

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

***Απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών με  
αντιμικροβιακή δράση από θαλάσσιους οργανισμούς  
προερχόμενους από μεγάλα βάθη***

**Σταμάτιος Περδικάρης**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΑΘΗΝΑ 2015**



## **ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

### **Βασίλειος Ρούσσης**

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ - Επιβλέπων

### **Ευσταθία Ιωάννου**

Λέκτορας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

### **Μαρία Ζερβού**

Ερευνήτρια, Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, ΕΙΕ

## **ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

### **Βασίλειος Ρούσσης**

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ - Επιβλέπων

### **Ευσταθία Ιωάννου**

Λέκτορας, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

### **Μαρία Ζερβού**

Ερευνήτρια, Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, ΕΙΕ

### **Σοφία Μητάκου**

Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

### **Όλγα Τζάκου**

Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

### **Μαρία Κουλάδη**

Αναπλ.Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

### **Πέτρος Ταραντίλης**

Αναπλ.Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά:

- τον Καθηγητή Ρούσση Βασίλειο για την επιλογή και ανάθεση του θέματος της διδακτορικής διατριβής, για την επίβλεψη και καθοδήγηση καθόλη τη διάρκεια αυτής.
- την Λέκτορα Ιωάννου Ευσταθία για την επίβλεψη και καθοδήγησή της, την διάθεση της να μου μεταφέρει τις γνώσεις της, την εμπειρία της και για την υπομονή της.
- τον εκλιπόντα Καθηγητή Βάγια Κωνσταντίνο για την καθοδήγησή του, τις πολύτιμες γνώσεις του και τον χρόνο του που πάντα ευγενικά διέθετε.
- την ερευνήτρια Ζερβού Μαρία για τις συμβουλές και υποδείξεις της κατά την εκπόνηση της διδακτορική διατριβής και την συγγραφή αυτής, καθώς και για την λήψη ορισμένων φασμάτων 2D-NMR.
- τα μέλη της επταμελούς επιτροπής Καθηγήτρια Τζάκου Όλγα και Αναπλ. Καθηγήτρια Κουλάδη Μαρία για την υποστήριξη τους, τις πολύτιμες συμβουλές τους και για τις υποδείξεις και διορθώσεις τους στο τελικό στάδιο της συγγραφής της διδακτορικής διατριβής.
- τα μέλη της επταμελούς επιτροπής Καθηγήτρια Μητάκου Σοφία και Αναπλ. Καθηγητή Ταραντίλη Πέτρο, που δέχτηκαν να αξιολογήσουν την παρούσα διατριβή, καθώς και για τις υποδείξεις και διορθώσεις τους στο τελικό στάδιο της συγγραφής της διδακτορικής διατριβής.
- την Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας για την οικονομική ενίσχυση μέσω του ερευνητικού έργου «Απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών με αντιμικροβιακή δράση από θαλάσσιους οργανισμούς προερχόμενους από μεγάλα βάθη» στα πλαίσια της Δράσης Ηράκλειτος II του προγράμματος ΕΣΠΑ 2007-2013, καθώς και τον Επιστημονικό Υπεύθυνο του έργου Καθηγητή Ρούσση Βασίλειο για την υποβολή της πρότασης και διαχείριση του έργου.
- τον Διευθυντή Ερευνών Ευάγγελο Παπαθανασίου, Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών για την συλλογή ορισμένων οργανισμών από μεγάλα βάθη.
- τον Δρ Κωνσταντίνο Τσιάμη, Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας, Ελληνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών για τον προσδιορισμό των φυκών.
- τον Καθηγητή Simon Gibbons, Dept of Pharmacy, University College London για την αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης των μεταβολιτών.

- τον καθηγητή Βαλαβανίδη Αθανάσιο για τις πολύτιμες συμβουλές του, την συμπαράστασή του και τη φιλία του.
- εκείνους τους καθηγητές και δασκάλους από όλες τις βαθμίδες της εκπαίδευσης, που χωρίς τη δική τους συνδρομή δε θα είχα αποκτήσει τις γνώσεις και κυρίως την θέληση να φτάσω στο σημείο που βρίσκομαι.
- τους φίλους μου από τον τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων για το υπέροχο κλίμα, για την συνεργασία και τις όμορφες στιγμές που ζήσαμε όλο αυτό το διάστημα.
- τους φίλους μου και την οικογένεια μου για όλα όσα μου προσέφεραν και συνεχίζουν να μου προσφέρουν.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	v
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	viii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	xii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	xiv
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> : ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	xvi
Εισαγωγή.....	17
Η Σημασία των φυσικών προϊόντων.....	18
Τα φυσικά προϊόντα τη σύγχρονη εποχή .....	20
Φυσικά προϊόντα από θαλάσσιους οργανισμούς.....	21
Φυσικά προϊόντα θαλασσίων οργανισμών από μεγάλα βάθη.....	22
Θαλάσσια φυσικά προϊόντα με φαρμακευτική δράση.....	25
Φάρμακα που ήδη κυκλοφορούν στο εμπόριο.....	27
Μόρια σε III φάση κλινικών δοκιμών .....	27
Μόρια σε II φάση κλινικών δοκιμών .....	28
Μόρια σε I φάση κλινικών δοκιμών .....	30
Άλλες χρήσεις θαλάσσιων φυσικών προϊόντων.....	32
Αντιμετώπιση βιοεπίστρωσης .....	32
Ως χρωστικές.....	33
Στην κοσμητολογία .....	33
Δευτερογενείς μεταβολίτες οργανισμών από μεγάλα βάθη .....	35
Κνιδάρια.....	35
Εχινόδερμα .....	36
Μικροοργανισμοί .....	36
Σπόγγοι.....	37
Τα φύκη.....	39
Το γένος <i>Laurencia</i> .....	41
Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους <i>Laurencia</i> .....	42
Το γένος <i>Vidalia</i> .....	48
Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους <i>Vidalia</i> .....	48
Σπόγγοι (Πορίφερα).....	49



