.org/wiki/Peony>)

1.7 Ελληνικές παιώνιες

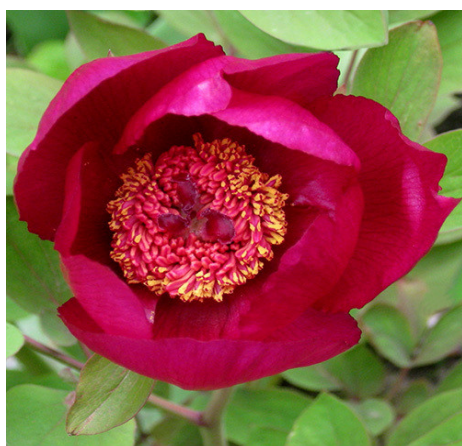
Όσον αφορά τις ελληνικές παιώνιες, αυτές ανήκουν στο Κόκκινο Βιβλίο Δεδομένων των σπάνιων & απειλούμενων φυτών της Ελλάδας, εξαιτίας της συνεχούς εκμετάλλευσης τους κυρίως για καλλωπιστικούς λόγους αλλά και λόγω του μη σωστού τρόπου συλλογής από βοτανικούς.

Είναι ποώδεις και έχουν εντυπωσιακά μεγάλα άνθη με διάμετρο που ξεπερνάει τα 10 εκατοστά, συνήθως κόκκινα, λευκά η ρόδινα. Έχουν ύψος που φτάνει τα 70 με 80 εκατοστά και μεγάλα παλαμοσχιδή φύλλα. Αναπτύσσονται σε ενδιάμεσα ή μεγάλα υψόμετρα και η περίοδος ανθοφορίας τους διαρκεί όλη την άνοιξη. Ξεραίνονται και διαχειμάζουν με μορφή ριζωμάτων και αντέχουν στις καλοκαιρινές θερμοκρασίες χάρη στις σαρκώδεις ρίζες τους.

Στην Ελλάδα υπάρχουν 5 είδη παιώνιας: *P. mascula*, *P. peregrina*, *Paeonia saueri*, *P. parnassica* και *P. clusii*. Τα είδη *P. mascula* και *P. clusii* περιλαμβάνουν και υποείδη, οπότε ο συνολικός αριθμός διαφορετικών Ελληνικών ειδών παιώνιας ανέρχεται στις 10 και αναλύονται παρακάτω (<https://greekflora.gr/el/flowersSearch.aspx>; <https://peonysociety.eu/species/>; <http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/>; Hong *et al.*, 2004 & 2006;). Αναλυτικότερα:

1. *Paeonia mascula* (syn. *P. corallina*)

i) *P. mascula* subsp. *mascula* (L.) Miller.: Το πιο διαδεδομένο είδος στην



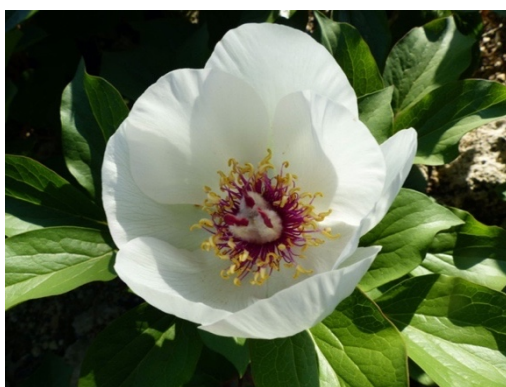
Ελλάδα με μεγάλα και σχεδόν αδιαίρετα τμήματα φύλλων. Η τυπική μορφή έχει άνθη με διάμετρο 9-11 cm και βαθύ ρόδινο (πορφυρό) χρώμα. Τα φύλλα είναι ασυνήθιστα, ευρέως διαιρεμένα, με ανοιχτό πράσινο χρώμα που είναι στενά και τριχωτά από κάτω. Η ρίζα αποτελείται από ένα κεντρικό ρίζωμα κωνικού σχήματος. Εντοπίζεται στην κεντρική Ελλάδα, στα νησιά Λέσβο και Σάμο, στη νότια Εύβοια και στη Βοιωτία.

ii) *P. mascula* subsp. *russoi* (Biv.) Cullen & Heywood (syn. *P. Russo* Biv.): Το



συγκεκριμένο υποείδος έχει ιώδη αχνορόδινα άνθη με πρόωμη άνθιση σε σχέση με τα άλλα είδη, πριν ακόμη το στέλεχος και τα φύλλα έχουν ολοκληρώσει την πλήρη ανάπτυξή τους. Είναι φυτό των νησιών της κεντρικής Μεσογείου που φθάνει στο δυτικό τμήμα της Ελλάδας και συναντάται σε νησιά του Ιονίου όπως η Λευκάδα, η Κεφαλονιά και η Ζάκυνθος. Εντοπίζεται επίσης και σε βουνά της Ακαρνανίας.

iii) *P. mascula* subsp. *hellenica* Tzanoud. (syn. *P. mascula* subsp. *icarica*



Tzanoud.) Ένα σχετικά πρόσφατα ταξινομημένο υποείδος που χαρακτηρίζεται από τα μεγάλα λευκά άνθη του. Τα φύλλα είναι μεγάλα και αδιαίρετα και τα άνθη μπορούν να υπερβούν τα 15 cm σε διάμετρο. Συναντάται στη Άνδρο, Αττική, Εύβοια και στο όρος Ταΰγétου. Φύεται σε υψόμετρα 400-1.300 μ. και ανθίζει από τα μέσα Απριλίου, ανάλογα με το υψόμετρο.

2. *P. peregrina* Miller. (syn. *P. decora* G. Anderson.): Γνωστή και ως παιώνια της



βόρειας Ελλάδας. Τα φύλλα της είναι παλαμοειδώς πολυσχιδή με λογχοειδή τμήματα και τρίχες κατά μήκος της κύριας φλέβας. Τα άνθη είναι μεσαίου μεγέθους (8-12 cm) και κυρίως με έντονο βαθύ ερυθρό χρώμα. Εντοπίζεται στα όρη της περιοχής του Έβρου, στο Παγγαίο καθώς και σε άλλα όρη στη Θάσο, Δυτική Μακεδονία και Ήπειρο, Φθιώτιδα και Λευκάδα.

3. *Paeonia saueri* Hong D. Y., Wang X. Q. et Zhang D. M.:



Ένα νέο αλλά αρκετά κοντινό είδος στην *P. peregrina*, διαφέρει στο φύλλωμα (οδοντωτά σε *P. peregrina*) και στα κόκκινα στίγματα (κίτρινα σε *P. peregrina*). Αναπτύσσεται συνήθως κοντά σε ορεινές κορυφές, σε φυλλοβόλα δάση, στις άκρες των δασών ή σε ξέφωτα, σε ασβεστόλιθους ή γρανίτες, σε υψόμετρο 460-1.220 m. Είναι τετραπλοειδής φυτά με χαρακτηριστικές κονδυλώδεις ρίζες. Έχει κόκκινα άνθη με πέταλα μήκους 5,0-5,5 cm και πλάτους 3,2-4,0 cm και κίτρινους ανθήρες. Εντοπίζεται στην στη Βόρειο Ανατολική

Ελλάδα. (Hong *et al.*, 2004)

4. *Paeonia corsica* Sieber ex Tausch: Το συγκεκριμένο είδος παιώνιας χαρακτηρίζεται



από ελάχιστες τρίχες στο μίσχο και τα πέταλα του, τα οποία έχουν ένα ανοιχτό αχνορόδινο (ροζ) χρώμα. Έχει γκριζες έως καστανές ρίζες σε σχήμα καρότου, διαμέτρου περίπου 2 cm. Εντοπίζεται στη Λευκάδα, τη Κεφαλλονιά και τα υπόλοιπα νησιά του Ιονίου καθώς και τη Δυτική Στερεά Ελλάδα (Hong *et al.*, 2006).

5. *Paeonia parnassica* Tzanoud.: Η ιδιαίτερη



μαύρη-κόκκινη παιωνία του όρους Παρνασσός. Έχει χαρακτηριστικά μελανοπόρφυρα, ισχυρώς κοίλα άνθη. Διαφέρει από τα άλλα είδη όχι μόνο από το βαθύ χρωματισμό των ανθέων αλλά και από την παρουσία πυκνών τριχών στο στέλεχος και στα φύλλα. Είναι ενδημικό φυτό που εντοπίζεται μόνο στα όρη Παρνασσός και Ελικώνας, στα άκρα και στα ανοίγματα των ελατοδασών ή σε ασβεστόλιθους και σε υψόμετρο 800-1.300 m.

6. *Paeonia daurica* subsp. *daurica* (Hong De-Yuan) (syn. *P. mascula* subsp. *triternata* (Boiss.) Stearn & P.H. Davis)



Στο υποείδος αυτό ο βλαστός φτάνει έως και τα 70 cm και τα φύλλα είναι ευρύσημα ωοειδή με στρογγυλεμένη έως αμβλεία άκρη, άτριχα ή με ελάχιστες τρίχες. Τα πέταλα είναι αχνορόδινου (ροζ) χρώματος αλλά μερικά φυτά έχουν κόκκινα λουλούδια. Εντοπίζεται στη Κεντρική και Δυτική Μακεδονία, καθώς και στη Θράκη.

7. *Paeonia clusii*

i) *P. clusii* subsp. *clusii* Stearn. (syn. *P. cretica* Sab.): Η γνωστή παιωνία της



Κρήτης και της Κάρπαθου, που οι ντόπιοι ονομάζουν «πηγουνιά», με άρωμα γαρύφαλλου. Τα φύλλα είναι λογχοειδή πτεροσχιδή με άνθη κατάλευκα, σπάνια ρόδινα και σχετικά μικρά (7-9 cm). Αξιοσημείωτο είναι ότι τα φυτά αν και μορφολογικά πανομοιότυπα είναι διπλοειδή στη δυτική Κρήτη και την Κάρπαθο και τετραπλοειδή στους ενδιάμεσους πληθυσμούς της ανατολικής Κρήτης. Ανακαλύφθηκε πρώτη

φορά στην Ίδη από τον Bellon, τώρα απαντάται μόνο στα Λευκά Όρη και την Δίκτη. Στα Σφακιά τη λένε και "ψευθιά", γιατί τα άνθη της είναι τόσο όμορφα που μοιάζουν σαν ψεύτικα.

ii) *P. clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud.: Η λευκή παιώνια που αποτελεί



ενδημικό είδος που φύεται στα βουνά της Ρόδου. Μοιάζει αρκετά με αυτήν της Κρήτης αλλά έχει κάπως ευρύτερα και λεπτότερα φύλλα και η διάκριση τους γίνεται το 1983 με συγκριτική μελέτη των καρυοτύπων των ενδιαιτημάτων σε Ρόδο και Κρήτη (Tzanoud., 1983). Έχει θεωρηθεί από βοτανικούς ως μια ενδιάμεση μορφή των *P. clusii* ssp. *clusii* και *P. mascula*.

1.7.1 *Paeonia. clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά φυτοχημική μελέτη του φυτού *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud το οποίο συναντάται και με το συνώνυμο *Paeonia rhodia*.



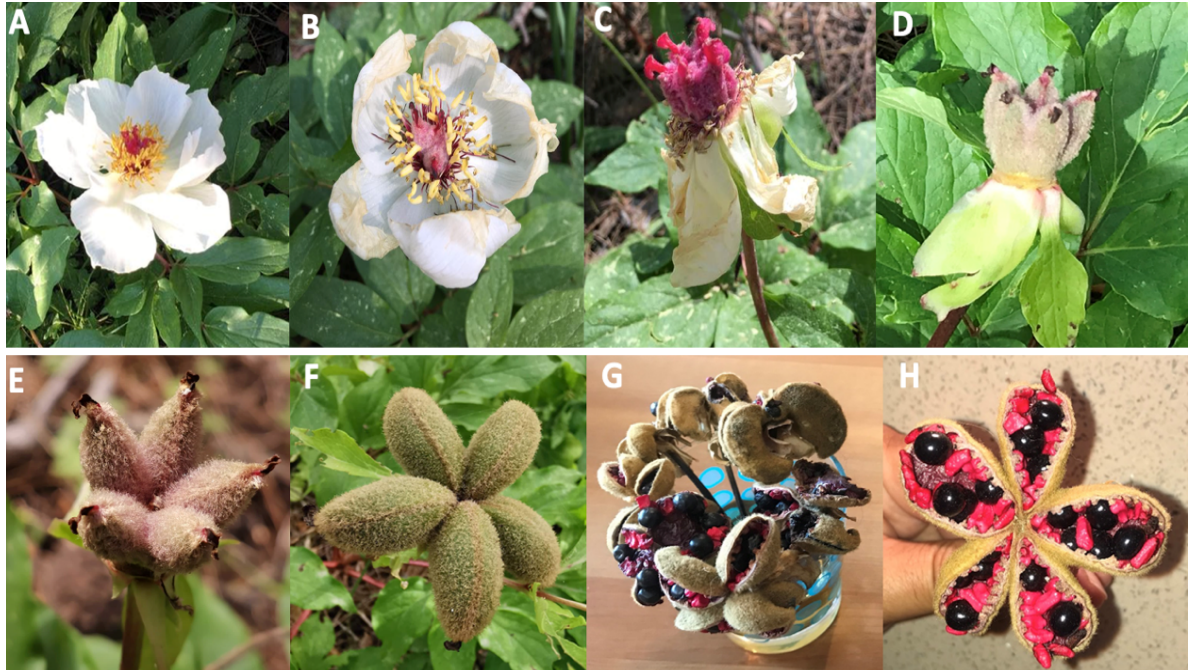
Είναι ένα πολυετές ποώδες φυτό με ρίζωμα και ύψος που φτάνει τα 28-35 εκ.. Τα φύλλα του είναι σκούρα πράσινα, μεγάλα, σύνθετα με 3-4 λογχοειδείς λοβούς. Τα λευκά του άνθη αποτελούνται από 6-8 ωοειδή πέταλα σχηματίζουν ένα μεγάλο "κύπελλο" (7-8 εκ) που στο κέντρο του είναι τοποθετημένοι οι έντονα χρωματισμένοι κίτρινοι και ρόδινοι στήμονες και ύπεροι. Η άνθιση διαρκεί από τον μήνα Μάρτιο μέχρι τον Μάιο.

Είναι ενδημικό της Ρόδου όπως προαναφέρθηκε και φύεται κυρίως στα δάση του Προφήτη Ηλία με λίγους πληθυσμούς στο ανατολικό τμήμα της Κεντρικής Ρόδου και στη Νότια Ρόδο πάνω από τον όρμο της Απολακκιάς.

Ως βιότοπο επιλέγει ως επί το πλείστον, κυρίως δάση κυπαρισσιού και μικτά δάση κυπαρισσιού-τραχείας πεύκης, πιο σπάνια μόνο δάση τραχείας πεύκης, με ασβεστολιθικό υπόστρωμα και υψόμετρα 300-630μ. Η βοτανική του κατάταξη είναι η εξής:

Πίνακας 1: Βοτανική κατάταξη *P. clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud

Βασίλειο (Kingdom)	Plantae (Φυτά)
Κλάση (Class)	Angiosperms (Αγγειόσπερμα)
Τάξη (Order)	Saxifragales
Οικογένεια (Family)	Paeoniaceae
Γένος (Genus)	<i>Paeonia</i> (Παιώνια)
Τομέας (Subsection)	<i>Paeoniae</i>
Είδος (species)	<i>P. clusii</i> (Παιώνια του Κλουσίου)
Υποείδος (subspecies)	<i>Paeonia clusii</i> ssp. <i>rhodia</i> (Stearn) Tzanoud.



Εικόνα 7: Κύκλος ωρίμανσης των σπερμάτων από τα άνθη (Α, Β) μέχρι την πλήρη ωρίμανση των σπερμάτων (Η). Όλες οι φωτογραφίες λήφθηκαν από το βουνό Προφήτης Ηλίας στην Ρόδο, καθ' όλη τη διάρκεια του Απριλίου 2019 (Β. Κασάπης, 2019).

1.8 Δρογοχημεία

Το γένος *Paeonia* έχει μελετηθεί εκτενώς και ειδικότερα τα είδη του τομέα *Paeonia* και *Moutan*. Αντίθετα λίγες είναι οι μελέτες που αφορούν τα είδη και υποείδη της Ελλάδας (Papandreou *et al.*, 2002; Kritsanida *et al.*, 2006; Chaita *et al.*, 2017; Letsiou *et al.*, 2020; Michalea *et al.*, 2020).

Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί πάνω από 260 χημικά συστατικά από τα διάφορα είδη παιώνιας που μπορούν να ταξινομηθούν σε 8 μεγάλες χημικές κατηγορίες:

1. Μονοτερπενικοί γλυκοσίδες (παιωνιφλορίνη και παράγωγα)
2. Φλαβονοειδή (φλαβονόλες, φλαβόνες, φλαβανόνες, φλαβαν-3-όλες, ανθοκυανιδίνες και χαλκόνες),
3. Ταννίνες (γαλλικές και ελλαγικές ταννίνες),
4. Στιλβένια (ρεσβερατρόλη, γνετίνη και βινιφερίνη),
5. Τριτερπένια (τετρακυκλικά και πεντακυκλικά τριτερπενοειδή)
6. Στεροειδή (β -σιτοστερόλη και ο β -D-γλυκοσίδης της, η οξική β -σιτοστερόλη και η καμπεστερόλη),
7. Παιονόλες
8. Φαινόλες (2-φαινυλαιθανόλη, γαλλικό οξύ και βενζοϊκό οξύ)

Άλλα συστατικά που έχουν απομονωθεί εκτός των παραπάνω είναι: υδρογονάνθρακες, λιπαρά οξέα, λιπαρές αλκοόλες, L-αμινοξύ, νουκλεοτίδιο, κουμαρίνη, ανθρακινόνη, σάκχαρα, αμυγδαλίνη, βενζαμίδιο και (Z)-εξ-3-ενάλη.

1.8.1 Χημικές ενώσεις που έχουν απομονωθεί από σπέρματα του γένους *Paeonia*

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε φυτοχημική μελέτη σε σπέρματα του φυτού *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. Είναι η πρώτη φορά που μελετώνται σπέρματα ελληνικής παιώνιας.

Μέχρι σήμερα τα σπέρματα από τα διάφορα είδη παιώνιας έχουν μελετηθεί σε μικρό βαθμό εξαιτίας της κινέζικης λαϊκής θεραπευτικής, επίκεντρο της οποίας ήταν οι ρίζες και τα εκχυλίσματα αυτών. Στον ακόλουθο πίνακα έχει γίνει καταγραφή των χημικών συστατικών που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα από σπέρματα διαφόρων ειδών παιώνιας:

Πίνακας 2: Ουσίες που έχουν απομονωθεί/ανιχνευθεί σε σπέρματα στα διάφορα είδη του γένους *Paeonia*.

Είδος	Τάξη ενώσεων	Χημική ένωση	Βιβλιογραφία
<i>P.anomala</i>	Monoterpenoid glycosides	Paeoniflorigenone	Oidovsambuu <i>et al.</i> , 2013; Kim <i>et al.</i> , 2014
	Phenolic compounds	Ellagic acid Ethyl gallate Methyl gallate Benzoic acid 2-Hydroxy-6-methoxy-4-O-(6'-O- α -L-arabinofuranosyl- β -D-glucopyranosyl)acetophenone	

		3,3'-di- <i>O</i> -methyl-4- <i>O</i> -(3''- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranosyl)	
	Stilbenes	Resveratrol Gnetin H	
	Flavonoids	Luteolin Onopordin 3'- <i>O</i> -methylonopordin 3- <i>O</i> -(β -glucopyranosyl)-quercetin 3- <i>O</i> -(6''- <i>O</i> -galloyl- β -glucopyranosyl)-quercetin 3- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -galloyl- β -arabinopyranosyl)-quercetin	
	Galloyl glycosides	1,2,3,4,6-Penta- <i>O</i> -galloyl- β -glucopyranoside 6-m-Digalloyl-1,2,3,4-tetra- <i>O</i> -galloyl- β -glucopyranoside	
	Terpenoids and Steroids	β -Sitosterol glucoside Fischeroside B	
	Fatty acids	α -Linolenic acid	
<i>P.anomala ssp anomala</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Procyanidin B1 Procyanidin B2 Rutin Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside-chloride Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide Apigenin Kaempferol	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol	Yan <i>et al.</i> , 2020

		Eriodictyol Benzoic acid Salicylic acid Syringate	
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019
<i>P.anomala ssp veitchii</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoyl paeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Rutin Apigenin Kaempferol Procyanidin B1 Procyanidin B2 Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide (+)-Dihydromyricetin Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside-chloride	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	Benzoic acid Salicylic acid p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol Syringate	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019

		Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	
<i>P. arietina</i>	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid	Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. brownii</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Rutin Apigenin Kaempferol Procyanidin B1 Procyanidin B2 Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol Benzoic acid Salicylic acid Syringate	Yan <i>et al.</i> , 2020
<i>P. daurica</i>	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid	Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. decomposita</i>	Stilbenes	Trans-resveratrol Gnetin H Resveratrol-3,5- <i>O</i> - β -diglucoside Suffruticosol A & B	Mao <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2017

		ϵ -Viniferin	
	Monoterpene glycosides	<p>Paconiflorin Albiflorin Oxypaeoniflora Benzoylpaconiflorin β-Gentiobiosylpaconiflorin 6-O-β-D-glucopyranosylalbiflorin,</p>	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	<p>Paeonol Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid Salicylic acid Syringate Eriodictyol</p>	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	<p>Luteolin Apigenin Rutinoside Rutin Quercetin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin Procyanidin B1 Procyanidin B2 (+)-Dihydromyricetin Quercetin-3-O-β-D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside-chloride</p>	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	<p>Arachidic acid Myristic acid Palmitic acid Palmitoleic acid Margaric acid Stearic acid Oleic acid</p>	Mao <i>et al.</i> , 2017

		Linoleic acid Linolenic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid	
<i>P. delavayi</i> (syn. <i>P. lutea</i> , <i>P. potaninii</i> , <i>P. trollioides</i>)	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin Oxypaeoniflora 6'- <i>O</i> - β -D-glucopyranosylalbiflorin Albiflorin β -Gentiobiosylpaeoniflorin Pyridylpaeoniflorin (8 <i>R</i>)-Piperitone-4-en-9- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside Benzoyl paeoniflorin	He <i>et al.</i> , 2013; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Stilbenoids	Trans-resveratrol	Zhang <i>et al.</i> , 2017
	Phenolic compounds	1- <i>O</i> - β -D-(4-hydroxybenzoyl) glucose Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid Eriodictyol <i>p</i> -Coumaric acid Paeonol <i>p</i> -Coumaric acid Methyl Gallate Salicylic acid Syringate	He <i>et al.</i> , 2013; Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Rutin Luteolin Apigenin Rutinoside Quercetin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin Procyanidin B1 Procyanidin B2	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020

		Dihydroquercetin (+)-Dihydromyricetin Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide Quercetin-3- β -D-glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside- chloride	
	Fatty acids	Arachidic acid Myristic acid Palmitic acid Palmitoleic acid Margaric acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid	Yu <i>et al.</i> , 2016
<i>P. emodi</i>	Monoterpene glycosides	Paeonin C Oxypaeoniflora Oxypaeoniflorin Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Riaz <i>et al.</i> , 2004; Ahmad <i>et al.</i> , 2018; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Stilbenes	Paeoninol	Riaz <i>et al.</i> , 2004;
	Flavonoids	Rutin Apigenin Kaempferol Procyanidin B1 Procyanidin B2 Quercetin-3- <i>O</i> - β -D- glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	4-Hydroxybenzoic acid Gallic acid Methyl gallate	Riaz <i>et al.</i> , 2004; Yan <i>et al.</i> , 2020

		p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol Benzoic acid Syringate Paeonin A,B,C	
<i>P. jishanensis</i>	Stilbenes	Trans-resveratrol Resveratrol-3,5-O- β - diglucoside Suffruticosol A & B ϵ -Viniferin Gnetin H	Mao <i>et al.</i> , 2017
	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin 6-O- β -D- glucopyranosylalbiflorin, Albiflorin β -Gentiobiosylpaeoniflorin,	Mao <i>et al.</i> , 2017
	Phenolic compounds	Paeonol Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid Gallic acid Benzoic acid	Zhang <i>et al.</i> , 2017
	Flavonoids	Rutin Luteolin Apigenin Quercetin Kaempferol (+)-Catechin Rutinoside (-)-Epicatechin Dihydroquercetin	
	Fatty acids	Arachidic acid Myristic acid Palmitic acid Palmitoleic acid Margaric acid Stearic acid Oleic acid	Yu <i>et al.</i> , 2016; Mao <i>et al.</i> , 2017

		Linoleic acid Linolenic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid	
<i>P. lactiflora</i>	Stilbenes	Trans-Resveratrol Trans- gnetin H Trans-E-Viniferin Cis-E-Viniferin Resveratrolside Gnetin H Suffruticosol A, B & C Paeonilactiflorol (-)-7 α ,8 α -Cis- ϵ -viniferin Vitisinol C & E	Kim <i>et al.</i> , 2002; Choi <i>et al.</i> , 2009 & 2010; Zhang <i>et al.</i> , 2019; Zhou <i>et al.</i> , 2020
	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin Oxypaeoniflora Oxypaeonidanin Paeonidanin Benzoylpaeoniflorin Desbenzoylpaeoniflorin 6'-O- β -D-glucopyranosylalbiflorin Albiflorin Albiflorin R1 4''-Hydroxyl-albiflorin 4-O-Methyl-paeoniflorin β -gentiobiosylpaeoniflorin Pyridylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-O- β -D-glucopyranoside	He <i>et al.</i> , 2013; Yan <i>et al.</i> , 2020; Zhou <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Luteolin Rutin Quercetin Catechin Apigenin Kaempferol Procyanidin B1 Procyanidin B2	Nie <i>et al.</i> , 2020; Yan <i>et al.</i> , 2020; Zhou <i>et al.</i> , 2020

		(+)-Dihydromyricetin Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	
	Phenolic compounds	Chlorogenic acid Cinnamic acid Benzoic acid <i>p</i> -cumaric acid Vanillic acid α , β , γ & δ -Tocopherol 1- <i>O</i> - β -D-(4-hydroxybenzoyl) glucose Methyl Gallate Paeonol Salicylic acid Syringate Eriodictyol	He <i>et al.</i> , 2013; Nie <i>et al.</i> , 2020; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Terpenoids & Steroids	Campesterol Stigmasterol β -Sitosterol Isofucosterol Δ 7-Avenasterol Citrostadienol Squalene	Nie <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid α -Linolenic acid Myristic acid Myristoleic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019; Nie <i>et al.</i> , 2020
<i>P. ludlowii</i> (syn. <i>P. lutea</i> var. <i>ludlowii</i>, <i>P. delavayi</i> ssp. <i>ludlowii</i>)	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin Oxypaeoniflora Benzoylpaeoniflorin	He <i>et al.</i> , 2013; Yan <i>et al.</i> , 2020

		6'-O-β-D-glucopyranosylalbiflorin Pyridylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-O-β-D-glucopyranoside Albiflorin β-Gentiobiosylpaeoniflorin	
	Stilbenes	Trans-resveratrol Resveratrol-3,5-O-β-diglucoside Gnetin H	Mao <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2017
	Phenolic compounds	Paeonol 1-O-β-D-(4-hydroxybenzoyl) glucose Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid p-Coumaric acid Methyl Gallate Salicylic acid Syringate	He <i>et al.</i> , 2013; Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Rutinoside Rutin Quercetin Dihydroquercetin Apigenin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin Procyanidin B1 Procyanidin B2 (+)-Dihydromyricetin Quercetin-3-O-β-D-glucoside Cyanidin 3-arabioside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7-O-glucuronide	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020

	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Palmitoleic acid Margaric acid Myristic acid Heptadecanoic acid Arachidic acid Behenic acid Decanoic acid Undecanoic acid Lauric acid Pentadecanoic acid Palm oleic acid Eicosenoic acid Eicosadienoic acid Carbonic acid Alkanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid	Han <i>et al.</i> , 2016; Yu <i>et al.</i> , 2016; Mao <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2020
	Aldehyde compounds	Benzaldehyde Citral (E)-2-decenal 1-Octyl aldehyde 2-Undecenal	Zhang <i>et al.</i> , 2020
	Alcenes	Cinnamene m-Xylene Styrene	
	Alcohols	Benzylalcohol Nonyl alcohol Benzyl alcohol	
<i>P. mairei</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Stilbenes	Resveratrol	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol	Yan <i>et al.</i> , 2020

		Benzoic acid Salicylic acid Syringate Eriodictyol	
	Flavonoids	Procyanidin B1 Procyanidin B2 Rutin Apigenin Kaempferol Luteolin Quercetin Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019
<i>P. mascula ssp bodurii</i>	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid	Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. mascula ssp mascula</i>	Fatty acids	Myristic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid	Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. obovata</i>	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin	He <i>et al.</i> , 2013

		6'-O-β-D-glucopyranosylalbiflorin Albiflorin β-Gentiobiosylpaeoniflorin Pyridylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-O-β-D-glucopyranoside	
	Phenolic compounds	1-O-β-D-(4-hydroxybenzoyl) glucose	He <i>et al.</i> , 2013
	Fatty acids	Arachidic acid Myristic acid Palmitic acid Palmitoleic acid Margaric acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid	Yu <i>et al.</i> , 2016
<i>P. obovata ssp obovata</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol Benzoic acid Salicylic acid Syringate Eriodictyol	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Procyanidin B1 Procyanidin B2 Rutin Quercetin-3-O-β-D-glucoside Cyanidin 3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride	Yan <i>et al.</i> , 2020

		Apigenin-7- <i>O</i> -glucuronide Apigenin Kaempferol	
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019
<i>P. obovata ssp willmottiae</i>	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Paeonol Benzoic acid Salicylic acid Syringate	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Procyanidin B1 Procyanidin B2 Rutin Apigenin Kaempferol Quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019

<i>P. officinalis</i> ssp. <i>officinalis</i>	Stilbenes	Resveratrol	Rainer <i>et al.</i> , 2019
<i>P. ostii</i>	Stilbenes	Resveratrol Resveratrol-3,5- <i>O</i> - β -diglucoside Trans- ϵ -viniferin Suffruticosol A, B & C Resveratrol Ampelopsin E Gnetin H	Mao <i>et al.</i> , 2017; Peng <i>et al.</i> , 2019; Tian <i>et al.</i> 2019
	Flavonoids	Luteolin Apigenin Luteolin-4'- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside Rutinoside Rutin Vitexin Quercetin Dihydroquercetin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Tian <i>et al.</i> 2019; Wang <i>et al.</i> , 2020
	Terpenoids & Steroids	Hederagenin Betulinic acid Squalene Cholesterol β -sitosterol Fucosterol Lanosterol	Peng <i>et al.</i> , 2019; Tian <i>et al.</i> 2019; Wang <i>et al.</i> , 2020
	Monoterpene glycosides	Paeoniflorin Oxypaeoniflorin Benzoylpaeoniflorin Benzoyloxypaeoniflorin Galloylpaeoniflorin Galloyloxypaeoniflorin Paeostiside A, B & C 6'- <i>O</i> - β -D-glucopyranosylalbiflorin Pyridylpaeoniflorin	He <i>et al.</i> , 2013; Qin <i>et al.</i> , 2017; Liu <i>et al.</i> , 2018; Wang <i>et al.</i> , 2020

		(8R)-Piperitone-4-en-9-O- β -D-glucopyranoside Albiflorin Oxyalbiflorin β -Gentiobiosylpaeoniflorin Mudanpioside A,C-F,H & J 10-Hydroxypaeoniflorin Oxypaeonidanin 4-O-methyl-oxypaeoniflorin 4-O-methyl-paeoniflorin Albiflorin R1 Paeonidanin 4,9-Dihydroxy-8,10-dehydrothymol-1-O- β -D-glucopyranoside	
	Phenolic compounds	1-O- β -D-(4-hydroxybenzoyl) glucose Caffeic acid Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid Cinnamic acid Vanillic acid Ferulic acid Sinapic acid Phthalic acid p-Coumaric acid β , γ & δ -tocopherol Paeonol p-Hydroxybenzoic acid p-Hydroxyphenylacetic Mudanoside A & B	He <i>et al.</i> , 2013; Zhang <i>et al.</i> , 2017; Tian <i>et al.</i> 2019; Wang <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	α -Linolenic acid Linoleic acid Oleic acid Palmitic acid Palmitoleic acid Stearic acid Myristic acid	Li <i>et al.</i> , 2015; Han <i>et al.</i> , 2016; Wei <i>et al.</i> , 2018; Tian <i>et al.</i> 2019

		<p>Margaric acid Arachidic acid Cis-11-octadecenoic acid Eicosanoic acid Hexadecanoic acid Cis-5-dodecenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecenoic acid Tetracosanoic acid Eicosenoic acid Cis-11-eicosenoic acid (9Z,12Z) -octadecadienoic acid</p>	
<i>P. peregrina</i> (syn. <i>P. decora</i>)	Fatty acids	<p>Margaric acid Stearic acid Oleic acid Linolenic acid Linoleic Palmitic acid</p>	He <i>et al.</i> , 2010; Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. qiui</i>	Monoterpene glycosides	<p>Paeoniflorin Oxypaeoniflorin Oxypaeoniflora Benzoylpaeoniflorin 6'-<i>O</i>-β-D-glucopyranosylalbiflorin Pyridylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside Albiflorin β-Gentiobiosylpaeoniflorin</p>	He <i>et al.</i> , 2013; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Stilbenes	<p>Trans-resveratrol Resveratrol-3,5-<i>O</i>-β-diglucoside Suffruticosol A & B ϵ-Viniferin Gnetin H</p>	Mao <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2017;
	Phenolic compounds	<p>1-<i>O</i>-β-D-(4-hydroxybenzoyl)-glucose Gallic acid Benzoic acid</p>	He <i>et al.</i> , 2013; Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020

		Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid Paeonol Salicylic acid Syringate	
	Flavonoids	Luteolin Apigenin Rutinoside Rutin Quercetin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin Procyanidin B1 Procyanidin B2 Quercetin-3-O- β -D-glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin-7-O-glucuronide	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Palmitic acid Palmitoleic acid Myristic acid Margaric acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Mao <i>et al.</i> , 2017
<i>P. rockii</i>	Stilbenes	Trans-resveratrol Resveratrol-3,5-O- β -diglucoside Gnetin H Rockiiol A, B & C Suffruticosol A, B & C ϵ -Viniferin	Liu <i>et al.</i> , 2014 & 2017; Mao <i>et al.</i> , 2017; Bai <i>et al.</i> , 2020

	Monoterpene glycosides	<p> Paconiflorin Paconirokoside A, B, & C Oxypaeoniflorin 6'-O-β-D-glucopyranosylalbiflorin Albiflorin β-Gentiobiosylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-O-β-D-glucopyranoside Benzoylpaeoniflorin Benzoyloxypaeoniflorin Mudanpioside A,C-E,H &J Galloylpaeoniflorin Galloyloxypaeoniflorin Isomaltopaeoniflorin 4-O-methylpaeoniflorin 4-O-methyl-oxypaeoniflorin Benzoylpaeoniflorin Benzoyloxypaeoniflorin Galloylpaeoniflorin 8-O-debenzoylpaeoniflorin Oxyalbiflorin Paeonidanin Oxypaeonidanin 1-O-β-D-glucopyransoylpaeonisuffrone Albiflorin R1 8-O-debenzoylalbiflorin Pyrindylpaeoniflorin 4,9-Dihydroxy-8,10-dehydrothymol-1-O-β-D-glucopyranoside </p>	He <i>et al.</i> , 2013; Liu <i>et al.</i> , 2018
	Phenolic compounds	<p> Benzoic acid γ-tocopherol p-Hydroxybenzoic acid Cinnamic acid p-Hydroxyphenylacetic Phthalic acid Vanillic acid Gallic acid 4 </p>	Bai <i>et al.</i> , 2020; Wang <i>et al.</i> , 2020

		Caffeic acid Ferulic acid Sinapic acid Methyl gallate p-Coumaric acid Ferulic acid Salicylic acid Chlorogenic acid Paeonol Mudanoside A & B	
	Flavonoids	Vitexin Rutin Taxifolin Hyperoside Astragaline Kaempferol Quercetin Isorhamnetin Luteolin Apigenin Procyanidin (+)-Catechin	Bai <i>et al.</i> , 2020; Wang <i>et al.</i> , 2020
	Terpenoids & Steroids	Squalene Cholesterol β -sitosterol Fucosterol Betulin	Wang <i>et al.</i> , 2020
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid α & γ -Linolenic acid Palmitoleic acid Margaric acid Myristic acid Arachidic acid Behenic acid Eicosenoic acid	Li <i>et al.</i> , 2010; Han <i>et al.</i> , 2016; Mao <i>et al.</i> , 2017

<i>P. rockii ssp atava</i>	Phenolic compounds	Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid Paeonol	Zhang <i>et al.</i> , 2017
	Flavonoids	Luteolin Apigenin Rutinoside Rutin Kaempferol (+)-Catechin (-)-Epicatechin	Zhang <i>et al.</i> , 2017
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Palmitoleic acid Margaric acid Myristic acid Arachidic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecanoic acid	Yu <i>et al.</i> , 2016
<i>P. rockii spp rockii</i>	Stilbenes	Trans-resveratrol	Zhang <i>et al.</i> , 2017; Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	Gallic acid Benzoic acid Chlorogenic acid Caffeic acid p-Coumaric acid Paeonol Syringate	
	Flavonoids	Luteolin Rutinoside Rutin Apigenin Quercetin Dihydroquercetin Kaempferol	

		(+)-Catechin (-)-Epicatechin Procyanidin B1 Procyanidin B2 (+)-Dihydromyricetin Quercetin-3-O- β -D-glucoside Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride	
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Palmitoleic acid Margaric acid Myristic acid Arachidic acid Eicosenoic acid Pentadecanoic acid Cis-10-heptadecanoic acid	Yu <i>et al.</i> , 2016
<i>P. sterniana</i> (syn. <i>P. emodi ssp sterniana</i>)	Monoterpene glycosides	Oxypaeoniflora Albiflorin Benzoylpaeoniflorin Paeoniflorin	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Phenolic compounds	p-Coumaric acid Methyl Gallate Paeonol Benzoic acid Salicylic acid Syringate Eriodictyol	Yan <i>et al.</i> , 2020
	Flavonoids	Procyanidin B1 Procyanidin B2 Rutin Cyanidin-3-arabinoside Cyanidin-3-galactoside chloride Apigenin	Yan <i>et al.</i> , 2020

		Kaempferol	
	Fatty acids	Myristic acid Myristoleic acid Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid Arachidic acid Eicosenoic acid	Yan <i>et al.</i> , 2019
<i>P. suffruticosa</i> (syn. <i>P. arborea</i>)	Stilbenes	Trans-Resveratrol Cis-Resveratrol Trans-E-Viniferin Cis-E-Viniferin Trans-gnetin H Cis-gnetin H Suffruticosol A, B & C Trans-suffruticosol D Cis-suffruticosol D Cis-ampelopsin E	He <i>et al.</i> , 2010 & 2019; Cai <i>et al.</i> , 2011;
	Monoterpene glycosides	Peoniflorin Oxypaeoniflorin 6'-O-β-D-glucopyranosylalbiflorin 1-O-β-D-glucopyranosylpaeonisuf-frone 8-debenzoylpaeoniflorin 8-debenzoylpaeonidanin pyridylpaeoniflorin β-gentiobiosylpaeoniflorin (8R)-Piperitone-4-en-9-O-β-D-glucopyranoside Albiflorin	He <i>et al.</i> , 2013
	Flavonoids	Luteolin Apigenin 5,6,4'-Trihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone	Kim <i>et al.</i> , 1998; He <i>et al.</i> , 2010;
	Phenolic compounds	Benzoic acid α,γ & δ -Tocopherol	He <i>et al.</i> , 2010b; He <i>et al.</i> , 2013; Wu <i>et al.</i> , 2020

		1- <i>O</i> - β -D-(4-hydroxybenzoyl) glucose	
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic α -Linolenic acid Arachidic acid Heptadecanoic acid Myristic acid Behenic acid Lignoceric acid Pentadecanoic acid Oleic acid Arachidonic acid Palmitoleic acid Eicosadienoic acid Erucic acid Nervonic acid	Yang <i>et al.</i> , 2017; Wu <i>et al.</i> , 2020
	Terpenoids & Steroids	Stigmasterol γ -Sitosterol Fucosterol ergosterol Δ 5,24(25)-tigmastadienol Δ 5-avenasterol 24-Methylenecycloartanol Campesterol	Yang <i>et al.</i> , 2017; Wu <i>et al.</i> , 2020
	Other	1- <i>O</i> - β -D-ethyl-mannopyranoside Sucrose	He <i>et al.</i> , 2010
<i>P. tenuifolia</i>	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid Linolenic acid	Sevim <i>et al.</i> , 2013
<i>P. veitchii</i>	Stilbenes	Suffruficosol A, B & C Cis- ϵ -viniferin Trans- ϵ -viniferin Cis-gnetin H Trans-gnetin H	Zhang <i>et al.</i> , 2018

	Monoterpene glycosides	Pyrindylpaeoniflorin Mudanpioside F Oxyalbiflorin Oxypaeoniflorin 10-hydroxypaeoniflorin Albiflorin Paeoniflorin Oxypaeonidanin 4-O-methyl-oxypaeoniflorin Galloylpaeoniflorin 4-O-methyl-paeoniflorin Albiflorin R1 Paeonidanin Benzoyloxypaeoniflorin Benzoylpaeoniflorin	Zhang <i>et al.</i> , 2018
	Fatty acids	Palmitic acid Stearic acid Oleic acid Linoleic acid α -Linolenic acid	Zhang <i>et al.</i> , 2018
	Amino acids	Aspartic acid Threonine Serine Glutamic acid Glycine Alanine Cystine Valine Methionine	Zhang <i>et al.</i> , 2018

1.8.2 Στιλβένια και παράγωγα Ρεσβερατρόλης

Η ρεσβερατρόλη (trans-3,4', 5-trihydroxystilbene) με βασική δομή των στιλβενίων είναι μια φυτοαλεξίνη που συντίθεται από μια ποικιλία φυτών σε καταστάσεις φυσιολογικού στρες του φυτού, πχ τραυματισμό, ακτινοβολία με UV και μόλυνση από μύκητες. Στη φύση συναντάται με τη μορφή των δύο στερεοϊσομερών της, το trans- και cis- ισομερές και ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1963, σαν το ενεργό συστατικό ξερών ριζών του φυτού *Polygonum cuspidatum*. Ο βιολογικός ρόλος της ρεσβερατρόλης και των παραγώγων της στα φυτά περιεγράφηκαν για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1970 από τους Langcake και Pryce, που ταυτοποίησαν την ρεσβερατρόλη ως ένωση υπεύθυνη για το σχηματισμό φθοριζουσών βλαβών στα φύλλα του *Vitis vinifera* μετά τη μόλυνση με τα φυτικά παθογόνα *Botrytis cinerea* (γκρι μούχλα) και *Plasmopara viticola* (περονόσπορος).

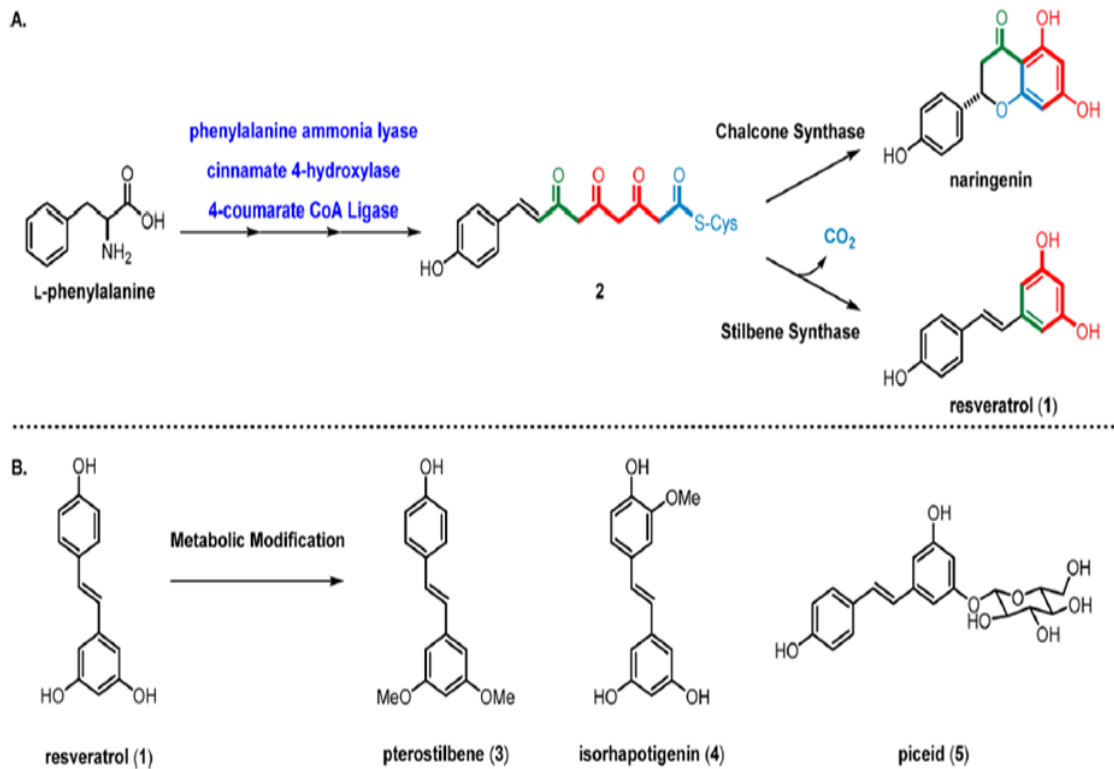
Ο Langcake το 1981 δημοσίευσε μια συγκριτική μελέτη μεταξύ ευαίσθητων και ανθεκτικών ειδών σταφυλιών. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι οι αλλοιώσεις από μύκητες στα φύλλα των ανθεκτικών ειδών περιείχαν μικρές ποσότητες ρεσβερατρόλης, αλλά ταυτόχρονα είχαν υψηλές συγκεντρώσεις των ολιγομερών ρεσβερατρόλης α-βινιφερίνη και ε-βινιφερίνη. Οι ενώσεις αυτές παρουσίασαν αρκετά μεγαλύτερη αντιμυκητιασική δραστηριότητα από αυτήν της ρεσβερατρόλης και εμφανίζονταν σε υψηλές συγκεντρώσεις στις ανθεκτικές σε μύκητες ποικιλίες σταφυλιών. Αυτά τα αποτελέσματα μαζί με τις παρατηρήσεις των Langcake και Pryce υποδεικνύουν ότι η ρεσβερατρόλη ήταν πρόδρομος ένωση για τις πραγματικές φυτοαλεξίνες του φυτού.

Τόσο η ρεσβερατρόλη όσο και τα ολιγομερή της έχουν τραβήξει το ερευνητικό ενδιαφέρον των επιστημόνων ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες για διάφορες παθολογικές ασθένειες εξαιτίας της μεγάλης ποικιλίας βιολογικών και φαρμακολογικών δράσεων που παρουσιάζουν (Kurihara *et al.* 1991; Oshima *et al.* 1995; Ahn *et al.* 2000; Fremont 2000; Chung *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2019). Γι' αυτό το λόγο έχει λάβει χώρα εκτεταμένη αναζήτηση προς εύρεση φυσικών παράγωγων στυλβενίου που μέχρι στιγμής έχουν βρεθεί σε οικογένειες φυτών όπως: Dipterocarpaceae, Vitaceae, Cyperaceae, Gnetaceae, Fabaceae (Leguminosae), Paeoniaceae, Apiaceae (Umbelliferae), Haemodoraceae, και Musaceae (Keylor *et al.*, 2015). **Στην οικογένεια Paeoniaceae έχουν βρεθεί μόνο στα σπέρματα διαφορετικών ειδών.**

Βιοσύνθεση Ρεσβερατρόλης

Η παραγωγή της ρεσβερατρόλης στους φυτικούς ιστούς είναι είτε ενδογενής ή επαγόμενη και ελέγχεται από το βασικό ένζυμο, συνθετάση στυλβενίου (STS), το οποίο ανήκει σε μια οικογένεια πολυγονιδίων της ομάδας τύπου III της συνθετάσης πολυκετιδίων. Η STS καταλύει τη συμπύκνωση τριών μορίων κουμαροϋλ-CoA για να σχηματίσουν ρεσβερατρόλη.

1. Η σύνθεση της ρεσβερατρόλης λαμβάνει χώρα σε ένα μόνο-ενζυματικό στάδιο με CoA-εστέρες παραγωγα κινναμικού οξέος και τρεις μονάδες malonyl-CoA ως αρχικά μόρια. Η L-φαινυλαλανίνη, ένα προϊόν της οδού του σικιμικού οξέος, υφίσταται μια σειρά από ενζυματικές αντιδράσεις για να παραχθεί το γραμμικό τετρακετίδιο
2. Αυτό το ενδιάμεσο προϊόν είναι κρίσιμο για τη σύνθεση των φλαβονοειδών, η οποία εκτελείται συνέχεια μέσω της συνθετάσης της χαλκόνης. Η STS και η συνθάση χαλκόνης (CHS) είναι βασικά ένζυμα του βιοσυνθετικού μονοπατιού φλαβονοειδών και παραγώγων κινναμικών οξέων μέσω της φαινυλοπροπανοειδούς οδού. Αυτά τα ένζυμα, ανταγωνίζονται ίδια υποστρώματα, καθώς περιέχουν ένα βασικό υπόλειμμα κυστεΐνης, ονομαζόμενο Cys 164, που θεωρείται το ενεργό τους κέντρο. Η σύνθεση της ρεσβερατρόλης ενισχύεται έντονα από μυκητιασικές προσβολές, ακτινοβολία UV και άλλα περιβαλλοντικές συνθήκες στρες (Sparvoli *et al.*, 1994; Bais *et al.*, 2002; Donnez *et al.*, 2009;) Τα επίπεδα ρεσβερατρόλης κορυφώνονται περίπου 24 ώρες μετά την έκθεση στο στρες και μειώνονται μετά από 42-72 ώρες ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης της οξειδάσης του στυλβενίου. Η ρεσβερατρόλη μπορεί να υποβληθεί σε διάφορες δομικές τροποποιήσεις μετά την βιοσύνθεση της.

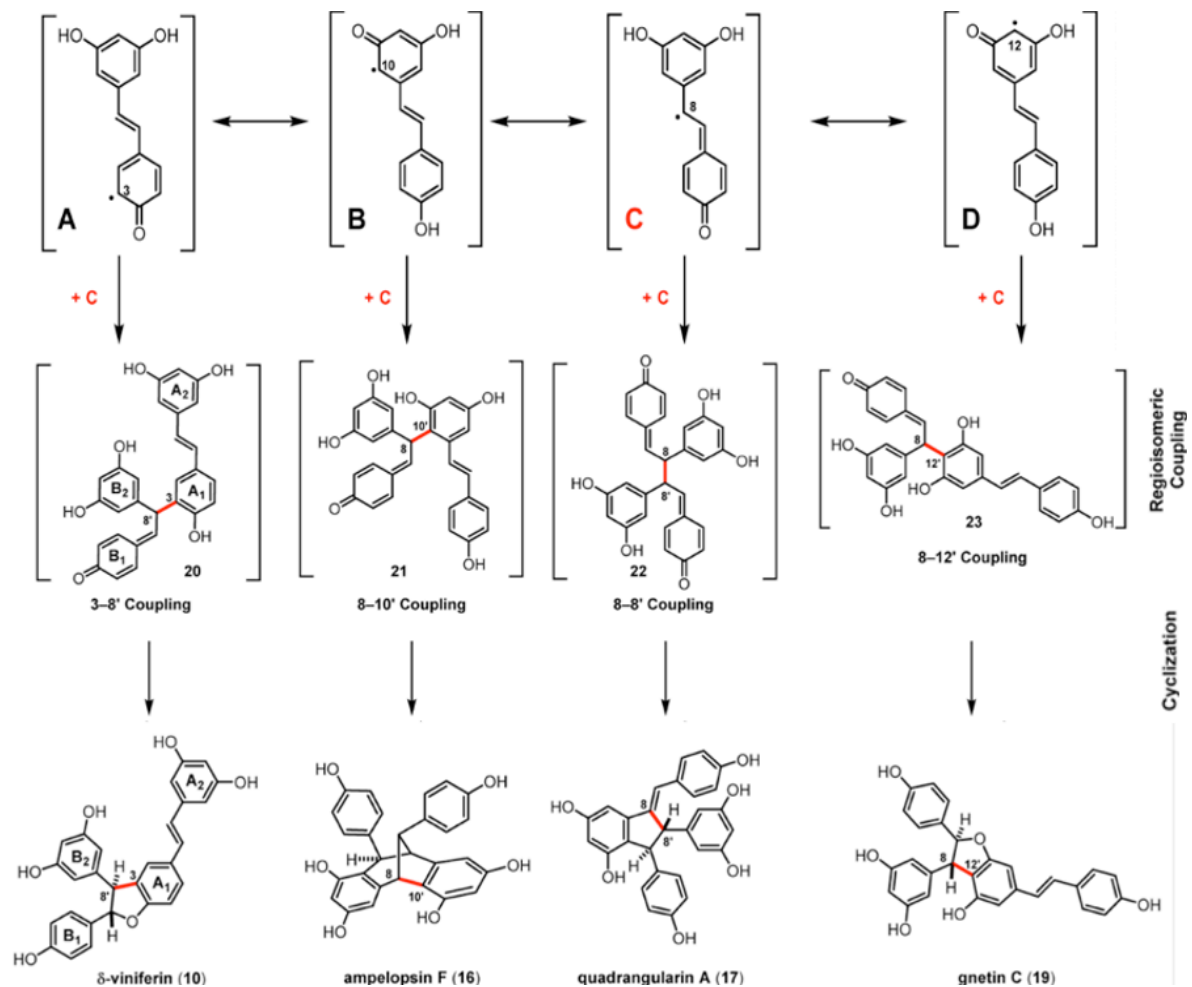


Εικόνα 8:(Α) Βιοσύνθεση Ρεσβερατρόλης και (Β) Μετα-συνθετική τροποποίηση ρεσβερατρόλης και παράγωγα

Το μονομερές της ρεσβερατρόλης μπορεί να είναι ολιγομερισμένο και έτσι σχηματίζει σύνθετους πολυφαινολικούς δευτερογενείς μεταβολίτες που αποτελούνται από 2-8 μόρια ρεσβερατρόλης. Συλλογικά, αυτά τα φυσικά προϊόντα αναφέρονται ως «ολιγομερή ρεσβερατρόλης» και εμφανίζονται ως διμερή, τριμερή, τετραμερή και ολιγομερή ανώτερης τάξεως σε φυτά.(Giovinazzo *et al.*, 2012; Keylor *et al.*, 2015).