Το γένος <i>Ciocalypta</i> .....	49
Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους <i>Ciocalypta</i> sp.....	50
Το γένος <i>Aplysina</i> .....	50
Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους <i>Aplysina</i> .....	51
Κοράλια.....	51
Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους <i>Paramuricea</i> .....	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	54
Γενικές πληροφορίες .....	55
Οργανολογία και λοιπές πληροφορίες.....	55
Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια.....	56
Συλλογή των οργανισμών.....	57
Πορεία διαχωρισμών – <i>Laurencia microcladia</i> .....	59
Πορεία διαχωρισμών – <i>Laurencia obtusa</i> . .....	73
Πορεία διαχωρισμών – <i>Paramuricea clavata</i> .....	97
Πορεία διαχωρισμών – <i>Ciocalypta</i> sp.....	100
Πορεία διαχωρισμών – <i>Aplysina cavernicola</i> .....	101
Πορεία διαχωρισμών – <i>Vidalia volubilis</i> .....	105
Πορεία διαχωρισμών – Επισκόπηση .....	107
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> : ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	109
Μεταβολίτης 1.....	110
Μεταβολίτης 2.....	113
Μεταβολίτης 3.....	115
Μεταβολίτης 4.....	117
Μεταβολίτης 5.....	119
Μεταβολίτης 6.....	124
Μεταβολίτης 7.....	128
Μεταβολίτης 8.....	131
Μεταβολίτης 9.....	133
Μεταβολίτης 10.....	135
Μεταβολίτης 11.....	138
Μεταβολίτης 12.....	141
Μεταβολίτης 13.....	144
Μεταβολίτης 14.....	147
Μεταβολίτης 15.....	154

Μεταβολίτης 16 .....	160
Μεταβολίτης 17 .....	168
Μεταβολίτης 18 .....	174
Μεταβολίτης 19 .....	182
Μεταβολίτης 20 .....	188
Μεταβολίτης 21 .....	196
Μεταβολίτης 22 .....	203
Μεταβολίτης 23 .....	206
Μεταβολίτης 24 .....	209
Μεταβολίτης 25 .....	211
Μεταβολίτης 26 .....	213
Μεταβολίτης 27 .....	215
Μεταβολίτης 28 .....	217
Μεταβολίτης 29 .....	219
Μεταβολίτης 30 .....	222
Μεταβολίτης 31 .....	224
Μεταβολίτης 32 .....	226
Μεταβολίτης 33 .....	229
Μεταβολίτης 34 .....	231
Μεταβολίτης 35 .....	233
Μεταβολίτης 36 .....	236
Μεταβολίτης 37 .....	239
Μεταβολίτης 38 .....	241
Μεταβολίτης 39 .....	244
Μεταβολίτης 40 .....	246
Μεταβολίτης 41 .....	248
Μεταβολίτης 42 .....	255
Μεταβολίτης 43 .....	260
Μεταβολίτης 44 .....	267
Μεταβολίτης 45 .....	269
Μεταβολίτης 46 .....	271
Μεταβολίτης 47 .....	273
Μεταβολίτης 48 .....	275
Μεταβολίτης 49 .....	277

Μεταβολίτης 50 .....	279
Μεταβολίτης 51 .....	282
Μεταβολίτης 52 .....	285
Μεταβολίτης 53 .....	292
Μεταβολίτης 54 .....	299
Μεταβολίτης 55 .....	306
Μεταβολίτης 56 .....	313
Μεταβολίτης 57 .....	320
Μεταβολίτης 58 .....	323
Μεταβολίτης 59 .....	326
Μεταβολίτης 60 .....	329
Μεταβολίτης 61 .....	338
Μεταβολίτης 62 .....	341
Μεταβολίτης 63 .....	344
Μεταβολίτης 64 .....	349
Μεταβολίτης 65 .....	353
Μεταβολίτης 66 .....	356
Μεταβολίτης 67 .....	359
Μεταβολίτης 68 .....	362
Μεταβολίτης 69 .....	365
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 <sup>ο</sup> : ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	368
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 <sup>ο</sup> : ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	383

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

<b>1D-NMR</b>	πείραμα NMR μίας διάστασης
<b>2D-NMR</b>	πείραμα NMR δύο διαστάσεων
<b><sup>1</sup>H NMR</b>	1D-NMR πείραμα πυρήνων υδρογόνου (πρωτονίου)
<b><sup>13</sup>C NMR</b>	1D-NMR πείραμα πυρήνων άνθρακα, με ευρεία ετεροπυρηνική αποσύζευξη (proton-noise decoupled)
<b>[α]<sub>D</sub></b>	ειδική στροφική ικανότητα
<b>Ac</b>	ακετύλιο
<b>Br</b>	broad, ευρεία (NMR)
<b>C<sub>6</sub>D<sub>6</sub></b>	δευτεριωμένο βενζόλιο
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	δευτεριωμένο χλωροφόρμιο
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b>	διχλωρομεθάνιο
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	χλωροφόρμιο
<b>COSY</b>	2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H για <sup>2</sup> J και <sup>3</sup> J ( <b>Correlated Spectroscopy</b> )
<b>Δ</b>	χημική μετατόπιση της απορρόφησης ενός πυρήνα σε σχέση με το τετραμεθυλοσιλάνιο (σε ppm) (NMR)
<b>D</b>	doublet, διπλή (NMR)
<b>EIMS</b>	φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων ( <b>Electron Impact Mass Spectrometry</b> )
<b>EtOAc</b>	οξικός αιθυλεστέρας
<b>FABMS</b>	φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με ταχέως κινούμενα άτομα ( <b>Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry</b> )
<b>cHex</b>	κυκλοεξάνιο
<b>n-Hex</b>	κανονικό εξάνιο
<b>HMBC</b>	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C για <sup>2</sup> J και <sup>3</sup> J ( <b>Heteronuclear Multiple-Bond Correlation</b> )
<b>HPLC</b>	υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ( <b>High Performance Liquid Chromatography</b> )
<b>HRMS</b>	φασματομετρία μάζας υψηλής ευκρίνειας ( <b>High Resolution Mass Spectrometry</b> )
<b>HSQC</b>	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C για <sup>1</sup> J ( <b>Heteronuclear Single Quantum Coherence</b> )
<b>GC</b>	αέριος χρωματογραφία ( <b>Gas Chromatography</b> )
<b>GC-MS</b>	αέριος χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας ( <b>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</b> )
<b>IR</b>	φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας ( <b>Infrared Radiation</b> )
<b>J</b>	σταθερά σύζευξης (σε Hz) (NMR)

<b>M</b>	multiplet, πολλαπλή (NMR)
<b>Me</b>	μεθύλιο
<b>MeOH</b>	μεθανόλη
<b>MeOH-<i>d</i><sub>4</sub></b>	δευτεριωμένη μεθανόλη
<b>MS</b>	φασματομετρία μάζας ( <b>M</b> ass <b>S</b> pectrometry)
<b><i>m/z</i></b>	λόγος μάζας προς φορτίο
<b>NMR</b>	φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ( <b>N</b> uclear <b>M</b> agnetic <b>R</b> esonance)
<b>NOE, nOe</b>	<b>N</b> uclear <b>O</b> verhauser <b>E</b> ffect
<b>NOESY</b>	2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H στο χώρο ( <b>N</b> uclear <b>O</b> verhauser <b>E</b> ffect <b>S</b> pectroscop <b>Y</b> )
<b><i>i</i>-Prop</b>	ισοπροπανόλη (2-προπανόλη)
<b>RI</b>	δείκτης διάθλασης ( <b>R</b> efractive <b>I</b> ndex)
<b>Q</b>	quaternary, τετραπλή (NMR)
<b>S</b>	singlet, απλή (NMR)
<b>T</b>	triplet, τριπλή (NMR)
<b>TLC</b>	χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας ( <b>T</b> hin <b>L</b> ayer <b>C</b> hromatography)
<b><i>t</i><sub>R</sub></b>	χρόνος ανάσχεσης (retention time)
<b>UV</b>	φασματοσκοπία υπεριώδους ακτινοβολίας ( <b>U</b> ltra <b>V</b> iolet)
<b>VCC</b>	<b>V</b> acuum <b>L</b> iquid <b>C</b> hromatography

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι θαλάσσιοι οργανισμοί αποτελούν μία ανεξάντλητη πηγή δευτερογενών μεταβολιτών με ιδιαίτερες χημικές δομές και ενδιαφέροντες οικολογικούς ρόλους, οι οποίοι παράλληλα παρουσιάζουν ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων συχνά μέσω εξειδικευμένων μηχανισμών. Μέχρι σήμερα, αρκετά μόρια προερχόμενα από θαλάσσιους οργανισμούς αποτελούν τη δραστική ουσία φαρμακευτικών σκευασμάτων, ενώ πολλά ακόμη βρίσκονται σε διάφορα στάδια προκλινικών και κλινικών δοκιμών. Πέρα από το φαρμακολογικό ενδιαφέρον, τα θαλάσσια φυσικά προϊόντα βρίσκουν εφαρμογή και σε άλλα πεδία, όπως στην τεχνολογία υλικών, στην κοσμητολογία, αλλά και στην αντιμετώπιση της βιοεπίστρωσης.

Το θαλάσσιο περιβάλλον αποτελεί ένα πολύπλοκο οικοσύστημα, το οποίο στο μεγαλύτερο μέρος του δεν έχει εξερευνηθεί, ειδικά οι περιοχές και οι οργανισμοί που αναπτύσσονται σε μεγάλα βάθη, καθώς μόλις τις τελευταίες δεκαετίες υλοποιήθηκαν τα τεχνολογικά επιτεύγματα που επιτρέπουν την ασφαλή πρόσβαση σε αντίστοιχες απαιτητικές συνθήκες.

Αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη της χημικής σύστασης θαλάσσιων οργανισμών από μεγάλα βάθη με σκοπό την απομόνωση και ταυτοποίηση νέων φυσικών προϊόντων, ώστε στην συνέχεια να υποβληθούν σε αξιολόγηση της βιοδραστικότητας τους.

Ποσότητες από έξι θαλάσσιους οργανισμούς συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές των Ελληνικών θαλασσών, εκχυλίστηκαν εξαντλητικά και υποβλήθηκαν σε σειρά χρωματογραφικών διαχωρισμών με σκοπό την απομόνωση των δευτερογενών μεταβολιτών τους. Η ταυτοποίηση της δομής τους βασίστηκε στην ανάλυση των φασματοσκοπικών τους δεδομένων (NMR, MS, IR, UV). Συνολικά, απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν 69 δευτερογενείς μεταβολίτες, εκ των οποίων οι 18 αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα.

Από τον σπόγγο *Ciocalypta* sp. που συλλέχθηκε από τη θαλάσσια περιοχή της Σαντορίνης με βαθυσκάφος σε βάθος 230 m απομονώθηκε ένας σπάνιος δευτερογενής μεταβολίτης στεροειδούς δομής που φέρει τρεις θεϊκές ομάδες.

Από τον σπόγγο *Aplysina cavernicola* που συλλέχθηκε από την περιοχή της Κυλλήνης σε βάθος 100-120 m απομονώθηκαν τα διτερπένια *trans*-κομμουνικό οξύ, δεϋδροαβιετικό οξύ και ισοπιμαρικό οξύ, τα οποία αναφέρονται πρώτη φορά ως συστατικά θαλάσσιων οργανισμών.

Από το μαλακό κοράλλι *Paramuricea clavata* που συλλέχθηκε από τη θαλάσσια περιοχή της Σάμου σε βάθος 80-100 m απομονώθηκαν τρεις δευτερογενείς μεταβολίτες, και συγκεκριμένα ένα

αζουλένιο και το διμερές του, που αποτελεί νέο φυσικό προϊόν, καθώς και το γνωστό στεροειδές χολεστ-5-εν-3β-19-διόλη.