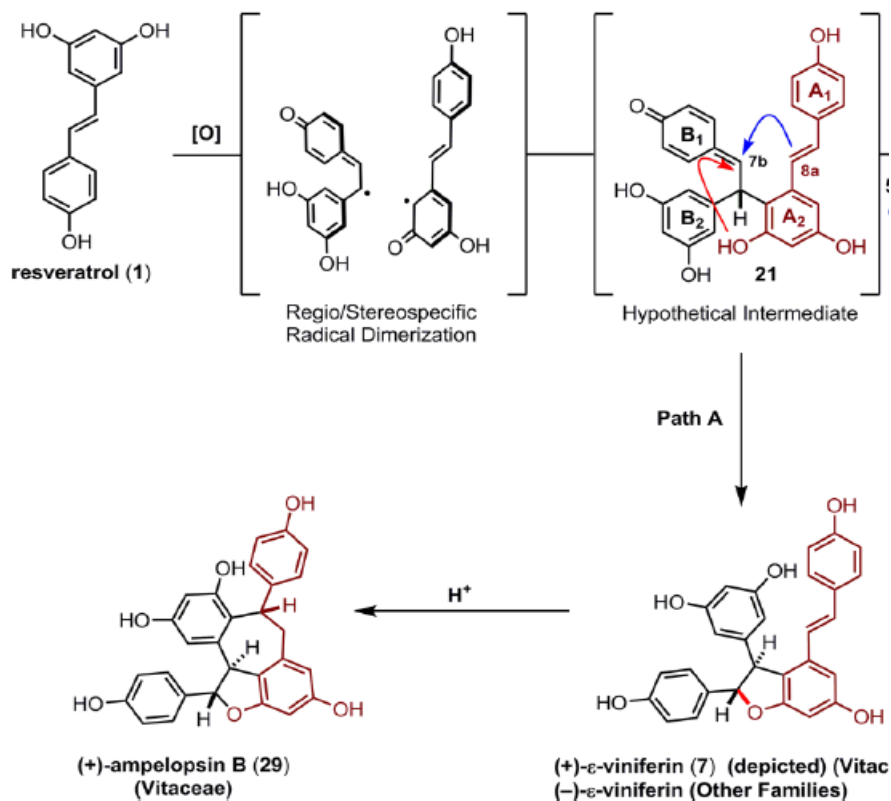
Βιοσύνθεση διμερών και τριμερών Ρεσβερατρόλης

Η βιοσυνθετική πορεία προς σχηματισμό των διμερών ρεσβερατρόλης, όπως προτάθηκε αρχικά από τους Langcake και Pryce περιλαμβάνει αρχικά την οξείδωση της ρεσβερατρόλης προς σχηματισμό οξειδωτικών ριζών στις θέσεις 3,8,10 ή 12. Ακολουθεί η σύζευξη των ριζών προς σχηματισμό δραστικών ενδιάμεσων ενώσεων (μεθίδια παρακινόνης), τα οποία μέσω αντιδράσεων Friedel-Crafts, πυρηνόφιλων αντιδράσεων ή ταυτομέρειας δίνουν τα τελικά προϊόντα . Η θέση της ρίζας στο αρχικό στάδιο της σύνθεσης καθορίζει και το αντίστοιχο τελικό προϊόν όπως φαίνεται και στην εικόνα (Εικ. 9):



Εικόνα 9: Βιοσύνθεση διμερών ρεσβερατρόλης

Η σύνδεση 8-10' είναι η πιο διαδεδομένη μεταξύ των ολιγομερών ρεσβερατρόλης φυσικών προϊόντων. Ο 8-10' διμερισμός οδηγεί στον σχηματισμό της η ε-βινιφερίνης (7), η οποία έχει ασυνήθιστο χαρακτηριστικό για ένα φυσικό προϊόν να βρίσκεται στη φύση και στις δύο εναντιομερείς μορφές της, αυτήν της (-)-ε-βινιφερίνης (οικ. Dipterocarpaceae, Gnetaceae, Cyperaceae, Fabaceae, Paeoniaceae) και της (+)-ε-βινιφερίνης (Vitaceae).

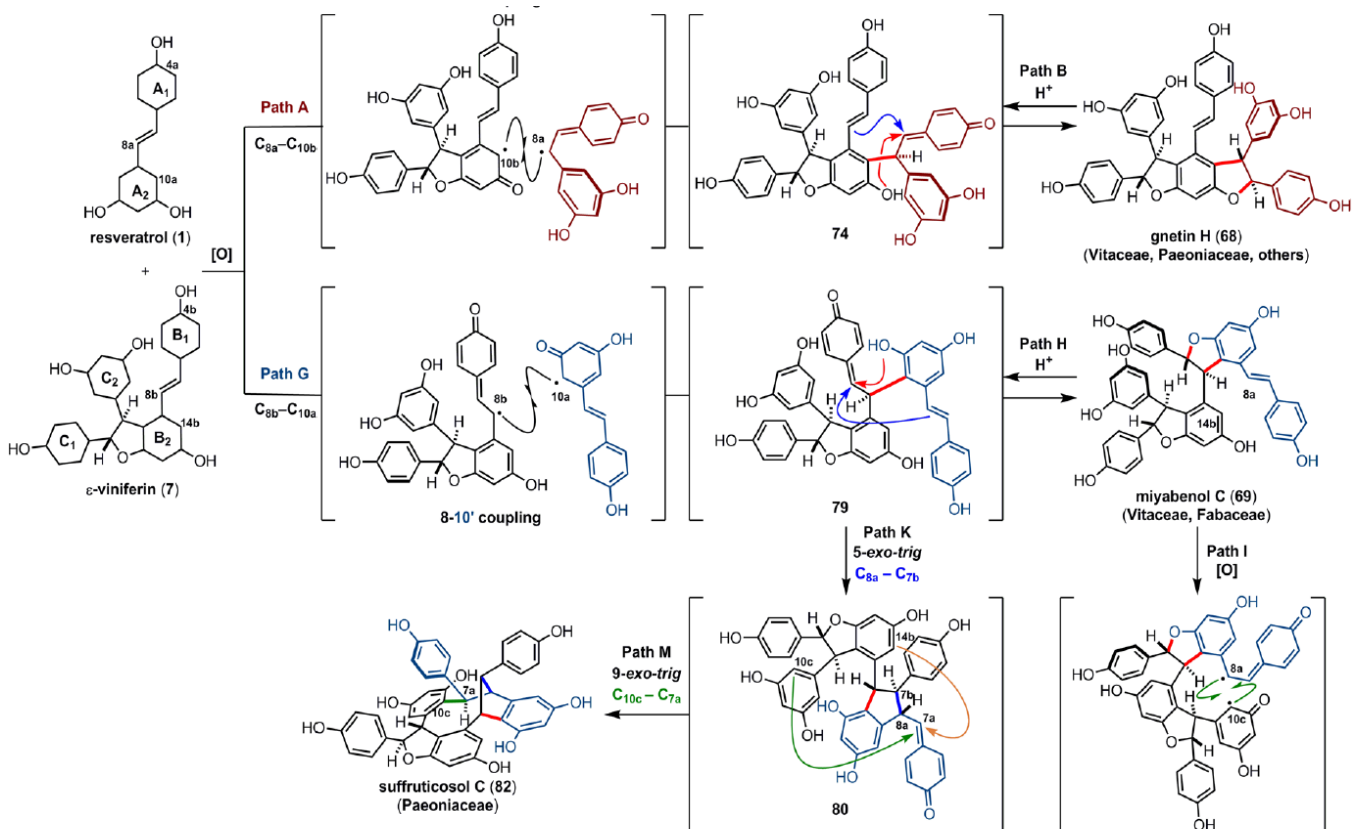


Εικόνα 10: Βιοσύνθεση ε-βινιφερίνης

Η βιοσύνθεση των ολιγομερών υψηλότερης τάξης ακολουθεί παρόμοιο τρόπο με τα διμερή ρεσβερατρόλης, και μερικά δομικά μοτίβα που βρίσκονται στα διμερή ρεσβερατρόλης διατηρούνται. Ενώ τα διμερή ρεσβερατρόλης παράγονται σχεδόν αποκλειστικά από μια σύζευξη οξειδωτικών ριζών, τα ανώτερης τάξης ολιγομερή μπορούν να είναι προϊόν είτε οξειδωτικής σύζευξης ρεσβερατρόλης με ε-βινιφερίνη είτε μίας διαμοριακής αντίδραση Friedel-Crafts καθώς είναι απαραίτητη η παρουσία του τμήματος 4-υδροξυ-στιλβενίου.

Η πλειοψηφία των αντιδράσεων ολιγομερισμού είναι συγκλίνουσες διεργασίες, όπου τα τετραμερή είναι το προϊόν διμερισμού δύο διμερών, τα πενταμερή είναι το προϊόν του διασταυρούμενου διμερισμού ενός τριμερούς και ενός διμερούς κ.ό.κ. αν και μόνο υποθέσεις μπορούν να γίνουν καθώς ελάχιστα είναι γνωστά για τα βιογενή μονοπάτια που είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό αυτών των φυσικών προϊόντων.

Στην εικόνα που ακολουθεί παρουσιάζεται συνοπτικά ένα βιοσυνθετικό μονοπάτι για τη δημιουργία τριμερών ρεσβερατρόλης.



Εικόνα 11: Βιοσύνθεση γνετίνης Η και άλλων τριμερών ρεσβερατρόλης

1.9 Δρογοφαρμακολογία

Στα μεσαιωνικά χρόνια οι παιώνιες συχνά ζωγραφίζονταν με τα ώριμα κανάκια των σπερμάτων, καθώς ήταν αυτά και όχι τα λουλούδια, που ήταν ιατρικά σημαντικοί. Οι γιατροί εκείνης της εποχής συνέστηναν παιώνιες για θεραπεία, μεταξύ άλλων, πέτρας της ουροδόχου κύστης, ίκτερου, πόνου στομάχου, διάρροια, πόνου τοκετού, εφιάλτες, επιληψία και τρέλα. Συνήθως χρησιμοποιήθηκαν οι ρίζες και οι σπόροι των φυτών (Halda *et al.*, 2005; Fisher *et al.*, 2011)

Σε προηγούμενο κεφάλαιο αναφέρθηκε και η παραδοσιακή τους χρήση στην κινέζικη ιατρική, όπου οι ρίζες των *P. suffruticosa*, *P. lactiflora*, *P. veitchii* και *P. obovata* είναι τα πιο σημαντικά ακατέργαστα φάρμακα και έχουν χρησιμοποιηθεί ως αναλγητικοί, ηρεμιστικοί και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες, καθώς και για καρδιαγγειακές ασθένειες, αιμορραγίες, κοιλιακούς πόνους, μυϊκούς σπασμούς, κακή κυκλοφορία αίματος και για γυναικείες γεννητικές ασθένειες (Wiyazawa *et al.*, 1984; Chang *et al.*, 1986; Müller *et al.*, 1999). Οι δράσεις αυτές αποδίδονται στους ολικούς γλυκοσίδες παιώνιας (Total Glucosides of Peony, TGP) TGP), το οποίο περιέχει περισσότερα από 15 στοιχεία, με την paeoniflorin να αποτελεί το βασικό συστατικό.

Οι φαρμακολογικές μελέτες που έχουν γίνει μέχρι σήμερα επικεντρώνονται στις ρίζες ως επι το πλείστον και μόνο λίγες αφορούν τα σπέρματα τα αποτελέσματα των οποίων έχουν δείξει την αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινική τους ιδιότητα (Kim *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 2002). Αναλυτικότερα αναφέρονται οι σημαντικότερες δράσεις ειδών *Paeonia*.

1.9.1 Παραδοσιακές δράσεις των ριζών

Οι *P. lactiflora* Pallas (syn. *P. albiflora*) και *P. veitchii* Lynch [syn. *Paeonia anomala* subsp. *veitchii* (Lynch)] είναι δύο ευρέως χρησιμοποιούμενα παραδοσιακά φαρμακευτικά φυτά που ανήκουν στο γένος *Paeonia*. Προερχόμενο από τις ρίζες αυτών των φυτών το *Paeoniae radix* είναι πολύτιμα παραδοσιακά κινέζικα φάρμακα.

Το *Paeoniae radix alba* (baishao στην Κίνα, byakushaku στην Ιαπωνία και raekchak στην Κορέα) αποτελεί την αποφλοιωμένη, λευκή φαρμακευτική ρίζα της *P. lactiflora* Pallas, αλλά χρησιμοποιείται και η *P. lactiflora* Pallas var. *trichocarpa*. Αντίθετα το *Paeoniae radix rubra*, ορίζεται ως η ολόκληρη ή τεμαχισμένη αποξηραμένη κόκκινη ρίζα από τις: *P. lactiflora* Pallas ή το *P. veitchii* Lynch (Chinese Pharmacopoeia Commission, 2010).



Εικόνα 12: Το υπέργειο τμήμα (a-1), το φαρμακευτική κομμάτι (a-2), τα εμπορικά φυτικά κομμάτια (a-3) της *Paeonia lactiflora* Pall.

Το υπέργειο τμήμα (b-1), το φαρμακευτική κομμάτι (b-2), τα εμπορικά φυτικά κομμάτια (b-3) της *Paeonia veitchii* Lynch

Η εφαρμογή της *Paeoniae radix* (PR) στην ιατρική καταγράφηκε για πρώτη φορά στο αρχαιότερο ιατρικό βιβλίο στην Κίνα «Φόρμουλες για πενήντα δύο ασθένειες» (《五十二病方》) (475–221 π.Χ.). Η πρώτη μονογραφία φαρμάκου "Shen Nong's Herbal Classic" (《神农本草经》) (Δυναστεία Dong Han, 25–220 μ.Χ.) κατέγραψε συστηματικά τη γεύση, την βιοδιαθεσιμότητα και τις ενδείξεις αποτελεσματικότητας της PR, και έθεσε τα θεμέλια για την κλινική εφαρμογή της. Το "Wai Tai Mi Yao" (《外台秘要》) (Tang Dynasty, 168–907 μ.Χ.) περιείχε περισσότερες από 6000 συνταγές, με τον αριθμό των συνταγών για PR να ανέρχεται στους 441.

Οι παιώνιες χρησιμοποιούνται ευρέως ως παραδοσιακά φυτικά φάρμακα στην Κορέα, την Ιαπωνία και την Μογγολία (Li et al., 2011; Tsukamoto et al., 2014; Jeong et al., 2015; Gendaram et al., 2017; Zhou et al., 2019; Kim et al., 2020).

Παρακάτω παρουσιάζεται ένας πίνακα με τις αντίστοιχες ενδείξεις της *Paeoniae radix alba* και *Paeoniae radix rubra* σύμφωνα με την Φαρμακοποιία της Λαϊκής Δημοκρατίας της Κίνας (εκδ. 2010)

Πίνακας 3: ενδείξεις της *Paeoniae radix alba* και *Paeoniae radix rubra*

<i>Paeoniae radix alba</i> (<i>P. lactiflora</i> Pallas)	<i>Paeoniae radix rubra</i> (<i>P. veitchii</i> Lynch)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Αναιμία ▪ Ωχρότητα δέρματος ▪ Ξαφνική εφίδρωση ▪ Νυχτερινή εφίδρωση ▪ Υποχονδριακό πόνο ▪ Κοιλιακό πόνο ▪ Σπασμοί και πόνοι των άκρων ▪ Κεφαλαλγία και ναυτία ▪ Διαταραχές της έμμηνου ρύσεως 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ «Θερμές τοξίνες» που προκαλούν ωχρές κηλίδες ▪ Αιματέμεση και αιμορραγία ▪ Κόκκινα, επώδυνα και πρησμένα μάτια ▪ Αμηνόρροια και δυσμηνόρροια ▪ Κοιλιακό πόνο ▪ Τραύματα από πτώση ▪ Πρησμένο απόστημα ▪ Πληγές και έλκη

Επιπλέον, η *Paeoniae radix alba* σύμφωνα με τη μονογραφία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 1999) κατατάσσεται ως αναλγητική, αντιφλεγμονώδης και αντισπασμωδική για τη θεραπεία αμηνόρροιας, δυσμηνόρροιας, στηθάγχης, κεφαλαλγίας, ιλίγγου καθώς και για άνοια, κατάθλιψη, ηπατικές παθήσεις, αλλεργίες και μυϊκές κράμπες.

Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (European Medicines Agency, EMA) κατέληξε σε αρνητική Μονογραφία (Public Statement) για τις δύο ρίζες, καθώς το χρονικό διάστημα της παραδοσιακής τους χρήσης εκτός ΕΕ είναι πολύ περισσότερο από τα 30 χρόνια που απαιτούνται (με έμφαση στη Κίνα), αλλά εντός της ΕΕ δεν πληροί τα 15 έτη όπως απαιτείται από τη κατευθυντήρια Οδηγία 24/EC/2004 συνεπώς δεν έχουν συγκεντρωθεί επαρκή στοιχεία αποτελεσματικότητας και ασφάλειας.

1.9.2 Φαρμακολογικές δράσεις ειδών *Paeonia*.

Αντιφλεγμονώδης και ανοσορρυθμιστική δράση

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η δραστηριότητα των ριζών παιώνιας οφείλεται στα TGP, εκ των οποίων μια σημαντική βιολογική δράση είναι η αντιφλεγμονώδης. Η ομάδα των Hi *et al.*, (2011) παρατήρησε σε ζωικά μοντέλα πόνου τόσο οξείας όσο και υποξείας φλεγμονής τα αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα των TGP. Βάση αυτών των αποτελεσμάτων φαίνεται ότι τα TGP αναστέλλουν την παραγωγή προσταγλανδίνης E2, λευκοτριενίου B4 και μονοξειδίου του αζώτου και καταστέλλουν την αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου. Επιπλέον, μελέτες *In vitro* και *In vivo* απέδειξαν την προστατευτική δράση των TGP στα κύτταρα έναντι του οξειδωτικού στρες. *In vitro*, παρατηρήθηκε διπλή δράση των TGP στον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων, αφενός μέσω της διαφοροποίησης των Th / Ts λεμφοκυττάρων και αφετέρου μέσω της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτοκινών και αντισωμάτων. *In vivo*, οι TGP βρέθηκε ότι αναστέλλουν την υπερευαισθησία καθυστερούμενου τύπου σε ανοσοδιεγερμένους ποντικούς και ενίσχυσε την υπερευαισθησία καθυστερημένου τύπου σε ανοσοκατασταλμένους ποντικούς. Τα ευεργετικά αποτελέσματα των TGP στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας επαληθεύθηκαν με τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των TGP ήταν κυρίως διαταραχές της γαστρεντερικής οδού, με κυριότερη την ήπια διάρροια.

Η αντιφλεγμονώδης δράση των ολιγομερών ρεσβερατρόλης (suffruticosol B, suffruticosol A, trans-ε-viniferin, trans-gnetin H, και cis-suffruticosol D) από το εκχύλισμα σπερμάτων *Peaonia lactiflora* αξιολογήθηκε με την *in vitro* και *in vivo* μελέτη των Ryu *et al.* (2015). *In vitro*, η suffruticosol A έδειξε ισχυρά επίπεδα αναστολής στην έκφραση παραγωγής NO, iNOS

και προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (TNF- α , IL-6 και IL-1 β). Επιπρόσθετα *in vivo* πάλι η ίδια ένωση παρουσίασε σημαντική καταστολή του αυξημένου αριθμού φλεγμονωδών κυττάρων, της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και της παραγωγής Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), γνωστές και ως «ελεύθερες ρίζες» στους αεραγωγούς ποντικών στα οποία ο καπνός των τσιγάρων και η έκθεση σε LPS (Lysophosphatidylcholine) χρησιμοποιήθηκαν ως προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα.

Αντιοξειδωτική δράση

Το έλαιο σπερμάτων παιώνιας (PSO) είναι πλούσιο σε α -λινολενικό οξύ (ALA) και γ -τοκοφερόλη ενώ έχει χαμηλή αναλογία n-6 σε n-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Μια *in vitro* μελέτη έδειξε ότι το PSO είναι ισχυρότερος σαρωτής ελεύθερων ριζών σε σχέση με το εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και μια μέτρια πρόσληψη σε καθημερινή βάση επέδειξε σημαντική προστασία έναντι διαφόρων οξειδωτικών βλαβών (Yang *et al.*, 2017).

Εκτενής είναι και οι μελέτες που αφορούν την αντιοξειδωτική δράση της ρεσβερατρόλης και των ολιγομερών της (Murcia *et al.*, 2001; Ovesna *et al.*, 2006; Kim *et al.* 2002b). Οι Kim *et al.* (2002b) απομόνωσαν, ταυτοποίησαν και εξέτασαν την αντιοξειδωτική ικανότητα επτά στυλβενίων (cis-ε-viniferin, trans-resveratrol, trans-resveratrol-4'-O- β -D-glucopyranoside, trans-ε-viniferin, gnetin H, και suffruticosol A και B) από σπέρματα της *Paeonia lactiflora*. Η δραστηριότητα αξιολογήθηκε έναντι της αποικοδόμησης 2-δεοξυριβόζης και υπεροξειδωσης μικροσωμικού λιπιδίου ήπατος αρουραίου που προκλήθηκε από την ρίζα υδροξυλίου που δημιουργήθηκε μέσω αντίδρασης τύπου Fenton. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα στυλβένια αναστέλλουν σημαντικά την αποικοδόμηση της 2-δεοξυριβόζης με δόσοεξαρτώμενο τρόπο με την trans-ε-viniferin και την gnetin H να έχουν ενισχυμένη ανασταλτική δραστηριότητα. Επιπλέον, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα των τριμερών ρεσβερατρόλης, δηλαδή της gnetin H και των suffruticosol A και B, με δύο πυρήνες ρεσβερατρόλης ήταν υψηλότερη από αυτή της ρεσβερατρόλης, επιβεβαιώνοντας προηγούμενες παρατηρήσεις ότι η παρουσία μίας 4-υδροξυομάδας στο δακτύλιο B και η meta-υδροξυ-δομή στον δακτύλιο A ήταν απαραίτητες για την αντιοξειδωτική δράση των στυλβενίων.

Καρδιοπροστατευτική δράση

Έχει αναφερθεί η καρδιοπροστατευτική δράση του ριζώματος της *Paeonia emodi* καθώς και της ρίζας της *P. lactiflora*. Συγκεκριμένα το μεθανολικό εκχύλισμα της *Paeonia emodi* αναμείχθηκε με ίση ποσότητα οξικού αιθυλεστέρα και μετά την κατανομή των συστατικών στις δύο στοιβάδες, το κλάσμα του οξικού αιθυλεστέρα (EA) παρουσίασε σημαντική καρδιοπροστατευτική δραστηριότητα. Η ανάλυση GC-MS επιβεβαίωσε την παρουσία ενώσεων (αισκουλετίνη, μεθυλ-ευγενόλη, ισοβανιλικό οξύ) που μπορεί να παίζουν ρόλο στην καρδιοπροστασία. (Ibrar *et al.*, 2019)

Το αιθανολικό εκχύλισμα της ρίζας της *P. lactiflora* παρουσιάζει δόσοεξαρτώμενη καρδιοπροστατευτική δράση και είναι ένας αποτελεσματικός παράγοντας για την προστασία από το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (Acute Myocardial Infarction, AMI) (Mo *et al.*, 2011)

Αντιμικροβιακή δράση

Το αιθανολικό εκχύλισμα της ρίζας της *P. lactiflora* εμφάνισε *in vivo* αντική δράση έναντι του ιού της γρίπης (H1N1), έναντι διαφόρων στελεχών του ιού της γρίπης influenza A και έναντι κλινικών στελεχών ανθεκτικών στο αντικό φάρμακο oseltamivir. Το εκχύλισμα παρεμπόδισε τη σύνθεση τόσο του ιικού RNA όσο και της πρωτεΐνης στα διάφορα στάδια του κύκλου αντιγραφής του ιού. (Ho *et al.*, 2014)

Οι Sharma *et al.* (2018) μελέτησαν τα εκχυλίσματα των φύλλων, των σπερμάτων και των ριζών της *P. emodi* ως προς την αντιμυκητιασική τους δραστηριότητα έναντι στελεχών: *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. tropicalis* και *C. Parapsilosis*. Τα αποτελέσματα

έδειξαν ότι το μεθανολικό εκχύλισμα των σπερμάτων είναι το πιο ισχυρό κατά *C. albicans* και *C. glabrata*.

Οι συνδυαστικές θεραπείες αποτελούν μια στρατηγική για αντιμικροβιακή δράση και μείωση της εμφάνισης ανθεκτικών σε φάρμακα στελεχών. Για το λόγο αυτό στην συγκεκριμένη έρευνα έγινε *in vitro* έλεγχος της συνέργειας μεταξύ του μεθανολικού εκχυλίσματος των σπερμάτων και τριών αντιμυκητιασικών παραγόντων, των αμοτερικίνης B, νυστατίνης και φλουκοναζόλης. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η συγχρόνηση MSE προκαλεί ενίσχυση της δραστηριότητας της αμοτερικίνης B κατά 3 φορές, της νυστατίνης κατά 4 φορές και της φλουκοναζόλης κατά 4 φορές. Επομένως, ο συνδυασμός MSE με τα τρία αυτά αντιμυκητιασικά φάρμακα αντιπροσωπεύει μια προσέγγιση για την καταπολέμηση των ανθεκτικών στελεχών μυκητών για την θεραπεία της λοίμωξης από διάφορα είδη *Candida*.

Επιπρόσθετα αναφέρεται η αντιβακτηριακή δράση ακετονικού εκχυλίσματος σπερμάτων *P. rockii* που παρουσίασε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση έναντι Gram- θετικά βακτηρίων. Η δράση αποδόθηκε στα παράγωγα στιλβενίου (*rockiol C*, *gnetin H*, *suffruticosol A*, *suffruticosol B* και *suffruticosol C*) τα οποία απομονώθηκαν στη συνέχεια από το εκχύλισμα (Liu *et al.*, 2014).

Τέλος η ερευνητική ομάδα Papandreou *et al.*, (2002) πραγματοποίησε μια συγκριτική μελέτη των πτητικών συστατικών μαζί με τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες στα άνθη τριών ελληνικών ειδών: των *P. clusii*, *P. mascula* και *P. parnassica*. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τα είδη εμφάνισαν κοινά συστατικά σε παρόμοιες % αναλογίες με την σαλικυλαλδεΐδη να αποτελεί το βασικό συστατικό μαζί με παιωνόλη, σαλικυλικό μεθυλεστέρα και βενζοϊκό οξύ όπως φαίνεται στο παρών πίνακα.

Volatile constituents (%) of the three *Paonia* taxa

Compound	<i>P. clusii</i>	<i>P. mascula</i>	<i>P. parnassica</i>	R.I.
1 Nonane	0.7	0.7	0.7	900
2 Decane	1.7	1.7	0.9	1000
3 Salicylaldehyde	32.6	74.7	58.4	1041
4 Undecane	0.3	0.6	0.4	1100
5 Nopinone	3.1	2.3	-	1137
6 2-Hydroxy-phenylethanone	0.9	-	-	1160
7 Benzoic acid	7.7	-	-	1178
8 Myrtanal	6.7	4.0	6.1	1180
9 Methyl salicylate	Tr	5.2	24.7	1190
10 Thymol	1.4	1.4	1.1	1290
11 Perillyl alcohol	0.6	-	-	1295
12 Paeonol	32.6	-	2.1	1438
Total identified	88.1	90.6	94.4	

Compounds listed in order of elution from a HP-5 MS column. Tr, trace amount detected.

Εικόνα 13: Πίνακας με τα πτητικά συστατικά τριών ελληνικών ειδών παιώνια που μελετήθηκαν από τους Papandreou *et al.*, 2002.

Η *P. clusii* αποδείχθηκαν δραστική έναντι όλων των μικροοργανισμών που εξετάστηκαν και ειδικά έναντι των παθογόνων μυκήτων γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη παιωνόλης, η οποία αναγνωρίστηκε σε υψηλό ποσοστό (32.57 %) μόνο στο συγκεκριμένο είδος. Οι *P. parnassica* και *P. mascula* έδειξαν ασθενή δραστικότητα έναντι των Gram (+) βακτηρίων, μέτρια έναντι των Gram (-) και ισχυρότερη έναντι των μυκήτων. Το στέλεχος *P. aeruginosa* εμφανίστηκε ως το πλέον ανθεκτικό από τα βακτήρια που εξετάστηκαν έναντι τόσο των πτητικών συστατικών της *P. parnassica* όσο και της *P. mascula*, ενώ η τελευταία ήταν επίσης αδρανής έναντι του *E. coli*.

Τα αποτελέσματα αυτά ήταν σε συμφωνία με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας, καθώς η σαλικυλαλδεΐδη είναι γνωστό ότι έχει σημαντική δραστικότητα έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων *Fusarium sambucinum* (Vaughn *et al.*, 1994).

Table 2
Antimicrobial activities (MIC mg/ml) of the volatile constituents of the roots of the three *Paeonia* taxa

Samples	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>
<i>P. clusii</i> subsp. <i>Clusii</i>	7.51	6.87	4.32	3.86	3.31	2.53	2.1	1.65	1.38
<i>P. parnassica</i>	9.65	8.11	–	5.23	5.32	4.23	3.43	2.77	1.90
<i>P. mascula</i> subsp. <i>Hellenica</i>	9.30	7.75	–	–	5.65	–	3.5	2.85	1.97
Intraconazole	–	–	–	–	–	–	1×10^{-3}	0.1×10^{-3}	1×10^{-3}
Amphotericin B	–	–	–	–	–	–	1×10^{-3}	0.5×10^{-3}	0.4×10^{-3}
Netilmicin	4×10^{-3}	4×10^{-3}	8.8×10^{-3}	8×10^{-3}	8×10^{-3}	10×10^{-3}	–	–	–
Amoxicillin	2×10^{-3}	2×10^{-3}	2.4×10^{-3}	2.8×10^{-3}	2.2×10^{-3}	2×10^{-3}	–	–	–
Clavulanic acid	0.5×10^{-3}	0.5×10^{-3}	1×10^{-3}	1.6×10^{-3}	1×10^{-3}	1.2×10^{-3}	–	–	–

Εικόνα 14: Πίνακας με την αντιμικροβιακή δραστηριότητα τριών ελληνικών ειδών παιώνιας που μελετήθηκαν από τους Papandreou et al., 2002

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται συνοπτικά μερικές από τις φαρμακολογικές δράσεις των ειδών *Paeonia*.

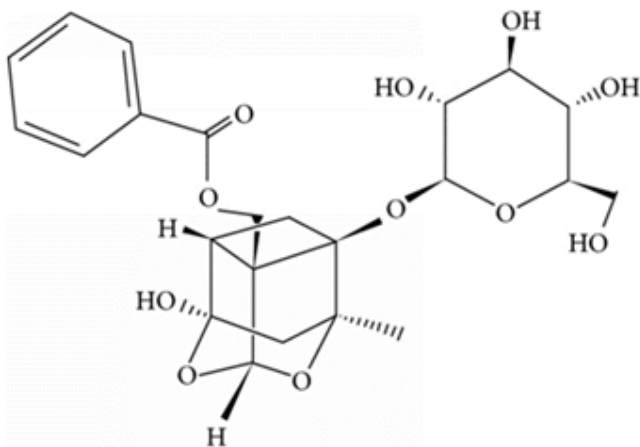
Πίνακας 4: φαρμακολογικές δράσεις των ειδών *Paeonia*.

Είδη <i>Paeonia</i>	Τμήμα φυτού	Δραστική ουσία/ εκχύλισμα	Φαρμακολογική δράση	Βιβλιογραφία
<i>P. arietina</i>	Υπέργειο μέρος	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική δράση	Sut et al., 2019
		Εκχύλισμα οξικού αιθυλεστερά	Έλεγχος υπεργλυκαιμίας	
<i>P. clusii</i>	Άνθη	Paeonol	Αντιμικροβιακή δράση	Papandreou et al., 2002
<i>P. daurica</i>	Ρίζες	Paeonoside & Paeonol	Αντιφλεγμονώδης δράση	Yesilada et al., 1992
		Paeoniflorigenone	Αντιμικροβιακή δράση	Demir et al., 2019
<i>P. daurica ssp. macrophylla</i>	Ρίζες	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική δράση	Sadati Lamardi et al., 2018
<i>P. daurica ssp. tomentosa</i>	Καρπός	Έλαιο	Αντιβακτηριδιακή δράση	Fikejvar et al., 2019
<i>P. emodi</i>	Σπέρματα	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιμυκητιασική δράση	Sharm et al., 2018
	Ρίζες	Αιθανολικό εκχύλισμα	Αντιεπιληπτική % A Αντιαγγολυτική δράση	Nizami & Jafri et al., 2005
		Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιμικροβιακή δράση	Ullah et al., 2011
			Καρδιοπροστατευτική δράση	Ibrar et al., 2019
Αλκοολικό & Υδροαλκοολικό εκχύλισμα	Νεφροπροστατευτική δράση	Kishore et al., 2017		
<i>P. intermedia</i>	Ρίζες	Intermedia C	Αντιφλεγμονώδης δράση	Yu et al., 2019
<i>P. kesrounansis</i>	Υπέργειο μέρος	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική δράση	Sut et al., 2019
		Εκχύλισμα οξικού αιθυλεστερά	Έλεγχος υπεργλυκαιμίας	
<i>P. lactiflora</i>	Σπέρματα	Έλαιο	Αντιδιαβητική δράση	Su et al., 2015
		Suffruticosol A	Αντιφλεγμονώδης δράση	Ryu et al., 2015
		Στιλβένια	Αντιοξειδωτική	Kim et al., 2002

			δράση	
			Αντιδιαβητική δράση	Zhang <i>et al.</i> , 2019
			Νευροπροστατευτική δράση	Choi <i>et al.</i> , 2011
	Ρίζες	Υδατικό/ αιθανολικό εκχύλισμα	Αντιφλεγμονώδης δράση	He <i>et al.</i> , 2011
		Υδατικό/ αιθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική & Αντιβακτηριδιακή δράση	Zhou <i>et al.</i> , 2019
		TGP	Αντιασθματική δράση	Shou <i>et al.</i> , 2019
			Αντικαταθλιπτική δράση	Mao <i>et al.</i> , 2009
			Θεραπευτική δράση έναντι αυτοάνοσων	Jiang <i>et al.</i> , 2020
			Ηπατοπροστατευτική % Αντιδιαβητική δράση	Xia <i>et al.</i> , 2017
			Αντιφωριασική δράση	Pang <i>et al.</i> , 2018
			Θεραπευτική δράση έναντι στεφανιαίας νοσου	Parker <i>et al.</i> , 2016
			Αντιφλεγμονώδης δράση	
			Αντιδιαβητική δράση	
			Αντιοξειδωτική δράση	He & Dai 2011
			Αναλγητική δράση	
		Ανοσορυθμιστική δράση		
		Galloylpaconiflorin	Αντιοξειδωτική δράση	Yao <i>et al.</i> , 2013
		Paeonol	Θεραπεία καρδιαγγειακών διαταραχών	Nizamutdinova <i>et al.</i> , 2007
		Paeonol & Paeoniflorin	Αντιαλλεργική δράση	Lee <i>et al.</i> , 2008
	6'-O-β-D-glycopyranosylalbiflorin	Πρόληψη οστεοπόρωσης	Yen <i>et al.</i> , 2007	
	Αιθανολικό εκχύλισμα	Καρδιοπροστατευτική δράση	Mo <i>et al.</i> , 2011	
		Αντιική δράση	Ho <i>et al.</i> , 2014	
<i>P. mascula ssp hellenica</i>	Άνθη	Salicylaldehyde	Αντιμυκητιασική	Papandreou <i>et al.</i> , 2002
	Σπέρματα	Κάλλος	Θεραπευτική δράση έναντι δερματικών παθήσεων	Letsiou <i>et al.</i> , 2020
<i>P. officinalis</i>	Σπέρματα	Resveratrolside	Θεραπευτική δράση έναντι δερματικών παθήσεων	Rainer <i>et al.</i> , 2019
<i>P. ostii</i>	Σπέρματα	Στιλβένια	Αντικαρκινική δράση	Tian <i>et al.</i> , 2020

	Σπέρματα	Υδατικό/ μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική δράση	Peng <i>et al.</i> , 2020
<i>P. parnassica</i>	Άνθη	Salicylaldehyde	Αντιμυκητιασική	Papandreou <i>et al.</i> , 2002
	Ρίζες και Υπέργειο μέρος	Υδατικό/ μεθανολικό εκχύλισμα	Αναστολή ακετυλοχολινεστεράσης & υαλουρονιδάσης	Michalea <i>et al.</i> , 2020
<i>P. rockii</i>	Καρπός	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική & Αντιμικροβιακή δράση	Bai <i>et al.</i> , 2020
	Σπέρματα	Ακετονικό εκχύλισμα	Αντιβακτηριδιακή δράση	Liu <i>et al.</i> , 2017
		Στιλβένια	Αντικαρκινική δράση	Yang <i>et al.</i> , 2019
	Υπέργειο μέρος	Μεθανολικό εκχύλισμα	Αντιοξειδωτική δράση	Bao <i>et al.</i> , 2018
<i>P. suffruticosa</i>	Σπέρματα	Έλαιο	Αντιοξειδωτική δράση	Yang <i>et al.</i> , 2017
		Cis- και Trans- gnetin H	Αντικαρκινική δράση	Gao <i>et al.</i> , 2015
		Στιλβένια	Νευροπροστατευτική δράση	Liu <i>et al.</i> , 2019
	Ρίζες	Paeonol	Αντιδιαβητική δράση	Liu <i>et al.</i> , 2013
			Προστασία μνήμης	Su <i>et al.</i> , 2012
<i>P. veichii</i>	Σπέρματα	Στιλβένια	Αντιοξειδωτική & Αντικαρκινική δράση	Zhang <i>et al.</i> , 2018
	Ρίζες	Eugeniin	Αντικαρκινική δράση	Parker <i>et al.</i> , 2016
			Αντιική Δράση	

1.9.1 Φαρμακολογικές δράσεις παιωνιφλορίνης



Εικόνα 15: Μοριακή δομή παιωνιφλορίνης

Η παιωνιφλορίνη όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο αποτελεί τον χημειοταξινομικό δείκτη του γένους *Paeonia* και κατ' επέκταση της οικογένειας Paeoniaceae. Είναι η ένωση με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα στα TGP και σε αυτήν οφείλονται πολλές από τις φαρμακολογικές επιδράσεις που παρατηρούνται τόσο σε *in vitro* όσο και *in vivo* μελέτες των ριζών παιώνιας. Η διαπίστωση αυτή οδήγησε σε περαιτέρω μελέτες για τις βιολογικές δράσεις της καθαρής παιωνιφλορίνης, σημαντικότερες εκ των οποίων είναι οι ακόλουθες:

Αντιφλεγμονώδης και Ανοσορυθμιστική δράση

Οι αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικές επιδράσεις της παιωνιφλορίνης σε λεμφοκύτταρα μεσεντερικού λεμφαδένα (MLN) και οι υποκείμενοι μηχανισμοί διερευνήθηκαν σε μοντέλο ανοσοενισχυτικής αρθρίτιδας (AA) αρουραίου. Η παιωνιφλορίνη μείωσε σημαντικά τα αποτελέσματα της αρθρίτιδας και του δευτεροπαθούς οπίσθιου πέλματος, την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων MLN (Wu *et al.*, 2007).

Η οστεοαρθρίτιδα (OA) είναι ένας βασικός τύπος αρθρίτιδας και η θεραπεία με παιωνιφλορίνη έδειξε ότι καταστέλλει τους επαγόμενους φλεγμονώδεις παράγοντες, σε χονδροκύτταρα ασθενών με OA.

Καρδιοπροστατευτική δράση

Έρευνες για τις βιολογικές δράσεις της παιωνιφλορίνης εμφανίζουν αξιόλογα αποτελέσματα ως προς την καρδιοπροστατευτική της δράση (Chen *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2017). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των Chen *et al.* (2015) η παιωνιφλορίνη ήταν σε θέση να μειώσει σημαντικά το μέγεθος του εμφράγματος του μυοκαρδίου σε μοντέλα αρουραίων με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου. Ακόμη ανέστειλε τις δραστηριότητες και τα επίπεδα έκφρασης πρωτεϊνών της iNOS που εμπλέκεται στη σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου το οποίο παίζει τον ρυθμιστικό ρόλο στο καρδιαγγειακό.

Κυτταροτοξική δράση

Σε μια *in vitro* ερευνητική εργασία των Jin *et al.* (2017) η παιωνιφλορίνη αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε οστεοσάρκωμα κατά τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση και τον χρόνο. Η παιωνιφλορίνη φάνηκε ότι αναστέλλει στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου ρυθμίζοντας τα επίπεδα έκφρασης πρωτεϊνών. Επιπλέον, επάγει την απόπτωση σε κυτταρικές σειρές ανθρώπινου οστεοσαρκώματος ρυθμίζοντας την έκφραση των Bcl-2, Bcl-XL, Bax, Bid, PARP και κασπάσης-3.

Επιπρόσθετα οι Zhang *et al.* (2018) σε *in vivo* μελέτη τους υποδείκνυαν ότι η παιωνιφλορίνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία του καρκίνου του παχέος εντέρου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τους η παιωνιφλορίνη αναστέλλει *in vivo* την εισβολή και την μετάσταση των κυττάρων του ορθοκολικού καρκίνου (CRC), που είναι γνωστός και ως καρκίνος του παχέος εντέρου

Αντικαταθλιπτική δράση

Οι Qiu *et al.* (2013) αξιολογήσαν τις αντικαταθλιπτικές επιδράσεις της paeoniflorin σε ποντίκια, καθώς και τους ενεργούς μηχανισμούς της. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση παιωνιφλορίνης μείωσε σημαντικά τη διάρκεια της ακινησίας σε δοκιμές αναγκαστικής κολύμβησης και αναστολής της ουράς που αποτελούν δύο δοκιμασίες ελέγχου αντικαταθλιπτικής δραστηριότητας. Επιπλέον, η παιωνιφλορίνη ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από ρεζερπίνη απόπτωση, την ακινησία και την υποθερμία. Η παιωνιφλορίνη επίσης αύξησε σημαντικά τα επίπεδα της σεροτονίνης (5-HT) και του μεταβολίτη της 5-υδροξύινδολοξικού οξέος (5-HIAA) στον υπόκαμπο. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η αυτορρυθμιση των σεροτονεργικών συστημάτων μπορεί να είναι ένας σημαντικός μηχανισμός για τις αντικαταθλιπτικές επιδράσεις της παιωνιφλορίνης στα ποντίκια.

Αντιψωριασική δράση

Η ψωρίαση είναι μια κοινή χρόνια φλεγμονώδης νόσος που προκαλείται από το ανοσοποιητικό. Είναι πολύ γνωστό ότι τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα T-βοηθητικά 1 (Th1) / T-βοηθητικά κύτταρα 17 (Th17) παίζουν σημαντικούς ρόλους στις δερματικές βλάβες προκαλώντας φλεγμονή. Μία μελέτη των Sun *et al.* (2015) έδειξε ότι η παιωνιφλορίνη

ανακουφίζει τις ψωριασικές δερματικές βλάβες αναστέλλοντας τη φλεγμονή. Στη μελέτη έγινε χρήση μοντέλου ποντικού στο οποίο προκλήθηκε ψωρίαση από imiquimod (IMQ) και σύμφωνα με τις αναλύσεις η παιωνιφλορίνη μείωσε τον αριθμό των μακροφάγων F4 / 80⁺ CD68⁺ και τη σχετική παραγωγή κυτοκίνης (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12 και συνθετάση νιτρικού οξειδίου (iNOS) στο δέρμα των ποντικών. Επιπλέον, κατάστειλε τον αριθμό των ουδετερόφιλων CD11b⁺ Gr-1⁺ και την έκφραση της φλεγμονώδους πρωτεΐνης-2 του μακροφάγου (MIP-2, ένα αντίστοιχο ανθρώπινο IL-8, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη στρατολόγηση ουδετερόφιλων σε ποντίκια). Τέλος, το PF ρύθμιζε επίσης την έκφραση κυτοκίνης που σχετίζεται με Th1 και Th17.

Πίνακας 5: Φαρμακολογικές δράσεις παιωνιφλορίνης

Φαρμακολογική δράση	Βιβλιογραφία
Αντικαρκινική δράση	Zhang <i>et al.</i> , 2016; Jin <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> 2018; Xiang <i>et al.</i> , 2019
Αντικαταθλιπτική δράση	Qiu <i>et al.</i> , 2013; Hu <i>et al.</i> , 2019
Αντιμικροβιακή δράση	Qian <i>et al.</i> , 2019
Αντιφλεγμονώδης & Ανοσορρυθμιστική δράση	Wu <i>et al.</i> , 2007; Zhai <i>et al.</i> , 2016; Tu <i>et al.</i> , 2019; Xin <i>et al.</i> , 2019; Zhou <i>et al.</i> , 2020
Αντιψωριασική δράση	Sun <i>et al.</i> , 2015; Yu <i>et al.</i> , 2017
Καρδιοπροστατευτική δράση	Chen <i>et al.</i> , 2015; Guo <i>et al.</i> , 2017
Θεραπευτική δράση έναντι οστεοσαρκώματος	Jin <i>et al.</i> , 2018
Θεραπευτική δράση έναντι γλοιοβλαστώματος	Yu <i>et al.</i> , 2019
Θεραπευτική δράση έναντι αρθρίτιδας	Fei <i>et al.</i> , 2019

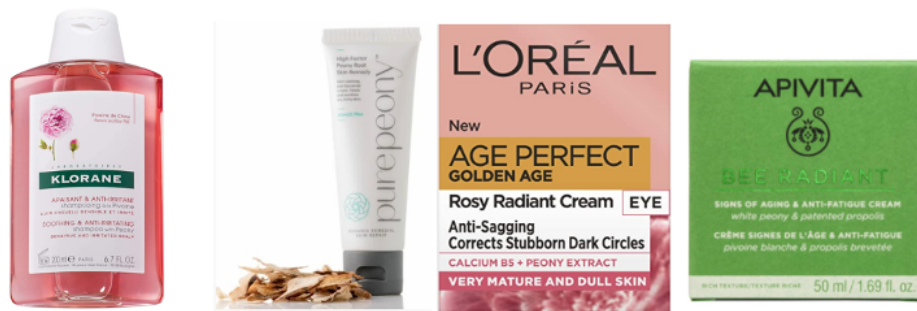
1.10 Εμπορικά σκευάσματα με παιώνια

Τα σκευάσματα με παιώνια που κυκλοφορούν στην αγορά είναι κυρίως συμπληρώματα διατροφής που περιέχουν εκχύλισμα της ρίζας του φυτού (κυρίως τη λευκή ρίζα, βλ. κεφ. 1.9) είτε με τη μορφή σκόνης και κάψουλας είτε σε υγρή μορφή και προορίζονται για βελτίωση του ανοσοποιητικού συστήματος και ανακούφιση προεμμηνορροϊκών συμπτωμάτων (συνδρόμου).



Εικόνα 16: Συμπληρώματα σε μορφή κάψουλας, σκόνης και υγρή μορφή με εκχύλισμα λευκής ρίζας παιώνιας (*P. lactiflora*)

Κυκλοφορούν επίσης σαμπουάν και προϊόντα ατομικής φροντίδας για το τριχωτό της κεφαλής με καταπραϊντική έναντι ερεθισμών δράση. Υπάρχει και ολόκληρη σειρά προϊόντων βασισμένη στο εκχύλισμα παιώνιας που προορίζεται για ευαίσθητα δέρματα που ταλαιπωρούνται από δερματικές νόσους όπως: ψωρίαση και έκζεμα, προσφέροντας ενυδάτωση και περιποίηση της επιδερμίδας. Δεν είναι λίγα και τα προϊόντα που κυκλοφορούν και περιέχουν εκχυλίσματα του φυτού με αντιγηραντικές ιδιότητες προσφέροντας ενυδάτωση και αναζωογόνηση της ώριμης επιδερμίδας, όπως: οροί και μάσκες νυκτός που χρησιμοποιούνται για λεύκανση του δέρματος και απαλλαγή από τα σημάδια και τις δυσχρωμίες που πολλές φορές προκαλούνται από την έκθεση στον ήλιο αλλά και από ακμή στις νεανικές επιδερμίδες.



Εικόνα 17: Σαμπουάν και κρέμες που περιέχουν εκχύλισμα παιώνιας



Εικόνα 18: προϊόντα παιώνιας με λευκαντικές ιδιότητες

2 Πειραματικό μέρος

Η πειραματική πορεία για τη φυτοχημική μελέτη της *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. καθώς και τα όργανα και οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω.

2.1 Όργανα & Τεχνικές Εκχύλισης, Διαχωρισμού και Απομόνωσης Δευτερογενών Μεταβολιτών

2.1.1 Εκχύλιση φυτικού υλικού

Το φυτικό υλικό αφού διαχωρίστηκε σε μαύρα γόνιμα σπέρματα και κόκκινα άγονα σπέρματα, κονιοποιήθηκε και εκχυλίστηκε με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας: πεντάνιο, διχλωρομεθάνιο, μεθανόλη και νερό (Κεφ. 2.2.2).

2.1.2 Συμπύκνωση υπό κενό

Συμπύκνωση υπό κενό

Όλα τα εκχυλίσματα και τα κλάσματα που εκλούστηκαν από τις στήλες συμπυκνώθηκαν με εξάτμιση μέχρι ξηρού στον συμπυκνωτή κενού Rotavapor Büchi R-200 με θερμαινόμενο υδατόλουτρο Büchi Heating bath B-490 στους 35-50°C.

Λυοφιλοποίηση

Τα υδατικά δείγματα αφού καταψύχθηκαν λυοφιλοποιήθηκαν (εξάχνωση υπό κενό σε θερμοκρασία -50 °C) σε λυοφιλοποιητή εταιρίας Zirbus, VaCo 5 series σε δύο στάδια ψύξης. Το υγρό ψύξης που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Isceon 89.

2.1.3 Χρωματογραφικές τεχνικές

2.1.3.1 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC) :

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin-Layer Chromatography, TLC) είναι μια μέθοδος υγρής χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό μειγμάτων δευτερογενών μεταβολιτών. Μπορεί να είναι αναλυτική ή παρασκευαστική. Στην παρούσα πειραματική πορεία χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω τύποι TLC:

- **Για αναλυτική χρωματογραφία πλάκες αλουμινίου με επίστρωση:**
 - i) Διοξειδίου του πυριτίου (silica gel) με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck), διαστάσεων 20 x 20 cm.
 - ii) Διοξειδίου του πυριτίου αντίστροφης φάσης RP-18 με δείκτη φθορισμού (silica gel RP-18 F₂₅₄S, Merck), διαστάσεων 20 x 20 cm.
 - iii) Κυτταρίνης (cellulose) χωρίς δείκτη φθορισμού, διαστάσεων 20 x 20 cm.

- **Για παρασκευαστική χρωματογραφία γυάλινες πλάκες με επίστρωση:**
 - i) Διοξειδίου του πυριτίου (silica gel) με δείκτη φθορισμού (Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck), διαστάσεων 20 x 20 cm

Αντιδραστήρια εμφάνισης χρωματογραφημάτων TLC

Οι πλάκες TLC αφού αναπτύχθηκαν σε επιλεγμένο σύστημα διαλυτών και έγινε έλεγχος τους σε λάμπα υπεριώδους-ορατού φωτός (UV-Vis) σε μήκη κύματος 254nm και 366nm,

ακολούθησε ο ψεκασμός τους με τα παρακάτω αντιδραστήρια εμφάνισης και σύντομη θέρμανση τους στους 200-300 °C:

- Για τις πλάκες με διοξείδιο του πυριτίου (silica gel): διάλυμα θειικής βανιλίνης η οποία παρασκευάστηκε με ανάμιξη διαλύματος 5 g βανιλίνης (καθαρότητας 99%), διαλυμένης σε 95 mL MeOH, με διάλυμα 5 mL θειικού οξέος διαλυμένο σε 95 mL MeOH σε αναλογία 1:1.
- Για τις πλάκες κυτταρίνης (cellulose): διάλυμα Naturstoff (1% μεθανολικό διάλυμα συμπλόκου της αιθανολαμίνης του διφαινυλο-βορικού οξέος). Μετα τη θέρμανση ακολουθεί έλεγχος σε λάμπα υπεριώδους-ορατού φωτός.