Από το ροδοφύκος *Vidalia volubilis* που συλλέχθηκε από τον Κορινθιακό κόλπο στην περιοχή του Πόρτο Γερμενό σε βάθος 25-40 m απομονώθηκαν τα γνωστά στεροειδή 24(28)-μεθυλενο-χοληστερόλη και χοληστερόλη.

Από το ροδοφύκος *Laurencia microcladia* που συλλέχθηκε με αυτόνομη κατάδυση (SCUBA) στην Ζάκυνθο (10-15 m) απομονώθηκαν 25 δευτερογενείς μεταβολίτες. Οι δεκατέσσερις εξ αυτών ταυτοποιήθηκαν ως C<sub>15</sub> ακετογενίνες, εκ των οποίων οκτώ αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα με σκελετό λαουρενανίου. Οι πέντε ταυτοποιήθηκαν ως γνωστές C<sub>15</sub> ακετογενίνες με σκελετό λαουρενανίου, ενώ μία ταυτοποιήθηκε ως γνωστή C<sub>15</sub> ακετογενίνη με σκελετό λαουθισανίου. Επιπρόσθετα, ταυτοποιήθηκαν επτά σεσκιτερπένια εκ των οποίων, τρία με σκελετό μπρασιλανίου, ένα με σκελετό πρεσιλπερφολιανίου, ένα με σκελετό κυκλοοκτενοειδούς ένα με σκελετό χουμουλενίου και ένα με σκελετό συνυδρανίου. Τέλος, ταυτοποιήθηκαν δύο διτερπένια σκελετού φυτανίου, μία αλογονωμένη αλειφατική αλδεΐδη και ένα απλό φαινολικό παράγωγο.

Από το ροδοφύκος *Laurencia obtusa* που συλλέχθηκε με αυτόνομη κατάδυση (SCUBA) στη Λευκάδα (10-20 m) απομονώθηκαν 35 δευτερογενείς μεταβολίτες. Οι δεκαπέντε εξ αυτών ταυτοποιήθηκαν ως σεσκιτερπένια, εκ των οποίων τρία αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα με σκελετό κουπαρενίου. Δύο μεταβολίτες ταυτοποιήθηκαν ως σεσκιτερπένια της ίδιας κατηγορίας, τέσσερις με σκελετού τσαμιγκρανίου, πέντε με σκελετό λαουρενίου και ένας ως αλογονωμένο σεσκιτερπένιο. Οι υπόλοιποι είκοσι δευτερογενείς μεταβολίτες ταυτοποιήθηκαν ως C<sub>15</sub> ακετογενίνες, εκ των οποίων έξι αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα με σκελετό ομππουσαλλενίου. Επτά μεταβολίτες ταυτοποιήθηκαν ως C<sub>15</sub> ακετογενίνες της ίδιας κατηγορίας, δύο ως γραμμικές C<sub>15</sub> ακετογενίνες, τέσσερις ως C<sub>15</sub> ακετογενίνες με οκταμελή αιθερικό δακτύλιο και μία με εννιαμελή.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## Εισαγωγή

Ο άνθρωπος από τη γέννηση του γίνεται δέκτης πληθώρας ερεθισμάτων. Αυτά τα ερεθίσματα καθορίζουν τους κανόνες αλληλεπίδρασης με το περιβάλλον του.

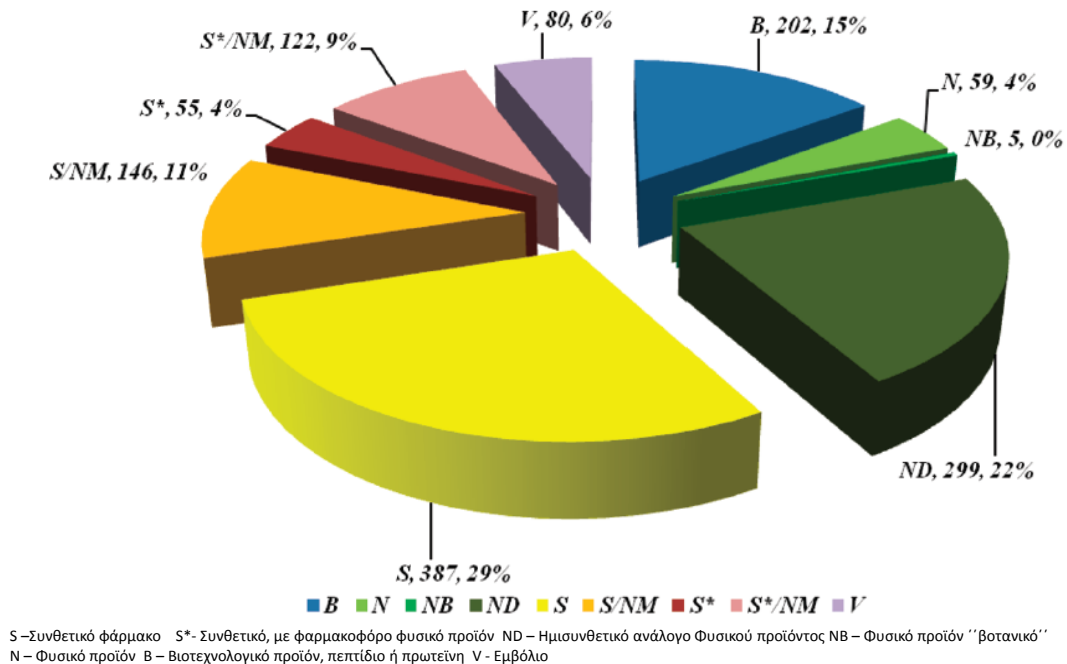
Κατά την ενηλικίωση ο ανθρώπινος εγκέφαλος έχει πια επεξεργαστεί και αφομοιώσει τις πληροφορίες από το μέχρι πρότινος ανεξήγητο περιβάλλον του και έχει διαμορφώσει την κρίση μέσω της οποίας “μιμείται” τα φυσικά φαινόμενα ή τα συνδυάζει με τέτοιο τρόπο, ώστε να διαμορφώσει το “τεχνητό” περιβάλλον. Ο διαχωρισμός τεχνητού και φυσικού περιβάλλοντος κινείται σε εύκαμπτα όρια καθώς οτιδήποτε τεχνητό είναι μια εφαρμογή των πληροφοριών, τις οποίες ο άνθρωπος έχει αντλήσει από τη μελέτη της φύσης.