2.1.3.2 Υγρή Χρωματογραφία στήλης (CC)

Οι χρωματογραφίες στήλης (Column Chromatography, CC) που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής:

Χρωματογραφία στήλης υπο κενό (Vacuum Liquid Chromatography VLC)

Στατική φάση γέλη διοξειδίου του πυριτίου, silica gel (Kieselgel 60 H Merck)

Υγρή χρωματογραφία Μέσης Πίεσης (MPLC)

Υγρή χρωματογραφία Μέσης Πίεσης (Medium Pressure Liquid Chromatography) σε σύστημα Buchi C-615 και αντλία 605, με στήλη Buchi (33 cm x 1.5 cm) γεμισμένη με γέλη οξειδίου του πυριτίου αντιστρόφου φάσεως RP-18. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν μίγματα H₂O:MeOH μειούμενης πολικότητας, με ταχύτητα ροής 3ml/min.

Υγρή Χρωματογραφία στήλης ανοιχτού τύπου

- i) Ανοιχτού τύπου με στατική φάση γέλη διοξειδίου του πυριτίου silica gel (Flash).
- ii) Ανοιχτού τύπου με στατική φάση πολυδρόζυπροπυλιωμένη δεξτράνη, Sephadex LH-20 (25-100 μm, Pharmacia).

2.1.3.3 Διαλύτες

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: κυκλοεξάνιο (C-hex), διχλωρομεθάνιο (CH₂Cl₂), χλωροφόρμιο (CHCl₃), οξικός αιθυλεστέρας (EtOAc), μεθανόλη (MeOH), απεσταγμένοι ή καθαρότητας HPLC, νερό (H₂O) και οξικό οξύ (AcOH). Δευτεριωμένοι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την φασματοσκοπία NMR: CDCl₃, CD₃OD, pyridine-d₅.

2.1.4 Όργανα & Τεχνικές Ταυτοποίησης Φυσικών Προϊόντων

2.1.4.1 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

Η λήψη των φασμάτων με σκοπό την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των μεταβολιτών πραγματοποιήθηκε με φάσματα ¹H-NMR, ¹³C-NMR καθώς και φάσματα δύο διαστάσεων COSY (Correlation Spectroscopy), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Coherence) και HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) που λήφθηκαν σε όργανο Bruker DRX 400 (400 MHz). Οι χημικές μετατοπίσεις δίνονται σε τιμές δ (ppm) με εσωτερικό πρότυπο TMS, ενώ οι σταθερές σύζευξης *J* σε Hz. Η πολλαπλότητα των κορυφών στα φάσματα ακολουθεί την εξής σειρά : s (μονή), brs (ευρεία απλή), d (διπλή), t (τριπλή), q (τετραπλή), quint. (πενταπλή), sept. (επταπλή) και m (πολλαπλή).

2.1.4.2 Αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS)

Η ταυτοποίηση των άπολων πτητικών συστατικών έγινε μέσω της τεχνικής της αέριας χρωματογραφίας συνδεδεμένης με φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography- Mass Spectrometry, GC-MS). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε αέριο χρωματογράφο Agilent

Tecnologies Gas Chromatograph 7820A, συνδεδεμένο με ένα σύστημα φασματογράφου μάζας Agilent Tecnologies 5977B, που λειτουργεί με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων (electron impact, EI) και με ενέργεια ιονισμού 70 eV. Ο αέριος χρωματογράφος είναι εξοπλισμένος με έναν split/splitless εγχυτήρα και τριχοειδή στήλη HP 5MS 30 m, με εσωτερική διάμετρο 0.25 mm και πάχος μεμβράνης 0.25 μm. Η θερμοκρασία στο θάλαμο εισαγωγής του δείγματος είναι 250°C και το φέρον αέριο είναι το He.

Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: αρχική θερμοκρασία της στήλης 60°C σταθερή για 5 min και με αύξηση 3°C/min φτάνει μέχρι τους 280°C, όπου παραμένει για 15 min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης είναι 93 λεπτά..

Οι ταυτοποιήσεις έγιναν με χρήση της βιβλιοθήκης Wiley275 σε συνδυασμό με βιβλιογραφικά δεδομένα.

2.1.4.3 Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME)

Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Headspace-Solid Phase Microextraction, SPME) αποτελεί μια ακόμα μέθοδος ταυτοποίησης πτητικών ενώσεων χωρίς την χρήση διαλυτών αλλά ειδικής ίνας που στην συνέχεια τοποθετείται σε GC-MS για την ανάλυση των ουσιών που προσροφήθηκαν στην ίνα. Οι ίνες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Supelco SPME fiber 100μm PDMS (polydimethylsiloxane coating)
- Supelco SPME fiber 75μm PDMS/ DVB (polydimethylsiloxane/ divinylbenzene coating)

Το πρωτόκολλο χρήσης της ίνας είναι :

1. Conditioning της ίνας στον Αέριο Χρωματογράφο στο θερμοκρασιακό πρόγραμμα που συστήνει η παραγωγός εταιρία (στην περίπτωση των ινών που χρησιμοποιήθηκαν είναι στους 250° C για 30 min)
2. Τοποθέτηση της ίνας στο Supelco Sample Vial που περιέχει το προς ανάλυση δείγμα με την χρήση του αντίστοιχου υποδοχέα συγκράτησης και τέλος
3. Τοποθέτηση της ίνας στον Αέριο Χρωματογράφο χρησιμοποιώντας το αντίστοιχο SPME Inlet guide και το κατάλληλο θερμοκρασιακό πρόγραμμα.

Η διαδικασία μικροεκχύλισης που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

1. Το δείγμα (500 mg απο κονιοποιημένα κόκκινα σπέρματα παιώνιας) βγαίνει από την κατάψυξη και αφήνεται για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου.
2. Στην συνέχεια τοποθετείται στο κατάλληλο φιαλίδιο (15 mL Supelco Sample Vial) και αφήνεται για 30 min σε κατάσταση ισορροπίας, σε θερμαντική πλάκα Carousel Stirring Hotplate στους 60° C.
3. Μετά το χρόνο ισορροπίας η ίνα εισέρχεται στο φιαλίδιο του δείγματος και το όλο σύστημα παραμένει σε θερμοκρασία 60° C για 30 min.
4. Έπειτα, η ίνα τοποθετείται στον Αέριο Χρωματογράφο που είναι συζευγμένος με φασματόμετρο μάζας (GC-MS) . Η αρχική θερμοκρασία της στήλης είναι 55° C για 2 min με αύξηση 5° C/min και φτάνει στους 240° C όπου παραμένει για 2 min. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης είναι 41 min.

Η ταυτοποίηση των ουσιών έγινε με σύγκριση του φάσματος μάζας κάθε ουσίας με αυτά της βιβλιοθήκης Wiley 275 και της βιβλιογραφίας.

2.2 Αποτελέσματα φυτοχημικών μελετών

2.2.1 Συλλογή δειγμάτων

Για την παρούσα μελέτη συλλέχθηκε το είδος *P. clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud, από το βουνό Προφήτης Ηλίας στην Ρόδο. Τα άνθη συλλέχθηκαν στις 3 Απριλίου 2019, στη συνέχεια ξηράθηκαν, έγινε η ταυτοποίηση από το Δρα Ι Μπαζό και κατατέθηκε δείγμα Herbarium στο Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Στις 24 Απριλίου 2019, μετά την πλήρη απώλεια των ανθέων, στο ίδιο πεδίο συλλογής, έγινε συλλογή των σπερμάτων που είχαν αρχίσει να αναπτύσσονται στους μίσχους. Τα σπέρματα αυτά διατηρήθηκαν υπό σκιά σε ξηρό περιβάλλον, με τους μίσχους τους να βρίσκονται διαρκώς σε καθαρό νερό με σκοπό την περαιτέρω ωρίμανση τους.

Μετά την ωρίμανση τους, τα νωπά σπέρματα διαχωρίστηκαν από τους μίσχους τους και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη για 10 ημέρες. Μετά το πέρας των 10 ημερών διαχωρίστηκαν σε:

- 1) μαύρα γόνιμα σπέρματα (28g),
- 2) κόκκινα άγονα σπέρματα (10g) και
- 3) άδεια περικάρπια (58g).



Εικόνα 19: Αριστερά: άδεια περικάρπια, κέντρο: κόκκινα άγονα σπέρματα και δεξιά: μαύρα γόνιμα σπέρματα

2.2.2 Εκχυλίσεις φυτικών υλικών

Ένα μέρος από τα μαύρα σπέρματα (16gr) εκχυλίστηκαν με 100 ml μεθανόλης και εν συνεχεία με 100 ml απιονισμένου νερού για παραλαβή του υδατικού εκχυλίσματος.

Επιπρόσθετα ζυγίστηκαν 500 mg από τα κόκκινα σπέρματα στα οποία έγινε προσθήκη μικρής ποσότητας πεντανίου με σκοπό την ανάλυση τους στην αέρια χρωματογραφία (GC-MS) και άλλα 500 mg για ανάλυση με τη μέθοδο HS-SPME. Σε 4 gr από τα κόκκινα σπέρματα προστέθηκαν 55ml διχλωρομεθάνιο, ενώ άλλα 6gr εκχυλίστηκαν με 40 ml μεθανόλης. Επιπλέον, έγινε κονιοποίηση και ύστερα εκχύλιση των περικαρπίων με 250 ml μεθανόλης.

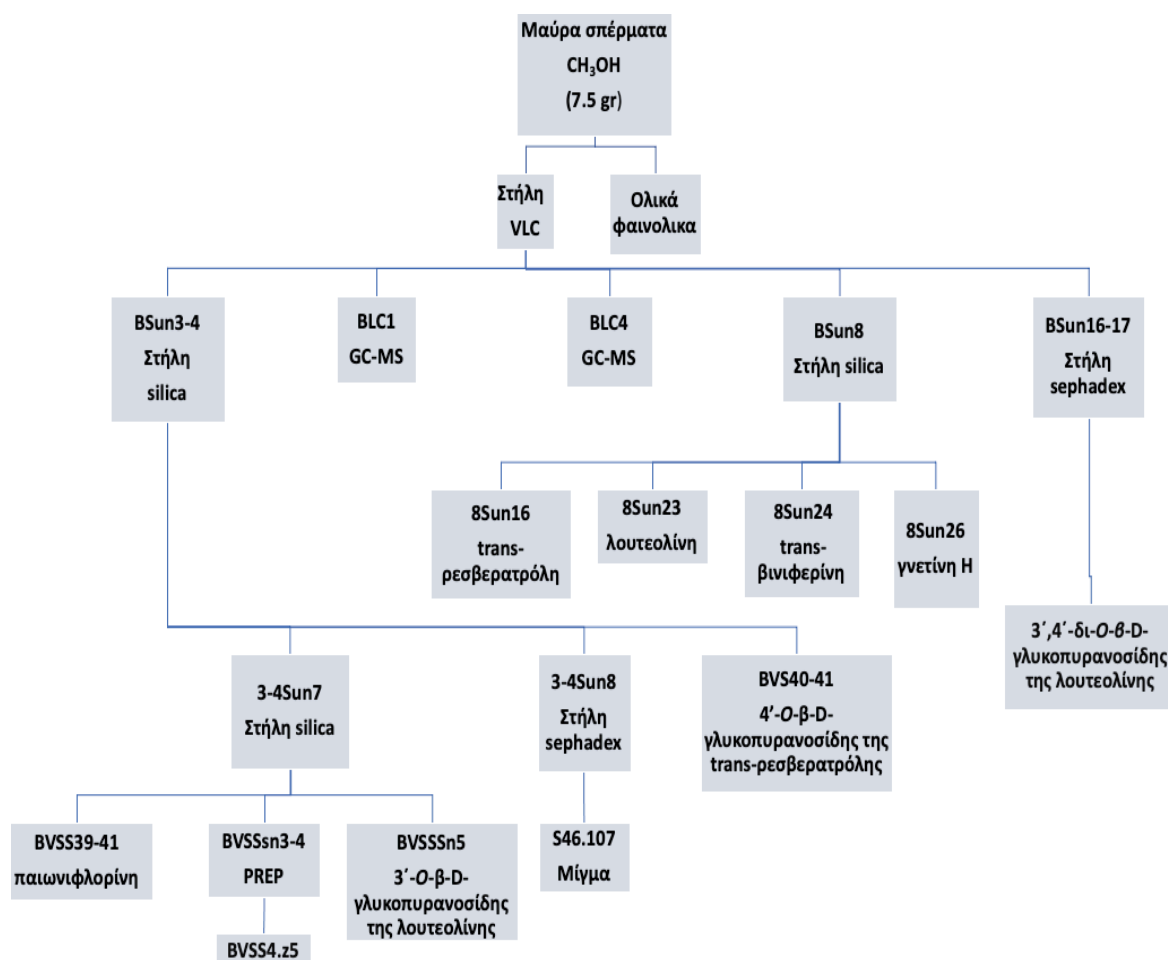
Το υδατικό εκχύλισμα από τα μαύρα σπέρματα καθώς και το εκχύλισμα από τα περικάρπια τα οποία φυλάχθηκαν για μελλοντική μελέτη. Ακολουθεί πίνακας (Πιν.6) με τα βάρη των ξηρών εκχυλισμάτων που παραλήφθηκαν.

Πίνακας 6: Εκχυλίσματα μαύρων, κόκκινων σπερμάτων και περικαρπίων

Τμήμα φυτού	Διαλύτης εκχύλισης	Παραληφθέντα εκχυλίσματα (g)
Μαύρα σπέρματα	CH ₃ OH	7.5372
	H ₂ O	0.6529
Κόκκινα σπέρματα	CH ₃ OH	1.1349
	CH ₂ Cl ₂	0.0327
	C ₅ H ₁₂	0.0051

2.2.3 Ανάλυση μεθανολικού εκχυλίσματος μαύρων σπερμάτων

Ακολουθεί διάγραμμα στο οποίο παρουσιάζονται οι διαδικασίες ανάλυσης του μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπερμάτων.



Εικόνα 20: Διαγραμματική απεικόνιση της πειραματικής πορείας που ακολουθήθηκε στο μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων *Paeonia clusii* subsp. *Rhodia*

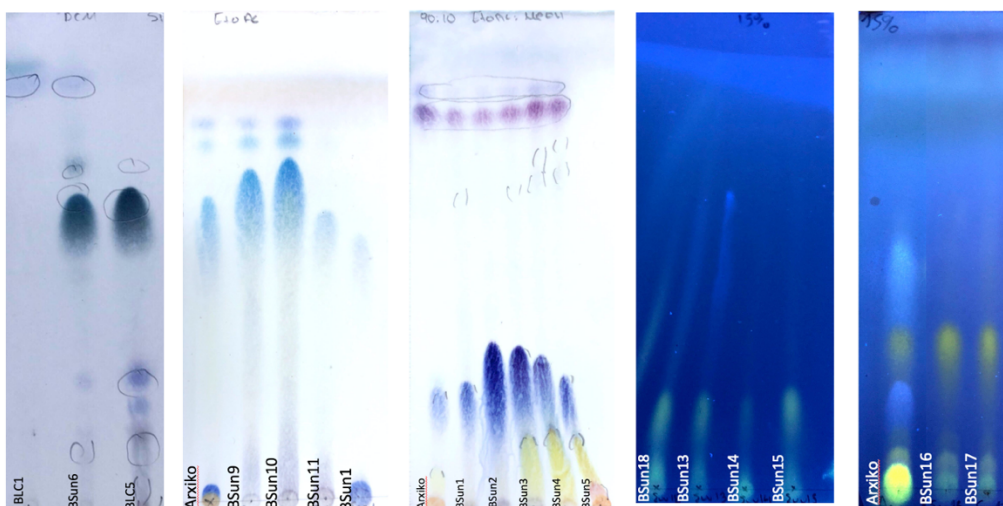
2.2.3.1 Χρωματογραφικός διαχωρισμός του μεθανολικού εκχυλίσματος με στήλης υπό κενό (VLC)

Στο μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων (7.5 g) πραγματοποιήθηκε χρωματογραφικός διαχωρισμός σε στήλη υπό κενό βαθμιαίας έκλουσης. Το υλικό πλήρωσης της στήλης ήταν γέλη οξειδίου του πυριτίου (silica 60H) με διάμετρο στήλης 9,5 cm. Οι διαλύτες έκλουσης ήταν cHex, DCM, EtOAc και MeOH σε μίγματα αυξανόμενης πολικότητας και συνολικά λήφθηκαν 104 κλάσματα. Τα συστήματα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκαν και τα κλάσματα που λήφθηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 7: Χαρακτηριστικά της VLC στήλης μεθανολικού εκχυλίσματος μαύρων σπερμάτων

Σύστημα Διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Αρίθμηση κλασμάτων
cHex 100%	750	1
cHex : CH ₂ Cl ₂ 70:30	1000	2
cHex : CH ₂ Cl ₂ 50:50	500	3
cHex : CH ₂ Cl ₂ 30:70	500	4
CH ₂ Cl ₂ 100%	750	5
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 80:20	1500	6
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 70:30	1000	7
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 60:40	500	8
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 50:50	3500	9-13
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 40:60	2500	14-18
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 30:70	2000	19-22
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 20: 80	2000	23-26
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 10:90	1000	27-28
EtOAc 100%	2000	29-32
EtOAc : MeOH 99:1	2000	33-36
EtOAc : MeOH 97:3	2000	37-40
EtOAc : MeOH 95:5	2000	41-44
EtOAc : MeOH 92:8	500	45
EtOAc : MeOH 90:10	4500	46-54
EtOAc : MeOH 85:15	4000	55-62
EtOAc : MeOH 82:18	1000	63-64
EtOAc : MeOH 80:20	2000	65-68
EtOAc : MeOH 70:30	8000	69-85
EtOAc : MeOH 50:50	5500	86-96
MeOH 100%	4000	97-104

Όλα τα κλάσματα της στήλης ελέγχθηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) σε διάφορα συστήματα ανάπτυξης και ακολούθησαν οι παρακάτω συνενώσεις (Πίν. 8).



Εικόνα 21: TLC επιλεγμένων συνενώσεων σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου (silica) συστημάτων : DCM, EtOAc και 90:10 (EtOAc : MeOH) και σε πλάκα κυτταρίνης με (H₂O:AcOH, 85:15)

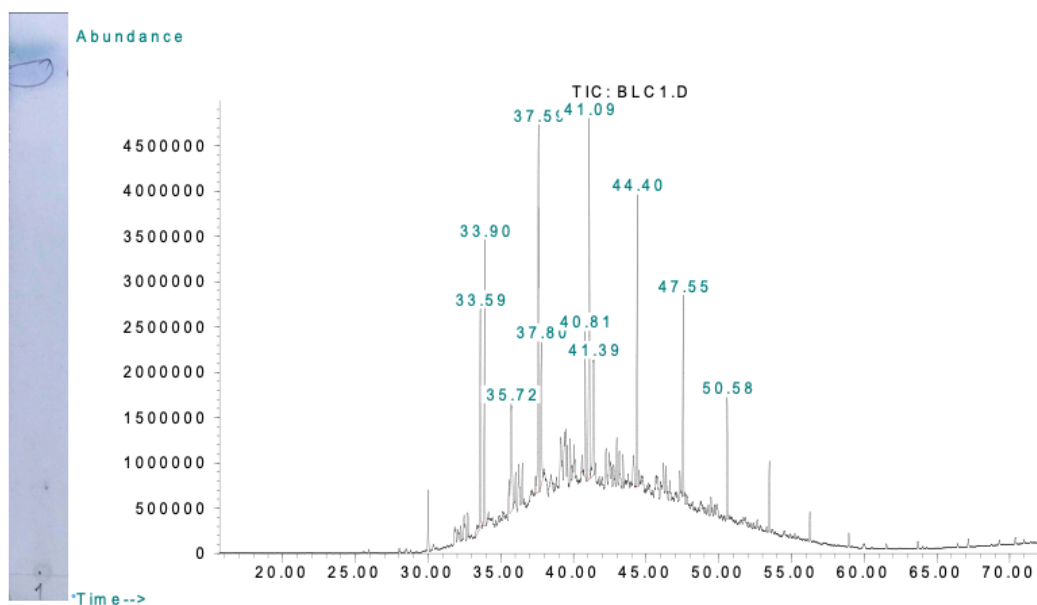
Πίνακας 8: Συνενωμένα κλάσματα στήλης VLC

Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
BLC1	1	10.8
BSun6	2-3	61.5
BLC4	4	364.7
BLC5	5	189.7
BSun8	6-9	1430.2
BSun9	10-11	138
BSun10	12-15	243.4
BSun11	16-19	62.1
BSun1	20-23	75.6
BSun2	24-26	191.5
BSun3-4	27-36	717.2
BSun5	37-49	953.1
BSun12	50-58	1180.8
BSun18	59-64	190.3
BSun13	65-68	151.2
BSun14	69-73	425.0
BSun15	74-77	189.2
BSun16-17	78-104	798.2

Από τα συνενωμένα αυτά κλάσματα, ενδιαφέρον παρουσίασαν οι κωδικοί **BLC1** (10.8 mg) και **BLC4** (364.7 mg) που υποβλήθηκαν σε ανάλυση με GC-MS και οι κωδικοί **BSun8** (1430.2 mg), **BSun3-4** (717.2 mg) και **BSun16-17** (798.2 mg) οι οποίοι μελετήθηκαν περαιτέρω με χρωματογραφικές τεχνικές.

2.2.3.2 Ανάλυση με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS) των κλασμάτων BLC1 και BLC4

Μέρος από το συνενωμένο κλάσμα BLC1 υποβλήθηκε σε ανάλυση με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS).

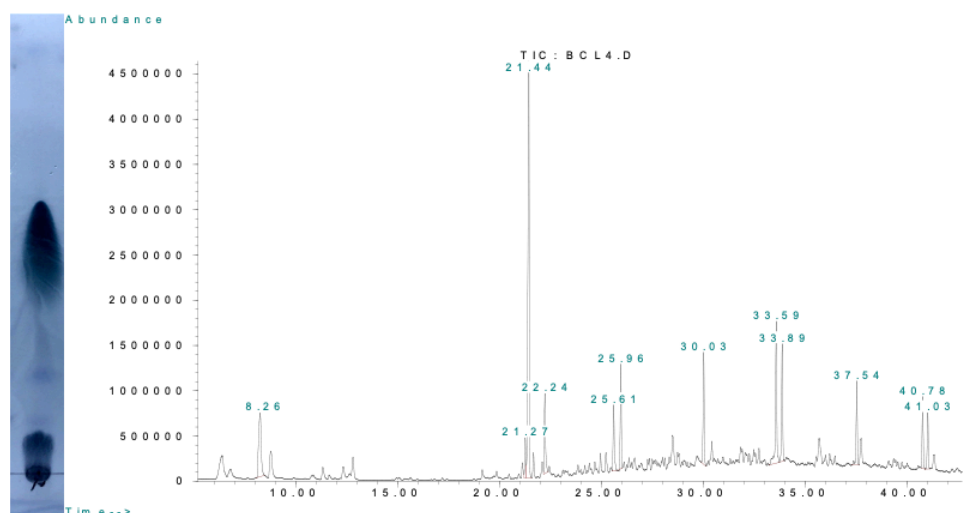


Εικόνα 22: TLC σε πλάκα silica σε σύστημα ανάπτυξης 100% DCM και χρωματογράφημα GC κλάσματος BLC1.

Πίνακας 9: Ουσίες συνενωμένου κλάσματος BLC1 στήλης VLC

RT	Ενώσεις	Ποσοστό (%)
33.59	1-Hexadecene	8.96
33.90	Hexadecane	10.44
35.72	Hexatriacontane	7.79
37.59	Heptadecane	15.70
37.80	2,6,10,14-tetramethyl Pentadecane	7.65
40.81	1-Octadecene	5.07
41.09	Octadecane	14.81
41.38	2,6,10,14-tetramethyl Hexadecane	7.28
44.39	Nonadecane	10.36
47.55	n-eicosane	7.47
50.57	Heneicosane	4.47
Συνολικά		100

Το κλάσμα BLC4 υποβλήθηκε σε ανάλυση με GC-MS και οι ενώσεις που ανιχνεύθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 10.



Εικόνα 23: TLC σε silica και σε σύστημα 100% DCM και χρωματογράφημα GC κλάσματος BLC4

Πίνακας 10: Ουσίες συνενωμένου κλάσματος BLC4 στήλης VLC

RT	Ενώσεις	Ποσοστό (%)
8.25	2,4-Heptadienal	9.39
21.44	1,1'-Bicyclohexyl	32.22
22.23	2,4 Decadienal	5.47
25.61	Cis-3-tetradecene	4.60
25.96	n-Tetradecane	6.04
30.03	Pentadecane	7.23
33.59	1-Hexadecene	10.83
33.89	Hexadecane	7.74
37.55	Heptadecane	5.70
40.78	1-Octadecene	4.49
41.03	Octadecane	3.61
Συνολικά		97.32

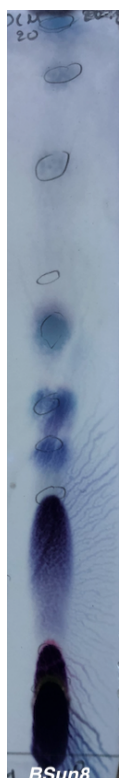
Παρατηρείται έντονη παρουσία υδρογονανθράκων στα δύο κλάσματα κατά αναλογία και με άλλα αντίστοιχα άπολα εκχυλίσματα ειδών παιώνιας. Συγκεκριμένα υδρογονάνθρακες όπως το cis-3-tetradecene, tetradecane, pentadecane, hexadecane, octadecene, nonadecane, eicosane και heneicosane έχουν βρεθεί κυρίως στα άνθη αλλά και στα υπέργεια μέρη του φυτού (Tosun *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2020)

Οι μελέτες πτητικών συστατικών στα είδη *Paeonia* εστιάζουν στην πλειονότητα τους στα άνθη του φυτού καθώς και στις ρίζες και μόνο λίγες μελέτες αφορούν σπέρματα του γένους (Yan *et al.*, 2019; Su *et al.*, 2015; Tian *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019 & 2020). Επιπλέον, τα πτητικά συστατικά των ελληνικών ειδών έχουν μελετηθεί σε πολύ μικρό βαθμό και οι μελέτες αυτές αφορούν τα άνθη των παιωνιών (Papandreou *et al.*, 2002). **Άρα, μελετώνται για πρώτη φορά τα πτητικά συστατικά σπερμάτων ελληνικού είδους παιώνιας.**

2.2.3.3 Χρωματογραφικός διαχωρισμός συνένωσης BSun8

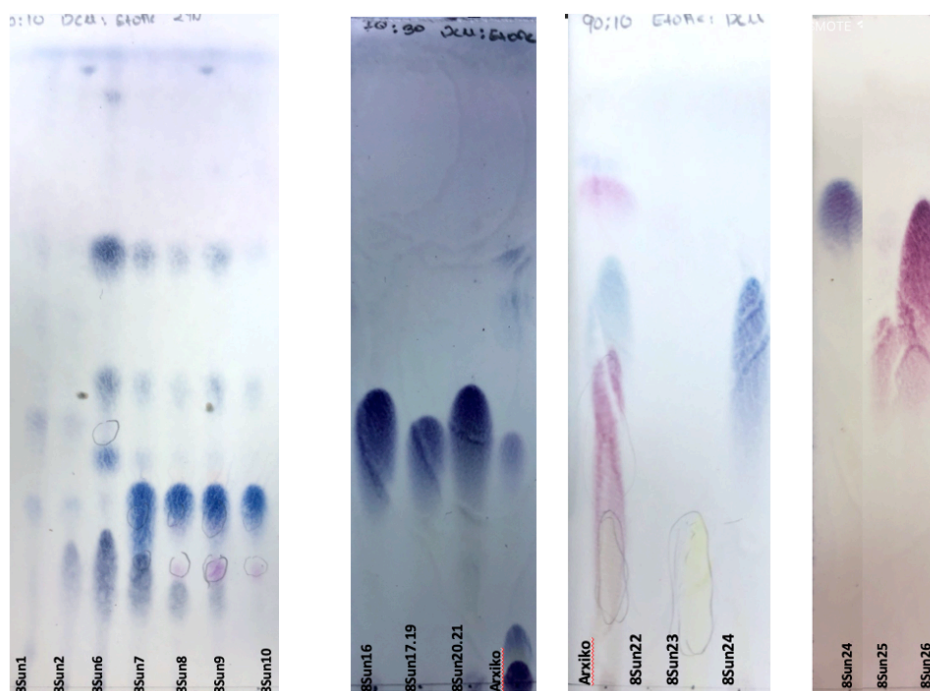
Το δείγμα **BSun8** (1430,2 mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφία ανοικτής στήλης με πληρωτικό υλικό γέλη οξειδίου του πυριτίου. Η διάμετρος της στήλης ήταν 2.7 cm και το ύψος της στατικής φάσης 18 cm. Συνολικά συλλέχθηκαν 733 κλάσματα τα οποία ελέγχθηκαν με TLC σε πλάκες οξειδίου του πυριτίου και κυτταρίνης (cellulose). Κλάσματα με την ίδια χρωματογραφική εικόνα συνενώνονταν όπως φαίνεται στον πίνακα (Πιν.12)

Πίνακας 11: Χαρακτηριστικά στήλης silica της συνένωσης BSun8 από τη στήλη VLC



Εικόνα 24: TLC συνένωσης BSun8 σε silica και σε σύστημα 80:30 DCM:EtOAc

Σύστημα Διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Συλλεχθέντα κλάσματα
cHex 100%	200	A-D
cHex : CH ₂ Cl ₂ 50:50	200	E-F
cHex : CH ₂ Cl ₂ 30:70	200	G-J
cHex : CH ₂ Cl ₂ 20:80	200	K-L
CH ₂ Cl ₂ 100%	400	M-189
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 97:3	200	190-195
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 95:5	2300	196-303
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 90:10	1800	304-370
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 85:15	200	371-374
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 80:20	1400	375-444
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 70:30	1500	445-531
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 60:40	400	532-560
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 50:50	400	561-562
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 40:60	400	563-588
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 30:70	400	589-615
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 20: 80	400	616-623
CH ₂ Cl ₂ : EtOAc 10:90	400	624-629
EtOAc 100%	300	630-640
EtOAc : MeOH 97:3	100	641-743
EtOAc : MeOH 95:5	100	644-646
EtOAc : MeOH 93:7	700	647-685
EtOAc : MeOH 90:10	200	686-692
EtOAc : MeOH 80:20	500	693-714
EtOAc : MeOH 70:30	600	715-730
EtOAc : MeOH 50:50	400	731-732
MeOH 100%	200	733



Εικόνα 25: TLC συνενώσεων σε πλάκα silica και σε συστήματα 90:10 (DCM:EtOAc), 70:30 (DCM:EtOAc), 90:10 (EtOAc: DCM) και 100% EtOAc.

Πίνακας 12: Συνενωμένα κλάσματα στήλης silica της συνένωσης BSun8 απο τη στήλη VLC

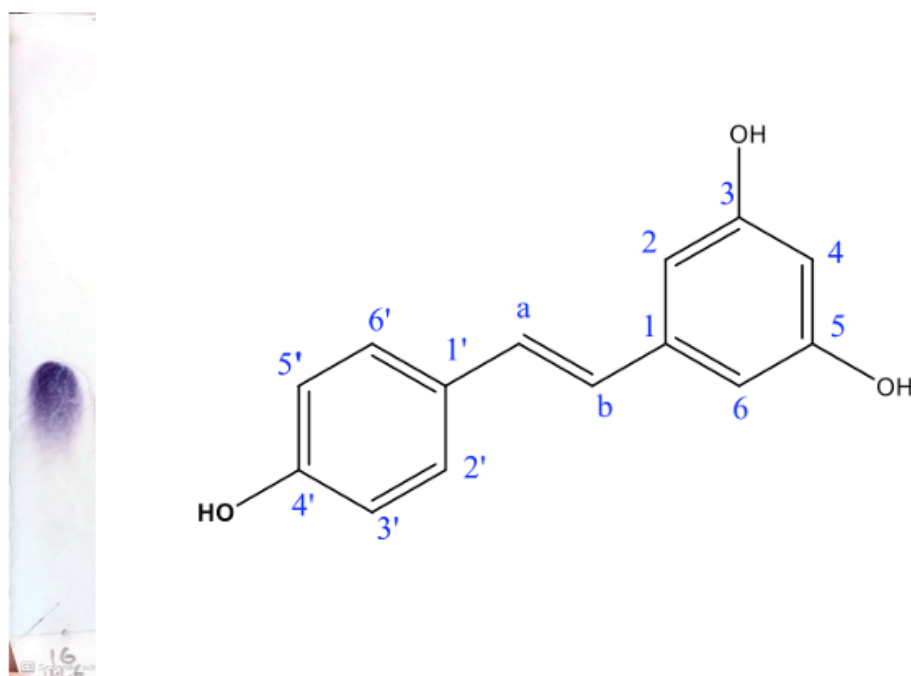
Κωδικό Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
8SunAC	A-C	85.5
8SunDE	D-E	13
8SunFG	F-G	23
8SunH	H	5
8SunIJ	I-J	2.5
8SunK	K	3
8SunLR	L-R	2
8Sun1	1-6	8
8Sun2	7-44	3
8Sun3-6	45-150	10
8Sun7	151-152	6
8Sun8-9	153-159	12
8Sun10	160-163	4.2
8Sun11-12	164-173	7
8Sun13	174-188	4.3
8Sun14	189-211	2.5
8Sun15	212-224	2
8Sun16	225-280	12
8Sun17-19	281-302	8
8Sun20-22	303-373	16
8Sun23	374-406	11
8Sun24	407-438	57
8Sun25	439-464	36
8Sun26	465-531	428.2
8Sun27	532-698	64

8Sun28	699-729	19.4
8Sun29	730-733	26

Από τα συνενωμένα αυτά κλάσματα μεγάλο ενδιαφέρον παρουσίασαν τα κλάσματα **8Sun16** (12 mg), **8Sun23** (11 mg), **8Sun24** (57 mg) και **8Sun26** (428.2mg) που ταυτοποιήθηκαν με φάσμα $^1\text{H-NMR}$ καθώς και φάσματα δύο διαστάσεων COSY, HMQC και HMBC.

2.2.3.3.1 Κλάσμα 8Sun16

Το κλάσμα **8Sun16** βάρους 12 mg και χρώματος καστανού αποτελείται από έναν δευτερογενή μεταβολίτη και δίνει χαρακτηριστική έντονη ερυθροϊώδη (μωβ) χρώση σε TLC σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου. μετά από ψεκασμό με διάλυμα θειϊκής βανιλίνης και θέρμανση. Ύστερα απο φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τη βιβλιογραφία (Song *et al.*, 2017) καταλήξαμε ότι πρόκειται για την **trans-ρεσβερατρόλη** η οποία ανήκει στην κατηγορία των στυλβενοειδών και αποτελεί τον πιο χαρακτηριστικό αντιπρόσωπό της κατηγορίας αυτής.



Εικόνα 26: Αριστερα, χρωματογραφία TLC σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου 70:30 DCM: EtOAc. Δεξιά, δομή trans-ρεσβερατρόλης.

Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$, στην αρωματική περιοχή, έχουμε μια διπλή κορυφή στα 7.35 ppm (8.4 Hz) και άλλη μία στα 6.76 ppm (8.9 Hz) που ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια η καθεμία και αντιστοιχούν σε πρωτόνια με όρθο σύζευξη μεταξύ τους. Η διπλή κορυφή στα 6.45 ppm (2.0 Hz) που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια, αντιστοιχεί σε αρωματικά πρωτόνια ενός τρις-υποκατεστημένου αρωματικού δακτυλίου με meta σύζευξη με το αρωματικό πρωτόνιο που εμφανίζεται ως τριπλή κορυφή στα 6.16 ppm (2.0 Hz). Οι δύο διπλές κορυφές στα 6.96 ppm και 6.80 ppm αντιστοιχούν σε ολεφινικά πρωτόνια με σταθερές σύζευξης 16.0 Hz, γεγονός που αποδεικνύει την trans διαμόρφωση των πρωτονίων του διπλού δεσμού.

Από το φάσμα COSY βλέπουμε τη συσχέτιση των πρωτονίων H-2' και H-6' (7.35 ppm) με τα H-5' και H-3' (6.76 ppm), την συσχέτιση των πρωτονίων 2 και 6 (6.45 ppm) με αυτό της θέσης

4 (6.16 ppm). Τέλος διακρίνουμε και σήμα που αντιστοιχεί στην αλληλεπίδραση των πρωτονίων του διπλού δεσμού H-a (6.80 ppm) και H-b (6.96 ppm) μεταξύ τους.

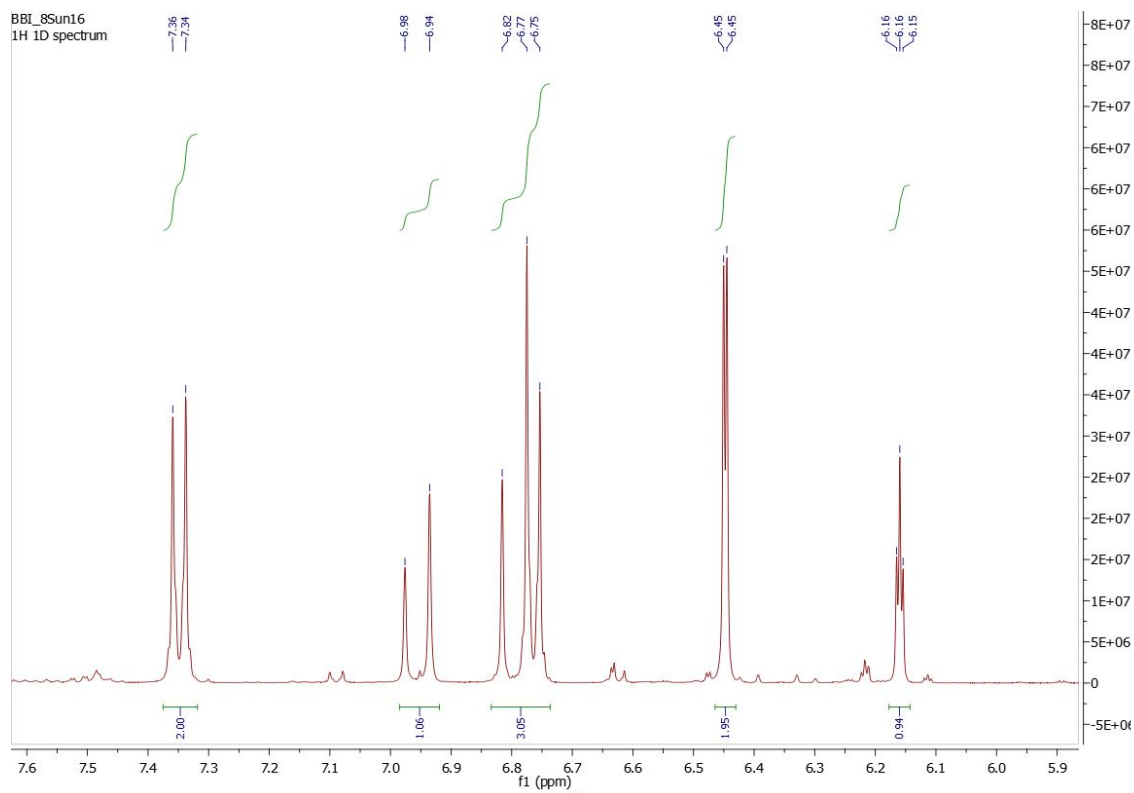
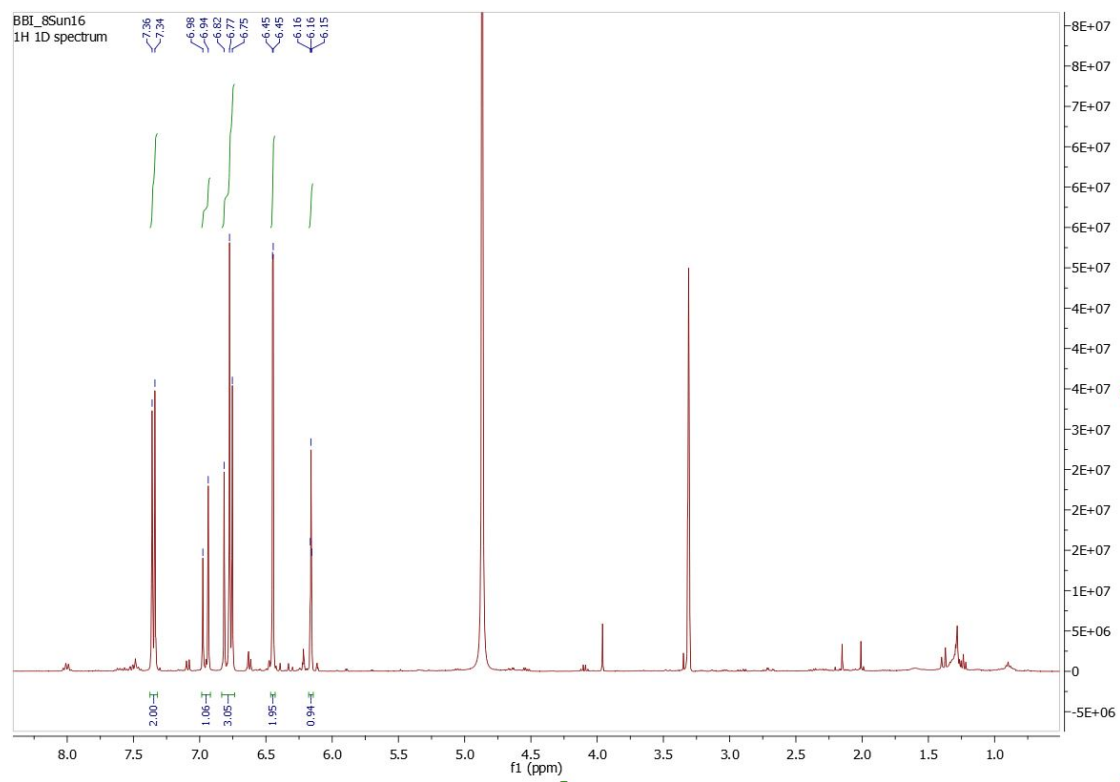
Απο το πείραμα HMBC και με τη βοήθεια της βιβλιογραφίας αποδόσαμε τους άνθρακες του μορίου. Συγκεκριμένα στο φάσμα φαίνεται η συσχέτιση των πρωτονίων H-2'/H-6' με τους άνθρακες C-3'/C-5' (115.1 ppm) και C-4' (157. ppm), ο τελευταίος δίνει σήμα και με τα πρωτόνια H-5'/H-3'. Επίσης ο άνθρακας C-1' (128.9 ppm) επιβεβαιώνεται μέσω των σημάτων που δίνει με τα πρωτόνια H-5'/H-3', καθώς και με τα πρωτόνια του διπλού δεσμού H-b και H-a. Οι άνθρακες C-2'/C-6' (127.8 ppm) δίνουν σήματα με τα πρωτόνια H-5'/H-3' και H-a. Αντίστοιχα και οι άνθρακες C-1 (139.9 ppm) και C-2/C-6 (104.5 ppm) δίνουν σήματα με τα ολεφινικά πρωτόνια, και οι C-2/C-6 δίνουν επιπλέον σήμα με το πρωτόνιο H-4. Τέλος οι άνθρακες C-3/C-5 (158.1) και C-4 (101.4 ppm) ταυτοποιούνται μέσω της συσχέτισης τους με τα πρωτόνια H-2/H-6 και H-4.

Στη συνέχεια παρατίθενται ο πίνακας με τα φασματοσκοπικά δεδομένα καθώς και τα φάσματα ¹H, COSY και HMBC του μορίου της trans-ρεσβερατόλης.

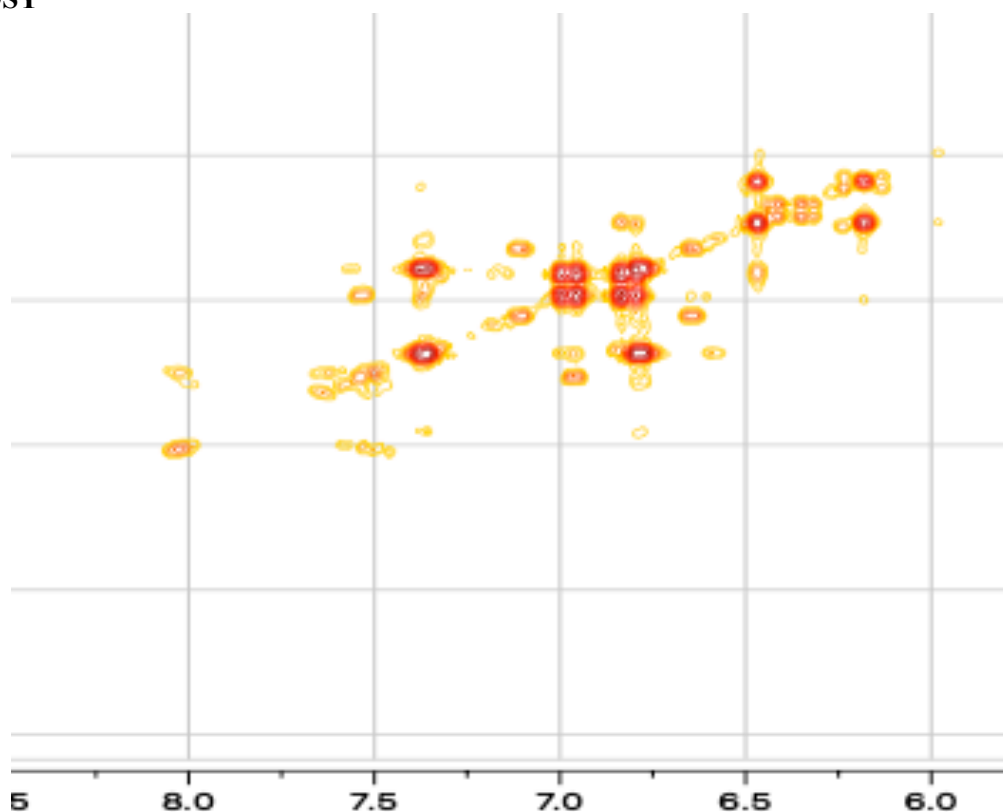
Πίνακας 13: Φασματοσκοπικά δεδομένα (¹H-NMR, CD₃OD) της trans-ρεσβερατόλης

Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
1'				128.9
2'	7.35	d	8.4	127.8
3'	6.76	d	8.9	115.1
4'				157.0
5'	6.76	d	8.9	115.1
6'	7.35	d	8.4	127.8
a	6.96	d	16.0	125.6
b	6.80	d	16.0	-
1				140.1
2	6.45	d	2.0	104.5
3				158.1
4	6.16	t	2.0	101.4
5				158.1
6	6.45	d	2.0	104.5

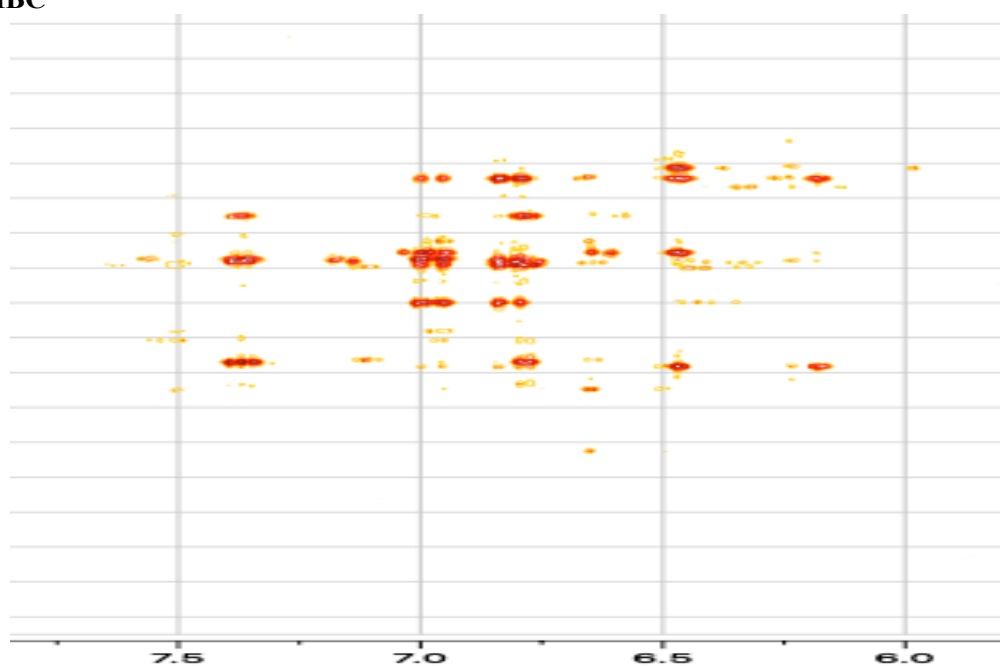
¹H-NMR



COSY



HMBC

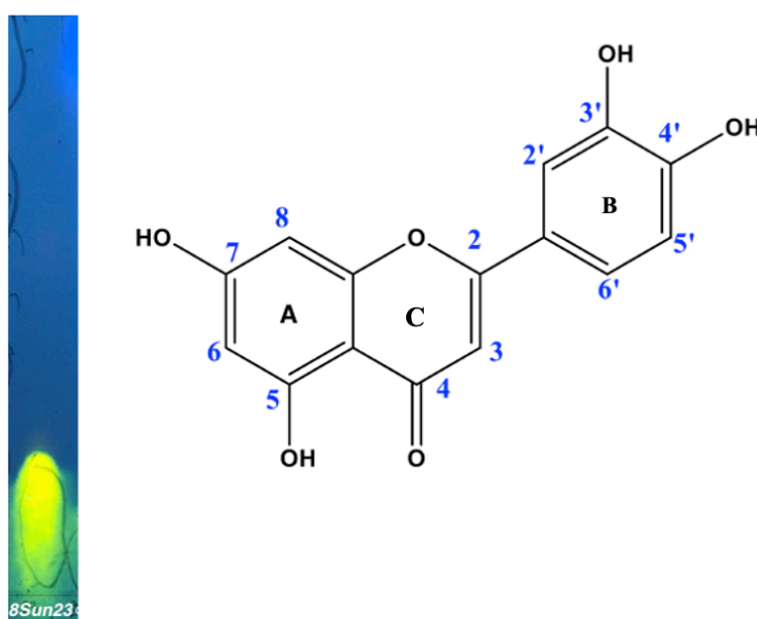


Η ρεσβερατρόλη έχει απομονωθεί προηγουμένως από αρκετά είδη της οικογένειας Paeoniaceae όπως *P. anomala* (Oidovsambu et al., 2013), *P. ostii* (Tian et al., 2019), *P. lactiflora* (Kim et al., 2002), *P. rockii* (Liu et al., 2014) και *P. suffruticosa* (He et al., 2010a) αλλά έχει ανιχνευτεί και σε μικρή ποσότητα στα είδη *P. qiui* (Mao et al., 2017) και *P. delavayi* (Zhang et al., 2017).

Κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι τώρα δείχνουν την πιθανή χρήση της ρεσβερατρόλης στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού (Zhu *et al.*, 2012), σε διαδικασίες για απώλεια βάρους (Arzola-Paniagua *et al.*, 2016), στη βελτίωση λειτουργίας της μνήμης (Witte *et al.*, 2014) καθώς και σε μεταβολικά νοσήματα αφού συμβάλλει στην μείωση δεικτών φλεγμονής (Koushki *et al.*, 2018). Επίσης ευνοϊκή είναι και η επίδραση της στη προαγωγή της καρδιαγγειακής λειτουργίας, κυρίως όταν χρησιμοποιείται σε υψηλή ημερήσια δόση (300 mg / ημέρα) σε διαβητικούς ασθενείς (Fogacci *et al.*, 2018). αλλά και στην επίδραση στη μείωση της χοληστερίνης σε ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε εκχύλισμα σταφυλιού εμπλουτισμένο με ρεσβερατρόλη, γεγονός που υποδεικνύει και τονίζει τη καρδιοπροστατευτική δράση του μεταβολίτη αυτού (Tomé-Carneiro *et al.*, 2012).

2.2.3.3.2 Κλάσμα 8Sun23:

Το κλάσμα **8Sun23** βάρους 11 mg και χρώματος κίτρινου, όπου στην πλάκα κυτταρίνης (σε σύστημα ανάπτυξης διαλυτών H₂O:AcOH 70:30) εμφάνισε έντονο κίτρινοπράσινο χρώμα αποτελείται από έναν δευτερογενή μεταβολίτη, ο οποίος μετά απο φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με τη βιβλιογραφία (Shomirzoeva *et al.*, 2019) ταυτοποιήθηκε ως η **λουτεολίνη**.