Μέσω λογικής επεξεργασίας ο άνθρωπος εκτός από την παρατήρηση της φύσης ανέπτυξε τη δυνατότητα να επεμβαίνει στο φυσικό περιβάλλον και να το διαμορφώνει προς όφελος του, σε βαθμό που εξαρτάται από το επίπεδο του πολιτισμού που εντάσσεται. Στο σημερινό πολιτισμικό επίπεδο η ανθρώπινη επέμβαση είναι κάτι παραπάνω από εμφανής, αλλά οι συνέπειες αυτής σε σχέση με το επιθυμητό όφελος έχει αρχίσει να προβληματίζει.

Η πορεία που ακολουθεί κάθε άνθρωπος από τη γέννηση του και κατά την διάρκεια της ζωής του διαγράφεται κατά αναλογία και από τις ανθρώπινες κοινωνίες, οι οποίες και οι ίδιες αποτελούν πολύπλοκα και δυναμικά ζωντανά συστήματα. Στα πρώιμα στάδια οι κοινωνίες παρατηρούν με θαυμασμό και δέος τα φυσικά φαινόμενα, όπως τη βροχή, την περιοδικότητα της ημέρας ή των εποχών κτλ. Το απρόβλεπτο πολλών εξ αυτών των φαινομένων αλλά και η υπαρξιακή περιέργεια γέννησαν τις πρωτόγονες θρησκείες με σκοπό να εξευμενιστεί και να γίνει περισσότερο κατανοητό το θαυμαστό και το ανεξήγητο. Κατά την ωρίμανση τους οι κοινωνίες εξελίχθηκαν. Μέσω της μεταβίβασης των γνώσεων από γενιά σε γενιά από κοινωνίες απλών παρατηρητών μετεξελίχθηκαν σε κοινωνίες ερευνητών και πειραματιστών. Με αυτό τον τρόπο, οδεύσαμε σταδιακά από την εποχή της ανακάλυψης της φωτιάς (αντίδραση καύσης), στο παρόν, όπου παρατηρούμε και επεμβαίνουμε στο ανθρώπινο γονιδίωμα προβλέπουμε καιρικά φαινόμενα και συνθέτουμε ή απομονώνουμε χημικές δομές που ομοιάζουν ή είναι ίδιες με αντίστοιχες φυσικές, για την επίλυση καθημερινών αναγκών.

Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των κοινωνιών μετατράπηκε από βίωμα σε γνώση, το γεγονός ότι οτιδήποτε “φυσικό” δεν είναι απαραίτητα και ωφέλιμο για την ανάπτυξη των ανθρώπινων κοινωνιών. Τα φυσικά προϊόντα δεν είναι εξ ορισμού ωφέλιμα για την ανθρώπινη υγεία. Για παράδειγμα, ένα από τα ισχυρότερα δηλητήρια, η στρυχνίνη, αποτελεί φυσικό προϊόν που ανευρίσκεται στα σπέρματα του φυτού *Strychnos-nux-vomica* (Berger and Sicker, 2009). Παρόλα αυτά, ένα μεγάλο ποσοστό των εμπορικά

διαθέσιμων φαρμάκων προέρχεται άμεσα ή έμμεσα από φυσικά προϊόντα (Newman and Cragg, 2012).



Εικόνα 1 – Πηγές προέλευσης των εμπορικά διαθέσιμων φαρμάκων (Newman & Cragg, 2012).

## Η Σημασία των φυσικών προϊόντων

Ο 20<sup>ος</sup> αιώνας σηματοδεύτηκε από την ανακάλυψη της πενικιλίνης και την επακόλουθη εκρηκτική ανάπτυξη των αντιβιοτικών. Η δραστική αντιμετώπιση της θνησιμότητας που επέφερε η δράση τους οδήγησε πολλές φαρμακευτικές εταιρείες να εκτιμήσουν την αξία των φυσικών προϊόντων ως φαρμακευτικά μόρια και να αναπτύξουν διάφορα προγράμματα με σκοπό την διερεύνηση τους (Baker *et al.* 2007).

Αυτά τα προγράμματα οδήγησαν στην ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών μορίων, τα οποία παρουσίασαν δράση πέρα από τους αρχικούς στόχους, που συνήθως περιορίζονταν στην αντιμετώπιση των βακτηρίων, των μυκήτων καθώς και διαφόρων ιών. Έτσι, προέκυψαν φαρμακευτικά μόρια, τα οποία αντιμετώπισαν ασθένειες, όπως ο καρκίνος, η υπερχοληστεριναιμία κ.α. Τα φαρμακευτικά μόρια συνέδραμαν στην αύξηση του προσδόκιμου της ζωής των ανεπτυγμένων κοινωνιών με αποτέλεσμα να έρθουν στο προσκήνιο ασθένειες, οι οποίες δεν ήταν “εμφανείς” στο παρελθόν (όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η άνοια κ.α). Παράλληλα, τα αντιβιοτικά (ίσως και λόγω της αλόγιστης χρήσης τους) απώλεσαν εν μέρει την αποτελεσματική τους δράση, καθώς τα βακτήρια ανέπτυξαν σύντομα ανθεκτικότητα.

Όλα τα παραπάνω σε συνδυασμό με την επακόλουθη αύξηση του πληθυσμού κατέστησαν επιτακτική την ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών μορίων με αποτελεσματικότερη δράση.

Οι φαρμακευτικές βιομηχανίες που επωμίστηκαν αυτή την ευθύνη στο κατώφλι του 21<sup>ου</sup> αιώνα έπρεπε να λειτουργήσουν αποτελεσματικά, γρήγορα και ισορροπημένα σε σχέση με το οικονομικό κόστος και το συνεπακόλουθο ρίσκο που ενέχει η ανακάλυψη νέων φαρμακευτικών μορίων (Baras *et al.* 2012).

Μέσα σε αυτό το κλίμα ανάμεσα στο 1990 και στο 2000 το ενδιαφέρον των φαρμακευτικών εταιρειών μετατοπίστηκε σε μεγάλο βαθμό σε μία νέα μεθοδολογία, η οποία απέκλειε σε μεγάλο βαθμό την εξερεύνηση φαρμακευτικών μορίων από φυσικές πηγές. Οι φαρμακευτικές εταιρείες θεώρησαν ότι η εκμετάλλευση των φυσικών προϊόντων είναι ασύμφορη ως προς τον απαιτούμενο χρόνο και το οικονομικό κόστος. Υπολογίζεται ότι για την απομόνωση και ταυτοποίηση μίας δραστικής φαρμακολογικά ουσίας από φυσικές πηγές απαιτείται χρόνος περίπου 3 μηνών, καθώς και ένα κόστος περί τα 50000 US\$ (Cordell *et al.* 1999).

Την ίδια περίπου περίοδο είχε κάνει τα πρώτα του βήματα και ο κλάδος τη συνδυαστικής χημείας (Combinatorial Chemistry). Η καινοτομία της περιελάμβανε την δημιουργία βιβλιοθηκών συνθετικών οργανικών μορίων (σε μεγάλο αριθμό, ποικιλία, ταχύτητα σύνθεσης), τα οποία θα δοκιμάζονταν σχεδόν αυτοματοποιημένα ως προς την βιοδραστικότητα τους (HTS- High throughput screening). Τα ανωτέρω θα επιτυγχάνονταν με μικρότερο κόστος, καθώς θα είχαν παρακαμφθεί τα επίπονα στάδια της συλλογής των φυσικών οργανισμών και των διαχωρισμών για την απομόνωση καθαρών ουσιών (Ojima, 2008).

Μέσα σε αυτό το πλαίσιο κάποιες μεγάλες φαρμακευτικές εταιρείες μείωσαν την ενασχόληση τους με τα φυσικά προϊόντα μερικώς ή ολοσχερώς (Luzhetskyy *et al.* 2007). Η Eli Lilly μετέφερε τα δεδομένα, καθώς και τις βιβλιοθήκες φυσικών προϊόντων στην εταιρεία Albany Molecular Research με την οποία διατηρεί συνεργασία. Από την άλλη μεριά οι εταιρείες Bayer, Merck και Wyeth συνέχισαν να υποστηρίζουν προγράμματα μελέτης φυσικών προϊόντων, αλλά με βελτιωμένες και ταχύτερες μεθόδους.

Συνολικά, η επανάσταση της συνδυαστικής χημείας δεν έφερε τα αναμενόμενα αποτελέσματα στις φαρμακευτικές εταιρείες, οι οποίες σήμερα προσπαθούν να συνδυάσουν τη συνδυαστική χημεία με προγράμματα μελέτης των φυσικών προϊόντων. Αυτά τα προγράμματα αναπτύσσονται πια σε συνεργασία με ακαδημαϊκά ιδρύματα, καθώς και με μικρότερες εταιρείες που έχουν αναλάβει τα αρχικά στάδια των μελετών (Pharmamar, Mera Pharmaceuticals, Cerylid κλπ) (Rouhi, 2008).

## Τα φυσικά προϊόντα τη σύγχρονη εποχή

Τα τελευταία χρόνια, η απομόνωση και ταυτοποίηση νέων φυσικών προϊόντων καθίσταται δυσκολότερη υπόθεση. Μετά το 1970, ανακαλύφθηκαν χιλιάδες νέες δομές με ταχύτατο ρυθμό. Παρά το γεγονός ότι οι φυσικοί οργανισμοί παραμένουν ανεξάντλητοι, η απομόνωση νέων δομών φθίνει με σταθερό ρυθμό στο πέρασμα του χρόνου, καθώς μεγάλο μέρος των ενώσεων που απομονώνονται και ταυτοποιούνται έχουν ήδη μελετηθεί.

Για να μπορέσουν τα φυσικά προϊόντα να σταθούν στο απαιτητικό σύγχρονο περιβάλλον είναι απαραίτητο να εφαρμοσθούν νέες διαδικασίες, οι οποίες θα υποδεικνύουν –με σχετική ασφάλεια- από το στάδιο της μελέτης του αρχικού εκχυλίσματος, αν ένας οργανισμός αξίζει να μελετηθεί περισσότερο. Αυτό το είδος των μεθόδων ονομάζεται ταχεία αναγνώριση γνωστών μεταβολιτών (Derelplcation) και εξειδικεύεται σε διάφορες στρατηγικές όπως:

- **Μελέτη βάσεων δεδομένων:** Με την ανάπτυξη της τεχνολογίας προέκυψε η δυνατότητα να ψηφιοποιηθούν και να καταχωρηθούν μία ποικιλία οργανισμών, καθώς και των δευτερογενών τους μεταβολιτών σε βάσεις δεδομένων. Αυτή η κατηγοριοποίηση αποτελεί βασικό εργαλείο στην επιλογή οργανισμού σύμφωνα με τα αποτελέσματα που παρέχει η σύγκριση των δεδομένων με τα ήδη υπάρχοντα.
- **Σύζευξη κλασικών τεχνικών:** Οι τεχνικές απομόνωσης και ταυτοποίησης δευτερογενών μεταβολιτών με την πάροδο του χρόνου εξελίσσονται και βελτιώνονται. Τον τελευταίο καιρό μελετώνται εκτενώς οι δυνατότητες που προσφέρει η σύζευξη των κλασικών τεχνικών. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, καθώς με τις συζευγμένες χρωματογραφικές και φασματοσκοπικές τεχνικές (HPLC-NMR-MS/HPLC-NMR) μπορεί να εκτιμηθεί η αξία των ακατέργαστων εκχυλισμάτων σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα (Urban *et al.* 2005).
- **Μεταβολομική:** Η μεταβολομική αποτελεί μία μέθοδο, η οποία έχει ως βάση της την ολιστική θεώρηση ενός συστήματος. Στο χώρο των φυσικών προϊόντων ένα εκχύλισμα μελετάται ως ολότητα και η μεταβολομική συνδυάζει μία ποικιλία πεδίων (σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές, βιοπληροφορική με χρήση αλγορίθμων, βιοχημεία κ.α) ώστε να μελετηθεί το σύνολο των αλληλεπιδράσεων του πολύπλοκου αυτού συστήματος. Τελικός σκοπός είναι μέσα από τις πληροφορίες που παρέχει το σύνολο του εκχυλίσματος, να αντληθούν πληροφορίες για την ποιοτική, αλλά και τη ποσοτική του σύσταση (Rochfort *et al.* 2005).

## Φυσικά προϊόντα από θαλάσσιους οργανισμούς

Η προσπάθεια διερεύνησης των φυσικών προϊόντων ξεκίνησε από το χερσαίο περιβάλλον. Το χερσαίο περιβάλλον αποτελεί τον φυσικό χώρο του ανθρώπου και το μεγαλύτερο μέρος του είναι εύκολα προσβάσιμο με τον υπάρχοντα τεχνολογικό εξοπλισμό. Το χερσαίο περιβάλλον ερευνάται εντατικά και έχει προσφέρει και αναμένεται να προσφέρει ακόμη περισσότερο στην δεξαμενή των φυσικών προϊόντων. Μέχρι σήμερα το μεγαλύτερο ποσοστό των φαρμάκων που προέρχονται από φυσικές πηγές είναι από προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού χερσαίων οργανισμών.

Το θαλάσσιο περιβάλλον αποτελεί το 70% της επιφάνειας του πλανήτη μας, εντός του οποίου έχουν εξελιχθεί εκατομμύρια οργανισμοί που έχουν βιοσυνθέσει μία τεράστια ποικιλία δευτερογενών μεταβολιτών. Ο μεγάλος πλούτος φυσικών προϊόντων που κρύβεται στη θάλασσα σε μεγάλο ποσοστό (αν εξαιρέσουμε τα ρηγά νερά) είναι δυσπρόσιτος για τον άνθρωπο. Σήμερα γνωρίζουμε την ύπαρξη περίπου 250.000 θαλασσιών ειδών, ενώ υπάρχουν εκτιμήσεις για την ύπαρξη περί του 1.000.000 μακροοργανισμών, καθώς και μερικών δεκάδων έως εκατοντάδων εκατομμυρίων ειδών μικροοργανισμών (Census of marine life).

Η εξερεύνηση του θαλάσσιου περιβάλλοντος έγινε εφικτή τα τελευταία 40 χρόνια μέσω των τεχνολογικών επιτευγμάτων στους τομείς που επιτρέπουν τη σχετικά ασφαλή πρόσβαση του ανθρώπου σε αυτό. Τα σημαντικότερα εξ αυτών είναι η ανάπτυξη των συσκευών αυτόνομης κατάδυσης (SCUBA - Self contained underwater breathing apparatus), η χρήση των επανδρωμένων βαθυσκάφων, καθώς και η πιο πρόσφατη των τηλεκατευθυνόμενων υποβρύχιων οχημάτων (ROV-Remotely Operated Vehicles).

Στο θαλάσσιο περιβάλλον αναπτύσσονται και εξελίσσονται οργανισμοί των οποίων οι αλληλεπιδράσεις διαμορφώνονται με διαφορετικό τρόπο σε σχέση με τις αντίστοιχες των χερσαίων οργανισμών. Ως αποτέλεσμα έχουν δημιουργηθεί νέες μεταβολικές πορείες, επομένως και δευτερογενείς μεταβολίτες με δομές διαφοροποιημένες ως προς τις αντίστοιχες του χερσαίου περιβάλλοντος, αλλά και με διαφορετικούς οικολογικούς ρόλους.

Η μελέτη των θαλάσσιων οργανισμών τα τελευταία χρόνια έχει δείξει πως οι θαλάσσιοι οργανισμοί είναι αποδοτικότεροι των χερσαίων ως προς την απομόνωση φυσικών προϊόντων με πρωτότυπη δομή (Kong *et al.* 2010).

Επιπρόσθετα οι δευτερογενείς μεταβολίτες από θαλάσσιους οργανισμούς εμφανίζονται φαρμακολογικά δραστικότεροι. Έρευνες του NCI (National Cancer Institute) παρουσιάζουν ότι σε προκλινικό στάδιο το 1% των δειγμάτων των θαλάσσιων οργανισμών εμφανίζουν αντιογκογόνο δράση σε σύγκριση με το 0.1% των χερσαίων οργανισμών (Munro *et al.* 1999).

Αξιοσημείωτοι είναι και οι πρωτότυποι μηχανισμοί φαρμακολογικής δράσης των θαλάσσιων φυσικών προϊόντων. Ένα παράδειγμα αποτελεί το Prialt (Ziconotide), το οποίο είναι 1.000 φορές πιο δραστικό από την μορφίνη και φαίνεται πως η δράση του σχετίζεται με τους τασεοεξαρτώμενους N-διαύλους  $Ca^{2+}$ .