Εικόνα 27: Αριστερά χρωματογραφία TLC σε πλάκα κυτταρίνης με H₂O:AcOH 70:30 και δεξιά δομή λουτεολίνης

Στην αρωματική περιοχή του φάσματος και συγκεκριμένα στα 7.38 ppm και στα 6.90 ppm παρατηρείται αντίστοιχα μία διπλή διπλής με $J=6.8/2.0$ Hz που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και μία διπλή με $J=8.8$ Hz που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο. Οι κορυφές αυτές υποδηλώνουν την ύπαρξη ενός 1,3,4-τρις-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα (δακτύλιος B). Στα 6.53 ppm παρατηρείται μια απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3 του δακτυλιου C. Τέλος στα 6.43 ppm και στα 6.20 ppm παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές με $J=2$ Hz που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία (δακτύλιος A). Αναλυτικά τα φασματοσκοπικά δεδομένα παρουσιάζονται στον πίνακα (Πιν.14)

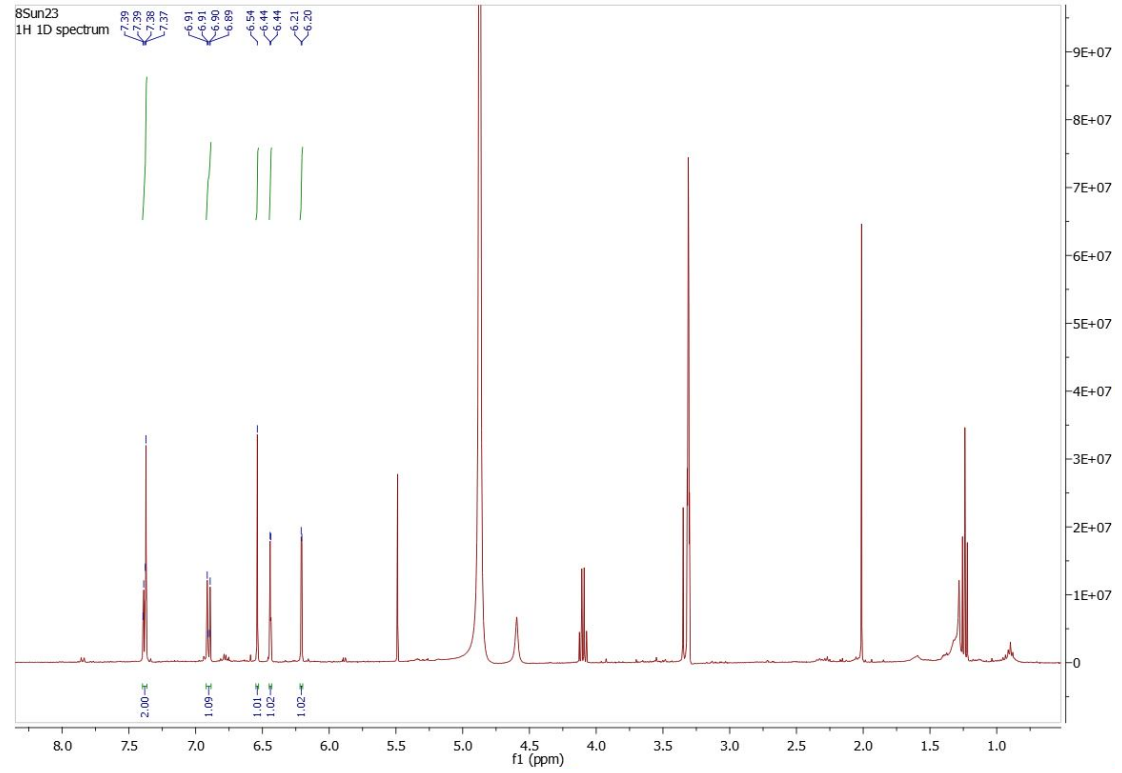
Στο φάσμα COSY εμφανίζεται η συσχέτιση μεταξύ των πρωτονίων H-6 (6.20 ppm) και H-8 (6.43 ppm) του δακτυλίου A καθώς και η συσχέτιση μεταξύ των πρωτονίων του δακτυλίου B.

Από το φάσμα HSQC έγινε η ταυτοποίηση των ανθράκων, που συνδέονται με πρωτόνια, ενώ στο HMBC φαίνονται οι συσχετίσεις των πρωτονίων 2',6'(7.38 ppm) με τους άνθρακες C4'(149.9 ppm) και C2 (165.4 ppm). Επίσης εμφανής είναι και η συσχέτιση του H5'(6.90 ppm) με τον C3'(145.5 ppm) καθώς και με τον C1'(122.8 ppm). Ο C10 (104.1 ppm) συσχετίζεται με τα πρωτόνια H3(6.53 ppm), H8(6.43 ppm) και H6(6.20 ppm) Ενώ Ο C7(164.8 ppm) επιβεβαιώνεται μέσω του συσχετισμού του με τα πρωτόνια H6 και H8 και οι άνθρακες C4, C5 και C9 μέσω της συσχέτισης με τα πρωτόνια H3, H6 και H8 αντίστοιχα.

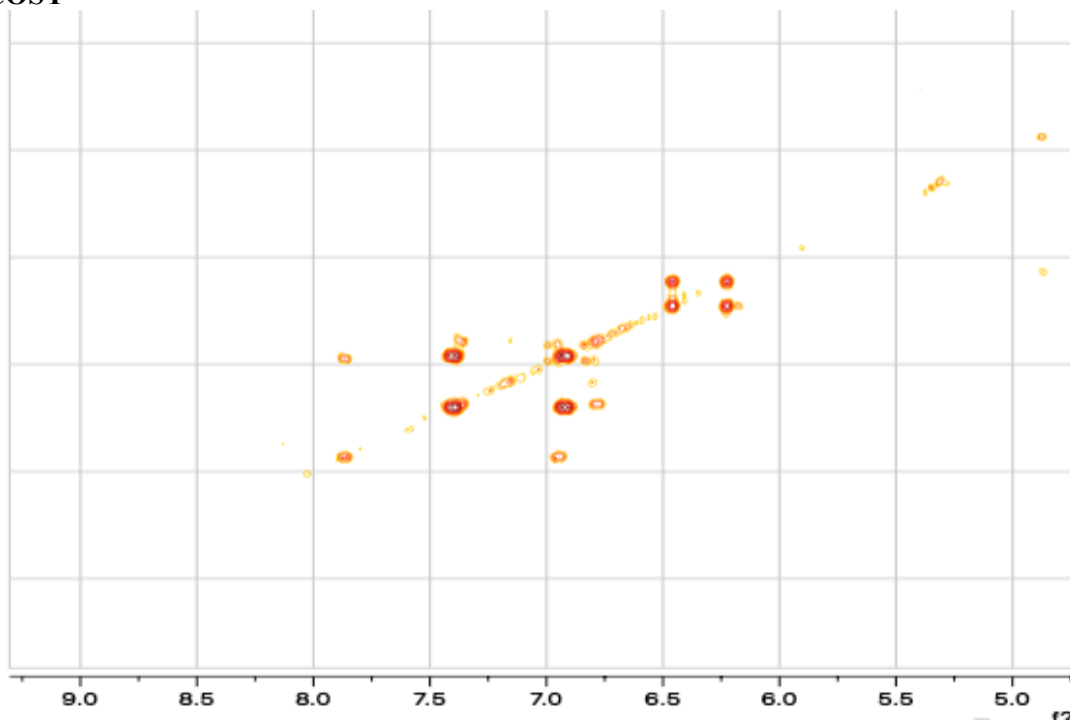
Πίνακας 14: Φασματοσκοπικά δεδομένα (¹H-NMR, CD₃OD) της λουτεολίνης

Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
1'				122.8
2'	7.38	dd	2.0, 6.86	113.2
3'				145.5
4'				149.9
5'	6.90	d	8.81	115.5
6'	7.38	dd	2.0, 6.86	119.0
2				165.4
3	6.53	s		102.5
4				182.8
5				161.7
6	6.20	d	2.0	99.0
7				164.8
8	6.43	d	2.0	93.7
9				158.0
10				104.1

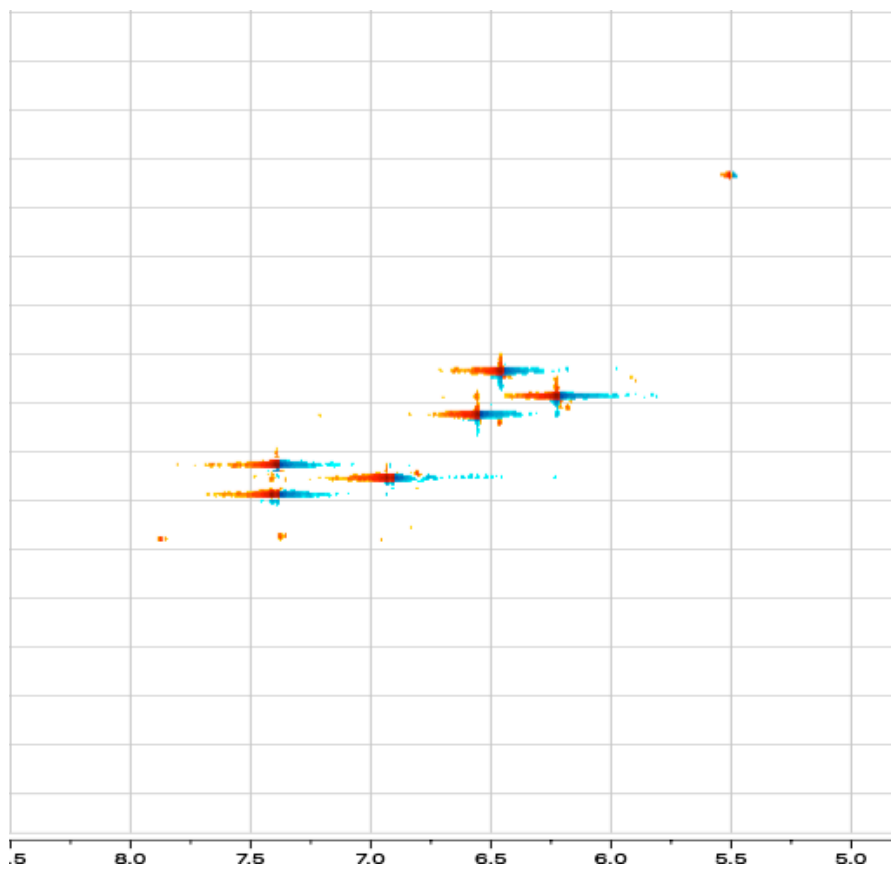
¹H-NMR



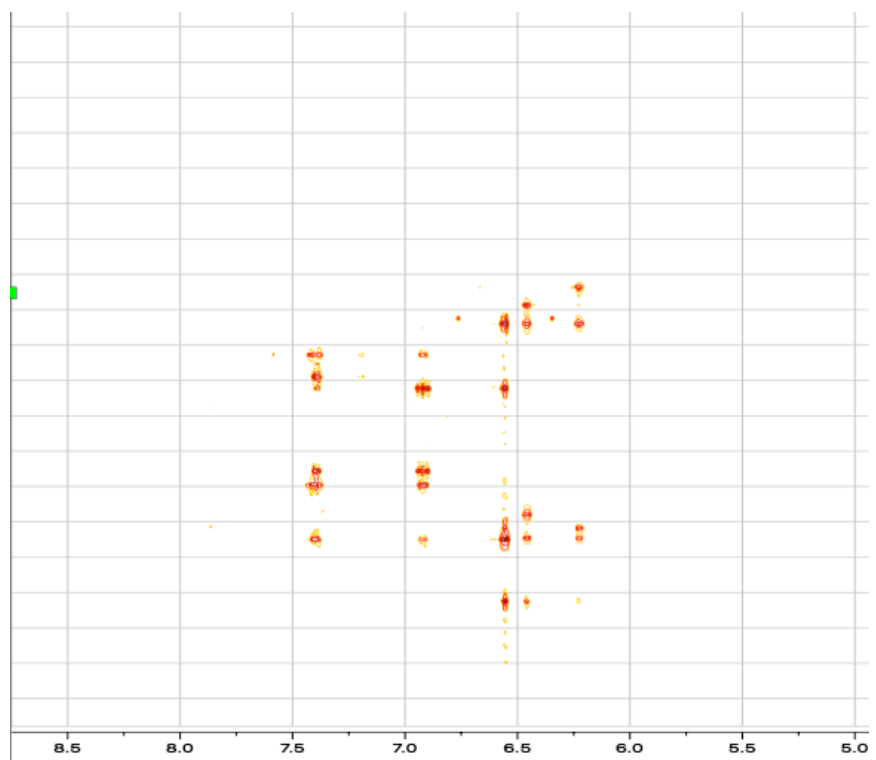
COSY



HSQC



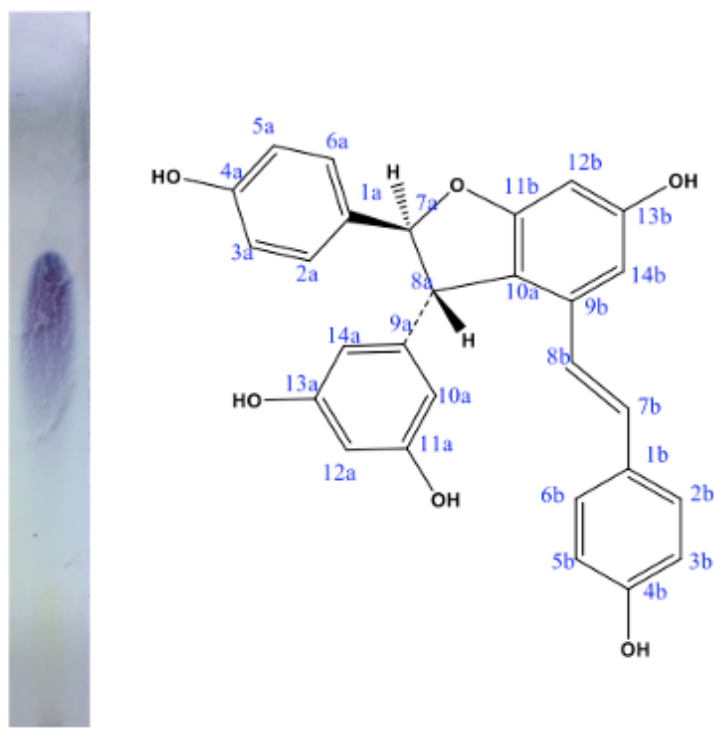
HMBC



Η λουτεολίνη είναι ένα από τα πιο κοινά φλαβονοειδή που υπάρχουν σε βρώσιμα και αρωματικά φυτά, όπως, μπρόκολο, λεμόνι, λάχανο, κρεμμύδια, καρότα, μήλο, δεντρολίβανο, ρίγανη κ.ά. (Lopez-Lazaro, 2009). Αποτελεί ένα κοινό φλαβονοειδές που έχει απομονωθεί από είδη του γένους *Paeonia* όπως *P. suffruticosa* (Ogawa *et al.*, 2015), *P. lactiflora* (Choi *et al.*, 2009), *P. anomala* (Oidovsambu *et al.*, 2013) *P. ostii* (Tian *et al.*, 2019) ενώ έχει ανιχνευτεί και στα είδη *P. rockii*, *P. decomposita*, *P. qiui* (Yan *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). Η αντιφλεγμονώδης (Aziz *et al.*, 2018), αντιοξειδωτική (Ahmadi *et al.*, 2020), αντικαρκινική (Imran *et al.*, 2019) και αντιμικροβιακή της δράση (Fan *et al.*, 2016; Shen *et al.*, 2016) είναι μόνο κάποιες από τις πολλές φαρμακολογικές της ιδιότητες.

2.2.3.3.3 Κλάσμα 8Sun24:

Το κλάσμα **8Sun24** παραλήφθηκε με την μορφή καφέ στερεού με βάρος 57 mg. Σε πλάκα πυριτίου μετά από ψεκάσμο με διάλυμα θειϊκής βανιλίνης και θέρμανση έδωσε χαρακτηριστική μωβ χρώση παρόμοια με αυτή της ρεσβερατρόλης. Έγινε λήψη φάσματος της ουσίας σε CD₃OD και η σύγκριση αυτού με αντίστοιχα της βιβλιογραφίας (Kim *et al.*, 2002a) οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για την **trans-βινιφερίνη**, η οποία ανήκει στα στυλβένια και μπορεί να θεωρηθεί ως διμερές της ρεσβερατρόλης.



Εικόνα 28: Χρωματογραφία TLC σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου (90:10 EtOAc:MeOH) και δομή trans-βινιφερίνης.

Από το φάσμα ¹H-NMR έχουμε μια διπλή κορυφή στα 7.15 ppm ($J= 8.6$ Hz) που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στα αρωματικά πρωτόνια 2a, 6a ενώ τα πρωτόνια 2b, 6b είναι μετατοπισμένα σε πιο υψηλό πεδίο στα 7.04 ppm ($J= 8.6$ Hz). Το καθένα από αυτά τα πρωτόνια εμφανίζουν μία ορθο σύζευξη με τα πρωτόνια 3a, 5a και 3b, 5b τα οποία εμφανίζονται ως διπλές κορυφές με σύζευξη 8.5 Hz, στα 6.78 ppm και 6.66 ppm αντίστοιχα. Οι διπλές κορυφές στα 5.38 ppm ($J= 6.8$ Hz) και 4.37 ppm ανήκουν αντίστοιχα στα πρωτόνια των θέσεων 7a, 8a του φουρανικού δακτυλίου. Η ευρεία απλή κορυφή που εμφανίζεται στα 6.19 ppm

ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια και αντιστοιχεί στο αρωματικά πρωτόνια 10a και 14a. Το πρωτόνιο της θέσης 12a εμφανίζεται και αυτό ως απλή κορυφή στα 6.21 ppm, ενώ το H-12b εμφανίζεται ως απλή κορυφή στα 6.27 ppm. Μια απλή κορυφή στα 6.65 ppm αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-14b. Οι δύο διπλές κορυφές στα 6.82 ppm και 6.58 ppm αντιστοιχούν στα ολεφινικά πρωτόνια (H-7b, H-8b αντίστοιχα) του διπλού δεσμού. Η τιμή της σταθεράς σύζευξης (*J*) είναι 16.0 Hz, γεγονός που αποδεικνύει την *trans* διαμόρφωση των πρωτονίων του διπλού δεσμού.

Το φάσμα COSY δείχνει την συσχέτιση των πρωτονίων H-2a/H-6a (7.16 ppm) με τα H-3a, H-5a (6.78 ppm), καθώς και των H-2b/H-6b (7.04 ppm) με το H-3b, H-5b (6.66 ppm). Επιπλέον φαίνεται και η γειτνίαση του H-7a (5.38 ppm) με το H-8a (4.37 ppm) και του H-7b (6.82 ppm) με το H-8b (6.58 ppm). Τέλος, είναι εμφανής και η συσχέτιση του H-14b (6.65 ppm) με το H-12b (6.27 ppm).

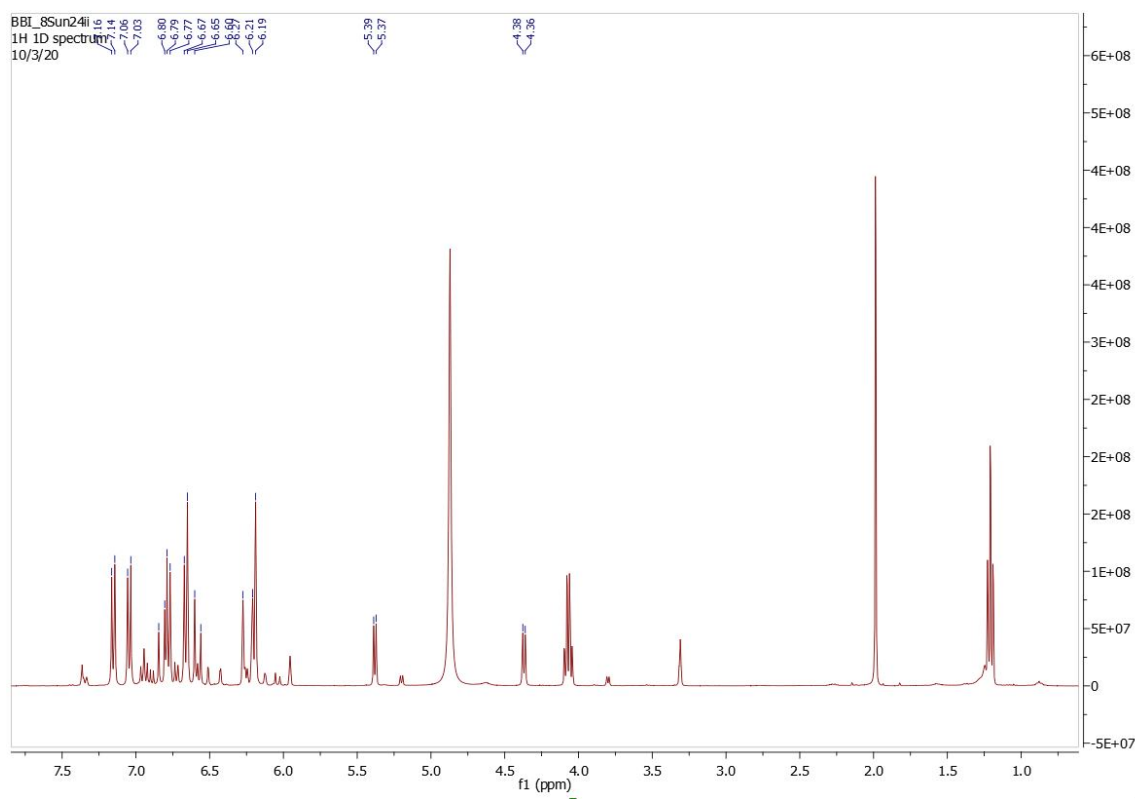
Με το πείραμα HSQC ταυτοποιήθηκαν οι άνθρακες που φέρουν πάνω τους πρωτόνια ενώ οι υπόλοιποι άνθρακες αποδόθηκαν με την βοήθεια του HMBC. Συγκεκριμένα ο C4a (156.9 ppm) μέσω της συσχέτισης του με τα πρωτόνια H-3a/H-5a καθώς και με τα H-2a/H-6a. Επίσης ο C1a (132.5 ppm) ταυτοποιήθηκε μέσω των σημάτων των H-3a/H-5a, H-7a και H-8a. Ο C9a (145.8 ppm) συσχετίζεται με τα πρωτόνια H-7a, H-8a και τα H-10a/H-14a. Τα H-10a/H-14a συσχετίζονται με τους άνθρακες C11a/C13a όπως και το πρωτόνιο H12a από όπου και επιβεβαιώνονται οι χημικές μετατοπίσεις αυτών των ανθράκων. Επίσης οι χημικές μετατοπίσεις των C10b (118.6 ppm) και C11b (161.3 ppm) επιβεβαιώνονται μέσω των συσχετίσεων τους με τα πρωτόνια H-7a, H-8a και H-12b. Το H-12b δίνει ένα επιπλέον σήμα, αυτό της συσχέτισης του με τον C-13b (158.5 ppm), ενώ ο C-9b (135.4 ppm) επιβεβαιώνεται μέσω της συσχέτισης του με τα πρωτόνια H-8a, H-8b και H-7b. Τέλος ο C-1b (129.1) συσχετίζεται με το H-7b, H-8b καθώς και με τα C3b/C5b, ενώ ο C4b ταυτοποιείται μέσω των H-3b/H-5b καθώς και H-2b/H-6b.

Πίνακας 15: Φασματοσκοπικά δεδομένα (¹H-NMR, CD₃OD) της *trans*-βινιφερίνης

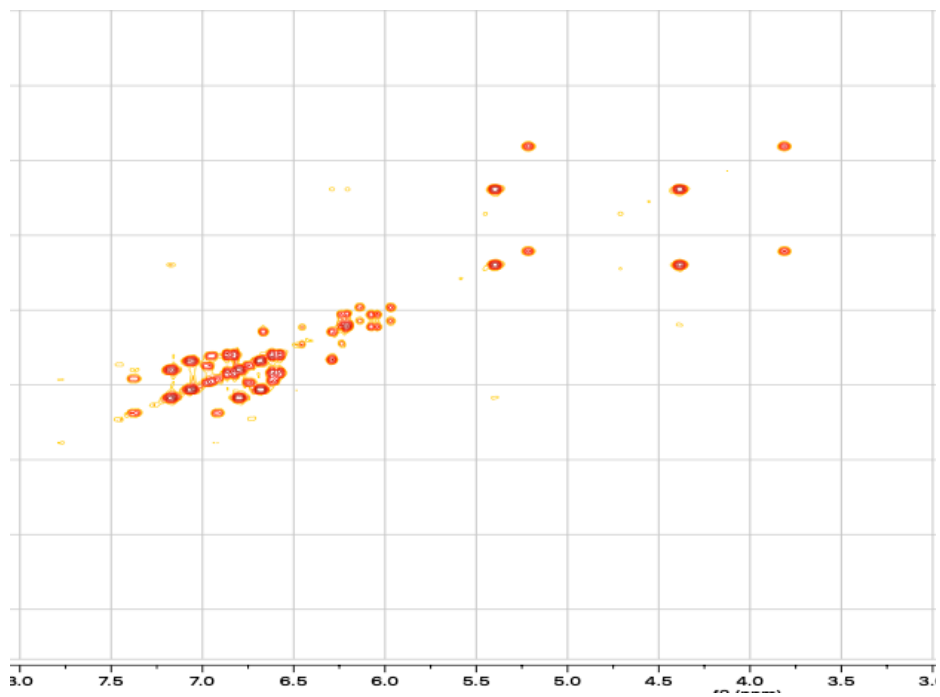
Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	Θέση δ (ppm) ¹³ C
1a				132.5
2a	7.15	d	8.6	126.8
3a	6.78	d	8.5	114.8
4a				156.9
5a	6.78	d	8.5	114.8
6a	7.15	d	8.6	126.8
7a	5.38	d	6.8	93.4
8a	4.37	d	6.8	56.9
9a				145.8
10a	6.19	s		106.3
11a				158.2
12a	6.21	s		100.9
13a				158.2
14a	6.19	s		106.3
1b				129
2b	7.04	d	8.6	127.5
3b	6.66	d	8.5	114.8
4b				156.9

5b	6.66	s	8.5	114.8
6b	7.04	d	8.6	127.5
7b	6.82	d	16.0	129
8b	6.58	d	16.0	122.2
9b				135.4
10b				118.6
11b				161.3
12b	6.27	s		95.2
13b				158.5
14b	6.65	s		102.8

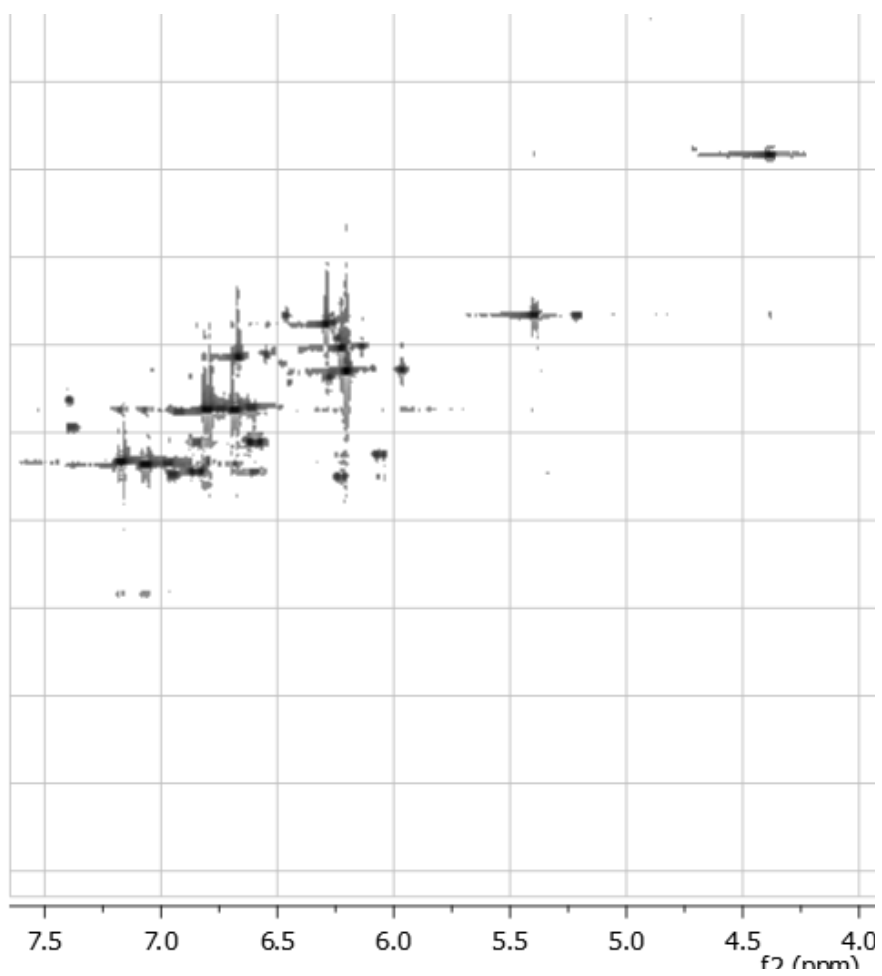
¹H-NMR



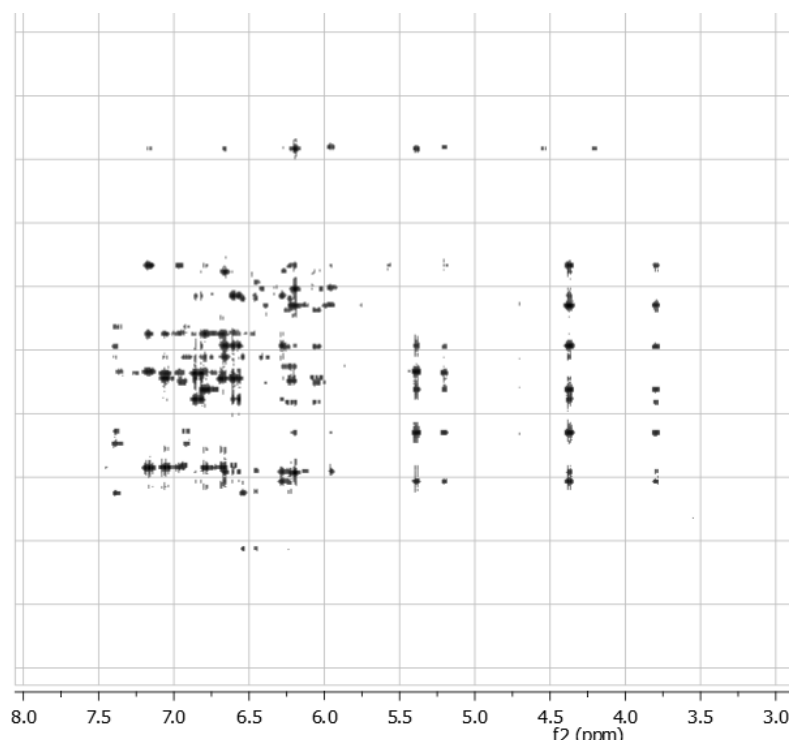
COSY



HSQC



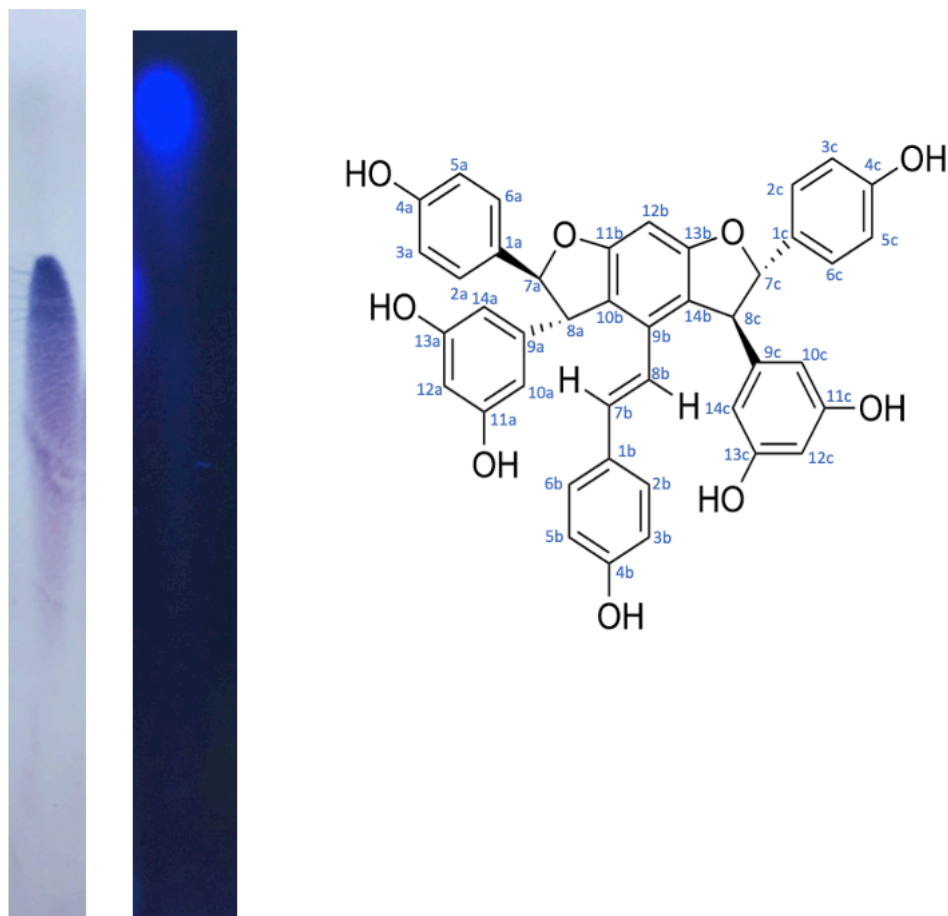
HMBC



Η πρώτη αναφορά στην trans-βινιφερίνη είναι από τους Langcake και Pruce το 1977, οι οποίοι έδειξαν την ύπαρξη της ως φυτοαλεξίνη σε μολυσμένα φύλλα αμπέλου *Vitis vinifera* L. (Vitaceae). Έκτοτε έχει ανιχνευθεί και σε άλλες οικογένειες φυτών όπως Gnetaceae, Iridaceae, Cyperaceae, Fabaceae και Dipterocarpaceae (Rivière *et al.*, 2012), αλλά έχει απομονωθεί και από είδη της οικογένειας Paeoniaceae όπως *P. lactiflora*, *P. ostii*, και *P. suffruticosa* (Kim *et al.*, 2002; He *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2020), ενώ έχει ανιχνευτεί στα *P. veitchii* (Zhang *et al.*, 2018), *P. rockii*, *P. qiui* και *P. jishanensis* και *P. decomposita* (Mao *et al.*, 2017). Πολλές μελέτες έχουν γίνει ως προς την φαρμακολογική της δράση, που αφορούν τη πιθανή χρήση της για τη θεραπεία της νόσου του Alzheimer (Flamini *et al.*, 2019), την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση της (Esatbeyoglu *et al.*, 2016) καθώς και την αντιβακτηριακή (Shen *et al.*, 2017). Επίσης *in vivo* πειράματα σε ζωικά μοντέλα έδειξαν την ικανότητα της βινιφερίνης να επάγει την έκφραση των COL2A1 και SOX9, γονίδια που σχετίζονται με χονδροκύτταρα, δίνοντας έτσι την δυνατότητα ανάπτυξης θεραπείας έναντι της οστεοαρθρίτιδας (He *et al.*, 2019).

2.2.3.3.4 Κλάσμα 8Sun26:

Το κλάσμα **8Sun26** απομονώθηκε υπό την μορφή στερεού συστατικού (428.2mg). Σε πλάκα πυριτίου δίνει μια μωβ χρώση, ενώ στην πλάκα κυτταρίνης εμφανίστηκε ως κηλίδα με έντονο μπλε χρώμα κατά την παρατήρησή της κάτω από λάμπα UV. Λήψη φάσματος NMR της ουσίας σε CD₃OD και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (He *et al.*, 2010) οδήγησαν στην ταυτοποίηση του μορίου ως του στιλβενίου **γνετίνη Η**. Η γνετίνη Η έχει πιο πολύπλοκη δομή σε σχέση με τα δύο προηγούμενα στιλβένια (ρεσβερατρόλη, βινιφερίνη) που απομονώθηκαν στην παρούσα φυτοχημική μελέτη μιας και αποτελεί τριμερές της ρεσβερατρόλης.



Εικόνα 29: TLC: Αριστερά σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου 100% EtOAc, στη μέση σε πλάκα κυτταρίνης με H₂O:AcOH 70:30 και δεξιά δομή γνετίνης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι καθώς η γνετίνη είναι τριμερές της ρεσβερατρόλης, είναι συμμετρική και λόγω αυτής της συμμετρίας τα πρωτόνια H-a εμφανίζουν τις ίδιες χημικές μετατοπίσεις με τα πρωτόνια H-c (Πίν.16).

Παρατηρούμε στο φάσμα ¹H-NMR ότι στην αρωματική περιοχή εμφανίζονται οι κλασικές διπλές κορυφές στα 7.19 ppm ($J= 8.65$ Hz) και στα 6.80 ppm ($J= 8.65$ Hz) οι οποίες ανήκουν σε πρωτόνια με ορθο-σύζευξη. Οι διπλές κορυφές στα 5.41 και 4.41 ppm ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια με σταθερά σύζευξης 6.0 Hz. Η απλή κορυφή στα 6.15 ppm ολοκληρώνει για τέσσερα πρωτόνια και αντιστοιχεί σε αρωματικά πρωτόνια. Έχουμε άλλες δύο διπλές κορυφές στα 6.69 ppm και στα 6.52 ppm που ολοκληρώνουν για δύο πρωτόνια με την ίδια σταθερά σύζευξης ($J= 8.57$ Hz), που αντιστοιχούν σε αρωματικά πρωτόνια με ορθο σύζευξη. Η απλή

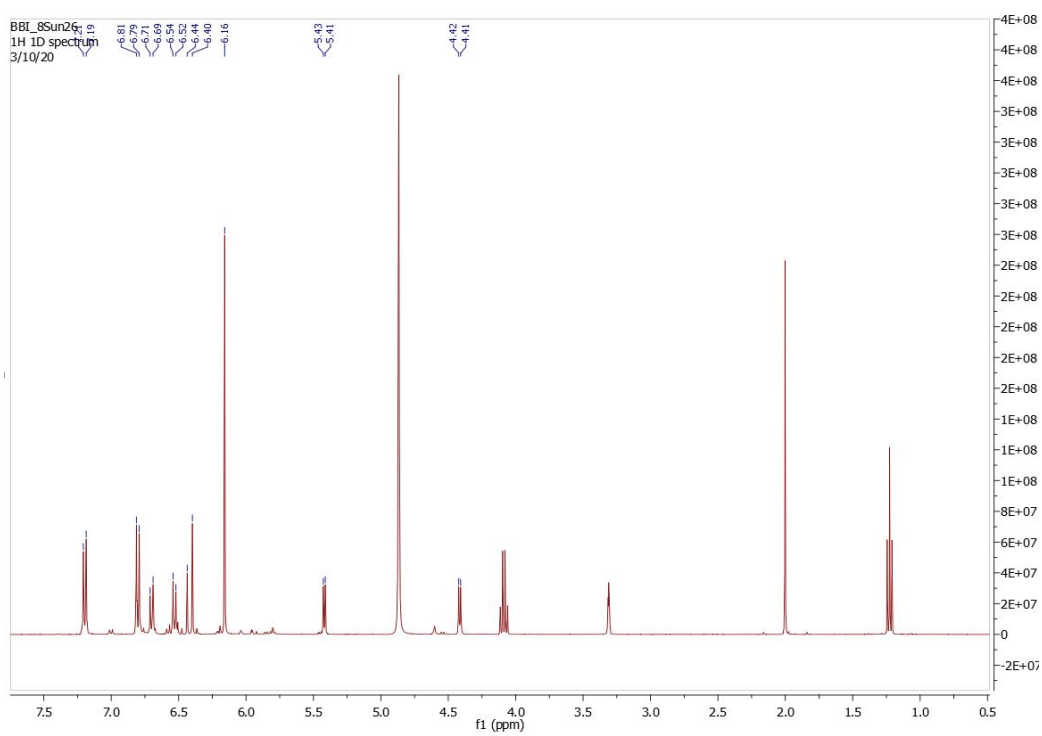
κορυφή στα 6.43 ppm αντιστοιχεί στα ολεφινικά πρωτόνια (H-7b, H-8b) του διπλού δεσμού. Τέλος η απλή κορυφή στα 6.48 ppm αντιστοιχεί στο αρωματικό πρωτόνιο H-12b.

Από το φάσμα HSQC έγινε αντιστοίχιση των πρωτονίων με τους άνθρακες που συνδέονται, ενώ με το φάσμα HMBC έγινε η ταυτοποίηση των τριτοταγών ανθράκων. Επιπλέον με το HMBC έγινε διαχωρισμός των πρωτονίων με την ίδια χημική μετατόπιση κάτι που δεν ήταν εφικτό με το HSQC και αντιστοίχιση τους στους άνθρακες. Συγκεκριμένα τα πρωτόνια H-7b, H-8b του διπλού δεσμού βγαίνουν στα ίδια ppm και στο HSQC φαίνονται δύο τιμές άνθρακα αλλά ο άνθρακας που φέρει το H-7b δίνει συσχέτιση με τα πρωτόνια H-2b/H-6b σε αντίθεση με τον C-8b που δεν φαίνεται από κάποιο άλλο πρωτόνιο. Επίσης και τα πρωτόνια H-10a/H-14a και H-12a έχουν την ίδια χημική μετατόπιση δίνοντας δύο τιμές άνθρακα στο HSQC και ο διαχωρισμός τους γίνεται μέσω του πρωτονίου H-8a το οποίο δίνει σήμα συσχέτισης μόνο με τους άνθρακες C-10a/C-14a. Τέλος, κατά τον ίδιο τρόπο ταυτοποιήθηκαν και οι υπόλοιποι άνθρακες οι τιμές των οποίων παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί (Πιν.11).

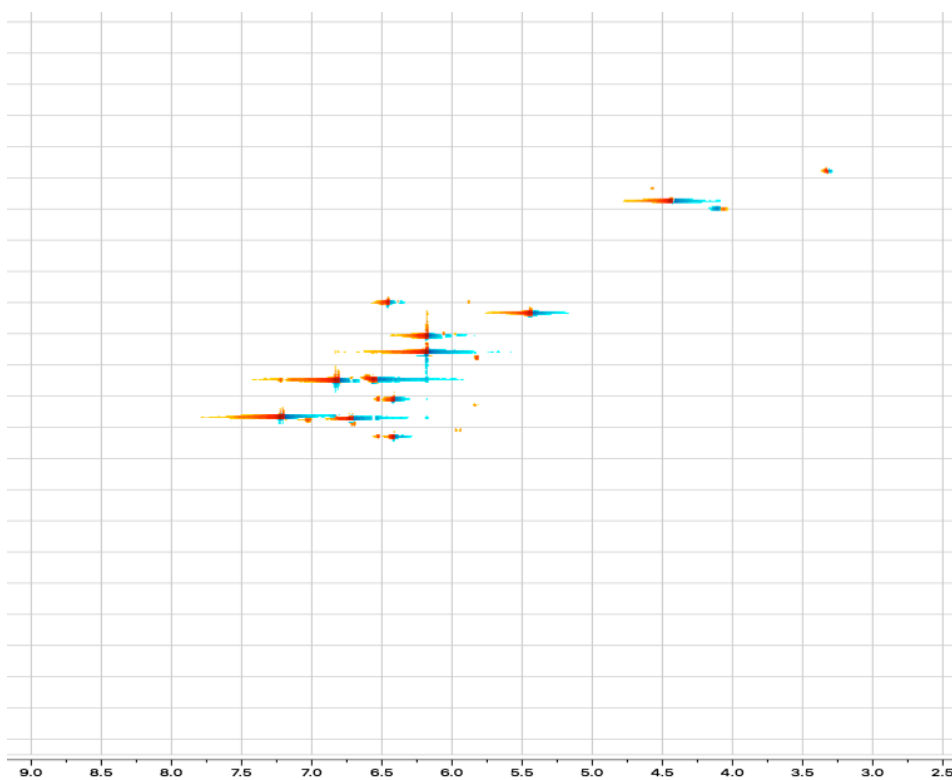
Πίνακας 16: Φασματοσκοπικά δεδομένα (¹H-NMR, CD3OD) της γνετίνης-H

Πρωτόνια	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
1a,1c				132.6
2a, 2c	7.19	d	8.65	126.8
3a, 3c	6.80	d	8.65	115.3
4a,4c				157.0
5a, 5c	6.80	d	8.65	115.3
6a,6c	7.19	d	8.65	126.8
7a, 7c	5.41	d	6.0	93.5
8a, 8c	4.41	d	6.0	57.6
9a,9c				146.2
10a,10c	6.15	s		105.9
11a,11c				158.7
12a,12c	6.15	s		100.8
13a,13c				158.7
14a,14c	6.15	s		105.9
1b				129.2
2b	6.69	d	8.57	127.4
3b	6.52	d	8.57	114.9
4b				157.0
5b	6.52	d	8.57	114.9
6b	6.69	d	8.57	127.4
7b	6.39	s		133.3
8b	6.39	s		121.2
9b				132.6
10b				119.1
11b				161.5
12b	6.43	s		90.0
13b				161.5
14b				119.1

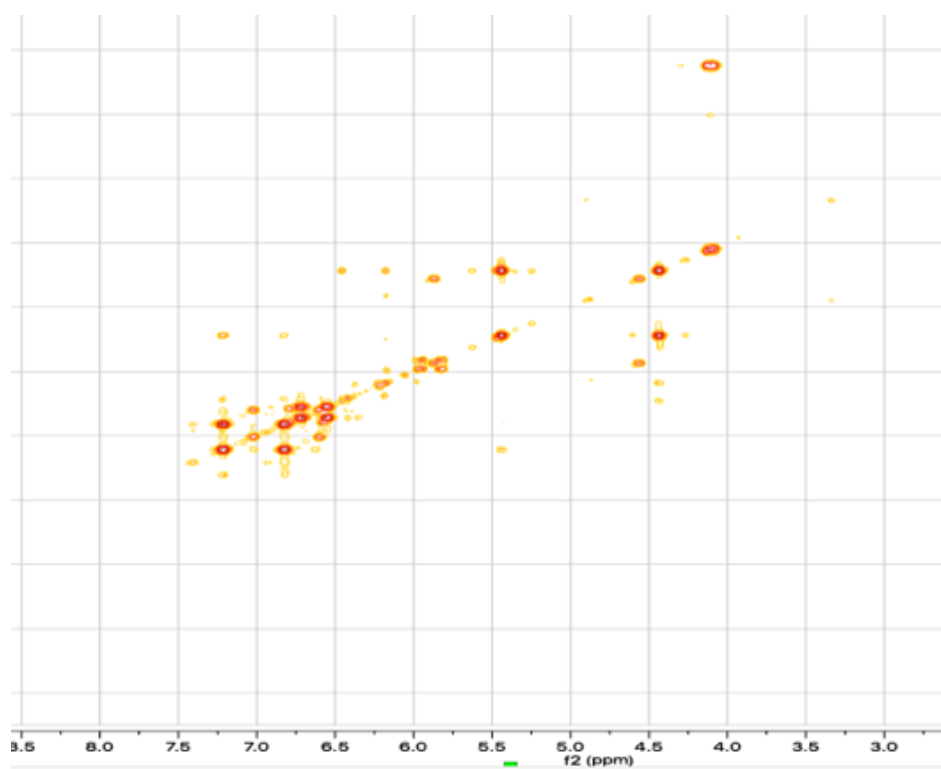
¹H-NMR



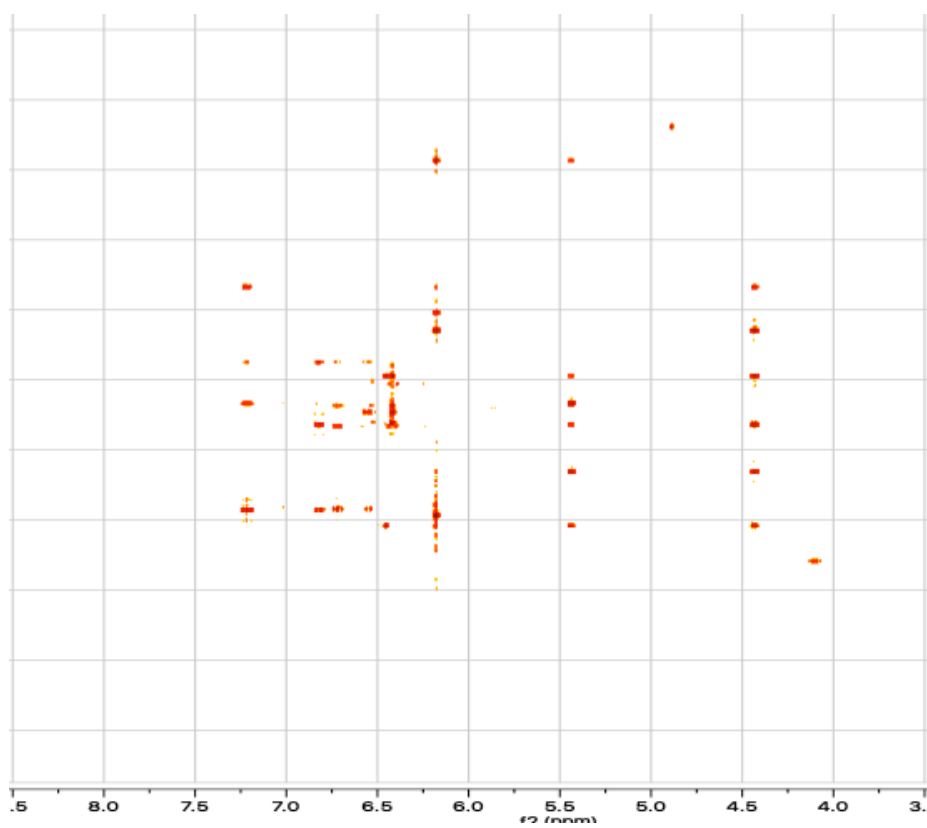
HSQC



COSY



HMBC



Η γνετίνη Η απομονώθηκε αρχικά από το φυτό *Welwitschia mirabilis* (Welwitschiaceae) (Lins *et al.*, 1986), αλλά αποτελεί βασικό στυλβενοειδές ειδών της οικογένειας Vitaceae και Paeoniaceae από όπου και έχει απομονωθεί αρκετές φορές: *P. anomala* (Kim *et al.*, 2014), *P. ostii* (Zhang *et al.*, 2019), *P. suffruticosa* (Gao *et al.*, 2015), *P. lactiflora* (Kim *et al.*, 2002), *P. rockii* (Liu *et al.*, 2014).

Η γνετίνη Η παρουσιάζει μια πληθώρα φαρμακολογικών δράσεων μεταξύ των οποίων είναι η αντιμεταλλαξιογόνος και κυτταροτοξική της δράση (Kim H.J. *et al.*, 2002a). Επιπλέον έχει αντιλευκαμική δραστηριότητα (Kang J.H. *et al.*, 2003) καθώς και αντιοξειδωτική, γεγονός που υποστηρίζει την *in vitro* αποπτωτική δράση έναντι καρκινικών κυττάρων πνεύμονα και μαστού (Alsaif *et al.*, 2020)

2.2.3.4 Χρωματογραφικός διαχωρισμός συνένωσης BSun3-4

Με σκοπό την περαιτέρω απομόνωση βιοδραστικών ενώσεων, η συνένωση **BSun3-4** (717,2 mg) από την στήλη VLC του μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπυριδίων υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό ανοικτής στήλης βαθμιαίας έκλουσης με στατική φάση γέλη οξειδίου του πυριτίου. Η διάμετρος της στήλης ήταν 2.7 cm και το ύψος της στατικής φάσης 16.5 cm. Από τη στήλη εκλούστηκαν στο σύνολο 113 κλάσματα (Πιν.17) τα οποία ύστερα από έλεγχο σε TLC πλάκες οξειδίου του πυριτίου καθώς και κυτταρίνης συνενώθηκαν σε 16 κλάσματα όπως φαίνεται και στον πίνακα Πιν.13

Πίνακας 17: Χαρακτηριστικά στήλης του κλαάσματος BSun3-4

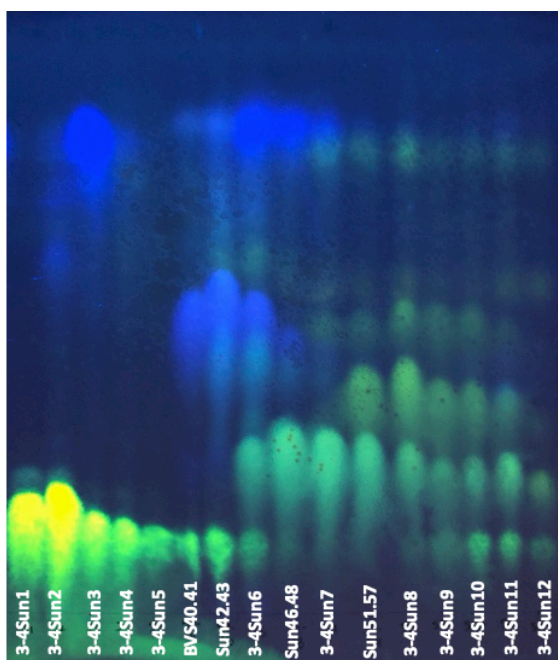
Σύστημα Διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Συλλεχθέντα κλάσματα
cHex : EtOAc 50:50	300	A-3
cHex : EtOAc 40:60	200	4-7
cHex : EtOAc 30:70	600	8-25
cHex : EtOAc 20:80	200	26-28
EtOAc 100%	400	29-34
EtOAc : MeOH 99:1	200	35-37
EtOAc : MeOH 98:2	1000	38-73
EtOAc : MeOH 97:3	400	74-79
EtOAc : MeOH 95:5	200	80-85
EtOAc : MeOH 90:10	700	86-96
EtOAc : MeOH 80:20	300	97-107
EtOAc : MeOH 70:30	300	108-111
EtOAc : MeOH 50:50	600	112-113

Πίνακας 18: Συνενωμένα κλάσματα στήλης silica BSun3-4

Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
3-4KL1	1	13.9
3-4Sun1	2-3	1.6
3-4Sun2	4-6	5.2
3-4KL7	7	1.7
3-4Sun3	8-11	21
3-4Sun4	12-23	7.4
3-4Sun5	24-39	9.3
BVS40.41	40-41	25.6

Sun42.43	42-43	15.7
3-4Sun6	44-45	24.7
Sun46.48	46-48	106.2
3-4Sun7	49-50	125.4
Sun51.57	51-57	139.4
3-4Sun8	58-66	24.6
3-4Sun9	67-68	3.4
3-4Sun10	69-71	5.6
3-4Sun11	72-85	39.7
3-4Sun12	86-113	63.1

Παρακάτω φαίνεται η χρωματογραφική εικόνα των συνενώσεων



Εικόνα 30: Χρωματογραφική εικόνα συνενωμένων κλάσματος της στήλης σε πλάκα κυτταρίνης (H₂O:AcOH, 70:30).

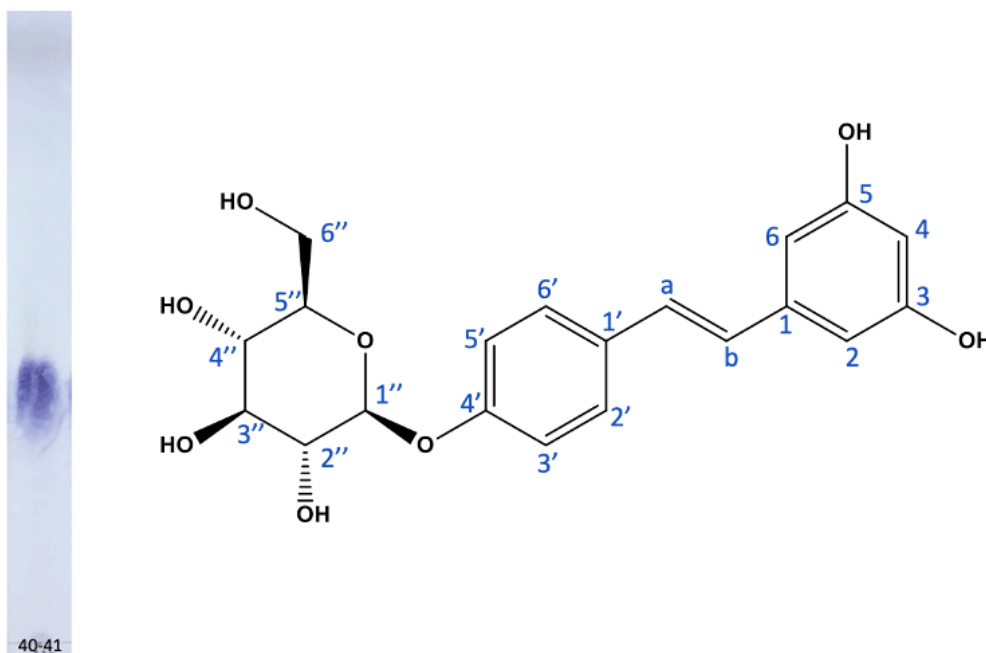
Η συνένωση **3-4Sun1** (1.6 mg) συγχρωματογραφήθηκε με την ουσία **λουτεολίνη** και επιβεβαιώθηκε ότι πρόκειται για τον ίδιο μεταβολίτη.

Το κλάσμα **BVS40.41** μελετήθηκε φασματοσκοπικά και η σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (Rainer *et al.*, 2019) οδήγησε στην ταυτοποίηση της ουσίας **4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης** που παρουσιάζεται παρακάτω.

Τα συνενωμένα κλάσματα **Sun46.48-3-4Sun7** (231.6 mg) και **Sun51.57-4Sun8** (164 mg) αναλύθηκαν περαιτέρω με χρωματογραφικές στήλες silica και sephadex αντίστοιχα (Κεφ. 2.2.3.5 και 2.2.3.6)

2.2.3.4.1 Κλάσμα BVS40.41

Η ουσία **BVS40.41** (25.6mg) εμφανίζεται ως σκούρα μωβ κηλίδα σε πλάκα πυριτίου, μετά από ψεκασμό με αντιδραστήριο θειϊκής βανιλίνης. Λήφθηκε φάσμα NMR σε CD₃OD και αφού έγινε σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα (Rainer *et al.*, 2019) καταλήξαμε ότι πρόκειται για μίγμα στο οποίο κυρίαρχη ένωση είναι ο **4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης (Resveratrolside)**.



Εικόνα 31: TLC κλάσματος BVS40.41 σε πλάκα πυριτίου σε σύστημα 90:10 EtOAc: MeOH και δομή μορίου

Η ύπαρξη μορίου ρεσβερατρόλης υποδεικνύεται από τις δύο διπλές κορυφές στα 6.99 ppm και 6.87 ppm με σύζευξη $J=16$ Hz η οποία είναι χαρακτηριστική τιμή της trans διαμόρφωσης πρωτονίων διπλού δεσμού και αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-a και H-b του διπλού δεσμού. Επιπλέον η ύπαρξη μιας διπλής στα 7.45 ppm (8.75 Hz) και μιας διπλής στα 7.08 ppm (8.75 Hz) που αντιστοιχούν στα πρωτόνια H-2', H-6' και H-3', H-5' του αρωματικού δακτυλίου αντίστοιχα είναι χαρακτηριστικό της trans-ρεσβερατρόλης.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρείται μία διπλή κορυφή με $J= 7.30$ Hz στα 4.92 ppm, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο, και αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο της γλυκόζης. Τα πρωτόνια της θέσης 6'' της γλυκόζης εμφανίζονται ως δύο διπλές διπλών κορυφές. Πιο συγκεκριμένα, το πρωτόνιο 6'' (CH_a) συντονίζεται στα 3.91 ppm με $J= 2.0/12.0$ Hz και το πρωτόνιο 6'' (CH_b) στα 3.71 ppm, με $J= 5.4/12.0$ Hz δίνοντας το καθένα μία διπλή διπλής κορυφή λόγω της σύζευξης που παρουσιάζει το καθένα από αυτά με το H-5'', αλλά και αυτής που υπάρχει μεταξύ τους. Τα υπόλοιπα πρωτόνια του σακχάρου εμφανίζονται ως πολλαπλές κορυφές στην περιοχή 3.40-3.50 ppm.

Το φάσμα COSY δείχνει την συσχέτιση των πρωτονίων 2',6' (7.45 ppm) με αυτά στις θέσεις 3',5' (7.08 ppm), καθώς και των H-2, H-6 (6.47 ppm) με το H-4 (6.19 ppm). Τέλος, είναι εμφανής και η γειτνίαση του ανωμερικού πρωτονίου H-1'' (4.92 ppm) με το H- 2'' (3.50 ppm) της γλυκόζης, καθώς και μεταξύ των πρωτονίων του μεθυλενίου της θέσης 6 της γλυκόζης στα 3.91 και 3.71 ppm.

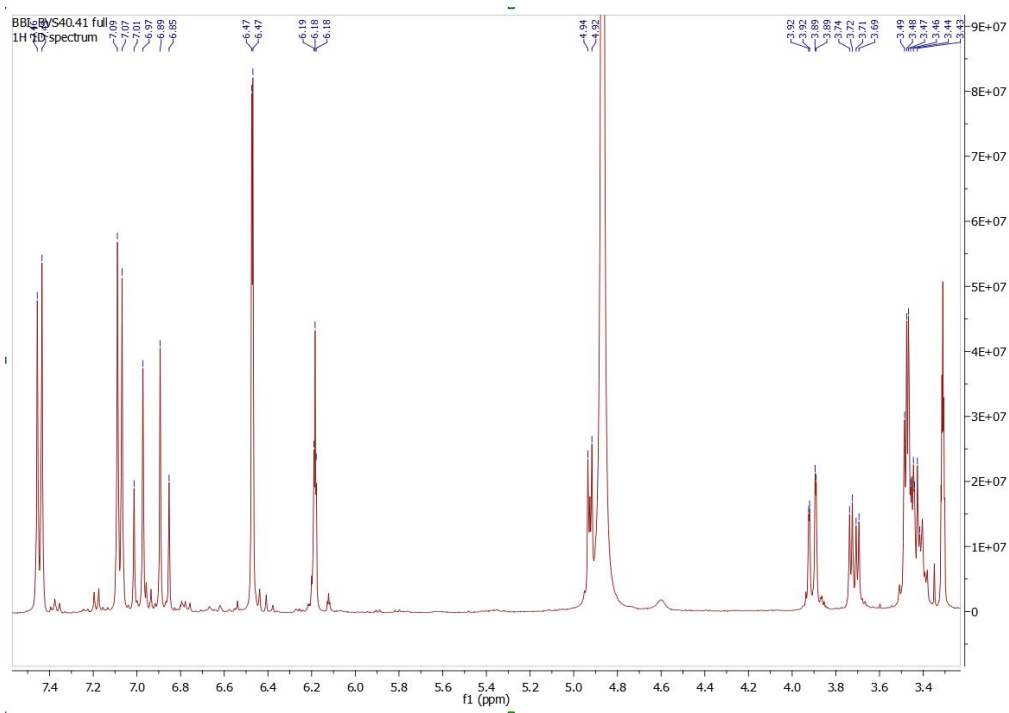
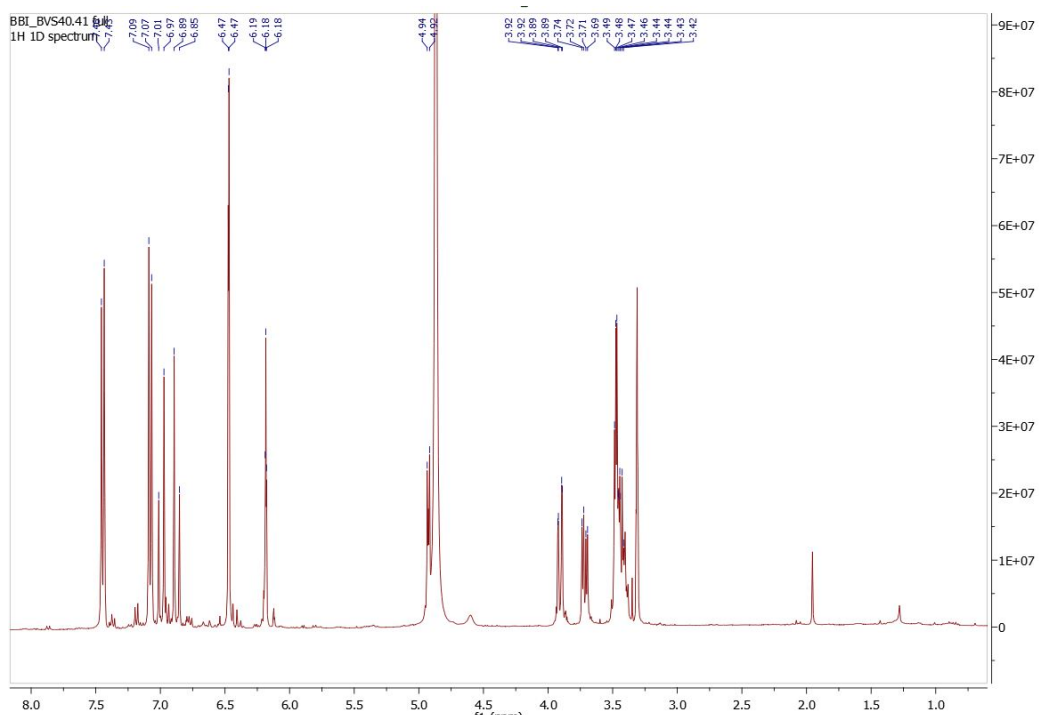
Απο το φάσμα HMQC αντιστοιχίσαμε τους άνθρακες των πρωτονίων H-2, H-6 (6.47 ppm) τα οποία έχουν την ίδια χημική μετατόπιση καθώς βρίσκονται σε παρόμοιο χημικό περιβάλλον, στα C2/C6 (104.6) ppm καθώς και του H-4 (6.19 ppm) στα 102.7 ppm. Αντιστοίχως ταυτοποιήσαμε του άνθρακες C2'/C6'(127.2 ppm), C3'/C5' (116.4 ppm), C1''(100.8 ppm), C6''(61.3 ppm) και τους άνθρακες του trans διπλού δεσμού Ca (127.5) και Cb (127.3).

Από το πείραμα HMBC αποδώσαμε τους υπόλοιπους άνθρακες. Συγκεκριμένα βρήκαμε τη χημική μετατόπιση του C4'(157.4 ppm) εξαιτίας της συσχέτισης του με τα πρωτόνια H2', H6', H3', H5' καθώς και με το ανωμερικό πρωτόνιο όπου και επιβεβαιώνεται ότι το σάκχαρο συνδέεται μέσω αυτής της θέσης και όχι από την άλλη πλευρά του μορίου. Ο C1(139.6 ppm) στο φάσμα συσχετίζεται με τα πρωτόνια των θέσεων 3'/5, α και b, όπως και ο άνθρακας C1'(131.7 ppm) από όπου και επιβεβαιώνεται η χημική τους μετατόπιση. Στα 158.1 ppm βρίσκεται ο άνθρακας των θέσεων 3/5 και αυτό αποδεικνύεται μέσω της συσχέτισης του με τα πρωτόνια των θέσεων 2/6 και 4. Με το πείραμα αυτό καθώς και με τη βοήθεια της βιβλιογραφίας (Pandey *et al.*, 2014) ταυτοποιήθηκαν και οι θέσεις των ανθράκων του σακχάρου. Το ανωμερικό πρωτόνιο δίνει συσχέτιση με τον C5'' (76.6 ppm) όπως και τα πρωτόνια την θέσης 5'', τα οποία με τη σειρά τους δίνουν συσχέτιση με τον C4'' (69.9 ppm). Ο άνθρακας C2''(73.6 ppm) δίνει συσχέτιση με το ανωμερικό πρωτόνιο καθώς και με ένα από τα πρωτόνια H-4'' και H-3''.

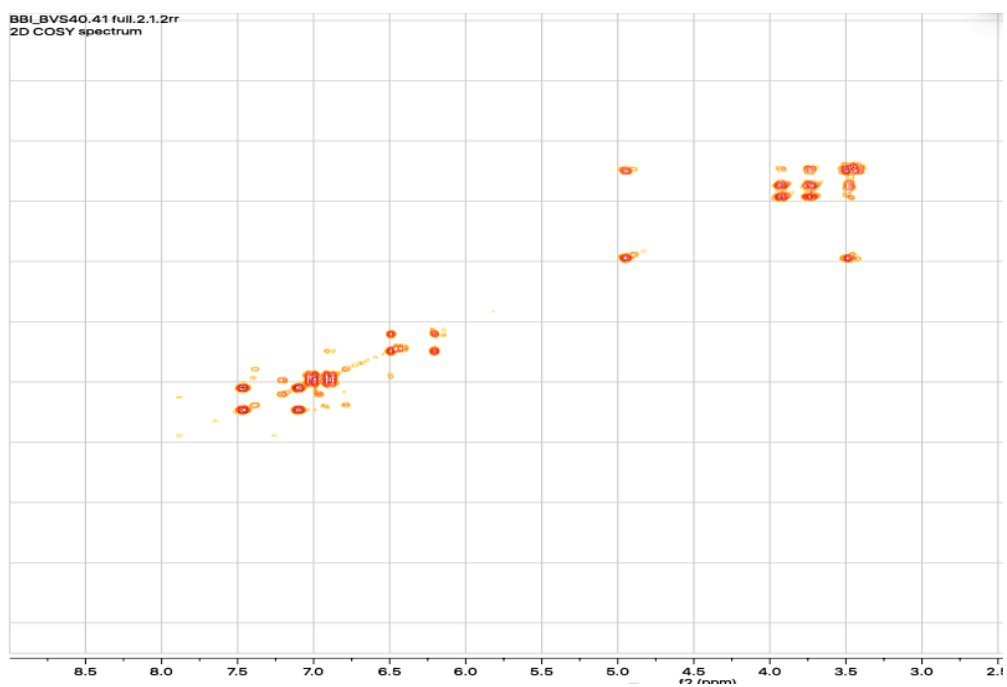
Πίνακας 19: Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H-NMR, CD₃OD της ουσίας 4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσιδής της trans-ρεσβερατρόλης

	Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
Ρεσβερατρόλη	1'				131.6
	2'	7.45	d	8.75	127.2
	3'	7.08	d	8.75	116.4
	4'				157.4
	5'				116.4
	6'	7.45	d	8.75	127.2
	a	6.99	d	16.0	127.5
	b	6.87	d	16.0	127.3
	1				139.6
	2	6.47	d	2.0	104.6
	3				158.3
	4	6.19	t	2.0, 2.0	101.6
	5				158.3
	6				104.6
Γλυκόζη	1''	4.92	d	7.30	100.8
	2''	3.50-3.40	m		73.6
	3''			76.6	
	4''			69.9	
	5''			76.6	
	6'' (CH _a)	3.91	dd	2.0,12.0	61.3
	6'' (CH _b)	3.71	dd	5.4,12.0	

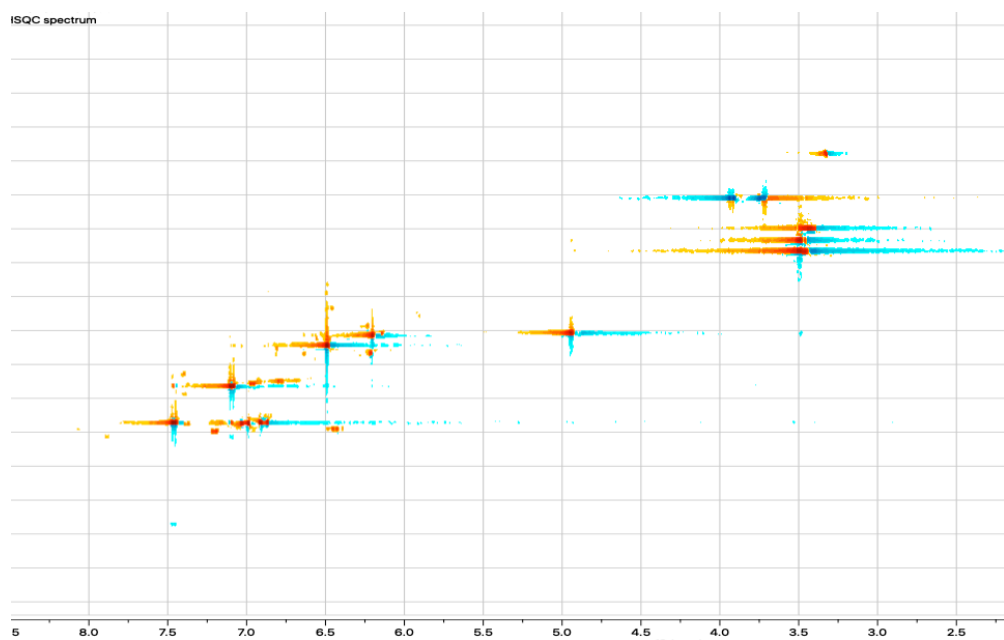
¹H-NMR



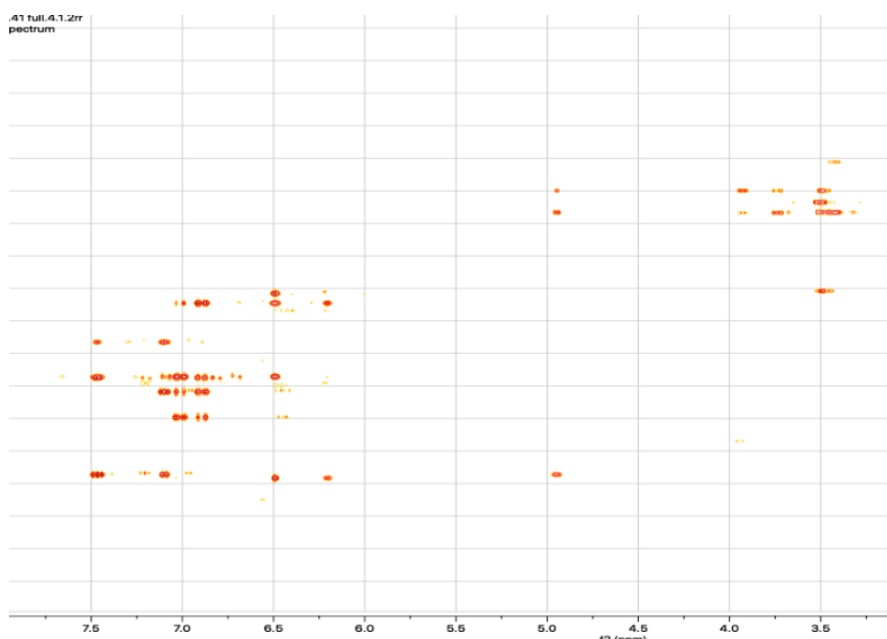
COSY



HSQC



HMBC



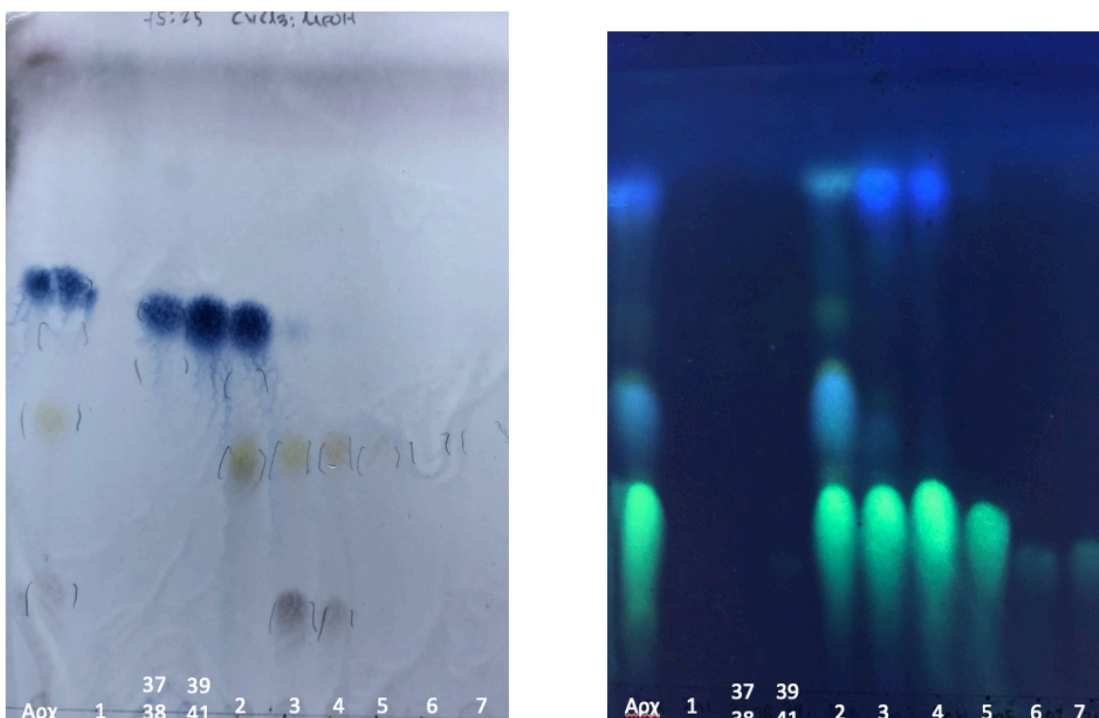
Ο 4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης έχει απομονωθεί ξανά από τα είδη *Fallopia japonica* (*Polygonum cuspidatum*), *Vitis ssp.*, *Paeonia lactiflora*, *Paeonia officinalis* και *Paeonia ostii* (Kim *et al.*, 2002b; Kirino *et al.*, 2012; Pawlus *et al.*, 2013., Rainer *et al.*, 2019; Tian *et al.*, 2019). Έχει εμφανίσει αντιφλεγμονώδη και καρδιοπροστατευτική δράση (Fan *et al.*, 2013; Naumenko *et al.*, 2013). Μελέτη στην οποία αποδεικνύεται η *in vitro* δράση της κατά της μελανογένεσης μέσω της αναστολής της τυροσινάσης, ενζύμου που συμμετέχει στη σύνθεση της μελανίνης, προτείνει την πιθανή ευεργετική μελλοντική χρήση της σε καλλυντικά σκευάσματα με στόχο την εξάλειψη εναπόθεσης μελανίνης (λευκαντική δράση) (Rainer *et al.*, 2019).

2.2.3.5 Κλάσμα 3-4Sun7

Στην συνένωση 3-4Sun7 (231.6 mg) πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία ανοικτής στήλης βαθμιαίας έκλουσης με υλικό πλήρωσης γέλη οξειδίου του πυριτίου και κινητή φάση συστήματα διαλυτών αυξανόμενης πολικότητας. Η διάμετρος της στήλης ήταν 1.5 cm και το ύψος της στατικής φάσης 16 cm. Από τη στήλη συλλέχθηκαν 212 κλάσματα, τα οποία συνενώθηκαν σε 7 τελικά κλάσματα όπως φαίνεται και στον πίνακα (Πιν.21).

Πίνακας 20: Χαρακτηριστικά στήλης του κλαάσματος 3-4Sun7

Σύστημα Διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Συλλεχθέντα κλάσματα
CH ₂ Cl ₂ 100%	300	A-3
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 95:5	200	4-7
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 93:7	600	8-25
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 90:10	200	26-28
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 85:15	400	29-34
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 80:20	200	35-37
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 70:30	1000	38-73
CH ₂ Cl ₂ : MeOH 50:50	400	74-79



Εικόνα 32: TLC συνενωμένων κλασμάτων της στήλης: αριστερά σε πλάκα πυριτίου ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$, 75:25), δεξιά σε πλάκα κυτταρίνης ($\text{H}_2\text{O}:\text{AcOH}$, 70:30).

Πίνακας 21: Συνενωμένα κλάσματα στήλης silica 3-4Sun7

Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
BVSSsn1	1-36	7.1
BVSS37-38	37-38	1.8
BVSS39-41	39-41	52.6
BVSSsn2	42-113	69.1
BVSSsn3	114-138	9.8
BVSSsn4	139-160	42
BVSSsn5	161-201	5.3
BVSSsn6	202-207	1.2
BVSSsn7	208-212	1.3

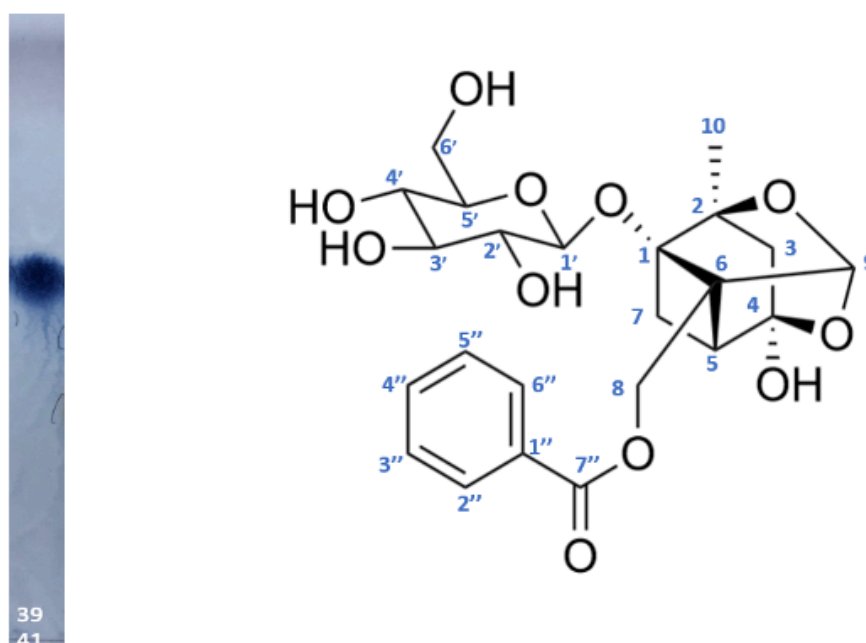
Το κλάσμα **BVSS39-41** (52.6 mg) ελέγχθηκε με φασματοσκοπία NMR και έπειτα από σύγκρισή του με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (Baltina *et al.*, 2019) καταλήξαμε ότι πρόκειται για χημειοταξινομικό δείκτη του γένους (Κεφ. 2.2.3.5.1).

Επίσης η συνένωση **BVSSsn5** (5.3 mg) μετα από φασματοσκοπική μελέτη και σύγκριση με βιβλιογραφικά δεδομένα προέκυψε ότι πρόκειται για την ένωση **3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης** (Κεφ. 2.2.3.5.2).

Τα συνενωμένα κλάσματα **BVSSsn3-BVSSsn4** (51.8 mg) υποβλήθηκαν σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα πυριτίου (CHCl₃:MeOH 75:25), όπου απομονώθηκαν δύο ουσίες. Η μία από τις δύο ενώσεις, η **BVSS4.z2** (7.7 mg) ύστερα από τη φασματοσκοπική μελέτη σε δευτεριωμένη μεθανόλη (CD₃OD) συμπεράναμε πως πρόκειται για την ουσία **3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης**, ενώ η άλλη ήταν η **BVSS4.z5** (3 mg), η οποία βρίσκεται υπο μελέτη.

2.2.3.5.1 Κλάσμα BVSS39-41

Το κλάσμα **BVSS39-41** (52.6 mg) παραλήφθηκε με την μορφή λευκής ένωσης όπου σε πλάκα πυριτίου εμφανιζόταν ως σκούρα μπλε κηλίδα ενώ σε πλάκα κυτταρίνης δεν εμφάνιζε καμία κηλίδα. Η λήψη φασμάτων ¹H-NMR, COSY και HMBC καθώς και σύγκριση αυτών με την βιβλιογραφία οδήγησε στην ταυτοποίηση του μορίου **παιωνιοφλορίνη**, ενός μονοτερπενικού γλυκοσίδη (Demir *et al.*, 2019)



Εικόνα 33: BVS40.41 σε πλάκα πυριτίου σε σύστημα 75:25 CHCl₃: MeOH

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας παιωνιοφλορίνη (Πίν. 22). Συγκεκριμένα στην αρωματική περιοχή έχουμε μία διπλή κορυφή στα 8.04 ppm (7.6 Hz) που αντιστοιχεί στα πρωτόνια των θέσεων 2'',6'' τα οποία έχουν μια ορθο σύζευξη με τα πρωτόνια των θέσεων 3'',5'' που αντιστοιχίζονται στην τριπλή κορυφή στα 7.48 (7.64 Hz), αυτά με τη σειρά του έχουν μια όρθο σύζευξη με το πρωτόνιο H-4'' που αντιστοιχεί στην τριπλή κορυφή στα 7.60 (7.41 Hz). Οι δύο αυτές συσχετίσεις των πρωτονίων H-3''/H-5'' επιβεβαιώνονται και από το φάσμα COSY.

Στην περιοχή των σακχάρων παρατηρήθηκε μία διπλή κορυφή στα 4.53 ppm με $J=7.65$ Hz που είναι χαρακτηριστική του ανωμερικού πρωτονίου της γλυκόζης όπως επίσης και μια διπλή στα 3.85 ppm με $J=11.8$ Hz και μια διπλή διπλής στα 3.61 ppm ($J_1=11.8$, $J_2=4.5$ Hz) οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια των θέσεων 6a' και 6b' αντίστοιχα. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτονίων της θέσεως 6 φαίνεται και στο φάσμα COSY.

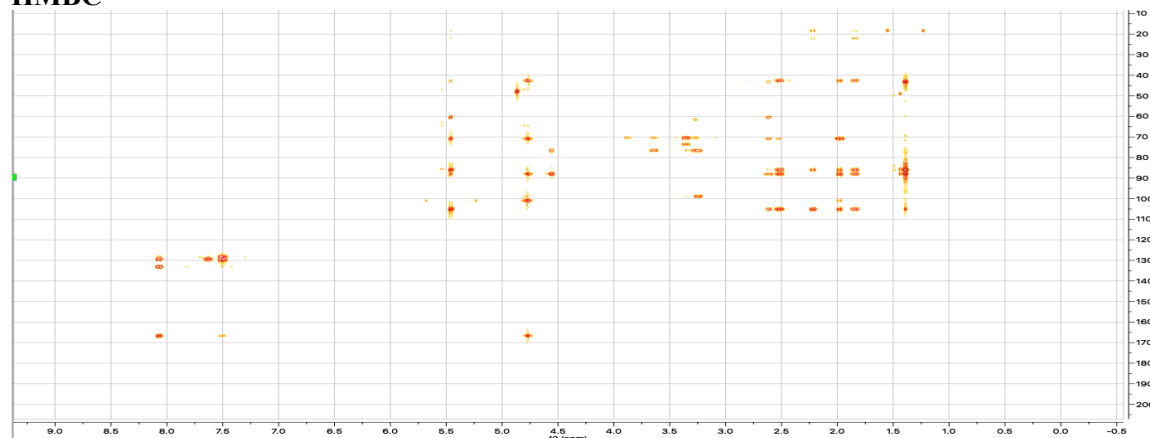
Στο φάσμα COSY φαίνεται και η συσχέτιση του πρωτονίου H-3b (2.19 ppm) που αντιστοιχεί σε μια διπλή κορυφή με $J=12.6$ Hz με εκείνο του H-3a (1.82 ppm) που αντιστοιχεί σε μια διπλή κορυφή με $J=12.6$ Hz. Εμφανής είναι και η αλληλεπίδραση μεταξύ των πρωτονίων της θέσεως 7 (2.49 και 1.95 ppm).

Από το φάσμα HSQC έγινε η αντιστοίχιση όλων των πρωτονίων με τους άνθρακες τους πλην των πρωτονίων του σακχάρου H-2', H-3', H-4', H-5' οι οποίοι ταυτοποιήθηκαν μέσω του φάσματος HMBC. Επιπλέον μέσω του φάσματος HMBC ταυτοποιήσαμε και τους τεταρτοταγείς άνθρακες. Πιο συγκεκριμένα ο C-7'' (166.5 ppm) ταυτοποιήθηκε μέσω της συσχέτισης που έδωσε με τα πρωτόνια H-2''/H-6'' και H-8. Επίσης ο C-6 (70.9 ppm) έδωσε συσχέτιση με τα πρωτόνια H-5, H-7, H-8 καθώς και με H-9 από όπου και επιβεβαιώσαμε την χημική του μετατόπιση. Συσχέτιση με τα ίδια πρωτόνια και με αυτό του πρωτονίου H-10 και του ανωμερικού έδωσε και ο άνθρακας C-1 (88.1 ppm).

Πίνακας 22: Φασματοσκοπικά δεδομένα $^1\text{H-NMR}$, CD_3OD της ουσίας πεονιφλωρίνη

	Θέση	δ (ppm) ^1H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)	δ (ppm) ^{13}C
Αρωματικός δακτύλιος	1''				129.9
	2''	8.04	d	7.6	129.3
	3''	7.48	t	8.75	128.6
	4''	7.60	t	7.41	133.3
	5''	7.48	t	8.75	128.6
	6''	8.04	d	7.6	129.3
	7''				166.5
Γλυκόζη	1'	4.53	d	7.65	99.2
	2'	3.36-3.20	m		73.7
	3'				76.6
	4'				70.6
	5'				76.6
	6' (CH _a)	3.85	d	11.7	61.4
	6' (CH _b)	3.61	dd	4.5,11.7	
Τερπενικός δακτύλιος	1				88.1
	2				85.7
	3a	1.82	d	12.7	42.6
	3b	2.19	d	12.6	
	4				105.4
	5	2.59	d	6.61	42.8
	6				70.9
	7a	1.95	d	10.8	22.2
	7b	2.49	m		
	8	4.74	d	2.0	60.5
	9	5.43	s		101.0
10	1.37	s		18.8	

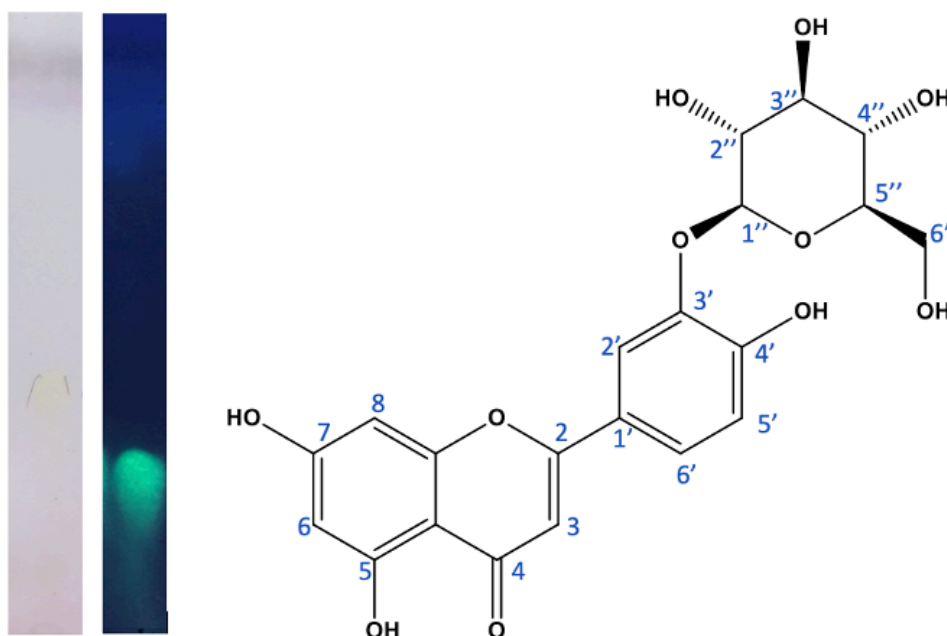
HMBC



Η παιωνιφλορίνη ως χημειοταξινομικός δείκτης του γένους έχει βρεθεί και απομονωθεί από αρκετά είδη του γένους που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα όπως *P. lactiflora*, *P. suffruticosa*., *P. emodi*, *P. osii*, *P. anomala* κ.α (He *et al.*, 2010). Έχει δείξει πληθώρα φαρμακολογικών δράσεων όπως αντιφλεγμονώδη και ανοσορυθμιστική (Wu *et al.*, 2007), καρδιοπροστατευτική (Chen *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2017), αντικαρκινική (Jin *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2018) αντικαταθλιπτική (Qui *et al.* 2013) και αντιψωριασική δράση (Sun *et al.* 2015) (Κεφ. 1.9.1).

2.2.3.5.2 Κλάσμα BVSSsn5

Το κλάσμα **BVSSsn5** (5.3 mg) απομονώθηκε ως κίτρινη κόνις όπου σε πλάκα πυριτίου εμφανιζόταν ως κίτρινη κηλίδα ενώ σε πλάκα κυτταρίνης εμφανίζει έντονο κίτρινοπράσινο χρώμα. Η λήψη φασμάτων ¹H-NMR, COSY, HSQC και HMBC καθώς και σύγκριση αυτών με την βιβλιογραφία (Bader *et al.*, 2003) οδήγησε στην ταυτοποίηση του μορίου **3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης**, ενός γλυκοσίδη φλαβονοειδούς.



Εικόνα 34: TLC του κλάσματος BVSSsn5 σε πλάκα πυριτίου σε σύστημα 75:25 CHCl₃: MeOH (αριστερά) και σε πλάκα κυτταρίνης (H₂O:AcOH, 70:30) (δεξιά) και δομή μορίου

Στο φάσμα πρωτονίου, στην αρωματική περιοχή του φάσματος και συγκεκριμένα στα 7.89 ppm (H-2') και στα 6.99 ppm (H-5') παρατηρούνται δύο διπλές με αντίστοιχα $J = 2.0$ και 8.67

Hz που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο και μία διπλή διπλής κορυφή στα 7.62 ppm (H-6') με $J=2.0, 8.67$ Hz που ολοκληρώνει επίσης για ένα πρωτόνιο. Αυτά υποδηλώνουν την ύπαρξη ενός 1,3,4-τρις-υποκατεστημένου αρωματικού πυρήνα (δακτύλιος Β). Στα 6.64 ppm παρατηρείται μια απλή κορυφή που αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-3 του δακτυλίου C. Τέλος στα 6.50 ppm και στα 6.20 ppm παρατηρούνται δύο διπλές κορυφές με $J=1.74$ και 1.85 Hz που ολοκληρώνουν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία (δακτύλιος Α). Τέλος η ύπαρξη μιας διπλής κορυφής στα 4.90 ppm με $J= 7.68$ Hz είναι χαρακτηριστική του ανωμερικού πρωτονίου της γλυκόζης.

Στο φάσμα COSY φάνηκε η συσχέτιση μεταξύ των πρωτονίων H-6 και H-8 του δακτυλίου Α καθώς και η συσχέτιση μεταξύ των πρωτονίων του δακτυλίου Β.

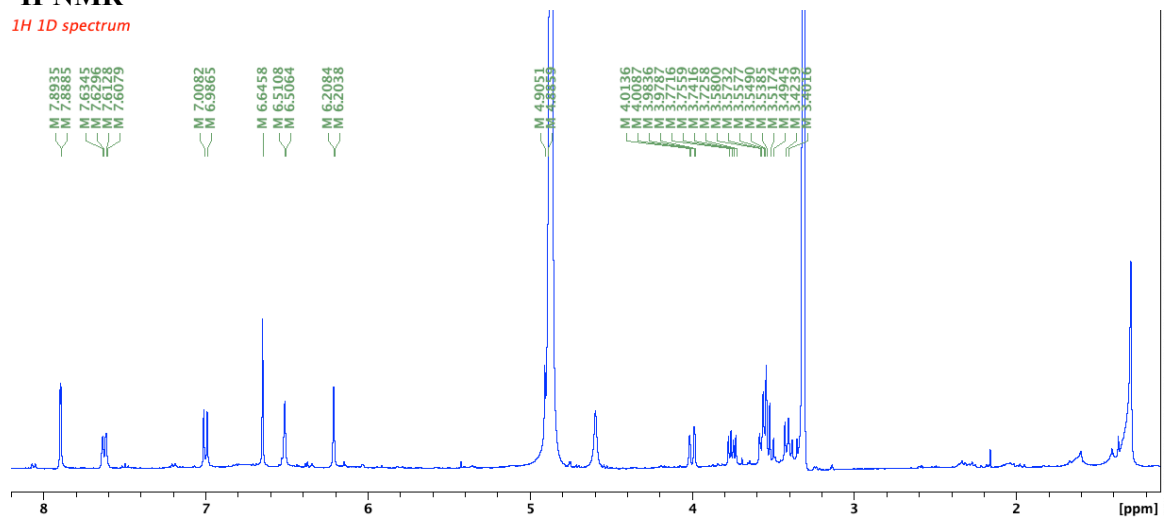
Μέσω του HMBC φάσματος φαίνονται οι συσχετίσεις του πρωτονίου H-2' με τους τεταρτοταγείς άνθρακες C-1' (122.2 ppm), C-3' (147.2 ppm), C-4' (154.0 ppm) καθώς και με τον C-2 (165.5 ppm) του δακτυλίου C. Οι μετατοπίσεις των δύο ανθράκων C-4' και C-2 αποδεικνύονται και από τα σήματα που δίνουν με το πρωτόνιο H-6'. Επίσης εμφανής είναι και η συσχέτιση του H5' (6.90 ppm) με τον C-3', C-4' καθώς και με τον C-1' στον δακτύλιο Β. Ο C-10 (104.5 ppm) συσχετίζεται με τα πρωτόνια H-3, H-8 και H-6 ενώ ο C-7 (167.1 ppm) ταυτοποιείται μέσω του συσχετισμού του με τα πρωτόνια H6 και H8 και υπόλοιποι άνθρακες C4, C5 και C9 αντίστοιχα μέσω της συσχέτισης τους με τα πρωτόνια H3, H6 και H8. Τέλος φαίνεται και η σύζευξη του ανωμερικού του σακχάρου με τον άνθρακα C-3' (147.2 ppm), από όπου και επιβεβαιώνεται η θέση σύνδεσης του σακχάρου με το άγλυκο.

Πίνακας 23: Φασματοσκοπικά δεδομένα της ουσίας 3'-O-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης (CD₃OD)

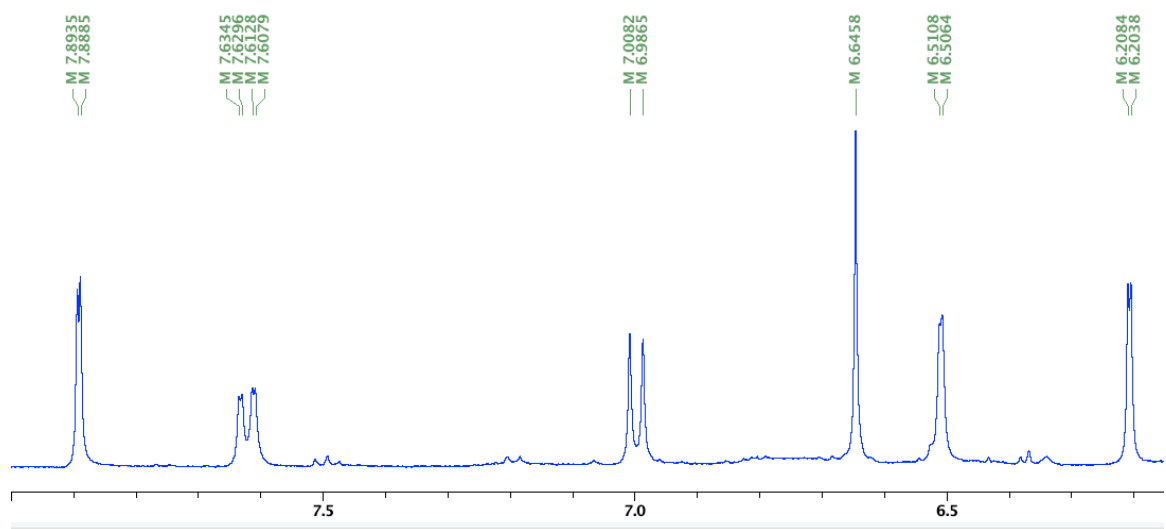
	Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
Άγλυκο	1'				122.2
	2'	7.89	d	2.0	116.3
	3'				147.2
	4'				154.0
	5'	6.99	d	8.67	117.8
	6'	7.62	dd	2,8.67	123.3
	2				165.5
	3	6.53	s		103.2
	4				183.2
	5				162.8
	6	6.20	d	2.0	100.1
	7				167.1
	8	6.43	d	2.0	95.02
9				159.2	
10				104.5	
Γλυκόζη	1''	4.90	d	7.68	103.96
	2''	3.58-3.49	m		74.5
	3''				77.3
	4''				71.1
	5''				78.0
	6'' (CH _a)	3.99	dd	2.0,12.0	62.2
	6'' (CH _b)	3.74	dd	6.3,12.0	

¹H-NMR

1H 1D spectrum

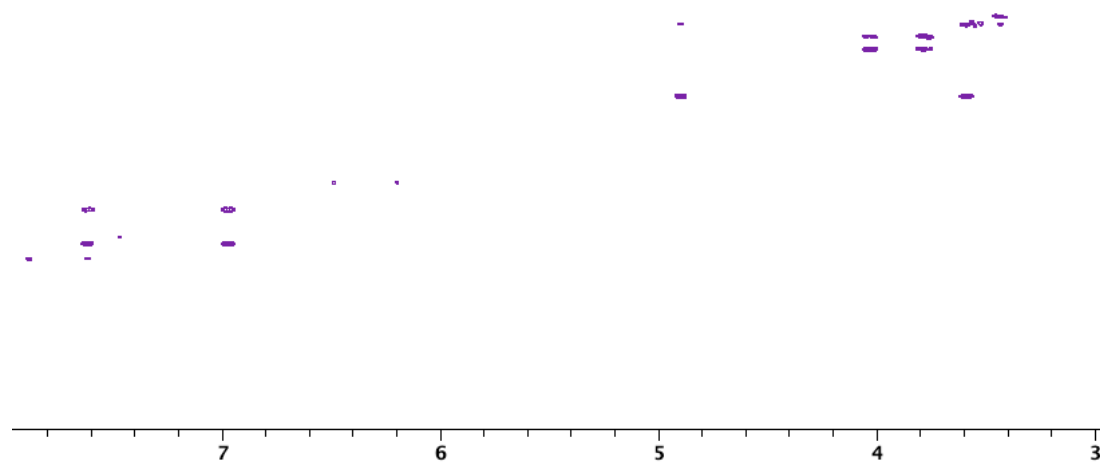


1H 1D spectrum



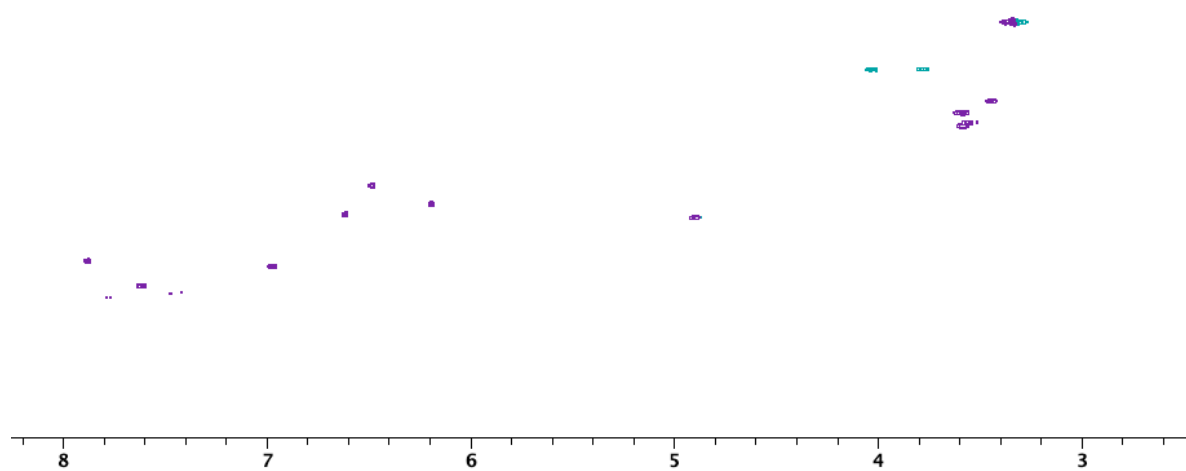
COSY

2D COSY spectrum

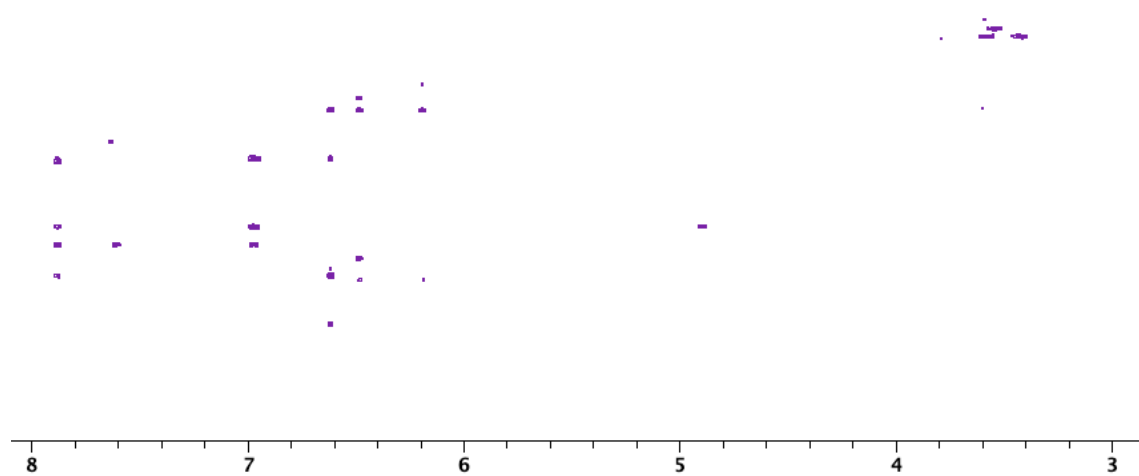


HSQC

2D HSQC spectrum



HMBC

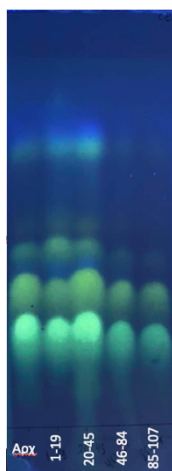


Ο 3'-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης της λουτεολίνης έχει βρεθεί σε φυτά της οικογένειας Asteraceae, Apiaceae, Fabaceae, Lamiaceae Scrophylariaceae και Rotamogetonaceae (Lopez-Lazaro 2009; Murata *et al.*, 2011; Singab *et al.*, 2015). Στο γένος *Raeonia* μέχρι σήμερα απομονώνεται και ανιχνεύεται για πρώτη φορά.

Σύμφωνα με μελέτες έχει εμφανίσει αντιβακτηριακή δράση και μέτρια αντιοξειδωτική (Barreiros *et al.*, 2000; Kumarasamy *et al.*, 2005). Επιπλέον υπάρχει μελέτη όπου αποδεικνύεται η αντιφλεγμονώδης καθώς και η αντιεπιληπτική δράση της ένωσης μετά από χορήγηση *in vivo* σε ποντίκια (Tatli *et al.*, 2008)

2.2.3.6 Κλάσμα 3-4Sun8

Το συνενωμένο κλάσμα **3-4Sun8** (164 mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό με στήλη διαμέτρου 1.5 cm και με υλικό πλήρωσης πολυδροξυπροπυλιωμένη δεξτράνη, Sephadex LH-20 (25-100 μm, Pharmacia) με ύψος στατικής φάσης 13.5 cm. Η έκλουση έγινε με 100 mL διαλύματος (20:80, EtOAc: MeOH) όπου έγινε συλλογή 108 κλασμάτων, ενώ άλλα 20 κλάσματα εκλούστηκαν με 50 ml μεθανόλη. Τα κλάσματα ελέγχθηκαν σε πλάκες κυτταρίνης..



Πίνακας 24: Συνενωμένα κλάσματα στήλης sephadex 3-4Sun8

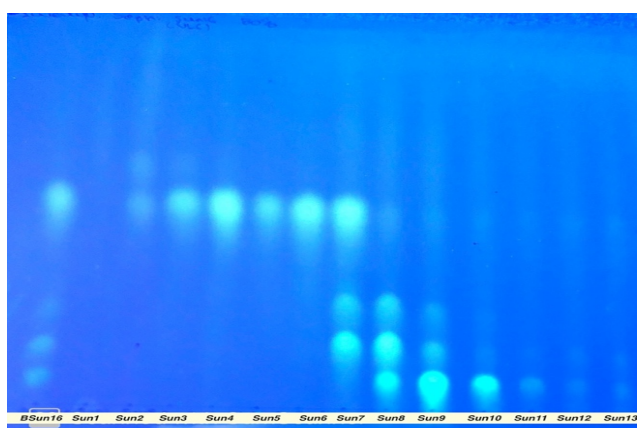
Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
BVSSe1-19	1-19	68.3
BVSSe20-45	20-45	52.2
BVSSe46-84	46-84	18.8
BVSSe85-107	85-107	6.5
BVSSe108-128	108-128	3.2

Εικόνα 35: Χρωματογραφική εικόνα των συνενωμένων κλασμάτων της στήλης σε πλάκα κυτταρίνης και σύστημα (H₂O:AcOH, 70:30).

Οι συνενώσεις **BVSSe46-84 - BVSSe85-107** μελετήθηκαν φασματοσκοπικά και καταλήξαμε στο συμπέρασμα πως πρόκειται για μίγμα προηγούμενων απομονωμένων ενώσεων (παιωνιφλορίνη, λουτεολίνη και 3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης)

2.2.3.7 Χρωματογραφική μελέτη συνένωσης BSun16-17

Η τελευταία και πιο πολική συνένωση της VLC στήλης, BSun16-17 (798.2 mg) υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό σε στήλη ύψους 58 cm και πλάτους 2,5 cm με υλικό πλήρωσης πολυδροξυπροπυλιωμένη δεξτράνη, Sephadex LH-20 (25-100 μm, Pharmacia) ύψους 18 cm. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήσαμε 500 ml μεθανόλη και συλλέχθηκαν 112 κλάσματα. Παρακάτω αναφέρονται αναλυτικά οι συνενώσεις που πραγματοποιήθηκαν μετά από ελέγχους σε πλάκες κυτταρίνης (σύστημα ανάπτυξης H₂O:AcOH (70:30), ψεκασμός με Naturstoff).



Εικόνα 36: Χρωματογραφική εικόνα συνενωμένων κλάσματος της στήλης σε πλάκα κυτταρίνης (H₂O:AcOH, 70:30).

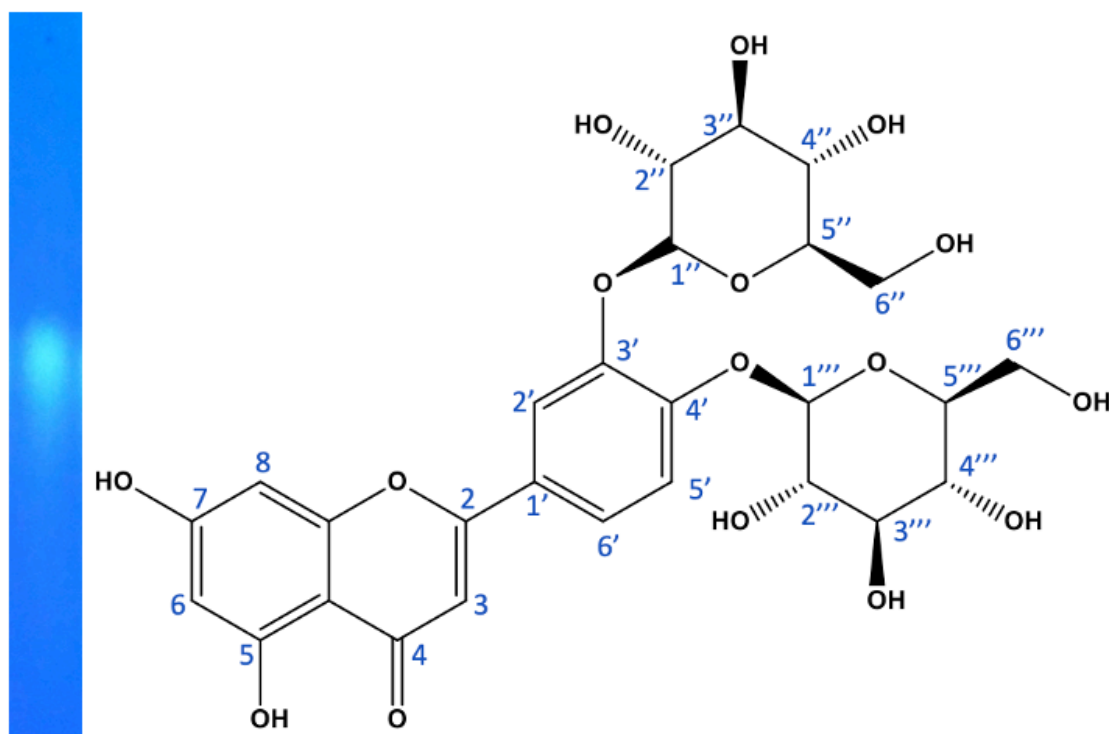
Πίνακας 25: Συνενωμένα κλάσματα στήλης sephadex BSun16-17

Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
BSeSun1	A-10	49.1
BSeSun2	11-16	54.4
BSeSun3	17-21	28.1
BSeSun4	22-31	58.7
BSeSun5	32-36	5.6
BSeSun6	37-41	18.4
BSeSun7	42-52	19.8
BSeSun8	53-62	8.4
BSeSun9	63-69	3.1
BSeSun10-11	70-88	5.9
BSeSun12	89-110	7.7
BSeSun13	111-112	20.4

Από τα παραπάνω συνενωμένα κλάσματα ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε το κλάσμα **BSeSun5** (5.6 mg) το οποίο μελετήθηκε φασματοσκοπικά και έδειξε ότι πρόκειται για την ένωση **3',4'-δι-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης**.

2.2.3.7.1 Κλάσμα BSeSun5

Το κλάσμα **BSeSun5** ποσότητας (5.6 mg) απομονώθηκε ως ένα έντονο κίτρινο συστατικό όπου σε πλάκα κυτταρίνης εμφανίζει κηλίδα έντονου κιτρινοπράσινου χρώματος. Η λήψη φασμάτων NMR και η σύγκριση αυτών με την βιβλιογραφία (Bader *et al.*, 2003) οδήγησε στην ταυτοποίηση του μορίου **3',4'-δι-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης**, ενός διγλυκοσίδη του φλαβονοειδούς λουτεολίνης.



Εικόνα 37: (Αριστερά): Χρωματογραφική εικόνα συνενωμένων κλάσματος BSeSun5 σε πλάκα κυτταρίνης (H₂O:AcOH, 70:30) και (δεξιά): δομή μορίου

Η αρωματική περιοχή του φάσματος της ένωσης 3',4'-δι-*O*-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης είναι σχεδόν πανομοιότυπη με αυτή του φάσματος της 3'-*O*-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης (Κεφ. 2.2.3.5.2) με ελαφρώς μετατοπισμένες τις κορυφές όπως φαίνεται και στον πίνακα που ακολουθεί (Πιν.26).

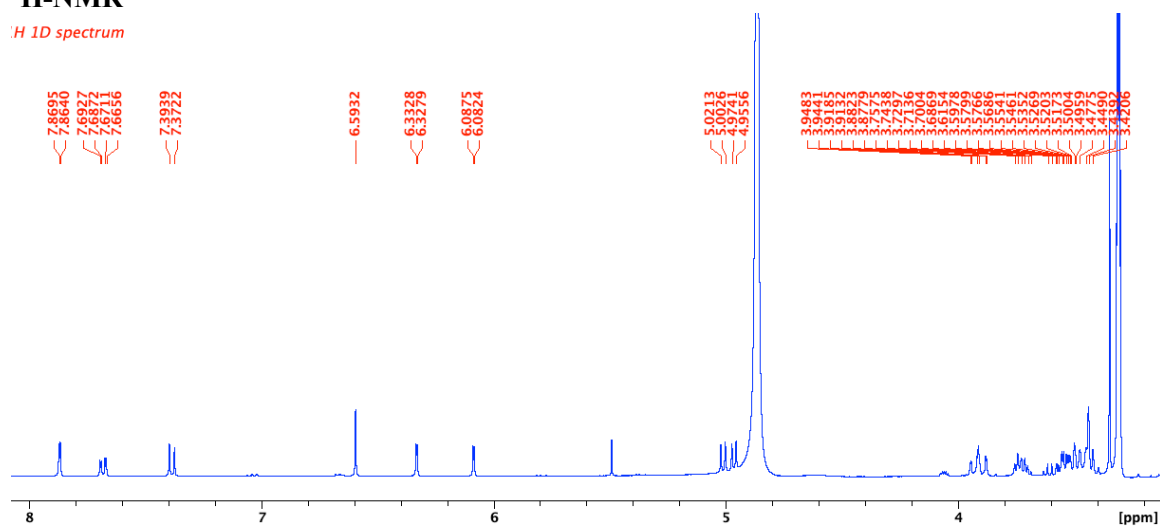
Η διαφορά στα δύο φάσματα εντοπίζεται στην περιοχή των σακχάρων. Συγκεκριμένα παρατηρούμε δύο διπλές κορυφές στα 5.01 ppm με $J = 7.49$ Hz και στα 4.96 ppm με $J = 7.49$ Hz που είναι χαρακτηριστικές κορυφές ανωμερικού πρωτονίου γλυκόζης. Επομένως έχουμε δύο μόρια γλυκόζης συνδεδεμένα στο φλαβονοειδές της λουτεολίνης και η θέση σύνδεσης τους υποδεικνύεται μέσω του πειράματος HMBC. Συγκεκριμένα το ανωμερικό πρωτόνιο στα 5.01 ppm δίνει σήμα συσχέτισης με τον άνθρακα C-4' (151.6 ppm) ενώ το πρωτόνιο στα 4.96 ppm συσχετίζεται με τον άνθρακα C-3' (148.8).

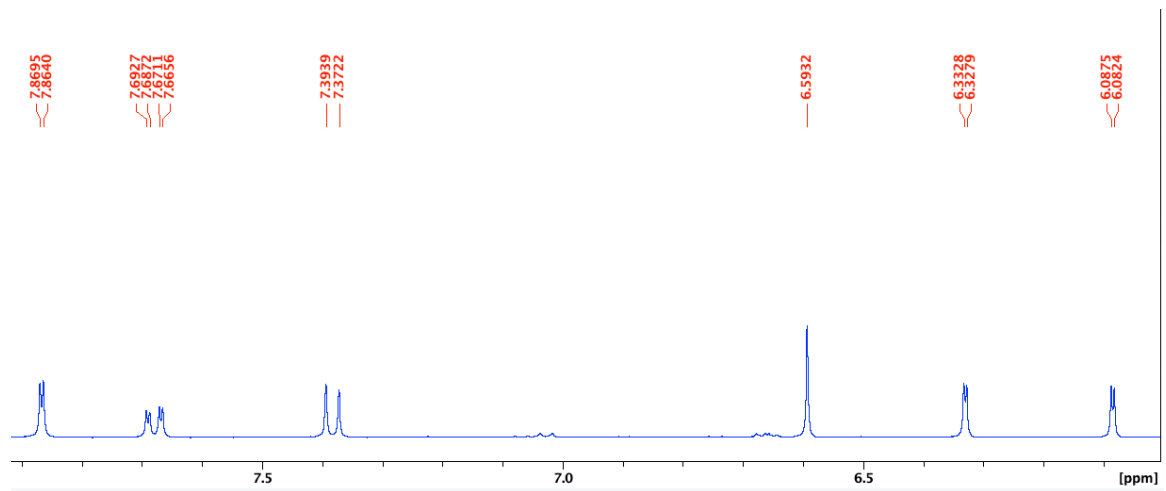
Πίνακας 26: Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR της ουσίας 3',4'-δι-*O* β-D -γλυκοπυρανοσίδης της λουτεολίνης, (CD₃OD)

	Θέση	δ (ppm) ¹ H	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης <i>J</i> (Hz)	δ (ppm) ¹³ C
Άγλυκο	1'				126.7
	2'	7.86	d	2.2	116.5
	3'				147.5
	4'				150.6
	5'	7.38	d	8.70	117.0
	6'	7.68	dd	2,8.54	121.8
	2				162.4
	3	6.59	s		104.0
	4				181.4
	5				161.3
	6	6.08	d	2.0	100.0
	7				174.0
	8	6.33	d	2.0	95.9
	9				158.6
10				101.8	
Γλυκόζη	1''	4.96	d	7.49	101.0
	1'''	5.01	d	7.49	102.3
	2''-2'''	3.38-3.63	m		73.4
	3''-3'''				76.8
	4''-4'''				70.0
	5''-5'''				76.2
	6''-6''' (CH _a)	3.93	m		62
	6''-6''' (CH _b)	3.76	m		

¹H-NMR

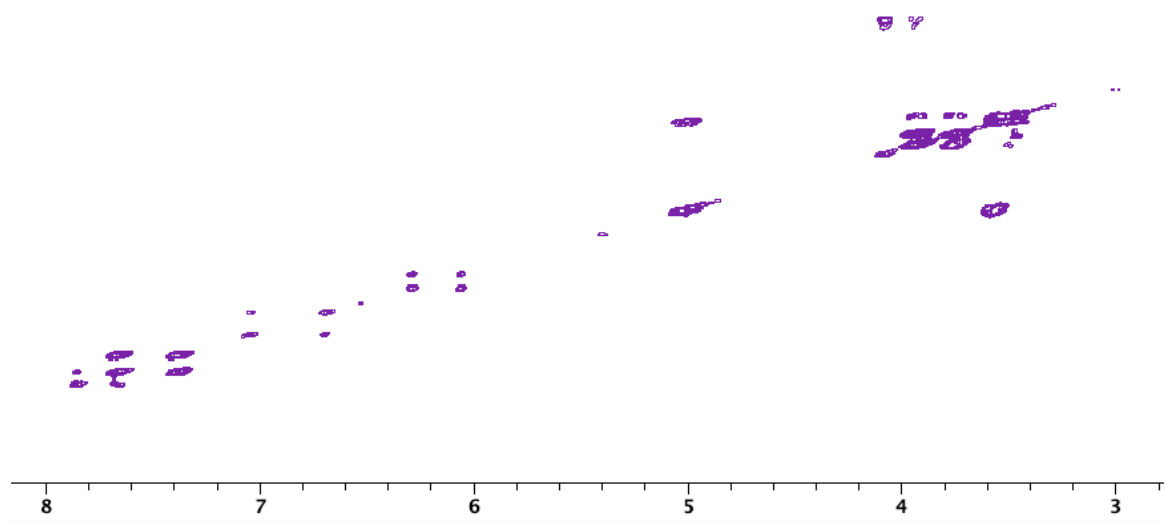
H 1D spectrum





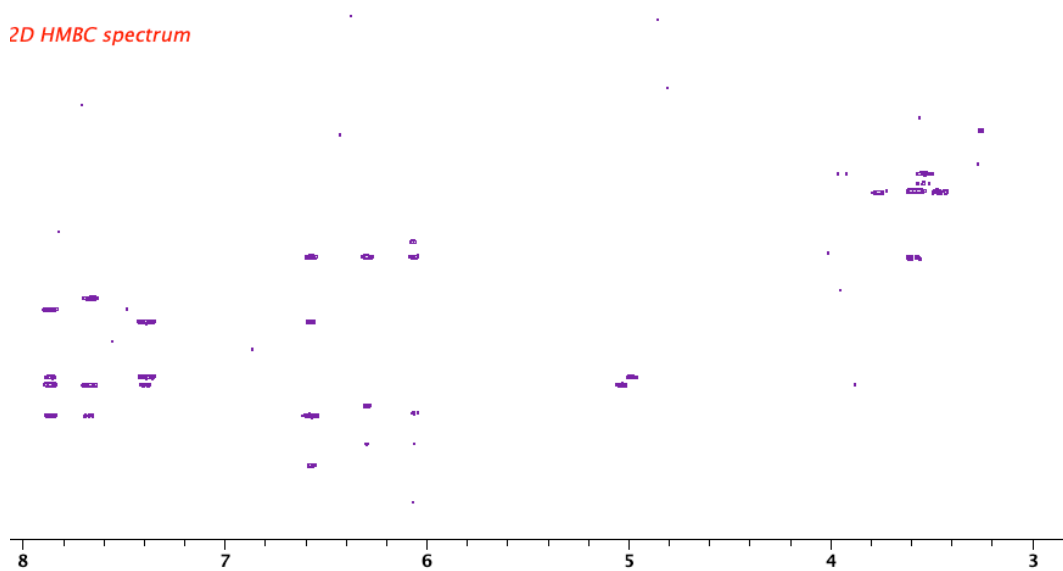
COSY

2D COSY spectrum



HMBC

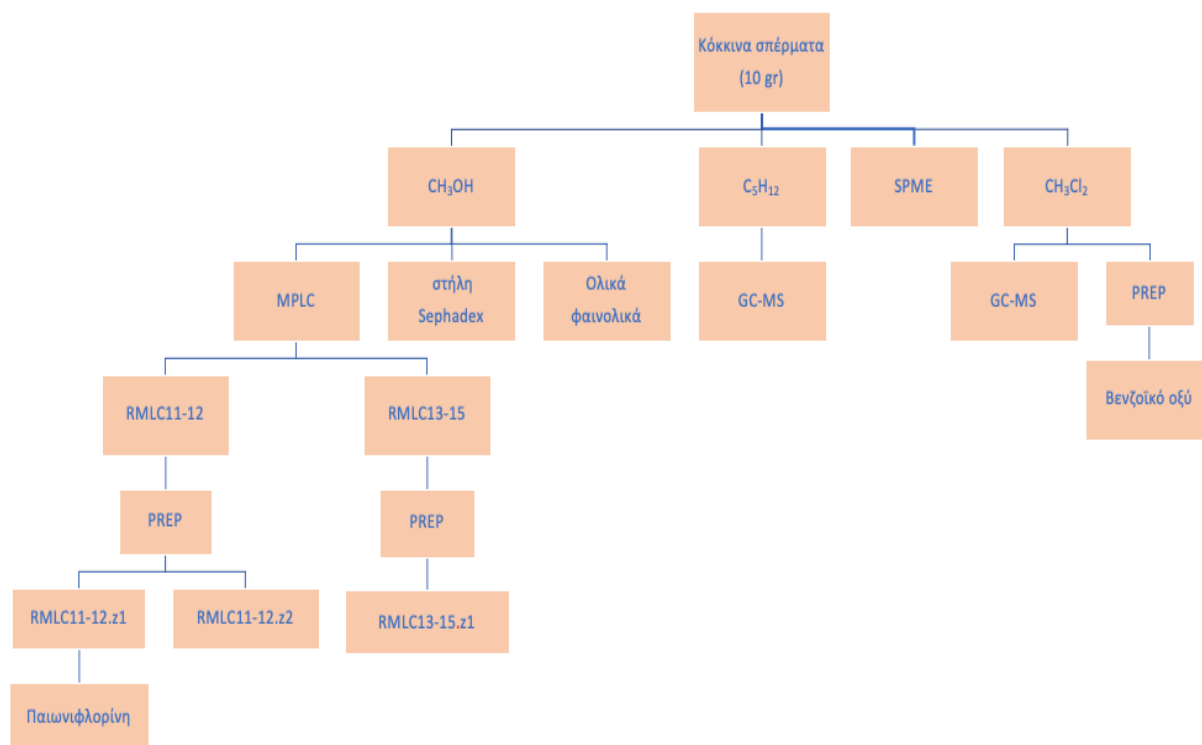
2D HMBC spectrum



Ο 3',4'-δι-*O*-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της λουτεολίνης απομονώθηκε για πρώτη φορά από το είδος *Listera ovata* (Williams *et al.*, 1979) και έκτοτε έχει απομονωθεί άλλη μία φορά από το φυτό *Caralluma negevensis* (Asclepiadaceae) (Bader *et al.*, 2003) και *Caralluma wissmannii* (Dawidar *et al.*, 2012) και δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες ως προς την φαρμακολογική του δράση μέχρι σήμερα. Ανιχνεύεται και απομονώνεται **για πρώτη φορά από την οικογένεια Paeoniaceae**.

2.2.4 Φυτοχημική ανάλυση εκχυλισμάτων κόκκινων σπερμάτων

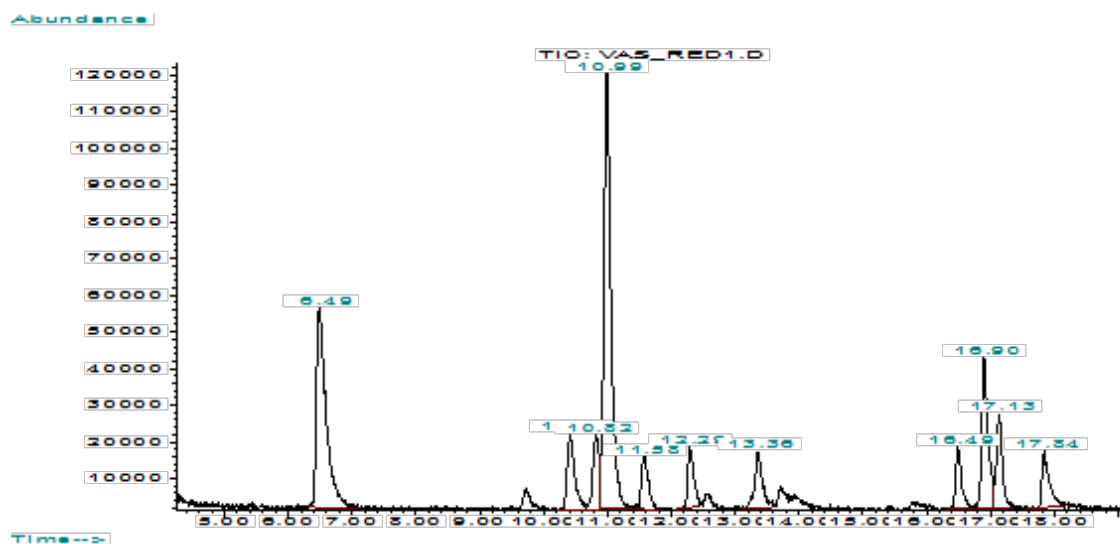
Ακολουθεί διαγραμματική απεικόνιση της φυτοχημικής ανάλυσης των κόκκινων σπερμάτων.



Εικόνα 38: Διαγραμματική απεικόνιση της πειραματικής πορείας που ακολουθήθηκε στα κόκκινα σπέρματα

2.2.4.1 Ανάλυση κόκκινων σπερμάτων με τη μέθοδο HS-SPME και με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS).

Η μέθοδος HS-SPME χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των νωπών κόκκινων σπερμάτων ποσότητας 500 mg, όπως περιγράφεται στο γενικό πειραματικό μέρος (βλ. κεφάλαιο 2.1.4.3). Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύτηκαν στο σύνολο 11 ουσίες οι οποίες παρουσιάζονται στον Πιν. 27.

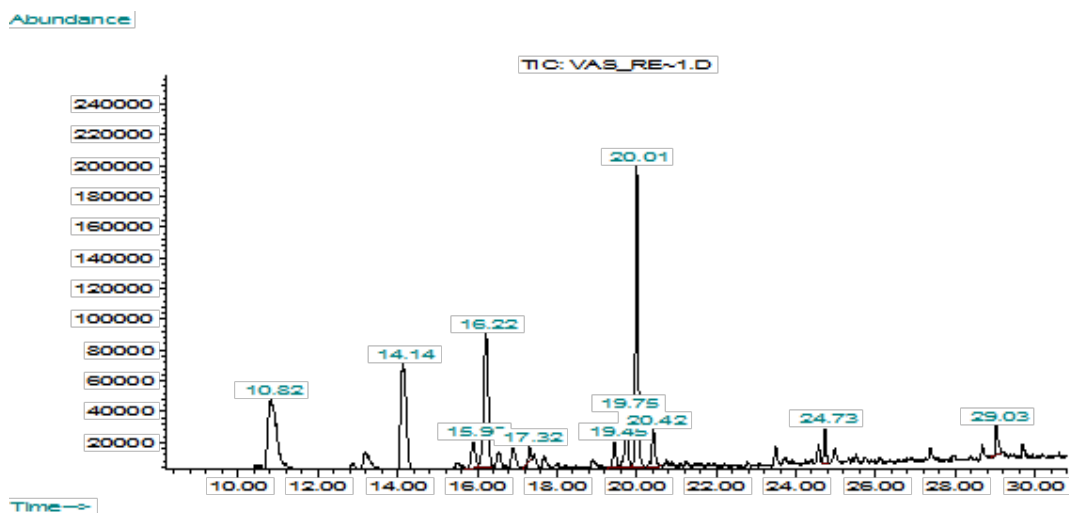


Εικόνα 39: Φάσμα κόκκινων σπερμάτων από τη μέθοδο HS-SPME

Πίνακας 27: Ουσίες που ανιχνεύτηκαν στα κόκκινα σπέρματα με τη μέθοδο HS-SPME

RT	Ενώσεις	Ποσοστό (%)
6.49	(+)-Nopinone	20.64
10.41	p- Menth-3-en-9-ol	5.96
10.82	Camphene	4.76
10.99	Myrtanal	32.67
11.58	β-Pinene oxide	3.86
12.29	Myrtenal	3.75
13.36	3-cyclopentene-1-ethanol 2,2,4-trimethyl	4.58
16.49	cis-Myrtanol	3.73
16.90	Myrtanol	9.80
17.13	Unknown	5.94
17.84	Perillyl alcohol	4.31
Συνολικά		100

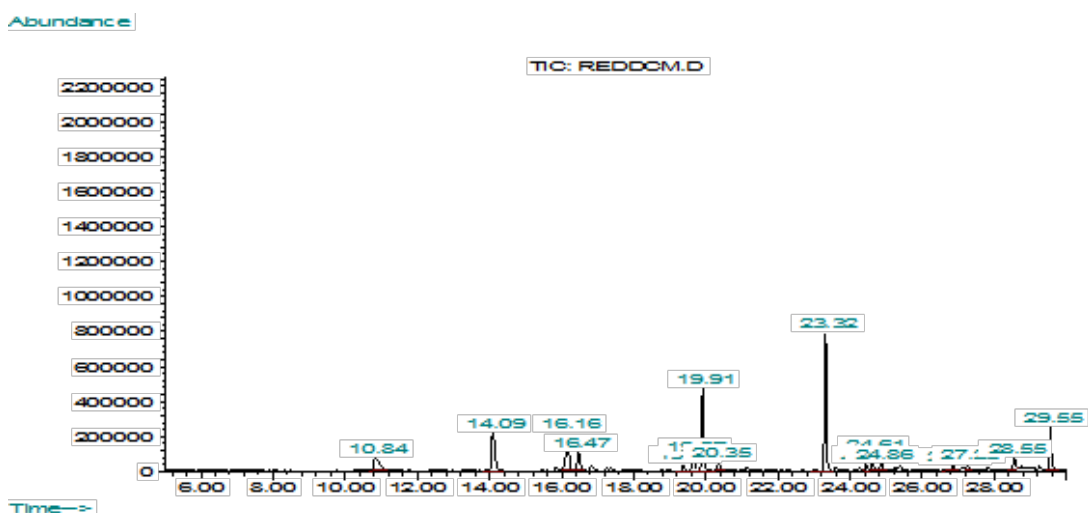
Ποσότητα 500 mg κόκκινων σπερμάτων εκχυλίστηκε με 10 ml πεντάνιο και άλλα 500 mg εκχυλίστηκαν με την ίδια ποσότητα διχλωρομεθανίου (βλ. κεφάλαιο 2.2.2). Στη συνέχεια τα εκχύλισμα υποβλήθηκαν σε ανάλυση με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Στο πεντανικό εκχύλισμα ανιχνεύτηκαν 10 ουσίες ενώ στο διχλωρομεθανικό 13 ουσίες οι οποίες παρουσιάζονται στους Πιν. 28 και 29 αντίστοιχα.



Εικόνα 40: Χρωματογράφημα GC ολικού πεντανικού εκχυλίσματος των κόκκινων σπερμάτων

Πίνακας 28: Ουσίες που ανιχνεύτηκαν στο πεντανικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων με GC-MS

RT	Ενώσεις	Ποσοστό (%)
10.82	α -Methylbenzyl alcohol	17.92
14.14	(+)-Nopinone	17.54
15.90	p-Menth-3-en-9-ol	3.32
16.22	Myrtanal	18.68
19.45	cis-Myrtenol	2.18
19.75	Camphene	5.33
20.01	Unknown	25.41
20.42	Phellandral	3.85
24.73	Isocitronellene	2.49
29.04	Methyl 3,4-dimethyl benzoate	2.43
ΣΥΝΟΛΟ		99.15



Εικόνα 41: Εικ. 17 Φάσμα GC-MS του διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος

Πίνακας 29: Ουσίες που ανιχνεύτηκαν στο διχλωρομεθανικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων GC-MS

RT	Ενώσεις	Ποσοστό (%)
10.84	α -Methylbenzyl alcohol	8.60
14.10	(+)-Nopinone	15.65
16.16	Myrtanal	14.14
16.47	β -Pinene oxide	6.57
19.36	E-Myrtenol	1.81
19.67	cis-Myrtanol	3.79
19.91	Unknown	21.54
20.35	Phellandral	2.77
24.45	5-ethyl-2,2,4,4-tetra-methyl cyclopentanone	1.68
24.61	Isocitronellene	4.15
24.86	2,4-decadienal	2.27
28.55	Unknown	4.50
29.55	(E)-1-cyclohexylidene-2-methyl-but-2-en-4-ol	10.86
	Συνολικά	98.33

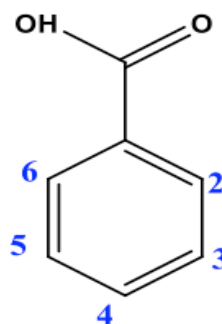
Από τις τρεις παραπάνω αναλύσεις με (HS-SPME, GS-MS πεντανικού και διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος) ανιχνεύτηκαν στο σύνολο 19 πτητικά συστατικά με κυριότερα την **Myrtanal** και την **(+)-Nopinone**. Πολλές από τις ενώσεις όπως η (+)-Nopinone, Myrtanal και cis-Myrtanol οι οποίες ανιχνεύτηκαν και στις τρεις αναλύσεις καθώς και οι ενώσεις E-myrtanol, Myrtenal, Myrtanol, β -Pinene oxide, Camphene, α -Methylbenzyl alcohol και Phellandral έχουν βρεθεί και στην βιβλιογραφία στα περισσότερα είδη του γένους *Paeonia* κυρίως σε ρίζες και άνθη του φυτού (Papandreou *et al.*, 2002; Orhan *et al.*, 2010; Verma *et al.*, 2015; Fikejvar *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2020) αλλά **ανιχνεύονται για πρώτη φορά σε κόκκινα σπέρματα του γένους.**

2.2.4.2 Διχλωρομεθανικό εκχύλισμα

Από το ολικό διχλωρομεθανικό εκχύλισμα (30 mg) με παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας πυριτίου (Toluene:EtOAc, 70:30) απομονώθηκε η ουσία RPZ5 (2.1 mg) η οποία ταυτοποιήθηκε ως **βενζοϊκό οξύ** (Hurst *et al.*, 2019).

2.2.4.2.1 Ουσία RPZ5

Η ουσία αυτή απομονώθηκε ως άχρωμο συστατικό, ενώ σε χρωματογραφία TLC έδωσε μια ήπια κυανή χρώση. Σύμφωνα με τη φασματοσκοπική μελέτη της και σύγκριση με τη βιβλιογραφία (Hurst *et al.*, 2019) καταλήξαμε στο φαινολικό παράγωγο, **βενζοϊκό οξύ**.



Εικόνα 42: Χρωματογραφία TLC ολικού διχλωρομεθανικού εκχυλίσματος σε σύστημα (Toluene:EtOAc, 70:30) και δομή του βενζοϊκού οξέως

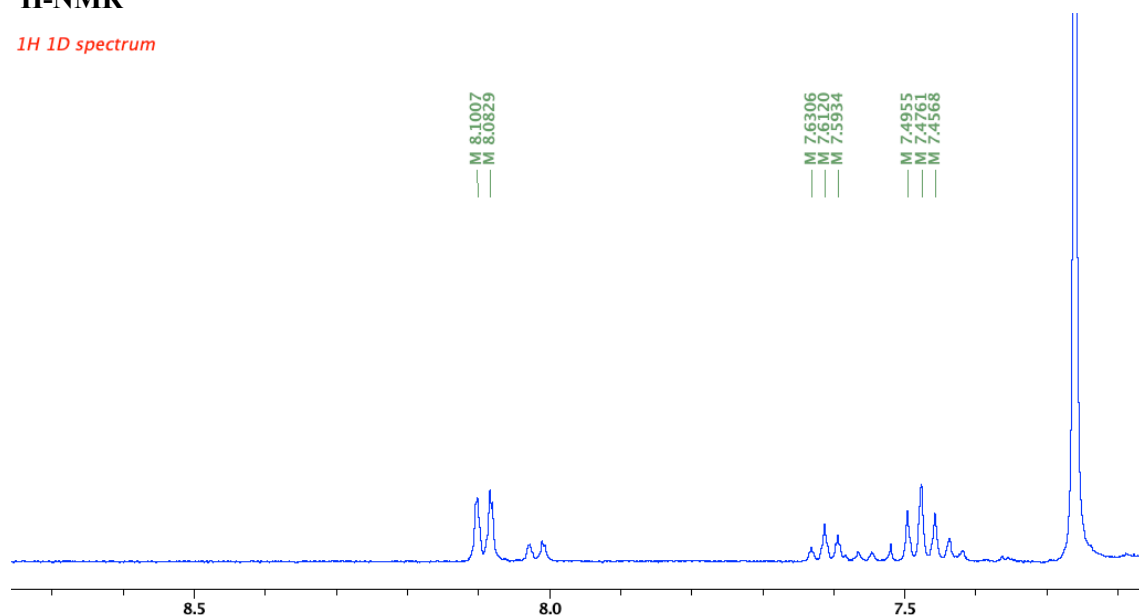
Στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$ στην αρωματική περιοχή έχουμε μία διπλή κορυφή στα 8.09 ppm με $J=7$ Hz που ολοκληρώνει για δύο πρωτόνια (H-2/ H-6). Επίσης παρατηρούμε μια τριπλή κορυφή, στα 7.61 ppm που ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχεί στο πρωτόνιο H-4 και μια στα 7.48 ppm που ολοκληρώνει για δύο με ($J=7.72$ Hz) και αντιστοιχεί στα H-3/ H-5.

Πίνακας 30: Φασματοσκοπικά δεδομέν $^1\text{H-NMR}$, του βενζοϊκού οξέος (CDCl_3)

Θέση	δ (ppm)	Πολλαπλότητα	Σταθερά σύζευξης J (Hz)
2, 6	8.09	d	7.0
5,3	7.61	t	7.44
4	7.48	t	7.72

¹H-NMR

1H 1D spectrum



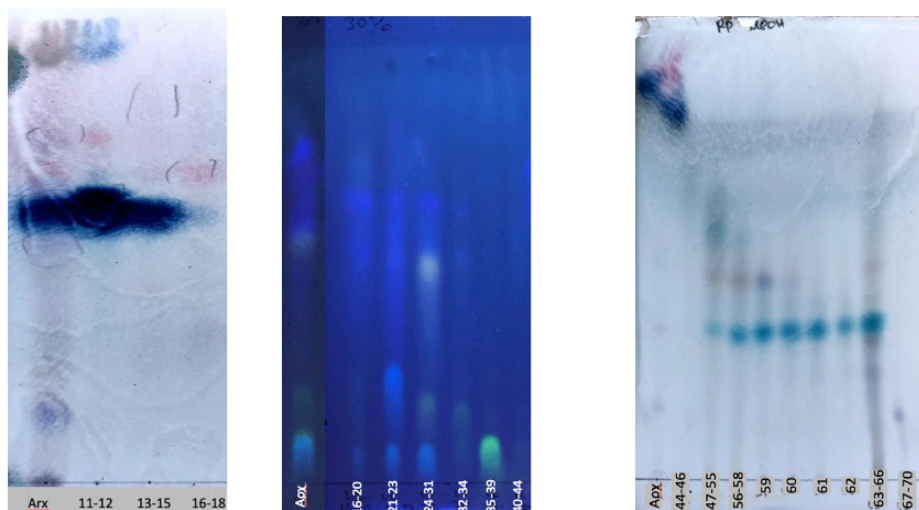
Το βενζοϊκό οξύ έχει βρεθεί σε πολλά είδη του γένους *Raeonia* αλλά **απομονώνεται για πρώτη φορά από κόκκινα σπέρματα του γένους**. Έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως αναλγητικό, αποχρεμπτικό, αντιμικροβιακό συντηρητικό καθώς και σε εισπνευστικά αποσυμφορητικά (Elder, Kelly, 1994, Lillard, 1919). Επίσης το βενζοϊκό οξύ είναι το κυρίαρχο συστατικό της αλοιφής του Whitfield που χρησιμοποιείται στη θεραπεία μυκητιασικών δερματικών παθήσεων γνωστό κυρίως σε Αμερική και Αγγλία.

2.2.4.3 Μεθανολικό εκχύλισμα κόκκινων σπερμάτων

Ποσότητα περίπου 700 mg του μεθανολικού εκχυλίσματος των κόκκινων σπερμάτων υποβλήθηκε σε χρωματογραφικό διαχωρισμό με MPLC η διαδικασία της οποίας περιγράφεται στο κεφάλαιο 2.1.3.2. Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκαν μίγματα H₂O:MeOH μειωμένης πολικότητας και έγινε συλλογή 70 κλασμάτων. Η ανάπτυξη των κλασμάτων έγινε σε πλάκες πυριτίου κανονικής και αντίστροφης φάσης και κυτταρίνης.

Πίνακας 31: Χαρακτηριστικά στήλης MPLC

Σύστημα Διαλυτών	Όγκος διαλυτών (mL)	Συλλεχθέντα κλάσματα
H ₂ O 100%	120	A
H ₂ O: MeOH 95:5	150	1
H ₂ O: MeOH 90:10	220	2-5
H ₂ O: MeOH 80:20	220	6-11
H ₂ O: MeOH 70:30	200	12-19
H ₂ O: MeOH 60:40	400	20-27
H ₂ O: MeOH 50:50	500	28-41
H ₂ O: MeOH 40:60	100	42-43
H ₂ O: MeOH 30:70	300	44-51
H ₂ O: MeOH 20:80	250	52-57
H ₂ O: MeOH 10:90	250	58-63
MeOH 100%	500	64-70



Εικόνα 43: TLC επιλεγμένων συνενωμένων κλάσμάτων της στήλης: αριστερά σε πλάκα πυριτίου R-18 (MeOH:H₂O 50:50), στο κέντρο: σε πλάκα κυτταρίνης (H₂O:AcOH, 70:30) και δεξιά: σε πλάκα πυριτίου R-18 (MeOH 100%).

Πίνακας 32: Συνενωμένα κλάσματα του μεθανολικού εκχυλίσματος των κόκκινων σπερμάτων της στήλης MPLC

Κωδικοί Συνενώσεων	Συνενωμένα Κλάσματα	Βάρος (mg)
RMLC1-3	1-3	8.9
RMLC4-5	4-5	3.2
RMLC6-7	6-7	2.1
RMLC8	8	3.3
RMLC9-10	9-10	7.7
RMLC11-12	11-12	36.1
RMLC13-15	13-15	40.6
RMLC16-18	16-18	5
RMLC19-20	19-20	15
RMLC21-23	21-23	10.1
RMLC24-26	24-26	5.2
RMLC27-31	27-31	5.7
RMLC32-34	32-34	4
RMLC35-39	35-39	3
RMLC40-43	40-43	3.3
RMLC44-46	44-46	1.7
RMLC47-58	47-58	20.1
RMLC59	59	8.3
RMLC60	60	6.2
RMLC61	61	3.6
RMLC62	62	4
RMLC63-66	63-66	19.8
RMLC67-70	67-70	13.9

Τα συνενωμένα κλάσματα RMLC11-12 (53 mg) και RMLC13-15 (40.6 mg) αναλύθηκαν περαιτέρω.

Αρχικά, το συνενωμένο κλάσμα RMLC11-12 υποβλήθηκε σε παρασκευαστική χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα πυριτίου με σύστημα ανάπτυξης $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (75:25). Με αυτό τον τρόπο απομονώθηκαν 2 μεταβολίτες: **RMLC11-12.z1** (15.2 mg) που απομονώθηκε ως λευκή ένωση και εμφανίστηκε ως κηλίδα έντονου μπλέ χρώματος και από τη φασματοσκοπική μελέτη της ουσίας σε δευτεριωμένη μεθανόλη (CD_3OD) συμπεράναμε πως πρόκειται για την **παιωνιφλορίνη** (η φασματοσκοπική μελέτη της έχει αναφερθεί στα μαύρα σπέρματα (βλ. Κεφ. 2.2.3.4.1). Η δεύτερη απομονωμένη ουσία **RMLC11-12.z2** (2.3 mg) επίσης απομονώθηκε ως κόνις λευκού χρώματος και βρίσκεται υπό μελέτη.



Εικόνα 44: Preparative TLC της συνένωσης RMLC11-12

Στο κλάσμα RMLC13-15 πραγματοποιήθηκε επίσης παρασκευαστική χρωματογραφία σε πλάκα πυριτίου αντίστροφης φάσης σε σύστημα ανάπτυξης $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ 50:50. Στην απομονωμένη ουσία **RMLC13-15.z1** έγινε λήψη φάσματος $^1\text{H-NMR}$ αλλά βρίσκεται ακόμη υπο μελέτη λόγω έλλειψης βιβλιογραφίας.

2.2.5 Ποσοτικοποίηση με φασματοσκοπία NMR (quantitative NMR)

Η μέθοδος ποσοτικής ανάλυσης με χρήση φασματοσκοπίας NMR χρησιμοποιείται για σύνθετα μίγματα και επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό συγκεκριμένων συστατικών χωρίς διαχωρισμό των αναλυτών (Karkoula et al, 2014, Pauli et. al, 2005). Αποτελεί μια μέθοδο με γρήγορα αποτελέσματα, που δεν απαιτεί ενώσεις αναφοράς για καμπύλες βαθμονόμησης, επιτρέποντας ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλαπλών συστατικών σε ένα ολικό εκχύλισμα. Έτσι μπορεί να εφαρμοστεί στη χημική αξιολόγηση ακατέργαστων ολικών εκχυλισμάτων και χρησιμεύει ως μια αποτελεσματική εναλλακτική λύση έναντι σε διάφορων χρονοβόρων χρωματογραφικών μεθόδων ανάλυσης.

Την συγκεκριμένη μέθοδο ποσοτικοποίησης την εφαρμόσαμε για να βρούμε το ποσοστό δύο ενώσεων, αυτό της γνετίνης H και της παιωνιφλορίνης στα ολικά μεθανολικά εκχύλισματα των μαύρων και κόκκινων σπερμάτων αντιστοίχα. Η επιλογή των συγκεκριμένων ενώσεων δεν ήταν τυχαία, καθώς από τα φάσματα ¹H-NMR των εκάστοτε ολικών εκχυλισμάτων ήταν εμφανής η επικράτηση των κορυφών που αντιστοιχούσαν στις αντίστοιχες ενώσεις. Επιπλέον ο δεύτερος λόγος επιλογής των δύο ενώσεων ήταν λόγω της αξιοσημείωτης φαρμακολογικής τους δράσης καθώς η παιωνιφλορίνη είναι ένας χημειο-ταξινομικός δείκτης του γένους *Raeonia* και πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνος για ορισμένες από τις φαρμακευτικές ιδιότητες του φυτού (Takagi et al., 1969, Yamahara et al., 1982, Yu & Xiao, 1987). Από την άλλη πλευρά, η γνετίνη H έχει δείξει εξίσου σημαντική φαρμακευτική δράση καθώς σύμφωνα με ορισμένες μελέτες, εμφανίζει αντιδιαβητικά, αντιοξειδωτικά, κυτταροτοξικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα (Hyo et al., 2002, Kim et al., 2002, Zhang et al., 2019).

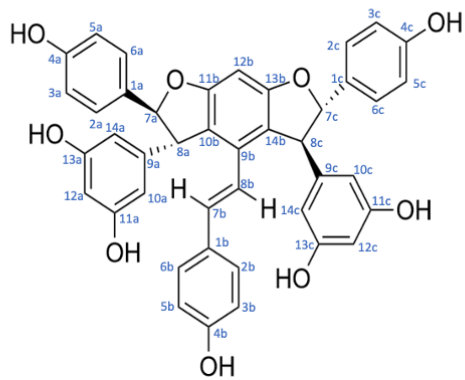
Τα επίπεδα των δύο αυτών κύριων συστατικών, γνετίνη H και παιωνιφλορίνη στα μαύρα και κόκκινα σπέρματα αντιστοίχα εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού qHNMR,. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε η συρινγκαλδεΐδη σε συγκέντρωση 0.5 mg/mL (C_{syr}= 0,00274M). Η συρινγκαλδεΐδη εμφανίζει μια χαρακτηριστική μονή κορυφή στα 10.5-9.7 ppm, η ένταση της οποίας συγκρίνεται με την ένταση που έχει η χαρακτηριστική κορυφή της υπό εξέταση ένωσης. Για την γνετίνη H ως χαρακτηριστική κορυφή ορίζουμε αυτή στα 4,45 ppm η οποία αντιστοιχεί σε 2 πρωτόνια, ενώ για την παιωνιφλορίνη την κορυφή στα 1,67 ppm η οποία αντιστοιχεί σε 3 πρωτόνια (βλ. κεφάλαιο 2.2.3.5.1). Το ποσοστό της κάθε ένωσης στο εκχύλισμα υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$m (\%) = \{(m_{syr}/MW_{syr}) \times (I/I_{syr})\} \times (MW/H) \quad (1)$$

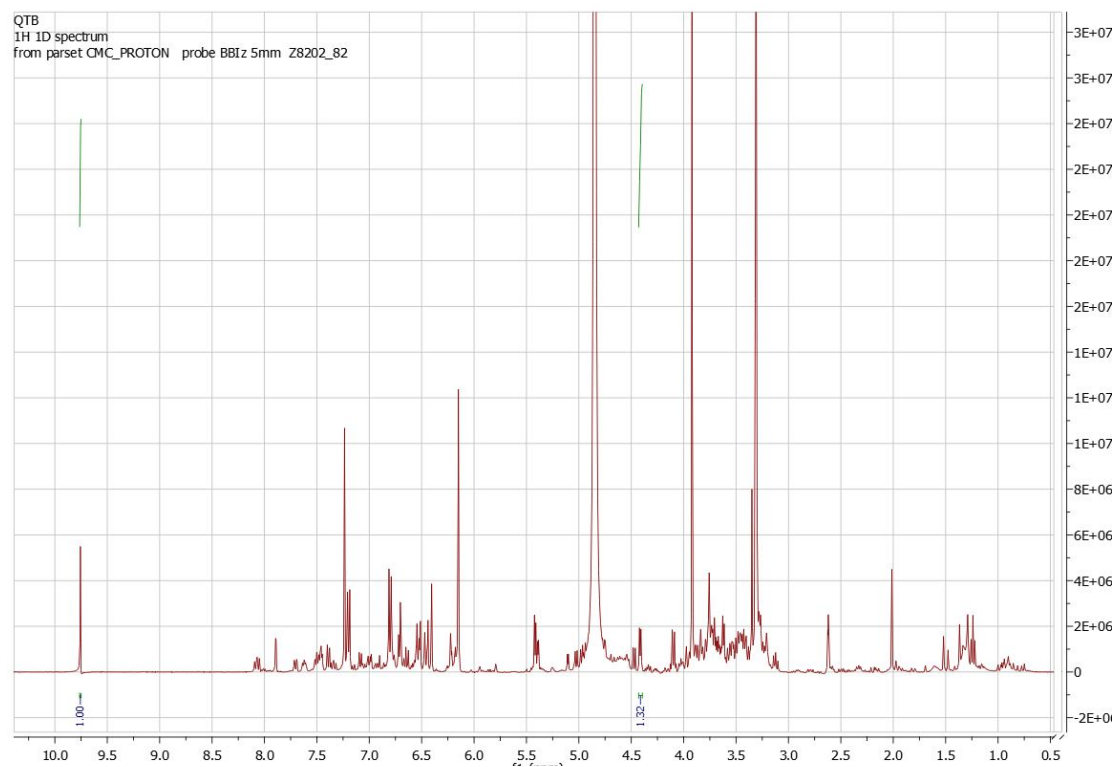
όπου m: μάζα ένωσης και m_{syr}: μάζα συρινγκαλδεΐδης, MW: μοριακό βάρος ένωσης και MW_{syr}: μοριακό βάρος συρινγκαλδεΐδης, I: η ολοκλήρωση της χαρακτηριστικής κορυφής της ένωσης και I_{syr}: η κορυφή της συρινγκαλδεΐδης η οποία ορίζεται ίση με τη μονάδα και H: ο αριθμός των πρωτονίων που αντιστοιχούν στην χαρακτηριστική κορυφή της ένωσης.

2.2.5.1 Ποσοτικοποίηση γνετίνης H στο ολικό εκχύλισμα μαύρων σπερμάτων

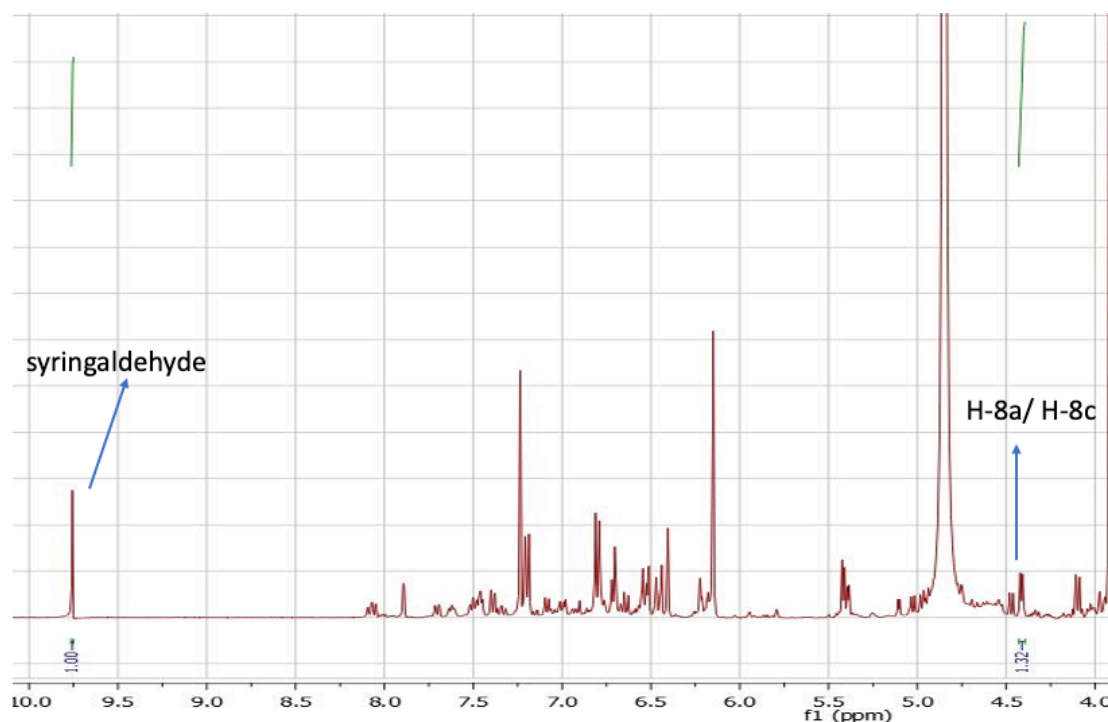
Για την ποσοτικοποίηση της γνετίνης H στο ολικό εκχύλισμα, πήραμε 5 mg μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπερμάτων το οποίο αναμίχθηκε με 1 ml συρινγκαλδεΐδης συμπυκνώθηκε και επαναδιαλύθηκε σε CD₃OD όπου και έγινε λήψη του φάσματος ¹H-NMR. Η ποσοτικοποίηση έγινε με βάση την διπλή κορυφή της γνετίνης H στα 4.45 ppm που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-8a/ H-8c (J= 6.0 Hz) και αντιστοιχεί σε 2 πρωτόνια (βλ. κεφάλαιο 2.2.3.3.4). Επομένως εφαρμόζοντας τον τύπο της εξίσωσης (1) βρήκαμε ότι το ποσοστό της γνετίνης H στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων είναι **24.96% w/w**.



Εικόνα 45: Δομή μορίου γνετίνης Η



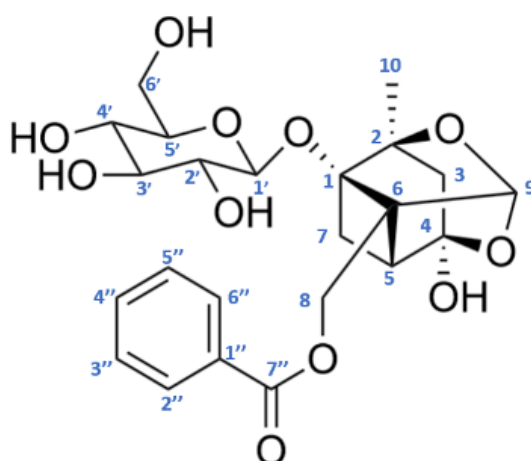
Εικόνα 46: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ολικού μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπερμάτων



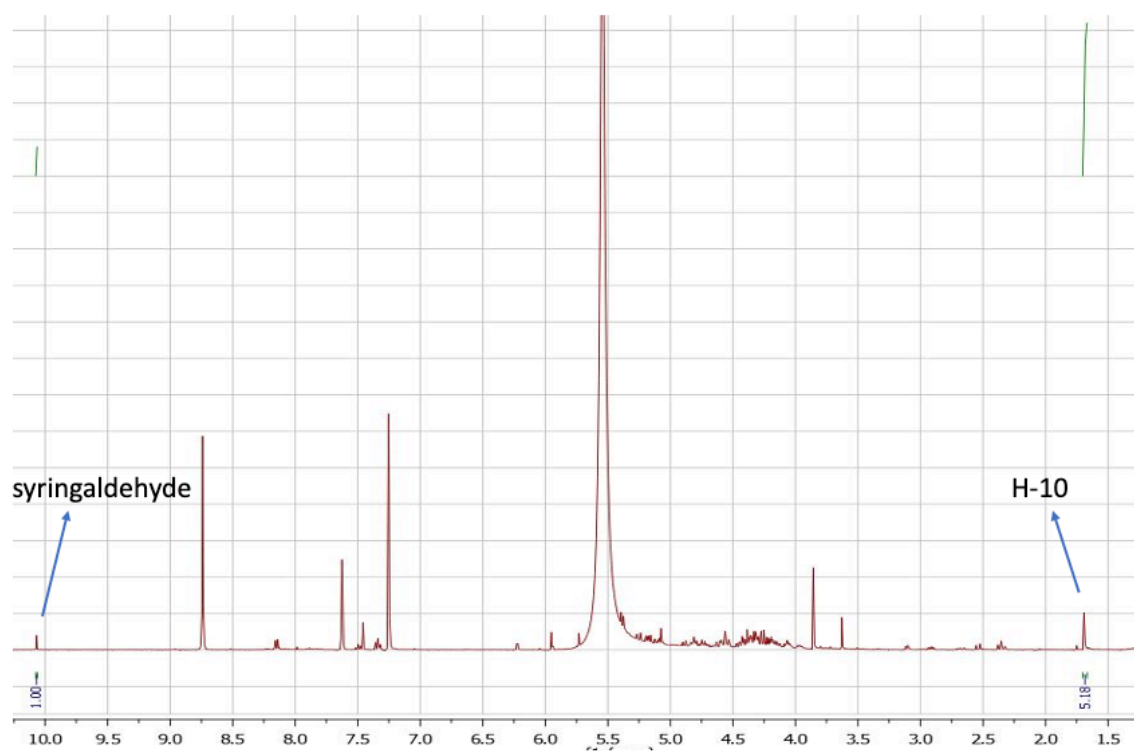
Εικόνα 47: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ ολικού μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπερμάτων σε μεγέθυνση

2.2.5.2 Ποσοτικοποίηση παιωνιφλορίνης στο ολικό εκχύλισμα κόκκινων σπερμάτων

Η ποσοτικοποίηση της παιωνιφλορίνης, έγινε με ανάμιξη 10 mg μεθανολικού εκχυλίσματος των κόκκινων σπερμάτων με 1 ml συρινγκαλδεΰδης και η λήψη φάσματος πραγματοποιήθηκε σε rygidine-d5. Η ποσοτικοποίηση έγινε με βάση την μονή κορυφή του πρωτονίου H-10 στα 1.67 ppm που αναλογεί σε 3 πρωτόνια (βλ. κεφάλαιο 2.2.3.5.1). Από την εφαρμογή του τύπου της (1) το ποσοστό της παιωνιφλορίνης στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων είναι **23.0% w/w.**



Εικόνα 48: Δομή μορίου παιωνιφλορίνης



Εικόνα 49: Φάσμα ολικού μεθανολικού εκχυλίσματος των μαύρων σπερμάτων

3. Βιολογικές μελέτες

3.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Total Phenolic Content–TPC)

Για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού φορτίου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Folin-Ciocalteu, μια φωτομετρική μέθοδος που αναπτύχθηκε αρχικά το 1927 για τον προσδιορισμό της τυροσινάσης και είναι επίσης γνωστή ως μέθοδος GAE (Gallic Acid Equivalence). Η μέθοδος αργότερα βελτιώθηκε από τους Singleton και Rossi και έκτοτε χρησιμοποιείται συχνά για τον προσδιορισμό ολικού φαινολικού φορτίου σε διάφορα φυσικά προϊόντα (Singleton & Rossi, 1965).

Η μέθοδος βασίζεται στο αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu το οποίο είναι μίγμα μολυβδαινικού νατρίου (Na_2MoO_4), βολφραμικού νατρίου (Na_2WO_4) και φωσφορικού οξέος (H_3PO_4) με χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην αναγωγική ικανότητα του δείγματος. Συγκεκριμένα, παρουσία φαινολικών λαμβάνει χώρα η αναγωγή του Mo (VI) σε Mo (V) με μεταφορά ενός ηλεκτρονίου προς σχηματισμό ενός συμπλόκου μολυβδαινίου-βολφραμίου, χαρακτηριστικής βαθιάς μπλε απόχρωσης, που απορροφά στο ορατό σε μήκος κύματος 725-750nm και η ένταση αυξάνεται γραμμικά με τη συγκέντρωση των φαινολικών ουσιών με το αντιδραστήριο F-C απαιτείται βασικό περιβάλλον, γι' αυτό το λόγο θεωρείται αναγκαία η προσθήκη 7,5 % διαλύματος ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3). Δημιουργείται μια καμπύλη αναφοράς με συγκεκριμένες γνωστές συγκεντρώσεις μιας ουσίας αναφοράς στην περίπτωση μας το γαλλικό οξύ και έπειτα τα αποτελέσματα των προς εξέταση δειγμάτων εκφράζονται σε ισοδύναμα αυτής (Blainski *et al.*, 2013). Κατά τη μέθοδο F-C χρησιμοποιείται φασματοφωτόμετρο UV/Vis για τη μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων και ως εκ τούτου καθίσταται εύκολη, ταχεία, χαμηλού κόστους και εφαρμόσιμη σε μέση εργαστηριακή κλίμακα, ενώ παρουσιάζει πολύ καλή γραμμική συσχέτιση με άλλες αντιοξειδωτικές μεθόδους που περιλαμβάνουν μεταφορά ηλεκτρονίων και σχηματίζουν ένα φαινολικό ανιόν.

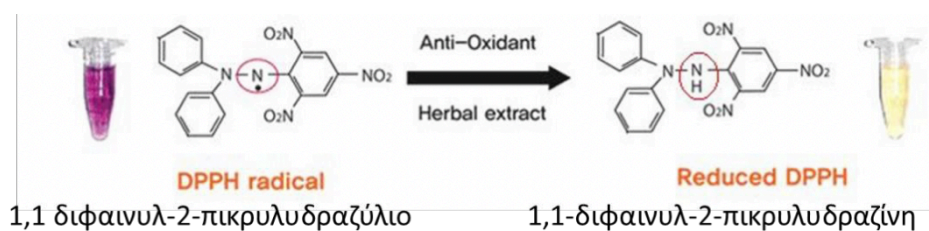
Το πείραμα πραγματοποιήθηκε για τα μεθανολικά εκχυλίσματα των μαύρων και κόκκινων σπερμάτων. Στο πρώτο μέρος της πειραματικής διαδικασίας έγινε κατασκευή μίας πρότυπης καμπύλης αναφοράς με εύρος συγκέντρωσης γαλλικού οξέος από 1 έως 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MeOH, ενώ ακολούθως πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τα διαλύματα των εκχυλισμάτων. Οι τιμές που ελήφθησαν στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis εκφράζονται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος GAE (Gallic Acid Equivalence) / g εκχυλίσματος (Marini *et al.*, 2018). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν 3 φορές.

Αρχικά διάλυμα δείγματος 100 μL (10 mg σε 1000 μL μεθανόλης) αραιώθηκε περαιτέρω σε 900 μL μεθανόλης με τελική συγκέντρωση 1 mg/ml . Σε 120 μL από αυτό το διάλυμα προστέθηκαν 600 μL από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu και μετά από την πάροδο 3 λεπτών προστέθηκαν 480 μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 σε τελικό όγκο 1,2 mL. Τέλος, ακολούθησε ανάδευση στο Vortex για 1-2 sec και τα δείγματα αφέθηκαν στο σκοτάδι σε ηρεμία για 1 h (Rt, 25°C), προτού φωτομετρηθούν στα 760 nm

3.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυσικών συστατικών (μέθοδος DPPH)

Η σημασία της οξείδωσης στο σώμα και στα τρόφιμα αποτελεί ένα βασικό μεταβολικό μονοπάτι για την επιβίωση των κυττάρων. Μια παρενέργεια όμως αυτού του μονοπατιού είναι η παραγωγή ελεύθερων ριζών και άλλων δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) που έχουν αποδεδειγμένο ρόλο στην εμφάνιση και την εξέλιξη του καρκίνου, καθώς προκαλούν άμεση καταστροφή του DNA και άλλων μακρομορίων. Επιπλέον η οξείδωση μπορεί να επηρεάσει τα τρόφιμα και αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες χημικής αλλοίωσης τους, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της διατροφικής ποιότητας τους, του χρώματος, της γεύσης, της υφής καθώς και της ασφάλειας των τροφίμων (Shahidi *et al.*, 1992). Οι αμυντικοί μηχανισμοί έναντι αυτών των επιπτώσεων παρέχονται από τη δράση διαφόρων αντιοξειδωτικών παραγόντων και πολλά συνθετικά αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται ευρέως για αυτό τον σκοπό αλλά σύμφωνα με πληθώρα αναφορών εμφανίζουν ανεπιθύμητες δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Έτσι κρίνεται σκόπιμη η ανάγκη μέτρησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας των φυσικών προϊόντων. Οι φυτικοί οργανισμοί έχουν την ικανότητα να συνθέτουν φαινολικές ενώσεις οι οποίες αποτελούν ουσιαστικό κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής και παρουσιάζουν αξιοσημείωτο ενδιαφέρον λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους και των πιθανών ωφέλιμων επιδράσεων στην υγεία (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Η αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των μελετούμενων εκχυλισμάτων καθώς και απομονωμένων ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο αναστολής με την ελεύθερη ρίζα DPPH (1,1-διφαινυλο-2-πικρυλυδραζυλική ρίζα) η οποία χρησιμοποιεί φασματομετρικές τεχνικές. Το DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) είναι μια σταθερή ρίζα όπου το αλκοολικό του διάλυμα έχει χρώμα ιώδες με μέγιστη απορρόφηση στα 520 nm. Η μέθοδος στηρίζεται στην αναγωγή της ελεύθερης ρίζας DPPH• από αντιοξειδωτικούς παράγοντες, λόγω μεταφοράς ηλεκτρονίων από τα προς έλεγχο δείγματα στη ρίζα, προκαλώντας τον μεταχρωματισμό του ιώδους διαλύματος σε κίτρινο (Kumaran *et al.*, 2006). Η μείωση της απορρόφησης κατά τη διάρκεια της αντίδρασης μετρείται στα 517 nm, ενώ όσο χαμηλότερη είναι η απορρόφηση του μίγματος τόσο υψηλότερη είναι η αντιοξειδωτική ικανότητα του δείγματος.



Εικόνα 50: Αντίδραση αναγωγής της σταθερής ρίζας DPPH σε υδραζίνη και αποχρωματισμός του διαλύματος

Η δραστηριότητα των δειγμάτων από τα δύο εκχυλίσματα (μεθανολικό μαύρων και κόκκινων σπερμάτων) και από τις απομονωμένες ουσίες (λουτεολίνη, παιωνιφλορίνη, ρεσβερατρόλη, γλυκοσίδης ρεσβερατρόλης, βινιφερίνη και γνετίνη H) έναντι της ελεύθερης ρίζας DPPH εκτιμήθηκε σύμφωνα με τη μεθοδολογία Karapetsas *et al.* (2019). Αναλυτικότερα παρασκευάστηκε διάλυμα DPPH συγκέντρωσης $12,4 \times 10^{-3}$ w/v σε απόλυτη αιθανόλη το οποίο παρέμεινε σε σκοτεινό μέρος. Σε πλάκες 96 θέσεων τοποθετήθηκαν 10 μ L από το κάθε δείγμα διαλυμένο σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και 190 μ L διαλύματος DPPH. Ακολούθησε επώαση για 30 λεπτά στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία δωματίου. Η απορρόφηση μετρήθηκε στα 517 nm με τη χρήση συσκευής φωτομέτρησης Infinite M200 Pro TECAN (Tecan Group, Männedorf, Switzerland). Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν τυφλά για κάθε δείγμα, τα οποία δεν περιείχαν διάλυμα DPPH. Ως πρότυπος αντιοξειδωτικός παράγοντας

χρησιμοποιήθηκε το γαλλικό οξύ (gallic acid). Η ικανότητα εξουδετέρωσης της ρίζας DPPH υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{DPPH (\%)} = [(A-B) - (C-D)] / (A-B) \times 100$$

όπου A : Control (χωρίς δείγμα), B : Blank (χωρίς δείγμα και DPPH), C : δείγμα, D : τυφλό του δείγματος (χωρίς DPPH).

Συνολικά αξιολογήθηκαν 8 δείγματα αρχικής συγκέντρωσης 4 mg/ml. Τα δείγματα διαλύθηκαν σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και ελέγχθηκαν σε τελικές συγκεντρώσεις 200 µg/mL, 100 µg/mL και 50 µg/mL ενώ για τα πιο δραστικά από αυτά (DPPH inh. >70% σε συγκέντρωση C=50 µg/ml), υπολογίστηκε η τιμή IC₅₀.

3.3 Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης

Η τυροσινάση, μια μεταλλοπρωτεΐνη που περιέχει χαλκό, είναι ένα βασικό ένζυμο στη βιοσύνθεση των μελανινών, χρωστικής του δέρματος, που βοηθά στην προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία του ηλίου καθώς και άλλων πολυφαινολικών ενώσεων. Η τυροσινάση καταλύει τόσο την υδροξυλίωση της τυροσίνης σε L-DOPA όσο και την επακόλουθη οξείδωση της L-DOPA σε ντοπακινόνη (Sanchez-Ferrer *et al.*, 1995). Δυσλειτουργίες της τυροσινάσης σχετίζονται κυρίως με δερματικές παθήσεις όπως μελάνωμα, φακίδες και γεροντικό λεντίγκο. Επίσης ο αλμπινισμός είναι η πλέον γνωστή γενετική πάθηση που σχετίζεται με μειωμένη παραγωγή ή και πλήρη απουσία μελανίνης στο δέρμα, τα μαλλιά και στην ίριδα των ματιών και προκαλείται από μετάλλαξη στο γονίδιο του DNA που κωδικοποιεί τη σύνθεση της τυροσινάσης (Cabanes *et al.*, 1994). Πρόσφατες μελέτες, ωστόσο, έδειξαν ότι η ανθρώπινη τυροσινάση δεν εμπλέκεται μόνο στη σύνθεση της μελανίνης των περιφερειακών ιστών, αλλά και στην ανάπτυξη της νευρομελανίνης. Ο υπερβολικός σχηματισμός ντοπακινόνης οδηγεί σε νευρωνική βλάβη και κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, τα στοιχεία συνδέουν την τυροσινάση με νευροεκφυλιστικές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένων των νόσων του Parkinson και του Huntington (Tessari *et al.*, 2008). Κατά συνέπεια, υπάρχει μια αυξανόμενη ανάγκη για νέους αναστολείς τυροσινάσης με ιδιότητες τύπου φαρμάκου.

Για τον έλεγχο της δραστηριότητας των εκχυλισμάτων έναντι του ενζύμου τυροσινάση ελέγχθηκε η ικανότητά τους να αναστέλλουν την οξείδωση του υποστρώματος 3,4-διυδροξυφαινυλανανίνης (L-DOPA: L-3,4-dihydroxyphenylalanine) σε ντοπακινόνη (DQ) και κατ' επέκταση την ποσότητα της παραγόμενης καφέ χρωστικής (dopachrome) παρουσία του ενζύμου.

Μελέτηθηκαν τα ολικά μεθανολικά εκχυλίσματα των μαύρων και κόκκινων σπερμάτων καθώς και των παραγώγων της ρεσβεταρόλης: γνετίνη, γλυκοσίδης της ρεσβεταρόλης και βινιφερίνη σε μειούμενες συγκεντρώσεις από 300 έως 50 µg/mL προκειμένου να βρεθεί η ελάχιστη αποτελεσματική συγκέντρωση του εκχυλίσματος που αναστέλλει την τυροσινάση. Κάθε συγκέντρωση μετρήθηκε σε 3 διαφορετικά δείγματα για λόγους επαναληψιμότητας του πειράματος και σημειώθηκε η τιμή του μέσου όρου. Τα δείγματα αξιολογήθηκαν σε τελική συγκέντρωση 300 µg/ml, διαλυμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 1/15 M (NaH₂PO₄/Na₂HPO₄) με pH 6.8, στο οποίο η περιεκτικότητα του συνδιαλύτη DMSO δεν υπερέβαινε το 3%. Σε πλάκες 96 θέσεων προστέθηκαν 80 µl ρυθμιστικού διαλύματος 1/15 M (NaH₂PO₄/Na₂HPO₄), pH 6.8, 40 µl δείγματος και 40 µl τυροσινάσης από μανιτάρι (mushroom tyrosinase - 92 Units/ml) διαλυμένη στο ίδιο ρυθμιστικό διάλυμα. Ακολούθησε επώαση για 10 λεπτά στους 25°C, και στη συνέχεια προστέθηκαν 40 µl υποστρώματος L-DOPA (2.5 mM) διαλυμένης στο ίδιο ρυθμιστικό διάλυμα. Ακολούθησε επώαση των δειγμάτων για 5 λεπτά στους 250°C και μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων στα 475 nm με τη χρήση συσκευής φωτομέτρησης Infinite M200 Pro TECAN (Tecan Group, Männedorf, Switzerland). Επίσης χρησιμοποιήθηκαν τυφλά για κάθε δείγμα, τα οποία δεν περιείχαν το

ένζυμο τυροσινάση. Ως πρότυπος αναστολέαχς της ενεργότητας του ενζύμου χρησιμοποιήθηκε το κοζικό οξύ (kojic acid). Το ποσοστό της αναστολής της τυροσινάσης υπολογίστηκε από την παρακάτω εξίσωση:

$$\% = \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \times 100$$

όπου A: Control (χωρίς δείγμα), B: τυφλό (χωρίς δείγμα και χωρίς τυροσινάση), C: δείγμα, D: τυφλό του δείγματος (χωρίς τυροσινάση).

Η ανασταλτική δράση κάθε δείγματος εξετάστηκε και σε δεύτερο ανεξάρτητο πείραμα σε διαφορετική ημέρα και από τα αποτελέσματα των δύο πειραμάτων λήφθηκε ο μέσος όρος, που ορίζεται ως το ποσοστό αναστολής του ενζύμου τυροσινάση από τη συγκεκριμένη συγκέντρωση του εκχυλίσματος. Αποτελεσματική αναστολή της τυροσινάσης θεωρείται η αναστολή αυτής σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50%. Ως δείκτη για τον βαθμό της χρησιμοποιείται το kojic acid και η ικανότητα αναστολής του δείγματος εκφράζεται σε ισοδύναμα kojic acid (mg KAEs/ g εκχυλίσματος)

3.4 Αποτελέσματα βιολογικών μελετών

3.4.1 Προσδιορισμός ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Total Phenolic Content–TPC)

Αρχικά, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Folin-Ciocalteu προσδιορίστηκε το φαινολικό φορτίο των μαύρων και κόκκινων σπερμάτων του φυτού χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη γαλλικού οξέος και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα αυτού (mg GAE/g εκχυλίσματος). Το υψηλότερο φαινολικό φορτίο εμφάνισαν τα μαύρα σπέρματα (204.62 mg GAE/g εκχυλίσματος), έναντι των κόκκινων σπερμάτων (177.59 mg GAE/g εκχυλίσματος). Τα αποτελέσματα αυτά δικαιολογούνται από το γεγονός ότι στην πλειονότητα τους τα γόνιμα σπέρματα της παιώνιας είναι τα μαύρα σπέρματα (Tamura *et al.* 2007). Επιπλέον το αποτέλεσμα επιβαρύνεται και από τη φυτοχημική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε από όπου και απομονώθηκαν σε μεγάλες ποσότητες από τα μαύρα σπέρματα τα φαινολικά παράγωγα λουτεολίνη (11 mg), ρεσβερατρόλη (12 mg), 4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης (25 mg), βινιφερίνη (57 mg) και γνετίνη H (428 mg).

Πίνακας 33: Ολικό φαινολικό φορτίο μαύρων και κόκκινων σπερμάτων με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu

Μεθανολικά εκχ/τα σπερμάτων	TPC GAE mg/g
Μαύρα	204.62 ± 4.0
Κόκκινα	177.59 ± 7.5

3.4.2 Αξιολόγηση αντιοξειδωτικής ικανότητας φυσικών συστατικών (μέθοδος DPPH)

Όσον αφορά τη μέθοδο DPPH για την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των μελετούμενων δειγμάτων, αυτή πραγματοποιήθηκε με την εξουδετέρωση της ελεύθερης ρίζας DPPH σε τελικές συγκεντρώσεις 200 µg/mL, 100 µg/mL και 50 µg/mL, ενώ για τα πιο δραστικά από αυτά (DPPH inh. >70% σε συγκέντρωση C=50 µg/ml), υπολογίστηκε η τιμή IC₅₀.

Από τα εκχυλίσματα την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα εμφάνισαν τα κόκκινα σπέρματα (95.5 ± 0.2, 84.0 ± 2.1 και 51.7 ± 2.0) σε σύγκριση με τα μαύρα σπέρματα (37.3 ± 0.6, 19.9 ± 1.8 και -5.9 ± 1.8) και στις τρεις συγκεντρώσεις αντίστοιχα όπως παρουσιάζεται και στον Πίν. 34. Τα αποτελέσματα αυτά που βρίσκονται σε αντίθεση με αυτά του φαινολικού φορτίου μπορούν να αποδοθούν στις άγνωστες ουσίες που περιέχονται στα κόκκινα σπέρματα που αξίζουν περαιτέρω μελέτης.

Από τις απομονωμένες ουσίες η λουτεολίνη με τιμές (89.3 ± 0.4, 90.1 ± 0.6 και 92.4 ± 0.1) χαρακτηρίστηκε ως ισχυρός αντιοξειδωτικός παράγοντας (IC₅₀ =13.2 ± 3.5 µg/ml ή 46.12 ± 4.1 µM) σε σχέση με την πρότυπη ουσία γαλλικό οξύ (IC₅₀ =4.2 ± 0.1 µg/ml ή 25.2 ± 1.3 µM) κατί που επιβεβαιώνονται και από την βιβλιογραφία (Ahmadi *et al.*,2010). Η trans-ρεσβερατρόλη εκδήλωσε μέτρια δραστικότητα (82.1 ± 0.4, 60.5 ± 2.1 και 45.0 ± 2.5) σε σχέση με την πρότυπη ουσία στη συγκέντρωση 50 µg/ml, αλλά υψηλότερη σε σχέση με τον γλυκοσίδη της αλλά και από τις ενώσεις βινιφερίνη και γνετίνη που εκδήλωσαν χαμηλή αναστολή όπως φαίνεται και από τον Πίν. 30, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία (Waffo Teguio *et al.*,1998; He *et al.*, 2013). Τέλος η παιωνιφλορίνη εμφάνισε αρνητική ικανότητα αναστολής της ελεύθερης ρίζας DPPH, όπως παρουσιάζεται και στην βιβλιογραφία (Picerno *et al.*, 2011).

Πίνακας 34: Αποτελέσματα αξιολόγησης ανασταλτικής ικανότητας έναντι ελεύθερης ρίζας DPPH μαύρων και κόκκινων σπερμάτων.

Εκχυλίσματα σπερμάτων	% DPPH inhibition		
	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml
Μαύρα	37.3 ± 0.6	19.9 ± 1.8	-5.9 ± 1.8
Κόκκινα	95.5 ± 0.2	84.0 ± 2.1	51.7 ± 2.0
Gallic acid	-	96.3	95.5

Πίνακας 35: Αποτελέσματα αξιολόγησης ανασταλτικής ικανότητας έναντι ελεύθερης ρίζας DPPH απομονωμένων ενώσεων

Χημική ένωση	% DPPH inhibition			IC ₅₀	IC ₅₀
	200 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	µg/ml	µM
Γλυκοσίδης ρεσβερατρόλης	39.4 ± 2.9	29.3 ± 1.5	20.6 ± 0.8	-	-
Βινιφερίνη	88.5 ± 0.1	60.8 ± 1.2	28.9 ± 5.7	-	-
Γνετίνη	39.9 ± 0.9	24.2 ± 2.5	16.0 ± 1.0	-	-
Trans-ρεσβερατρόλη	82.1 ± 0.4	60.5 ± 2.1	45.0 ± 2.5	-	-
Λουτεολίνη	89.3 ± 0.4	90.1 ± 0.6	92.4 ± 0.1	13.2 ± 3.5	46.12 ± 4.1
Παιωνιφορίνη	-7.1 ± 0.1	-7.5 ± 2.1	-5.8 ± 0.1		
Gallic acid	-	96.3	95.5	4.2 ± 0.1	25.2 ± 1.3

3.4.3 Έλεγχος αναστολής τυροσινάσης

Στη μέθοδο αναστολής της τυροσινάσης, το εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων εμφάνισε μεγαλύτερη ανασταλτική δράση σε σχέση με τα κόκκινα σπέρματα και στις τρεις συγκεντρώσεις (300, 150 και 75 µg/ml) με IC₅₀ = 20.8 ± 1.8 µg/ml. Επιπλέον και οι τρεις μεταβολίτες (γλυκοσίδης της ρεσβερατρόλης, γνετίνη και βινιφερίνη) ανέστειλαν τη δράση του ενζύμου της τυροσινάσης σε ποσοστό > 50% σε όλες τις συγκεντρώσεις ελέγχου, με αντίστοιχα IC₅₀ (73.51 ± 10.1 µM, 7.59 ± 3.4 µM και 8.2 ± 0.2 µM). Η γνετίνη και η βινιφερίνη χαρακτηρίζονται ως ισχυροί αναστολείς του ενζύμου, ισχυρότεροι και από του πρότυπου αναστολέα Kojic acid (IC₅₀=14 µM). Η ανασταλτική δράση των ενώσεων αυτών έναντι του ενζύμου τυροσινάση έχει αναφερθεί και στην βιβλιογραφία (Kim *et al.*, 2002c; Rainer *et al.*, 2019).

Πίνακας 36: Αποτελέσματα αξιολόγησης ανασταλτικής ικανότητας έναντι τυροσινάσης εκχυλισμάτων μαύρων και κόκκινων σπερμάτων

Εκχυλίσματα σπερμάτων	%TYR inhibition			IC ₅₀
	300 µg/ml	150 µg/ml	75 µg/ml	µg/ml
Μαύρα	93.8 ± 1.2	90.7 ± 2.8	78.1 ± 2.4	20.8 ± 1.8
Κόκκινα	45.95 ± 7.7	39.23 ± 11.9	31.97 ± 2.3	-
Kojic acid	-	96.0 ± 1.5	95.1 ± 0.8	2.0 ± 0.7

Πίνακας 37: Αποτελέσματα αξιολόγησης ανασταλτικής ικανότητας έναντι και τυροσινάσης απομονωμένων ενώσεων

Χημική ένωση	%TYR inhibition			IC ₅₀	IC ₅₀
	300 µg/ml	150 µg/ml	75 µg/ml	µg/ml	µM
Γλυκοσίδης ρεσβερατρόλης	78.2 ± 2.1	84.6 ± 1.6	60.42 ± 2.2	28.7 ± 6.8	73.51 ± 10.1
Βινιφερίνη	99.1 ± 1.3	90.7 ± 2.1	89.6 ± 1.0	3.7 ± 0.1	8.2 ± 0.2
Γνετίνη	99.1 ± 1.6	98.4 ± 1.6	97.1 ± 0.24	5.1 ± 2.3	7.59 ± 3.4
Trans-ρεσβερατρόλη	-	-	-	-	-
Λουτεολίνη	-	-	-	-	-
Παιωνιοφλορίνη	-	-	-	-	-
Kojic acid	-	96.0 ± 1.5	95.1 ± 0.8	2.0 ± 0.7	14 ± 4.7

4. Συζήτηση- Συμπεράσματα

Η παρούσα εργασία είχε ως αντικείμενό τη φυτοχημική ανάλυση των σπερμάτων του ενδημικού Ελληνικού υποείδους *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. της οικογένειας Paeoniaceae, το οποίο μελετάται για πρώτη φορά. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν τα αναπαραγωγικώς μαύρα σπέρματα και τα κόκκινα άγονα σπέρματα του φυτού.

Από το μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων απομονώθηκαν και προσδιορίστηκαν οι δομές τεσσάρων (4) στυλβενίων: trans-ρεσβερατρόλη, γνετίνη Η, βινιφερίνη και 4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης, τριών φλαβονοειδών: λουτεολίνη, 3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης και 3',4'-δι-O-β-D- γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης και ενός μονοτερπενικού γλυκοσίδη (παιωνιφλορίνη), που αποτελεί τον χημειοταξινομικό δείκτη του γένους *Paeonia* (He *et al.*, 2010).

Οι ενώσεις 3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης και 3',4'-δι-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης **απομονώθηκαν για 1^η φορά από το γένος και κατ' επέκταση από την οικογένεια Paeoniaceae.**

Εν συνεχεία, τα άπολα πτητικά συστατικά των κόκκινων σπερμάτων ανιχνεύθηκαν αρχικά με τη μέθοδο HS-SPME χωρίς να προηγηθεί κατεργασία των σπερμάτων και στη συνέχεια αναλύθηκαν τα άπολα εκχυλίσματα τους (πεντανικό και διχλωρομεθανικό εκχύλισμα) με τη μέθοδο GC-MS. Από τις δύο αυτές μεθόδους ανάλυσης ανιχνεύθηκαν στο σύνολο 19 διαφορετικά πτητικά συστατικά, με κυριότερα την Myrtanal και την (+)-Norpinone τα οποία έχουν βρεθεί και στην βιβλιογραφία στα περισσότερα είδη του γένους *Paeonia* κυρίως σε ρίζες και άνθη του φυτού αλλά ανιχνεύονται για πρώτη φορά σε κόκκινα σπέρματα του γένους. Επιπλέον από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα απομονώθηκε και το φαινολικό παράγωγο (βενζοϊκό οξύ) ενώ από το μεθανολικό εκχύλισμα απομονώθηκε η παιωνιφλορίνη.

Επιπλέον έγινε ποσοτικοποίηση της περιεχόμενης γνετίνης Η στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων και της περιεχόμενης παιωνιφλορίνης στο ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων με τη μέθοδο qHNMR.

Η μέθοδος αυτή της ποσοτικής ανάλυσης είναι μια τεχνική με πολλά πλεονεκτήματα καθώς επιτρέπει τον προσδιορισμό συγκεκριμένων συστατικών χωρίς διαχωρισμό των αναλυτών, χωρίς χρήση ενώσεων αναφοράς, αναλύοντας ταυτόχρονα διαφορετικές ενώσεις σε μικρό χρονικό διάστημα, οδηγώντας έτσι σε γρήγορα και έγκυρα αποτελέσματα.

Από τον ποσοτικό αυτό προσδιορισμό βρέθηκε ότι το ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των μαύρων σπερμάτων έχει περιεκτικότητα 24.96 % w/w σε γνετίνη Η, ενώ το ολικό μεθανολικό εκχύλισμα των κόκκινων σπερμάτων έχει περιεκτικότητα 23 % w/w σε παιωνιφλορίνη.

Συνοπτικά απομονώθηκαν οι παρακάτω μεταβολίτες:

- trans-ρεσβερατρόλη (από μαύρα σπέρματα)
- γνετίνη Η (από μαύρα σπέρματα)
- βινιφερίνη (από μαύρα σπέρματα)
- 4'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης(από μαύρα σπέρματα)
- λουτεολίνη (από μαύρα σπέρματα)
- 3'-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης (από μαύρα σπέρματα)
- 3',4'-δι-O-β-D- γλυκοκυρανοσίδης λουτεολίνης (από μαύρα σπέρματα)
- παιωνιφλορίνη (από μαύρα και κόκκινα σπέρματα)
- βενζοϊκό οξύ (από κόκκινα σπέρματα)

Τα ίδια εκχυλίσματα καθώς και απομονωμένες ουσίες (trans-ρεσβερατρόλη, γνετίνη Η, βινιφερίνη, 4'-Ο-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης, λουτεολίνη και παιωνιφλορίνη) υποβλήθηκαν σε έλεγχο των βιολογικών τους δράσεων. Ειδικότερα πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των ολικών φαινολικών με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, έλεγχος της αντιοξειδωτικής δράσης με την μέθοδο του DPPH και της *in vitro* ικανότητας αναστολής το ενζύμου τυροσινάση.

Συμφωνα με τα αποτελέσματα, τα μαύρα σπέρματα έχουν σαφώς ισχυρότερο φαινολικό φορτίο από τα κόκκινα σπέρματα (204.62 έναντι 177.59 mg GAE/ g αντίστοιχα), αλλά χαμηλότερη αντιοξειδωτική δράση.

Τα κόκκινα σπέρματα χαρακτηρίζονται ως μέτριοι αναστολείς της ελεύθερης ρίζας DPPH σε σχέση με την πρότυπη ένωση gallic acid, ενώ από τις απομονωμένες ουσίες που ελέγχθησαν (λουτεολίνη, παιωνιφλορίνη, ρεσβερατρόλη, γλυκοσίδης ρεσβερατρόλης και βινιφερίνη) η λουτεολίνη χαρακτηρίστηκε ως ισχυρός αντιοξειδωτικός παράγοντας.

Τέλος, από την *in vitro* ικανότητα αναστολής του ενζύμου της τυροσινάσης των δύο εκχυλισμάτων καθώς και των απομονωμένων (γνετίνη Η, βινιφερίνη και 4'-Ο-β-D-γλυκοκυρανοσίδης της trans-ρεσβερατρόλης), τα μαύρα σπέρματα εμφανίζουν ικανοποιητική ανασταλτική δράση ενώ είναι αξιοσημείωτο, ότι η γνετίνη Η και η βινιφερίνη χαρακτηρίζονται ως ισχυροί αναστολείς του ενζύμου, ισχυρότεροι και από του πρότυπου αναστολέα (Kojic acid).

Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι τα σπέρματα του ενδημικού Ελληνικού υποείδους *Paeonia chusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud έχουν πλούσιο φαινολικό προφίλ και αποτελούν καλή πηγή ενώσεων με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση καθώς και ισχυρή ανασταλτική δράση έναντι του ενζύμου τυροσινάση.

5. Βιβλιογραφία

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βαρβούνη Ε. Φ. (2019). Φυτοχημική μελέτη- Βιολογικές δράσεις των ενδημικών φυτών της οικ. Boraginaceae: *Symphytum anatolicum* Boiss., *Phyllocara aucheri* (A. DC.) Gusuleac, *Cynoglottis barrelieri* (All.) Vural & Kit Tan. Μεταπτυχιακή εργασία, ΕΚΠΑ, Τμήμα Φαρμακευτικής.

Καζαντζόγλου, Γ. (2006). Μελέτη της χημικής σύστασης και Διερεύνηση του Βιολογικού Ρόλου των δραστικών συστατικών των υποπροϊόντων οινοποίησης – Φυτοχημική μελέτη των φυτών *Polygonum maritimum* και *Dorycnium pentaphyllum* subsp. *Herbaceum*. Διδακτορική διατριβή, ΕΚΠΑ, Τμήμα Φαρμακευτικής

Κασάπης Β. (2020). Φυτοχημική ανάλυση και βιολογικές δράσεις των σπερμάτων της *Paeonia clusii* subsp. *rhodia* (Stearn) Tzanoud. (οικ. Paeoniaceae). Πτυχιακή εργασία, ΕΚΠΑ, Τμήμα Φαρμακευτικής.

Φοίτος Δ., Κωνσταντινίδης Θ., & Καμάρη Γ. (2009). Βιβλίο Ερυθρών Δεδομένων των Σπάνιων & Απειλούμενων Φυτών της Ελλάδας, Ελληνική Βοτανική Εταιρία, Πάτρα

Ξένη Βιβλιογραφία

Abraham, R. J., Bottom, F. H., Cooper, M. A., Salmon, J. R., & Whittaker, D. (1969). The NMR spectra and conformations of cyclic compounds-III: The conformations of some pinane derivatives. *Organic Magnetic Resonance*, 1(1), 51–56.

Ahmad, F., & Tabassum, N. (2013). Preliminary phytochemical, acute oral toxicity and antihepatotoxic study of roots of *Paeonia officinalis* Linn. *Asian Pacif J Trop Biomed*, 3(1), 64-68.

Ahmad, F., Tabassum, N. & Rasool, S. (2012). Medicinal uses and phytoconstituents of *Paeonia officinalis*. *IRJP*. 3, 85-87.

Ahmad, M., Malik, K., Tariq, A., Zhang, G., Yaseen, G., Rashid, N., Sultana, S., Zafar, M., Ullah, K., & Khan, M. P. Z. (2018). Botany, ethnomedicines, phytochemistry and pharmacology of Himalayan paeony (*Paeonia emodi* Royle.). *J Ethnopharmacol*, 220, 197–219.

Ahmadi, S. M., Farhoosh, R., Sharif, A., & Rezaie, M. (2020). Structure-Antioxidant Activity Relationships of Luteolin and Catechin. *J Food Sci*, 85(2), 298-305.

Ahn, K. S., Kim, J. H., Oh, S. R., Ryu, S. H., and Lee, H. K., (2000) Inhibition activity of stilbenes from medicinal plants on the expression of cell adhesion molecules on THP1 cells. *Planta Med.*, 66, 641–644.

Alsaif, G., Alsmonid, N., He, C., Altman, E., & Gao, Y. (2020). The resveratrol oligomers cis- and trans- gnetin H inhibit human cancer cells by induction of apoptosis and oxidative stress. A study of how two potential anticancer agents affect the major cancer hallmarks. *Apopt Metastasis*, 1001, 36.

- Anna Malinowska, M., Billet, K., Drouet, S., Munsch, T., Unlubayir, M., Tungmunnithum, D., Giglioli-Guivarc'h, N., Hano, C., & Lanoue, A. (2020). Grape Cane Extracts as Multifunctional Rejuvenating Cosmetic Ingredient: Evaluation of Sirtuin Activity, Tyrosinase Inhibition and Bioavailability Potential. *Molecules*, 25(9), 2203.
- Arzola-Paniagua, M. A., García-Salgado López, E. R., Calvo-Vargas, C. G., & Guevara-Cruz, M. (2016). Efficacy of an orlistat-resveratrol combination for weight loss in subjects with obesity: A randomized controlled trial. *Obesity*, 24(7), 1454-1463
- Aziz, N., Kim, M. Y., & Cho, J. Y. (2018). Anti-inflammatory effects of luteolin: A review of in vitro, in vivo, and in silico studies. *J Ethnopharmacol*, 225, 342-358.
- Bader, A., Braca, A., De Tommasi, N., & Morelli, I. (2003). Further constituents from *Caralluma negevensis*. *Phytochemistry*, 62(8), 1277–1281.
- Bai, Z.-Z., Ni, J., Tang, J.-M., Sun, D.-Y., Yan, Z.-G., Zhang, J., Niu, L.-X., & Zhang, Y.-L. (2020). Bioactive components, antioxidant and antimicrobial activities of *Paeonia rockii* fruit during development. *Food Chem*, 128444.
- Bais, A. J., Murphy, P. J., & Dry, I. B. (2000). The molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in *Vitis vinifera* during grape berry development. *Funct Plant Biol*, 27(5), 425-433.
- Baltina, L., Sapozhnikova, T., Makara, N., Gabdrakhmanova, S., Baltina, L., & Kondratenko, R. (2019). Paeoniflorin benzoates: synthesis and influence on learning and memory of aged rats in the passive avoidance task. *Nat Prod Res*, 1-9.
- Bao, Y., Qu, Y., Li, J., Li, Y., Ren, X., Maffucci, K., Li, R., Wang, Z., & Zeng, R. (2018). In Vitro and In Vivo Antioxidant Activities of the Flowers and Leaves from *Paeonia rockii* and Identification of Their Antioxidant Constituents by UHPLC-ESI-HRMSn via Pre-Column DPPH Reaction. *Molecules*, 23(2), 392.
- Barreiros, A. L. B. S., David, J. P., de Queiroz, L. P., & David, J. M. (2000). A-type proanthocyanidin antioxidant from *Dioclea lasiophylla*. *Phytochemistry*, 55(7), 805–808.
- Basly, J. P., Marre-Fournier, F., Le Bail, J. C., Habrioux, G., & Chulia, A. J. (2000). Estrogenic/antiestrogenic and scavenging properties of (E)-and (Z)-resveratrol. *Life sciences*, 66(9), 769-777.
- Baur, J. A., & Sinclair, D. A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov*, 5(6), 493-506.
- Bedoya, L. M., Del Olmo, E., Sancho, R., Barboza, B., Beltrán, M., García-Cadenas, A. E., ... & Alcamí, J. (2006). Anti-HIV activity of stilbene-related heterocyclic compounds. *Bioorg & Med Chem Letts*, 16(15), 4075-4079.
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865
- Cabanes, J., Chazarra, S., & Garcia-Carmona, F. J. (1994). Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J Pharm Pharmacol*, 46(12), 982-985.

- Chaita, E., Lambrinidis, G., Cheimonidi, C., Agalou, A., Beis, D., Trougakos, I., Mikros, E., Skaltsounis, A.-L., & Aligiannis, N. (2017). Anti-Melanogenic Properties of Greek Plants. A Novel Depigmenting Agent from *Morus alba* Wood. *Molecules*, 22(4), 514.
- Chang, H. M. & But P. P. H. (1986). Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica. *World Scientific Publishing*, Singapore.
- Chang, M., Wang, Z., Zhang, T., Wang, T., Liu, R., Wang, Y., Jin, Q., & Wang, X. (2020). Characterization of fatty acids, triacylglycerols, phytosterols and tocopherols in peony seed oil from five different major areas in China. *Food Res Int*, 137, 109416.
- Chen, C., Du, P., & Wang, J. (2015). Paeoniflorin ameliorates acute myocardial infarction of rats by inhibiting inflammation and inducible nitric oxide synthase signaling pathways. *Mol Med Rep*, 12(3), 3937–3943.
- Choi, C. W., Choi, Y. H., Cha, M. R., Kim, Y. S., Yon, G. H., Hong, K. S., ... & Ryu, S. Y. (2011). In vitro BACE-1 inhibitory activity of resveratrol oligomers from the seed extract of *Paeonia lactiflora*. *Planta Med*, 77(04), 374-376.
- Choi, C. W., Choi, Y. H., Cha, M. R., Park, J. H., Kim, Y. S., Kim, Y. K., ... & Ryu, S. Y. (2009). α -Glucosidase inhibitors from seed extract of *Paeonia lactiflora*. *J Kor Soc Appl Biol Chem*, 52(6), 638-642.
- Chongkai, G., Yan, W., Yong, W., Jie, Y., Huaxin, P., Liuying, C., & Ruiyan, L. (2002). Anti-Inflammatory and analgesic effects of total glucosides of paeonia injection. *Trad Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 13(3), 163-165.
- Chung, E. Y., Kim, B. H., Lee, M. K., Yun, Y. P., Lee, S. H., Min, K. R., & Kim, Y. (2003). Anti-inflammatory effect of the oligomeric stilbene α -viniferin and its mode of the action through inhibition of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. *Planta Med*, 69(08), 710-714.
- Dawidar, A. M., Mubarak, A. Y., Abdel-Mogib, M., & Abdelsattar, E. (2012). Phytochemical investigation of *Caralluma wissmannii* O. Schwart. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 3(2), 884-892.
- Demir, A., Turumtay, H., Emirik, M., Sandalli, C., Kanbolat, Ş., Özgen, U., & Turumtay, E. A. (2019). Paeoniflorigenone purified from *Paeonia daurica* roots potently inhibits viral and bacterial DNA polymerases: Investigation by experimental validation and docking simulation. *Med Chem Res*, 28(12), 2232–2245.
- Dienaitė, L., Pukalskienė, M., Pukalskas, A., Pereira, C. V., Matias, A. A., & Venskutonis, P. R. (2019). Isolation of Strong Antioxidants from *Paeonia Officinalis* Roots and Leaves and Evaluation of Their Bioactivities. *Antioxidants*, 8(8), 249.
- Ding, L., Zhao, F., Chen, L., Jiang, Z., Liu, Y., Li, Z., ... Yao, X. (2012). New monoterpene glycosides from *Paeonia suffruticosa* Andrews and their inhibition on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells. *Bioorg & Med Chem Letts*, 22(23), 7243–7247.
- Ding, L., Zuo, Q., Li, D., Feng, X., Gao, X., Zhao, F., & Qiu, F. (2017). A new phenone from the roots of *Paeonia suffruticosa* Andrews. *Nat Prod Res*, 31(3), 253–260.
- Donnez D, Jeandet P, Clément C, Courot E (2009) Bioproduction of resveratrol and stilbene derivatives by plant cells and microorganisms. *Trends Biotechnol* 27,706–713

- Duan, W. J., Yang, J. Y., Chen, L. X., Zhang, L. J., Jiang, Z. H., Cai, X. D., ... & Qiu, F. (2009). Monoterpenes from *Paeonia albiflora* and their inhibitory activity on nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated microglia. *J of Nat Prod*, 72(9), 1579-1584.
- Elder, D. J., & Kelly, D. J. (1994). The bacterial degradation of benzoic acid and benzenoid compounds under anaerobic conditions: unifying trends and new perspectives. *FEMS microbiology reviews*, 13(4), 441-468.
- Enkhtuya, E., Shimamura, T., Kashiwagi, T., & Ukeda, H. (2017). Antioxidative Constituents in the Leaves of *Paeonia anomala* Grown in Mongolia. *Food Sci Technol Res*, 23(1), 63–70.
- Esatbeyoglu, T., Ewald, P., Yasui, Y., Yokokawa, H., Wagner, A. E., Matsugo, S., ... & Rimbach, G. (2016). Chemical characterization, free radical scavenging, and cellular antioxidant and anti-inflammatory properties of a stilbenoid-rich root extract of *Vitis vinifera*. *Oxid Med Cell Long*, 2016.
- Fan, P., Zhang, T., & Hostettmann, K. (2013). Anti-inflammatory Activity of the Invasive Neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. and Zucc. (Polygonaceae) and the Chemical Comparison of the Invasive and Native Varieties with regard to Resveratrol. *Journal of Trad Compl Med*, 3(3), 182–187
- Fan, W., Qian, S., Qian, P., & Li, X. (2016). Antiviral activity of luteolin against Japanese encephalitis virus. *Virus Res*, 220, 112-116.
- Fei, F., Aa, L., Qi, Q., Sun, R., Yan, C., Aa, J., & Wang, G. (2019). Paeoniflorin inhibits Th1 and Th17 cells in gut-associated lymphoid tissues to produce anti-arthritis activities. *Inflammopharmacol*, 27(6), 1193–1203.
- Feng, L., Li, Y., Sheng, L., Li, T., Zhao, D., & Tao, J. (2016). Comparative Analysis of Headspace Volatiles of Different Herbaceous Peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) Cultivars. *J Ess Oil BearPlants*, 19(1), 167–175.
- Fikejvar, E. M., Rezadoost, H., Zakizadeh, H., & Mozaffarian, V. (2019). A comparative study on the essential oil composition and antibacterial activities of different organs of wild growing *Paeonia daurica* subsp. *Tomentosa* from Iran. *Nat Prod Res*, 33(21), 3153–3156.
- Fisher C. (2011). *Flowers of the Renaissance*. (1st ed.). London: *Frances Lincoln Publishers*, p. 83
- Flamini, R., & De Rosso, M. (2019). High-Resolution Mass Spectrometry and Biological Properties of Grapevine and Wine Stilbenoids. *Studies Nat Prod Chem*, 61, 175–210. Elsevier.
- Fogacci, F., Tocci, G., Presta, V., Fratter, A., Borghi, C., & Cicero, A. F. G. (2018). Effect of resveratrol on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled, clinical trials. *Crit Rev Food Sci Nutri*, 1–14.
- Franz, A. H., Serebnitskaya, I., Gudial, G., & Wallis, C. (2014). Structure assignment and H/D-exchange behavior of several glycosylated polyphenols. *Arkivoc*, 2014(5), 94–122.
- Fremont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life sciences*, 66(8), 663-673.
- Fu, Q., Qiu, L., Yuan, H. M., Yu, T., & Zou, L. (2016). Paeonenoides D and E: two new norriterpenoids from *Paeonia lactiflora* and their inhibitory activities on NO production. *Helv Chim Acta*, 99(1), 46-49.

- Fu, Q., Tan, M.-L., Yuan, H.-M., Chen, J., & Fu, J. (2017). Monoterpene glycosides from *Paeonia veitchii*. *J Asian Nat Prod Res*, *19*(1), 22–27.
- Furuya, R., Hu, H., Zhang, Z., & Shigemori, H. (2012). Suffruiabiosides A and B, Two New Monoterpene Diglycosides from Moutan Cortex. *Molecules*, *17*(5), 4915–4923.
- Gao, Y., He, C., Ran, R., Zhang, D., Li, D., Xiao, P.-G., & Altman, E. (2015). The resveratrol oligomers, cis- and trans-gnetin H, from *Paeonia suffruticosa* seeds inhibit the growth of several human cancer cell lines. *J Ethnopharmacol*, *169*, 24–33.
- Gendaram, O., Lai, D., Erdenetsogt, P., & Proksch, P. (2017). Pancreatic lipase inhibitory and antioxidative constituents from the aerial parts of *Paeonia lactiflora* Pall. (Ranunculaceae). *Phytochem Letts*, *21*, 240–246.
- Giovinazzo, G., Ingrosso, I., Paradiso, A., De Gara, L., & Santino, A. (2012). Resveratrol Biosynthesis: Plant Metabolic Engineering for Nutritional Improvement of Food. *Plant Foods Hum Nutr*, *67*(3), 191–199.
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerg Technol*, *11*(1), 210–218.
- Guo, Y., Zhao, Y., Li, L., Wei, X., Gao, P., Zhou, Y., Liu, Y., & Yang, H. (2017). Concentration-dependent effects of paeoniflorin on proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells. *Mol Med Repts*, *16*(6), 9567–9572.
- Han, J., Liu, Z., Li, X., Li, J., & Hu, Y. (2016). Diversity in seed oil content and fatty acid composition in three tree peony species with potential as sources of omega-3 fatty acids. *The J Horticult Sci Biotechn*, *91*(2), 175–179.
- Halda J. J & Waddick J. W. (2005). The genus *Paeonia*. Portland, *Timber Press*. p. 187
- He, C., Peng, B., Dan, Y., Peng, Y., & Xiao, P. (2014). Chemical taxonomy of tree peony species from China based on root cortex metabolic fingerprinting. *Phytochemistry*, *107*, 69–79.
- He, C., Peng, Y., Xiao, W., Liu, H., & Xiao, P. (2013). Determination of chemical variability of phenolic and monoterpene glycosides in the seeds of *Paeonia* species using HPLC and profiling analysis. *Food Chem*, *138*(4), 2108–2114.
- He, C., Zhang, Y., Peng, Y., Yang, J., & Xiao, P. (2012). Monoterpene glycosides from the seeds of *Paeonia suffruticosa* protect HEK 293 cells from irradiation-induced DNA damage. *Phytochem Letts*, *5*(1), 128–133.
- He, C.-N., Peng, Y., Wu, Q.-L., Xiao, W., Peng, B., Wang, Z., & Xiao, P.-G. (2013). Simultaneous Determination of Ten Stilbenes in the Seeds of *Paeonia* Species Using Hplc-Dad. *J Liq Chrom & Rel Technol*, *36*(12), 1708–1724.
- He, C. N., Peng, Y., Xu, L. J., Liu, Z. A., Gu, J., Zhong, A. G., & Xiao, P. G. (2010a). Three new oligostilbenes from the seeds of *Paeonia suffruticosa*. *Chem Pharm Bull*, *58*(6), 843–847.
- He, C.-N., Peng, Y., Zhang, Y.-C., Xu, L.-J., Gu, J., & Xiao, P.-G. (2010b). Phytochemical and Biological Studies of *Paeoniaceae*. *Chem & Biodiv*, *7*(4), 805–838.
- He, D. Y., & Dai, S. M. (2011). Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Paeonia lactiflora* Pall., a traditional Chinese herbal medicine. *Frontiers Pharmacol*, *2*, 10.

- He, S., & Yan, X. (2013). From Resveratrol to Its Derivatives: New Sources of Natural Antioxidant. *Current Med Chem*, 20(8), 1005–1017.
- He, Y.-K., Cen, X., Liu, S., Lu, H., & He, C. (2019). Protective effects of ten oligostilbenes from *Paeonia suffruticosa* seeds on interleukin-1 β -induced rabbit osteoarthritis chondrocytes. *BMC Chemistry*, 13(1), 72.
- He, D. Y., & Dai, S. M. (2011). Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of *Paeonia lactiflora* Pall., a traditional Chinese herbal medicine. *Frontiers Pharmacol*, 2, 10.
- Ho, J. Y., Chang, H. W., Lin, C. F., Liu, C. J., Hsieh, C. F., & Horng, J. T. (2014). Characterization of the anti-influenza activity of the Chinese herbal plant *Paeonia lactiflora*. *Viruses*, 6(4), 1861-1875.
- Hong, D. Y., & Wang X. Q. (2006). The identity of *Paeonia corsica* Sieber ex Tausch (Paeoniaceae), with special reference to its relationship with *P. mascula* (L.) Mill. *Feddes Rept: Zeitschr Botan Taxon Geobot*, 117(1-2), 65-84.
- Hong, D. Y., Wang, X. Q., & Zhang, D. M. (2004). *Paeonia saueri* (Paeoniaceae), a new species from the Balkans. *Taxon*, 53(1), 83-90.
- Hu, M., Wang, A., Zhao, Z., Chen, X., Li, Y., & Liu, B. (2019). Antidepressant-like effects of paeoniflorin on post-stroke depression in a rat model. *Neurolo Res*, 41(5), 446–455.
- Huang, J., Xu, X., Xie, C., Xie, Z., & Yang, M. (2013). Isolation and purification of paeoniflorin and albiflorin from radix Paeoniae rubra by high-speed counter-current chromatography. *J Liq Chrom & Rel Technol*, 36(4), 419-427.
- Hurst, T. E., Deichert, J. A., Kapeniak, L., Lee, R., Harris, J., Jessop, P. G., & Snieckus, V. (2019). Sodium Methyl Carbonate as an Effective C1 Synthone. Synthesis of Carboxylic Acids, Benzophenones, and Unsymmetrical Ketones. *Organic Letters*, 21(11), 3882–3885
- Hyo, J. K., Eun, J. C., Song, J. B., Sun, M. S., Heui, D. P., Chang, H. R., Jun, H. P., & Sang, W. C. (2002). Cytotoxic and antimutagenic stilbenes from seeds of *Paeonia lactiflora*. *Archives of Pharmacol Research*, 25(3), 293–299. Scopus.
- Ibrar, M., Khan, M. A., Nisar, M., & Khan, M. (2019). Evaluation of *Paeonia emodi* for its cardioprotective potentials: An investigative study towards possible mechanism. *J Ethnopharmacol*, 231, 57-65.
- Iliya, I., Tanaka, T., Iinuma, M., Furusawa, M., Ali, Z., Nakaya, K. I., ... & Darnaedi, D. (2002). Five stilbene glucosides from *Gnetum gnemonoides* and *Gnetum africanum*. *Helv Chim Acta*, 85(8), 2394-2402.
- Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M. A., Khan, I. A., ... & Gondal, T. A. (2019). Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. *Biomed & Pharmacother*, 112, 108612.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., ... & Moon, R. C. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275(5297), 218-220.
- Jeandet, P., Douillet-Breuil, A. C., Bessis, R., Debord, S., Sbaghi, M., & Adrian, M. (2002). Phytoalexins from the Vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *J Agricult Food Chem*, 50(10), 2731-2741.

- Jeong, S. J., Lim, H. S., Seo, C. S., Kim, J. H., Jin, S. E., Yoo, S. R., & Shin, H. K. (2015). Traditional herbal formula Jakyakgamcho-tang (*Paeonia lactiflora* and *Glycyrrhiza uralensis*) impairs inflammatory chemokine production by inhibiting activation of STAT1 and NF- κ B in HaCaT cells. *Phytomedicine*, 22(2), 326-332.
- Ji, L., Wang, Q., Teixeira da Silva, J. A., & Yu, X. N. (2012). The genetic diversity of *Paeonia L.* *Sci Horticult*, 143, 62–74.
- Jiang, H., Li, J., Wang, L., Wang, S., Nie, X., Chen, Y., ... & He, Y. (2020). Total glucosides of paeony: a review of its phytochemistry, role in autoimmune diseases, and mechanisms of action. *J Ethnopharmacol*, 112913.
- Jin, F., Xu, J., Liu, X. R., Regenstein, J. M., & Wang, F. J. (2019). Roasted tree peony (*Paeonia ostii*) seed oil: Benzoic acid levels and physicochemical characteristics. *Int J Food Prop*, 22(1), 499-510.
- Jin, L. B., Zhu, J., Liang, C. Z., Tao, L. J., Liu, B., Yu, W., ... & Tao, H. (2018). Paeoniflorin induces G2/M cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis through the upregulation of Bcl-2 X-associated protein and downregulation of B-cell lymphoma 2 in human osteosarcoma cells. *Mol Med repts*, 17(4), 5095-5101.
- Jugran, A. K., Chaudhary, W. Y., Bahukhandi, A., Bhatt, I. D., Rawal, R. S., & Dhyani, P. P. (2016). Effect of Processing and Storage Methods on the Nutritional, Anti-nutritional, and Anti-oxidant Properties of *Paeonia emodi*, Wall. Ex. Royle. *Appl Biochem Biotechnol*, 180(2), 322–337.
- Kamarozaman, A. S., Rajab, N. F., & Latip, J. (2015). Oligostilbenoids from *Vatica* Species and Bioactivities. In *Recent Trends in Physics of Material Science and Technology* (pp. 187-204). Springer, Singapore.
- Kang, J. H., Park, Y. H., Choi, S. W., Yang, E. K., & Lee, W. J. (2003). Resveratrol derivatives potently induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. *Exp & Mol Med*, 35(6), 467-474.
- Karapetsas, A., Voulgaridou, G. P., Konialis, M., Tsochantaridis, I., Kynigopoulos, S., Lambropoulou, M., ... & Goussia, A. (2019). Propolis extracts inhibit UV-induced photodamage in human experimental in vitro skin models. *Antioxidants*, 8(5), 125.
- Karkoula E, Skantzari A., Melliou E, Magiatis P (2014) Quantitative Measurement of Major Secoiridoid Derivatives in Olive Oil Using qNMR. Proof of the Artificial Formation of Aldehydic Oleuropein and Ligstroside Aglycon Isomers. *J Agricult Food Chem*, 62(3):600–607.
- Kawabata, J., Ichikawa, S., Kurihara, H., & Mizutani, J. (1989). Kobophenol A, a unique tetrastilbene from *Carex kobomugi* Ohwi (Cyperaceae). *Tetrahedron letts*, 30(29), 3785-3788.
- Keylor, M. H., Matsuura, B. S., & Stephenson, C. R. J. (2015). Chemistry and Biology of Resveratrol-Derived Natural Products. *Chem Rev*, 115(17), 8976–9027.
- Kim, H. J., Chang, E. J., Bae, S. J., Shim, S. M., Park, H. D., Rhee, C. H., ... & Choi, S. W. (2002a). Cytotoxic and antimutagenic stilbenes from seeds of *Paeonia lactiflora*. *Arch pharm Res*, 25(3), 293-299.

- Kim H. J., Chang E. J., Cho S. H., Chung S. K., Park H. D., Choi S. W. (2002b) Antioxidative Activity of Resveratrol and Its Derivatives Isolated from Seeds of *Paeonia lactiflora*. *Biosci, Biotechnol Biochem*, 66(9):1990–1993.
- Kim, H. J., Chung, S. K., & Choi, S. W. (1998). Lipoxygenase inhibition and antioxidative activity of flavonoids from *Paeonia moutan* seeds. *J Food Sci Nutr*, 3(4), 315-319.
- Kim, H. J., Chung, S. K., & Choi, S. W. (1999). Lipoxygenase inhibitors from *Paeonia lactiflora* seeds. *J Food Sci Nutr*, 4(3), 163-166.
- Kim, H. J., Ha, S. C., & Choi, S. W. (2002c). Inhibition of tyrosinase and lipoxygenase activities by resveratrol and its derivatives from seeds of *Paeonia lactiflora*. *J Food Sci Nutr*, 7(4), 447-450.
- Kim, M., Lim, S. J., Oidovsambuu, S., & Nho, C. W. (2014). Gnetin H isolated from *Paeonia anomala* inhibits FcεRI-mediated mast cell signaling and degranulation. *J Ethnopharmacol*, 154(3), 798-806.
- Kim, S. H., Lee, M. K., Lee, K. Y., Sung, S. H., Kim, J., & Kim, Y. C. (2009). Chemical constituents isolated from *Paeonia lactiflora* roots and their neuroprotective activity against oxidative stress in vitro. *J Enz Inh Medl Chem*, 24(5), 1138–1140.
- Kim, S. A., Jang, E. S., Lee, A., Lee, S. J., & Kim, J. H. (2020). Anti-inflammatory and Anti-Oxidant Effects of Oxypaeoniflorin, Paeoniflorin and *Paeonia lactiflora* cv.'Red Charm' Flower Petal Extracts in Macrophage Cells. *Korean Journal of Plant Resources*, 33(3), 153-162.
- Kirino, A., Takasuka, Y., Nishi, A., Kawabe, S., Yamashita, H., Kimoto, M., Ito, H., & Tsuji, H. (2012). Analysis and Functionality of Major Polyphenolic Components of *Polygonum cuspidatum* (Itadori). *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 58(4), 278–286.
- Kishore, L., Kaur, N., & Singh, R. (2017). Nephroprotective effect of *Paeonia emodi* via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic nephropathy. *J Food Drug Anal*, 25(3), 576-588.
- Ko, H. L., Jung, E. H., Jung, D. H., Kim, J. K., Ku, S. K., Kim, Y. W., ... Cho, I. J. (2016). *Paeonia japonica* root extract protects hepatocytes against oxidative stress through inhibition of AMPK-mediated GSK3β. *J Funct Foods*, 20, 303–316.
- Koushki, M., Dashatan, N. A., & Meshkani, R. (2018). Effect of Resveratrol Supplementation on Inflammatory Markers: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin Therap*, 40(7), 1180–1192.e5.
- Kritsanida, M., Magiatis, P., Skaltsounis, A.-L., & Stables, J. P. (2007). Phytochemical Investigation and Anticonvulsant Activity of *Paeonia parnassica* Radix. *Nat Prod Commun*, 2(4), 1934578X0700200
- Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem*, 97(1), 109-114.
- Kumarasamy, Y., Nahar, L., Byres, M., Delazar, A., & Sarker, S. D. (2005). The Assessment of Biological Activities Associated with the Major Constituents of the Methanol Extract of 'Wild Carrot' (*Daucus carota* L.) Seeds. *J Herb Pharmacother*, 5(1), 61–72.

- Kurihara, H., Kawabata, J., Ichikawa, S., Mishima, M., & Mizutani, J. (1991). Oligostilbenes from *Carex kobomugi*. *Phytochemistry*, 30(2), 649-653.
- Lee, B., Shin, Y. W., Bae, E. A., Han, S. J., Kim, J. S., Kang, S. S., & Kim, D. H. (2008). Antiallergic effect of the root of *Paeonia lactiflora* and its constituents paeoniflorin and paeonol. *Archiv Pharmacol Res*, 31(4), 445-450.
- Letsiou, S., Bakea, A., Holefors, A., & Rembiesa, J. (2020). In vitro protective effects of *Paeonia mascula* subsp. *hellenica* callus extract on human keratinocytes. *Sci Reps*, 10(1), 1-11.
- Li, H., Yin, W., Liu, P., & Liu, H. (2015, June). Oligostilbenoids investigation of structure-activity relationship with chemical biology information. In *2015 7TH International Conference on Measuring Technology and Mechatronics Automation* (pp. 716-718). IEEE.
- Li, J., Kuang, G., Chen, X., & Zeng, R. (2016). Identification of Chemical Composition of Leaves and Flowers from *Paeonia rockii* by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. *Molecules*, 21(7), 947.
- Li, J.-J., Sakata, Y., Wang, L.-S., Hashimoto, F., Shiraishi, A., & Aoki, N. (2004). Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation. *J Plant Res*, 117(1), 47-55.
- Li, L., Cheng, F. Y., & Zhang, Q. X. (2011). Microsatellite markers for the Chinese herbaceous peony *Paeonia lactiflora* (Paeoniaceae). *Amer J Bot*, 98(2), e16-e18.
- Li, P., Zhang, Z. M., Li, T., Zhang, Y. B., Sze, S. C. W., Wang, G. C., ... & Ye, W. C. (2014). Monoterpene derivatives from the roots of *Paeonia lactiflora* and their anti-proliferative activity. *Fitoterapia*, 98, 124-129.
- Li, S., Chen, L., Xu, Y., Wang, L., & Wang, L. (2012). Identification of floral fragrances in tree peony cultivars by gas chromatography-mass spectrometry. *Sci Horticult*, 142, 158-165.
- Li, S.-S., Wang, L.-S., Shu, Q.-Y., Wu, J., Chen, L.-G., Shao, S., & Yin, D.-D. (2015). Fatty acid composition of developing tree peony (*Paeonia* section *Moutan* DC.) seeds and transcriptome analysis during seed development. *BMC Genomics*, 16(1), 208.
- Li, S.-S., Yuan, R.-Y., Chen, L.-G., Wang, L.-S., Hao, X.-H., Wang, L.-J., Zheng, X.-C., & Du, H. (2015). Systematic qualitative and quantitative assessment of fatty acids in the seeds of 60 tree peony (*Paeonia* section *Moutan* DC.) cultivars by GC-MS. *Food Chem*, 173, 133-140
- Li, Z. X., Qin, G. W., He, J. H., & Cao, X. Y. (2010). Comparative analysis of fatty acid composition in seed kernel and coat of *Paeonia rockii* seeds. *Seed*, 29(1), 34-6.
- Lillard, B. (1919). Practical druggist and pharmaceutical review of reviews. *Pract Drug Pharm Rev Reviews*, 37 p. 25
- Lin, D., Kuang, G., Wan, J., Zhang, X., Li, H., Gong, X., & Li, H. (2016). Luteolin suppresses the metastasis of triple-negative breast cancer by reversing epithelial-to-mesenchymal transition via downregulation of β -catenin expression. *Oncol Reps*, 37(2), 895-902.
- Lin, H. C., Ding, H. Y., Wu, T. S., & Wu, P. L. (1996). Monoterpene glycosides from *Paeonia suffruticosa*. *Phytochemistry*, 41(1), 237-242.
- Lin, M., & Yao, C.-S. (2006). Natural Oligostilbenes. In *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 33, pp. 601-644). Elsevier.

- Lins, A. P., Ribeiro, M. N. D. S., Gottlieb, O. R., & Gottlieb, H. E. (1982). Gnetins: resveratrol oligomers from Gnetum species. *J Nat Prod* 45(6), 754-761.
- Liu, D. H., Agbo, E., Zhang, S. H., & Zhu, J. L. (2019). Anticonvulsant and neuroprotective effects of paeonol in epileptic rats. *Neurochem Res*, 44(11), 2556-2565.
- Liu, J., Wang, S., Feng, L., Ma, D., Fu, Q., Song, Y., ... & Ma, S. (2013). Hypoglycemic and antioxidant activities of paeonol and its beneficial effect on diabetic encephalopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food*, 16(7), 577-586.
- Liu, P., Li, X.-F., Gao, J.-Y., Liu, Y., Hou, X.-W., Yin, W.-P., & Deng, R.-X. (2017). Two New Resveratrol Trimers with Antibacterial Activities from Seed Cake of *Paeonia rockii*. *Chem Nat Comps*, 53(1), 51–55.
- Liu, P., Wang, Y., Gao, J., Lu, Z., Yin, W., & Deng, R. (2014). Resveratrol Trimers from Seed Cake of *Paeonia rockii*. *Molecules*, 19(12), 19549–19556.
- Liu, P., Zhang, Y., Gao, J., Du, M., Zhang, K., Zhang, J., Xue, N., Yan, M., Qu, C., & Deng, R. (2018). HPLC-DAD analysis of 15 monoterpene glycosides in oil peony seed cakes sourced from different cultivation areas in China. *Industr Crops Prods*, 118, 259–270.
- Liu, P., Zhang, Y., Xu, Y.-F., Zhu, X.-Y., Xu, X.-F., Chang, S., & Deng, R.-X. (2018). Three new monoterpene glycosides from oil peony seed cake. *Industr Crops Prods.*, 111, 371–378.
- Liu, S., Li, Y., Yi, F., Liu, Q., Chen, N., He, X., He, C., & Xiao, P. (2020). Resveratrol oligomers from *Paeonia suffruticosa* protect mice against cognitive dysfunction by regulating cholinergic, antioxidant and anti-inflammatory pathways. *J Ethnopharmacol*, 260, 112983.
- Lopez-Lazaro, M. (2009). Distribution and Biological Activities of the Flavonoid Luteolin. *Mini-Rev Med Chem*, 9(1), 31–59.
- Lu, M., Hu, Q., Zhang, Y., Zhai, Y., Zhou, Y., & Jiang, J. (2019). Comparative chemical profiling of three TCM drugs in the Paeoniaceae family by UPLC-MS/MS combined with chemometric methods. *Biochem Syst Ecol*, 83, 121–129.
- Lucas-Abellán, C., Mercader-Ros, M. T., Zafrilla, M. P., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2011). Comparative study of different methods to measure antioxidant activity of resveratrol in the presence of cyclodextrins. *Food Chem Toxicol*, 49(6), 1255–1260.
- Luo, J., Duan, J., Huo, D., Shi, Q., Niu, L., & Zhang, Y. (2017). Transcriptomic Analysis Reveals Transcription Factors Related to Leaf Anthocyanin Biosynthesis in *Paeonia qiu*. *Molecules*, 22(12), 2186.
- Luo, X., Yuan, M., Li, B., Li, C., Zhang, Y., & Shi, Q. (2020). Variation of floral volatiles and fragrance reveals the phylogenetic relationship among nine wild tree peony species. *Flav Fragr J*, 35(2), 227–241.
- Mao, Q. Q., Ip, S. P., Ko, K. M., Tsai, S. H., Xian, Y. F., & Che, C. T. (2009). Effects of peony glycosides on mice exposed to chronic unpredictable stress: further evidence for antidepressant-like activity. *J Ethnopharmacol*, 124(2), 316-320.
- Mao, Y., Han, J., Tian, F., Tang, X., Hu, Y., & Guan, Y. (2017). Chemical composition analysis, sensory, and feasibility study of tree peony seed. *J Food Sci*, 82(2), 553-561.

- Marini, G., Graikou, K., Zengin, G., Karikas, G. A., Gupta, M. P., & Chinou, I. (2018). Phytochemical analysis and biological evaluation of three selected *Cordia* species from Panama. *Ind Crops Prod*, 120, 84-89.
- Mencherini, T., Picerno, P., Festa, M., Russo, P., Capasso, A., & Aquino, R. (2011). Triterpenoid constituents from the roots of *Paeonia rockii* ssp. *rockii*. *J Nat Prods*, 74(10), 2116-2121.
- Michalea, R., Stathopoulou, K., Polychronopoulos, P., Benaki, D., Mikros, E., & Aligiannis, N. (2020). Efficient identification of Acetylcholinesterase and Hyaluronidase inhibitors from *Paeonia parnassica* extracts through a HeteroCovariance Approach. *J Ethnopharmacol*, 257, 111547.
- Mikulski, D., & Molski, M. (2010). Quantitative structure–antioxidant activity relationship of trans-resveratrol oligomers, trans-4,4'-dihydroxystilbene dimer, trans-resveratrol-3-O-glucuronide, glucosides: Trans-piceid, cis-piceid, trans-astringin and trans-resveratrol-4'-O- β -D-glucopyranoside. *Eur J Med Chem*, 45(6), 2366–2380.
- Miyazawa M., Maruyama H., and Kameoka H. (1984). Essential oil constituents of “Paeoniae Radix” *Paeonia lactiflora* Pall. (*Paeonia albiflora* Pall.). *Agric. Biol. Chem.* 48, 2847-2849.
- Mo, X., Zhao, N., Du, X., Bai, L., & Liu, J. (2011). The protective effect of peony extract on acute myocardial infarction in rats. *Phytomedicine*, 18(6), 451-457.
- Müller A. A., Reiter S. A., Heider K. G., and Wagner H. (1999), Plant derived acetophenones with antiasthmatic and anti-inflammatory properties: Inhibitory effects on chemotaxis, right angle light scatter and actin polymerization of polymorphonuclear granulocytes. *Planta Med.* 65, 590-594.
- Murata, T., Miyase, T., & Yoshizaki, F. (2011). New phenolic compounds from *Meehania urticifolia*. *J Nat Med*, 65(2), 385–390.
- Murcia, M. A., & Martinez-Tome, M. (2001). Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives. *J Food Prot*, 64(3), 379-384.
- Naumenko S. E., Latysheva T. V., Gilinsky M. A., Rogachev A. D., Komarova N. I., Salakhutdinov N. F., Tolstikov G. A. (2013). Cardioprotective effect of resveratrol and resveratrolside. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 11, 207–210.
- Nenadis, N., & Tsimidou, M. (2002). Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) tests. *JAACS*, 79(12), 1191.
- Nie, R., Zhang, Y., Zhang, H., Jin, Q., Wu, G., & Wang, X. (2020). Effect of different processing methods on physicochemical properties, chemical compositions and in vitro antioxidant activities of *Paeonia lactiflora* Pall seed oils. *Food Chem*, 332, 127408.
- Nizami, Q., Jafri, M.A. (2005). Anticonvulsant, antianxiety and memory enhancing activities of *Delphinium denudatum* and *Paeonia emodi*. *Eur. Neuropsychopharmacol*, 5, 638.
- Nizamutdinova, I. T., Oh, H. M., Min, Y. N., Park, S. H., Lee, M. J., Kim, J. S., Yean, M. H., Kang, S. S., Kim, Y. S., Chang, K. C., & Kim, H. J. (2007). Paeonol suppresses intercellular adhesion molecule-1 expression in tumor necrosis factor- α -stimulated human umbilical vein endothelial cells by blocking p38, ERK and nuclear factor- κ B signaling pathways. *Inte Immunopharmacol*, 7(3), 343–350.

- Ogawa, K., Nakamura, S., Sugimoto, S., Tsukioka, J., Hinomaru, F., Nakashima, S., Matsumoto, T., Ohta, T., Fujimoto, K., Yoshikawa, M., & Matsuda, H. (2015). Constituents of flowers of Paeoniaceae plants, *Paeonia suffruticosa* and *Paeonia lactiflora*. *Phytochem Letts*, 12, 98–104.
- Oidovsambuu, S., Kim, C. Y., Kang, K., Dulamjav, B., Jigjidsuren, T., & Nho, C. W. (2013). Protective effect of *Paeonia anomala* extracts and constituents against tert-butylhydroperoxide-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Planta Med*, 29(02), 116-122.
- Okasaka, M., Kashiwada, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O., & Takaishi, Y. (2008). Monoterpene glycosides from *Paeonia hybrida*. *Phytochemistry*, 69(8), 1767–1772.
- Okubo, T., Nagai, F., Seto, T., SATOH, K., USHIYAMA, K., & KANO, I. (2000). The inhibition of phenylhydroquinone-induced oxidative DNA cleavage by constituents of Moutan Cortex and Paeoniae Radix. *Biol Pharm Bull*, 23(2), 199-203.
- Orhan, I., Demirci, B., Omar, I., Siddiqui, H., Kaya, E., Choudhary, M. I., Ecevit-Genç, G., Özhatay, N., Şener, B., & Başer, K. H. C. (2010). Essential oil compositions and antioxidant properties of the roots of twelve Anatolian Paeonia taxa with special reference to chromosome counts. *Pharm Biol*, 48(1), 10–16.
- Oshima, Y., Namao, K., Kamijou, A., Matsuoka, S., Nakano, M., Terao, K., & Ohizumi, Y. (1995). Powerful hepatoprotective and hepatotoxic plant oligostilbenes, isolated from the oriental medicinal plant *Vitis coignetiae* (Vitaceae). *Experientia*, 51(1), 63-66.
- Ovesná, Z., Kozics, K., Bader, Y., Saiko, P., Handler, N., Erker, T., & Szekeres, T. (2006). Antioxidant activity of resveratrol, piceatannol and 3, 3', 4, 4', 5, 5'-hexahydroxy-trans-stilbene in three leukemia cell lines. *Oncol Reps*, 16(3), 617-624.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*, 2.
- Pandey, R. P., Parajuli, P., Shin, J. Y., Lee, J., Lee, S., Hong, Y. S., ... & Sohng, J. K. (2014). Enzymatic biosynthesis of novel resveratrol glucoside and glycoside derivatives. *Appl environm microbiol*, 80(23), 7235-7243.
- Pang, W., Qi, X., Cao, C., & Zhang, S. (2018). Inhibitory effects of TGP on KGF-induced hyperproliferation of HaCaT cells via suppression of the p38 MAPK/NF-κB p65 pathway. *Mole Med Reps*, 18(2), 2207-2215.
- Papandreou, V., Magiatis, P., Chinou, I., Kalpoutzakis, E., Skaltsounis, A.-L., & Tsarbopoulos, A. (2002). Volatiles with antimicrobial activity from the roots of Greek Paeonia taxa. *J Ethnopharmacol*, 81(1), 101–104.
- Papandreou, V., Magiatis, P., Kalpoutzakis, E., Skaltsounis, A. L., & Harvala, C. (2002). Paconiclucide, a new salicylic glycoside from the Greek endemic species *Paeonia clusii*. *Zeitschr Naturforsch C*, 57(3-4), 235-238.
- Park, Y., Moon, B. H., Lee, E., Lee, Y., Yoon, Y., Ahn, J. H., & Lim, Y. (2007). 1H and 13C-NMR data of hydroxyflavone derivatives. *Magn Reson Chem*, 45(8), 674-679.
- Parker, S., May, B., Zhang, C., Zhang, A. L., Lu, C., & Xue, C. C. (2016). A pharmacological review of bioactive constituents of *Paeonia lactiflora* Pallas and *Paeonia veitchii* Lynch. *Phytother Res*, 30(9), 1445-1473.

- Pauli G-F, Jaki B-U, Lankin D-C (2005) Quantitative ¹H NMR: development and potential of a method for natural products analysis. *J Nat Prod*, 68, 133–149
- Pawlus, A. D., Sahli, R., Bisson, J., Rivière, C., Delaunay, J. C., Richard, T., ... & Mérillon, J. M. (2013). Stilbenoid profiles of canes from *Vitis* and *Muscadinia* species. *J Agricult Food Chem*, 61(3), 501-511.
- Peng, L. P., Men, S. Q., Liu, Z. A., Tong, N. N., Imran, M., & Shu, Q. Y. (2020). Fatty acid composition, phytochemistry, antioxidant activity on seed coat and kernel of *Paeonia ostii* from main geographic production areas. *Foods*, 9(1), 30.
- Picerno, P., Mencherini, T., Sansone, F., Del Gaudio, P., Granata, I., Porta, A., & Aquino, R. P. (2011). Screening of a polar extract of *Paeonia rockii*: Composition and antioxidant and antifungal activities. *J Ethnopharmacol*, 138(3), 705–712.
- Qian, W., Zhang, J., Wang, W., Wang, T., Liu, M., Yang, M., Sun, Z., Li, X., & Li, Y. (2020). Antimicrobial and antibiofilm activities of paeoniflorin against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Appl Microbiol*, 128(2), 401–413.
- Qin, J.-J., Mao, Y.-Y., Li, J.-L., Guan, Y., & Zhao, W.-M. (2017). Aromatic monoterpene glycosides from the seeds of *Paeonia ostii*. *J Asian Nat Prod Res*, 19(12), 1149–1154.
- Qiu, F., Zhong, X., Mao, Q., & Huang, Z. (2013). The antidepressant-like effects of paeoniflorin in mouse models. *Experim Thera Med*, 5(4), 1113–1116.
- Qiu, F.-M., Zhong, X.-M., Mao, Q.-Q., & Huang, Z. (2013). Antidepressant-like effects of paeoniflorin on the behavioural, biochemical, and neurochemical patterns of rats exposed to chronic unpredictable stress. *Neurosci Letts*, 541, 209–213.
- Rainer, B., Revoltella, S., Mayr, F., Moesslacher, J., Scalfari, V., Kohl, R., Waltenberger, B., Pagitz, K., Siewert, B., Schwaiger, S., & Stuppner, H. (2019). From bench to counter: Discovery and validation of a peony extract as tyrosinase inhibiting cosmeceutical. *European J Med Chem*, 184, 111738.
- Riaz, N., Malik, A., Rehman, A., Ahmed, Z., Muhammad, P., Nawaz, S. A., Siddiqui, J., & Choudhary, M. I. (2004). Lipoxygenase inhibiting and antioxidant oligostilbene and monoterpene galactoside from *Paeonia emodi*. *Phytochemistry*, 65(8), 1129–1135.
- Rivière, C., D. Pawlus, A., & Mérillon, J.-M. (2012). Natural stilbenoids: Distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae. *Nat Prod Repts*, 29(11), 1317–1333.
- Ryu, H. W., Song, H. H., Shin, I. S., Cho, B. O., Jeong, S. H., Kim, D. Y., ... & Oh, S. R. (2015). Suffruticosol A isolated from *Paeonia lactiflora* seedcases attenuates airway inflammation in mice induced by cigarette smoke and LPS exposure. *J Funct Foods*, 17, 774-784.
- Sadati Lamardi, S. N., & Taleb Kashefi, N. (2018). Phytochemical Evaluation, Antioxidant Activity and Toxicity of *Paeonia daurica* ssp. *macrophylla* Root. *Res J Pharma*, 5(2), 9-15.
- Sánchez-Ferrer, Á., Rodríguez-López, J. N., García-Cánovas, F., & García-Carmona, F. (1995). Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Prot Struct Mol Enz*, 1247(1), 1-11.

- Sang, T., Crawford, D. J., & Stuessy, T. F. (1997). Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *Amer J Bot*, 84(8), 1120–1136.
- Sarker, S. D., Whiting, P., Dinan, L., Šik, V., & Rees, H. H. (1999). Identification and ecdysteroid antagonist activity of three resveratrol trimers (suffruticosols A, B and C) from *Paeonia suffruticosa*. *Tetrahedron*, 55(2), 513-524.
- Sener, B., & Mutlugil, A. (1992, July). Monoterpenoids from *Paeonia* species growing in Turkey. In *WOCMAP I-Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 1 of 4 333* (pp. 155-158).
- Sevim, D., Senol, F. S., Gulpinar, A. R., Orhan, I. E., Kaya, E., Kartal, M., & Sener, B. (2013). Discovery of potent in vitro neuroprotective effect of the seed extracts from seven *Paeonia* L. (peony) taxa and their fatty acid composition. *Industr Crops Prods.*, 49, 240–246.
- Shah, A., Haq, S., Rehman, W., Waseem, M., Shoukat, S., & Rehman, M. (2019). Photocatalytic and antibacterial activities of *Paeonia emodi* mediated silver oxide nanoparticles. *Mat Res Expr*, 6(4), 045045.
- Shah, F. A., Ren, Y., Yuan, Y. J., Fu, S., Wang, Y., & Chen, H. Y. H. (2018). Effect of plant age and geographical location on active paeonol and paeoniflorin accumulation in the roots of *Paeonia ostii*. *Pakistan J Bot*, 50(5), 1785–1790. Scopus.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of functional foods*, 18, 820-897.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 32(1), 67–103.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2008). Antibacterial properties of *Polygonum cuspidatum* roots and their major bioactive constituents. *Food Chem*, 109(3), 530–537.
- Sharma, A., Singh, S., Tewari, R., Bhatt, V. P., Sharma, J., & Maurya, I. K. (2018). Phytochemical analysis and mode of action against *Candida glabrata* of *Paeonia emodi* extracts. *J mycol med*, 28(3), 443-451.
- Shen, J., Zhou, Q., Li, P., Wang, Z., Liu, S., He, C., ... & Xiao, P. (2017). Update on phytochemistry and pharmacology of naturally occurring resveratrol oligomers. *Molecules*, 22(12), 2050.
- Shen, X. F., Teng, Y., Sha, K. H., Wang, X. Y., Yang, X. L., Guo, X. J., ... & Huang, N. (2016). Dietary flavonoid luteolin attenuates uropathogenic *Escherichia Coli* invasion of the urinary bladder. *Biofactors*, 42(6), 674-685.
- Shi, J. J., Zhang, J.-G., Sun, Y.-H., Qu, J., Li, L., Prasad, C., & Wei, Z.-J. (2016). Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg. *Int J Biol Macromol*, 91, 23–30.
- Shi, Y. H., Zhu, S., Ge, Y. W., He, Y. M., Kazuma, K., Wang, Z., ... & Komatsu, K. (2016). Monoterpene derivatives with anti-allergic activity from red peony root, the root of *Paeonia lactiflora*. *Fitoterapia*, 108, 55-61.
- Shi, Y. H., Zhu, S., Ge, Y. W., Toume, K., Wang, Z., Batkhuu, J., & Komatsu, K. (2016). Characterization and quantification of monoterpenoids in different types of peony root and the

related *Paeonia* species by liquid chromatography coupled with ion trap and time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 129, 581–592.

Shomirzoeva, O., Li, J., Numonov, S., Mamat, N., Shataer, D., Lu, X., & Aisa, H. A. (2019). Chemical components of *Hyssopus seravshanicus*: antioxidant activity, activations of melanogenesis and tyrosinase, and quantitative determination by UPLC-DAD. *Nat prod rese*, 33(6), 866-870.

Shou, Q., Lang, J., Jin, L., Fang, M., Cao, B., Cai, Y., ... & Fu, H. (2019). Total glucosides of peony improve ovalbumin-induced allergic asthma by inhibiting mast cell degranulation. *J Ethnopharmacol*, 244, 112136.

Shu, X. K., Duan, W. J., Liu, W., Geng, Y. L., Wang, X., Yang, B. T., & Yang, P. (2014). Chemical constituents from flowers of *Paeonia lactiflora*. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= J Chin med mat*, 37(1), 66-69.

Singab, A. N., El-Taher, E., Elgindi, M., & Kassem, M. (2015). Phoenix roebelenii O'Brien DNA profiling, bioactive constituents, antioxidant and hepatoprotective activities. *Asian Pacific J Trop Dis*, 5.

Singh, A. P., Singh, R., Verma, S. S., Rai, V., Kaschula, C. H., Maiti, P., & Gupta, S. C. (2019). Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies. *Med Res Rev*, 39(5), 1851-1891.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer j Enol Viticult*, 16(3), 144-158.

Song, Y., Pan, L., Li, W., Si, Y., Zhou, D., Zheng, C., Hao, X., Jia, X., Jia, Y., Shi, M., Jia, X., Li, N., & Hou, Y. (2017). Natural neuro-inflammatory inhibitors from *Caragana turfanensis*. *Bioorg & Med Chem Lett*, 27(20), 4765–4769.

Sotheeswaran, S., & Pasupathy, V. (1993). Distribution of resveratrol oligomers in plants. *Phytochemistry*, 32(5), 1083-1092.

Sparvoli, F., Martin, C., Scienza, A., Gavazzi, G., & Tonelli, C. (1994). Cloning and molecular analysis of structural genes involved in flavonoid and stilbene biosynthesis in grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant mol biol*, 24(5), 743-755.

Stearn, W.T., Davis, P.H., Tan, K. (2012). Παιώνιες στην Ελλάδα, Ταξινομική και Ιστορική Μελέτη του γένους *Paeonia*. Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Γουλανδρή, Αθήνα, 19-79

Stivala, L. A., Savio, M., Carafoli, F., Perucca, P., Bianchi, L., Maga, G., ... & Vannini, V. (2001). Specific structural determinants are responsible for the antioxidant activity and the cell cycle effects of resveratrol. *J Biol Chem*, 276(25), 22586-22594.

Su, J., Wang, H., Ma, C., Lou, Z., Liu, C., Rahman, M. T., ... & Nie, R. (2015). Anti-diabetic activity of peony seed oil, a new resource food in STZ-induced diabetic mice. *Food & function*, 6(9), 2930-2938.

Su, S., Cui, W., Zhou, W., Duan, J. A., Shang, E., & Tang, Y. (2013). Chemical fingerprinting and quantitative constituent analysis of Siwu decoction categorized formulae by UPLC-QTOF/MS/MS and HPLC-DAD. *Chin med*, 8(1), 5.

Su, S. Y., Cheng, C. Y., Tsai, T. H., & Hsieh, C. L. (2012). Paeonol protects memory after ischemic stroke via inhibiting β -secretase and apoptosis. *Evidence-Based Compl Altern Med*, 2012.

- Sun, J., Wu, J., Xu, C., Luo, Q., Li, B., & Dong, J. (2015). Paeoniflorin attenuates allergic inflammation in asthmatic mice. *Intern Immunopharmacol*, 24(1), 88–94.
- Sun, Y., Zhang, J., Huo, R., Zhai, T., Li, H., Wu, P., ... & Li, N. (2015). Paeoniflorin inhibits skin lesions in imiquimod-induced psoriasis-like mice by downregulating inflammation. *Intern immunopharmacol*, 24(2), 392-399.
- Sut, S., Zengin, G., Dall'Acqua, S., Gazdová, M., Šmejkal, K., Bulut, G., Dogan, A., Haznedaroglu, M. Z., Aumeeruddy, M. Z., Maggi, F., & Mahomoodally, M. F. (2019). *Paeonia arietina* and *Paeonia kesrounansis* bioactive constituents: NMR, LC-DAD-MS fingerprinting and in vitro assays. *J Pharm Biomed Anal*, 165, 1–11.
- Swain, T., & Hillis, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agricult*, 10(1), 63-68.
- Takagi K, Harada M. (1969). Pharmacological studies on herb paeony root. II. Anti-inflammatory effect, inhibitory effect on gastric juice secretion, preventive effect on stress ulcer, antidiuretic effect of paeoniflorin and combined effects with licorice component Fm 100. *Yakugaku Zasshi*, 89(7), 887–892
- Tamura, M. (2007). Paeoniaceae. In K. Kubitzki [ed.], The families and genera of flowering plants, vol 9: 265-269. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Tanaka, R., Yamazaki, M., Hasada, K., & Nagatsu, A. (2013). Application of quantitative ¹H-NMR method to determination of paeoniflorin in *Paeoniae radix*. *J Nat Med*, 67(3), 657–661.
- Tantry, M. A., Dar, J. A., Khuroo, M. A., & Shawl, A. S. (2012). Nortriterpenoids from the roots of *Paeonia emodi*. *Phytochem Letters*, 5(2), 253-257.
- Tatli, I. I., Akdemir, Z. S., Yesilada, E., & Küpeli, E. (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive potential of major phenolics from *Verbascum salviifolium* Boiss. *Zeitsch Naturforsch C*, 63(3-4), 196-202.
- Tessari, I., Bisaglia, M., Valle, F., Samorì, B., Bergantino, E., Mammi, S., & Bubacco, L. (2008). The reaction of α -synuclein with tyrosinase possible implications for parkinson disease. *J Biol Chem*, 283(24), 16808-16817.
- Tian, X., Guo, S., Zhang, S., Li, P., Wang, T., Ho, C. T., ... & Bai, N. (2020). Chemical characterization of main bioactive constituents in *Paeonia ostii* seed meal and GC-MS analysis of seed oil. *J Food Biochem*, 44(1), e13088.
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., García-Almagro, F. J., Avilés-Plaza, F., Parra, S., ... & Espín, J. C. (2012). Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and Apo B in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: A triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial. *Mol nutr & food res*, 56(5), 810-821.
- Tosun, G., Kahriman, N., ALBAY, C., KARAOĞLU, Ş. A., & Yayli, N. (2011). Antimicrobial activity and volatile constituents of the flower, leaf, and stem of *Paeonia daurica* grown in Turkey. *Turkish J Chem*, 35(1), 145-153.
- Tsukamoto, K., Yamamoto, K., & Makino, T. (2014). Counteractive effect of *Paeonia lactiflora* root constituent mudanpioside E against suppressive effect of shoseiryuto-extract on passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice *J Ethnopharmacol*, 153(3), 884-889.

- Tu, J., Guo, Y., Hong, W., Fang, Y., Han, D., Zhang, P., ... & Wei, W. (2019). The regulatory effects of paeoniflorin and its derivative paeoniflorin-6'-o-benzene sulfonate CP-25 on inflammation and immune diseases. *Frontiers pharmacol*, 10, 57.
- Ullah, S., Abbasi, M. A., Raza, M. A., Khan, S. U., Aziz-ur-Rehman, B. M., & Mughal, M. A. S. (2011). Antibacterial activity of some selected plants of Swat valley. *Biosci Res*, 8(1), 15-18.
- Vazirian, M., Vosughian, E., Pirali-Hamedani, M., Khodaei, M., & Lamardi, S. N. S. (2018). Essential oil composition and radical scavenging activity of *Paeonia daurica* subsp. *macrophylla* root. *Trad Integr Med*, 11-17.
- Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., Yadav, A., & Chanotiya, C. S. (2015). Essential oil composition of Himalayan Peony (*Paeonia emodi* Royle). *JEOR* 27(6), 477–480.
- Waffo Teguo, P., Fauconneau, B., Deffieux, G., Huguet, F., Vercauteren, J., & Mérillon, J.-M. (1998). Isolation, identification, and antioxidant activity of three stilbene glucosides newly extracted from *Vitis vinifera* cell cultures. *J Nat Prod*, 61(5), 655–657.
- Wakefield, M. E. (2014). Chinese Topical Herbal Treatments and Essential Oil Protocols. In *Constitutional Facial Acupuncture* (pp. 277–334). Elsevier.
- Wang, J. L., Zai-Hua. (2019). Nutrients, fatty acid composition and antioxidant activity of the flowers and seed oils in wild populations of *Paeonia ludlowii*. *Emirates J Food Agricult*, 206.
- Wang, X., Li, C., Contreras, M. D. M., Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., & Xing, C. (2020). Integrated rofiling of fatty acids, sterols and phenolic compounds in tree and herbaceous peony seed oils: Marker screening for new resources of vegetable oil. *Foods*, 9(6), 770.
- Wei, X., Xue, J., Wang, S., Xue, Y., Lin, H., Shao, X., Xu, D., & Zhang, X. (2018). Fatty acid analysis in the seeds of 50 *Paeonia ostii* individuals from the same population. *J Integra Agricult*, 17(8), 1758–1767.
- Williams, C. A. (1979). The leaf flavonoids of the Orchidaceae. *Phytochemistry*, 18(5), 803-813.
- Witte, A. V., Kerti, L., Margulies, D. S., & Flöel, A. (2014). Effects of resveratrol on memory performance, hippocampal functional connectivity, and glucose metabolism in healthy older adults. *J Neurosci*, 34(23), 7862-7870
- Wu, H., Wei, W., Song, L., Zhang, L., Chen, Y., & Hu, X. (2007). Paeoniflorin induced immune tolerance of mesenteric lymph node lymphocytes via enhancing beta 2-adrenergic receptor desensitization in rats with adjuvant arthritis. *Int Immunopharmacol*, 7(5), 662-673.
- Wu, J. M., Wang, Z. R., Hsieh, T. C., Bruder, J. L., Zou, J. G., & Huang, Y. Z. (2001). Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine. *Int j mol med*, 8(1), 3-17.
- Wu, S. H., Wu, D. G., & Chen, Y. W. (2010). Chemical Constituents and Bioactivities of Plants from the Genus *Paeonia*. *Chem & Biodiv*, 7(1), 90–104.
- Wu, Y., Yuan, W., Han, X., Hu, J., Yin, L., & Lv, Z. (2020). Integrated analysis of fatty acid, sterol and tocopherol components of seed oils obtained from four varieties of industrial and environmental protection crops. *Industr Crops Prods*, 154, 112655.

- Xia, L. L., Zhu, Q. J., & Wu, Y. G. (2017). Hepatoprotective effect of peony total glucosides and the underlying mechanisms in diabetic rats. *Pharm Biol*, 55(1), 2178-2187.
- Xiang, Y., Zhang, Q., Wei, S., Huang, C., Li, Z., & Gao, Y. (2020). Paeoniflorin: A monoterpene glycoside from plants of Paeoniaceae family with diverse anticancer activities. *J Pharm Pharmacol*, 72(4), 483–495.
- Xiao, C., Wu, M., Chen, Y., Zhang, Y., Zhao, X., & Zheng, X. (2015). Revealing metabolomic variations in Cortex Moutan from different root parts using HPLC–MS method. *Phytochem Anal*, 26(1), 86-93.
- Xie, L., Yan, Z., Li, M., Tian, Y., Kilaru, A., Niu, L., & Zhang, Y. (2020). Identification of phytochemical markers for quality evaluation of tree peony stamen using comprehensive HPLC-based analysis. *Industr Crops Prods*, 154, 112711.
- Xin, Q., Yuan, R., Shi, W., Zhu, Z., Wang, Y., & Cong, W. (2019). A review for the anti-inflammatory effects of paeoniflorin in inflammatory disorders. *Life Sciences*, 237, 116925.
- Xue, J., Wang, S., Zhang, P., Zhu, F., Ren, X., Liu, C., & Zhang, X. (2015). On the role of physiological substances, abscisic acid and its biosynthetic genes in seed maturation and dormancy of tree peony (*Paeonia ostii* ‘Feng Dan’). *Scie Horticult*, 182, 92–101.
- Yamahara J, Yamada T, Kimura H, Sawada T, Fujimura H. (1982). Biologically active principles of crude drugs. II. Anti-allergic principles in “Shoseiryu-To” anti-inflammatory properties of paeoniflorin and its derivatives. *J Pharmacobiodyn*, 5(11), 921–929
- Yan, H. J., Wang, Z.-W., Zhao, H.-Q., Geng, Y. L., Zhao, W., & Wang, X. (2017). Study on HPLC digital fingerprint of *Paeonia suffruticosa* and determination of eight components. *ChinTrad Herb Drugs*, 48(9), 1866–1871.
- Yan, Z. G., Xie, L., Wang, N., Sun, D., Bai, Z., Niu, L., Zhang, Y., & Ji, X. (2019). Phenotypic characteristics and fatty acid composition of seeds from different herbaceous peony species native to china. *Chem & Biodiv*, 16(3), e1800589.
- Yan, Z., Xie, L., Tian, Y., Li, M., Ni, J., Zhang, Y., & Niu, L. (2020). Insights into the Phytochemical Composition and Bioactivities of Seeds from Wild Peony Species. *Plants*, 9(6), 729.
- Yang, L., Xing, S., Wang, K., Yi, H., & Du, B. (2018). Paeonol attenuates aging MRC-5 cells and inhibits epithelial–mesenchymal transition of premalignant HaCaT cells induced by aging MRC-5 cell-conditioned medium. *Mol Cell Biochem*, 439(1–2), 117–129.
- Yang, Xiao, Deng, R., Liu, P., Hu, J., Niu, W., & Gao, J. (2019). Secondary Metabolite Mapping Identifies Peony Episperm Inhibitors of Human Hepatoma Cells. *Nat Prod Commun*, 14(7), 1934578X1986031.
- Yang, X., Zhang, D., Song, L. M., Xu, Q., Li, H., & Xu, H. (2017). Chemical profile and antioxidant activity of the oil from Peony seeds (*Paeonia suffruticosa* Andr.). *Oxid Med Cell Longev*, 2017.
- Yang, Y., Li, S., Teixeira da Silva, J. A., Yu, X., & Wang, L. (2020). Characterization of phytochemicals in the roots of wild herbaceous peonies from China and screening for medicinal resources. *Phytochemistry*, 174, 112331.

- Yao, C. W., Piao, M. J., Kim, K. C., Zheng, J., Cha, J. W., & Hyun, J. W. (2013). 6'-O-Galloylpaeoniflorin protects human keratinocytes against oxidative stress-induced cell damage. *Biomol Ther*, 21(5), 349–357.
- Yen, P. H., Van Kiem, P., Nhiem, N. X., Tung, N. H., Quang, T. H., Van Minh, C., Kim, J. W., Choi, E. M., & Kim, Y. H. (2007). A new monoterpene glycoside from the roots of *Paeonia lactiflora* increases the differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Archiv Pharmacol Res*, 30(10), 1179–1185.
- Yesilada, E., Mutlugil, A., & Sener, B. (1992). The Antiinflammatory principle of the roots of *Paeonia daurica*. *Int j pharm*, 30(1), 66-70.
- Ying, W. (2018). A national flower's symbolic value during the tang and song dynasties in china. *Space Culture*, 21(1), 46–59.
- Yu, G., Wang, Z., Zeng, S., Liu, S., Zhu, C., Xu, R., & Liu, R. E. (2019). Paeoniflorin inhibits hepatocyte growth factor-(HGF-) induced migration and invasion and actin rearrangement via suppression of c-Met-mediated RhoA/ROCK signaling in glioblastoma. *BioMed research int*, 2019.
- Yu, J., Xiao, Z., Zhao, R., Lu, C., & Zhang, Y. (2017). Paeoniflorin suppressed IL-22 via p38 MAPK pathway and exerts anti-psoriatic effect. *Life Sciences*, 180, 17–22.
- Yu Jin, X. P. G., & Yu Jin, X. P. G. (1987). A preliminary study of the chemistry and systematics of paeoniaceae. *J Syst Evol*, 25(3), 172–179.
- Yu, L., Zhu, L. J., Wang, A. H., Qin, Y., Zhang, X., Jia, J. M., & Yao, X. S. (2019). Anti-inflammatory glycosides from the roots of *Paeonia intermedia* C. A. Meyer. *Nat Prod Res*, 1–7.
- Yu, L., Zhu, L. J., Wang, A. H., Qin, Y., Zhang, X., Jia, J. M., & Yao, X. S. (2020). Two new alcohol glycosides from the roots of *Paeonia intermedia* C. A. Meyer. *J Asian Nat Prod Res*, 22(9), 823–829.
- Yu, S., Du, S., Yuan, J., & Hu, Y. (2016). Fatty acid profile in the seeds and seed tissues of *Paeonia* L. species as new oil plant resources. *Scie Rep*, 6(1), 26944.
- Yu J. & Xiao P. G. (1987). A Preliminary Study of the Chemistry and Systematics of Paeoniaceae. *J Syst Evol*, 25(3), 172-179.
- Zargar, B. A., Masoodi, M. H., Khan, B. A., & Akbar, S. (2013). *Paeonia emodi* Royle: Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology. *Phytochem Letts*, 6(2), 261–266.
- Zhai, T., Sun, Y., Li, H., Zhang, J., Huo, R., Li, H., Shen, B., & Li, N. (2016). Unique immunomodulatory effect of paeoniflorin on type I and II macrophages activities. *J Pharmacol Scie*, 130(3), 143–150.
- Zhang, C. C., Geng, C. A., Huang, X. Y., Zhang, X. M., & Chen, J. J. (2019). Antidiabetic Stilbenes from Peony Seeds with PTP1B, α -Glucosidase, and DPPIV Inhibitory Activities. *J Agricult Food Chem*, 67(24), 6765–6772.
- Zhang, C. Q., Xu, Y. J., Lu, Y. Z., Li, L. Q., Lan, X. Z., & Zhong, Z. C. (2020). Study on the fatty acids, aromatic compounds and shelf life of *Paeonia ludlowii* kernel oil. *J Oleo Sci*, 69(9), 1001–1009.

Zhang, F., Qu, J., Thakur, K., Zhang, J. G., Mocan, A., & Wei, Z. J. (2019). Purification and identification of an antioxidative peptide from peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) seed dreg. *Food Chem*, 285, 266–274.

Zhang, F., Shi, J. J., Thakur, K., Hu, F., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2017). Anti-cancerous potential of polysaccharide fractions extracted from peony seed dreg on various human cancer cell lines via cell cycle arrest and apoptosis. *Frontiers Pharmacol*, 8.

Zhang, J.-W., Li, L.-X., Wu, W.-Z., Pan, T. J., Yang, Z.-S., & Yang, Y.-K. (2018). Anti-tumor effects of paeoniflorin on epithelial-to-mesenchymal transition in human colorectal cancer cells. *Med Scie Monitor*, 24, 6405–6413.

Zhang, K., Yao, L., Zhang, Y., Baskin, J. M., Baskin, C. C., Xiong, Z., & Tao, J. (2019). A review of the seed biology of *Paeonia* species (Paeoniaceae), with particular reference to dormancy and germination. *Planta*, 249(2), 291–303.

Zhang, L., Liu, P., Gao, J., Wang, X., An, J., Xu, S., & Deng, R. X. (2019). Profiling and simultaneous quantitative determination of oligostilbenes in *Paeonia ostii* seed shell from different geographical areas in China and their comparative evaluation. *Phytochem Anal*, 30(4), 464–473.

Zhang, Q., Yuan, Y., Cui, J., Xiao, T., & Jiang, D. (2016). Paeoniflorin inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells through suppressing Notch-1 signaling pathway. *Biomed & Pharmacother*, 78, 197–203.

Zhang, X. X., Shi, Q. Q., Ji, D., Niu, L. X., & Zhang, Y. L. (2017). Determination of the phenolic content, profile, and antioxidant activity of seeds from nine tree peony (*Paeonia* section Moutan DC.) species native to China. *Food Res Intern*, 97, 141–148.

Zhang, Y., Liu, P., Gao, J., Wang, X., Yan, M., Xue, N., Qu, C., & Deng, R. (2018). *Paeonia veitchii* seeds as a promising high potential by-product: Proximate composition, phytochemical components, bioactivity evaluation and potential applications. *Industr Crops Prods.*, 125, 248–260.

Zhao, J., Hu, Z. H., Leng, P. S., Zhang, H. X., & Cheng, F. Y. (2012). Fragrance composition in six tree peony cultivars. *Horticult Sci & Technol*, 30(6), 617–625.

Zhao, M., & Wu, S. P. (2019). A review of the ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of tree peony (Sect. Moutan). *South Afr J Bot*, 124, 556–563.

Zhao, Y., Wang, B., Zhang, S., Yang, S., Wang, H., Ren, A., & Yi, E. (2015). Isolation of antifungal compound from *Paeonia suffruticosa* and its antifungal mechanism. *Chin J Integr Med*, 21(3), 211–216.

Zheng, W.-Y., Chen, Y.-H., Zhang, X.-T., & Yu, Z.-G. (2016). Analysis of volatiles in *Paeonia obovata* flowers by HS-SPME-GC-MS. *Chem Nat Compds*, 52(5), 922–923.

Zhou, C., Zhang, Y., Sheng, Y., Zhao, D., Lv, S., Hu, Y., & Tao, J. (2011). Herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) as an alternative source of oleanolic and ursolic acids. *Int J Mol Scie*, 12(1), 655–667.

Zhou, J.-X., Braun, M., Wetterauer, P., Wetterauer, B., & Wink, M. (2019). Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of *Glycyrrhiza glabra* L., *Paeonia lactiflora* Pall., and *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. Extracts. *Medicines*, 6(2), 43.

Zhou, Y. X., Gong, X. H., Zhang, H., & Peng, C. (2020). A review on the pharmacokinetics of paeoniflorin and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. *Biomed & Pharma*, 130, 110505.

Zhu, W., Qin, W., Zhang, K., Rottinghaus, G. E., Chen, Y. C., Kliethermes, B., & Sauter, E. R. (2012). Trans-resveratrol alters mammary promoter hypermethylation in women at increased risk for breast cancer. *Nutr cancer*, 64(3), 393-400.

Zhu, X., & Fang, Z. H. (2014). New monoterpene glycosides from the root cortex of *Paeonia suffruticosa* and their potential anti-inflammatory activity. *Nat Prod Res*, 28(5), 301-305.

Διαδικτυακές πηγές

<http://www.theplantlist.org>.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Peony>

<https://www.peonysociety.eu/species/>

<https://greekflora.gr/el/flowersSearch.aspx>

<http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/>