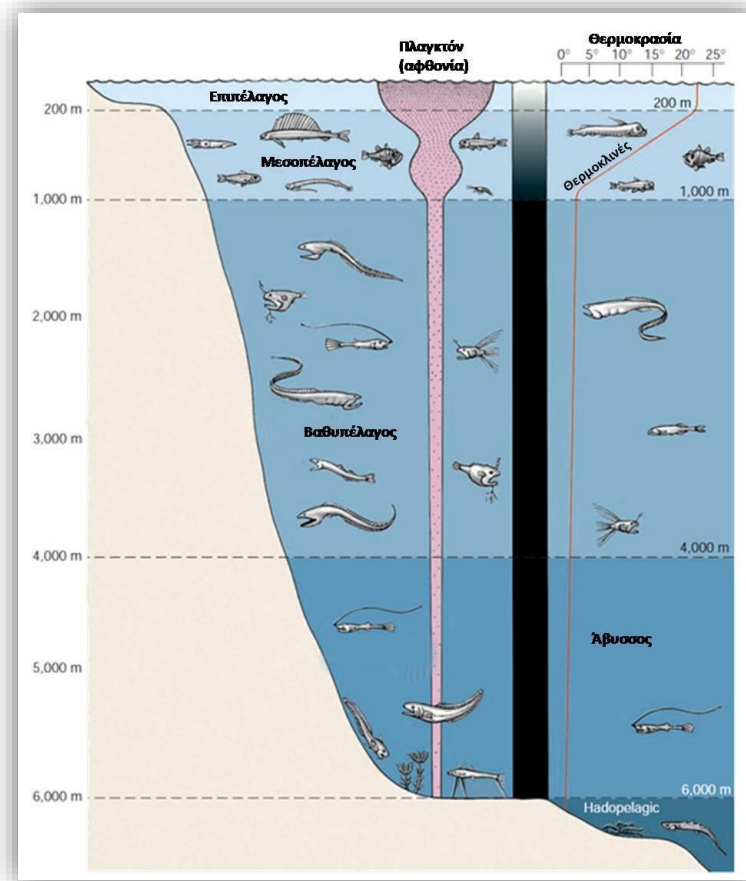
Η μελέτη των φυσικών προϊόντων από θαλάσσιους οργανισμούς, αποτελεί ένα σχετικά νέο ερευνητικό τομέα, ο οποίος χαρακτηρίζεται από εγγενείς δυσκολίες. Αρχίζοντας με την "επίπονη" δειγματοληψία, οι συνήθεις τεχνικές απομόνωσης καταλήγουν στην απομόνωση νέων φυσικών προϊόντων σε μικρές ποσότητες (πολλές φορές <1mg). Αν ένας δευτερογενής μεταβολίτης απομονωθεί ταυτοποιηθεί και κριθεί αξιόλογος θα πρέπει να εξασφαλιστεί όσο το δυνατόν η διαθεσιμότητά του. Αυτό επιχειρείται μέσω διάφορων μεθοδολογιών όπως της ολικής σύνθεσης του δραστικού μορίου, της υδατοκαλλιέργειας του παραγωγού οργανισμού και της βιοτεχνολογικής παραγωγής της δραστικής ουσίας.

Για την ταυτοποίηση των δευτερογενών μεταβολιτών καίρια είναι η ανάπτυξη της οργανολογίας του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) (Breton and Reynolds, 2013). Βασικό μειονέκτημα αποτελεί η χαμηλή του ευαισθησία σε σχέση με άλλες μεθόδους όπως η φασματομετρία μάζας. Όμως οι τελευταίες εξελίξεις στον τομέα της τεχνολογίας του NMR έχουν οδηγήσει στην δυνατότητα ταυτοποίησης μεταβολιτών σε επίπεδο n-mole ή ακόμη και p-mole (Molinski, 2010).

Άλλες μέθοδοι ανάλυσης όπως ο κυκλικός διχρωϊσμός, η φασματομετρία μάζας, η κρυσταλλογραφία ακτίνων-X, αλλά και η συνεχής πρόοδος στην οργανική σύνθεση επιτρέπουν σήμερα υπό προϋποθέσεις την ταυτοποίηση φυσικών προϊόντων που απομονώνονται σε ελάχιστες ποσότητες.

## Φυσικά προϊόντα θαλασσιών οργανισμών από μεγάλα βάθη.

Η θάλασσα αποτελεί ένα πολύπλοκο οικοσύστημα. Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι το 95% των ωκεανών περιλαμβάνει βάθη μεγαλύτερα των 1.000 m συμπεραίνουμε ότι ένας μεγάλος αριθμός θαλάσσιων οργανισμών, άρα και πλούτος δευτερογενών μεταβολιτών παραμένει ακόμη ανεξερεύνητος. Οι ιδιαίτερες συνθήκες, οι οποίες χαρακτηρίζουν το θαλάσσιο περιβάλλον εντείνονται στα μεγάλα βάθη και συνοδεύονται από επιπρόσθετες ιδιαιτερότητες.



Εικόνα 2 – Κατανομή βιοποικιλότητας στο θαλάσσιο περιβάλλον.

Η έλλειψη φωτός που χαρακτηρίζει τα βαθιά ύδατα αποκλείει σε πολύ μεγάλο βαθμό το μηχανισμό της φωτοσύνθεσης, άρα και την διατήρηση της ζωής με αυτόν τον τρόπο. Επομένως, η διατροφή των οργανισμών είναι απόλυτα εξαρτώμενη από την οργανική ύλη που βυθίζεται από την επιφάνεια προς τα μεγάλα βάθη. Το μεγαλύτερο μέρος αυτής καταναλώνεται προτού προσεγγίσει τα μεγάλα βάθη. Ως αποτέλεσμα η διαθεσιμότητα τροφής βαίνει σαφώς μειούμενη με την αύξηση του βάθους με αποτέλεσμα να υπάρχουν 5-10 φορές λιγότεροι οργανισμοί σε βάθος 1.000 m σε σχέση με την επιφάνεια. Αυτή η μείωση της πληθυσμιακής πυκνότητας των οργανισμών όμως είναι αντιστρόφως ανάλογη της παρατηρούμενης βιοποικιλότητας. Η διαφοροποιημένη βιοποικιλότητα προκύπτει λόγω των ιδιαίτερων ωκεανογραφικών και περιβαλλοντικών συνθηκών που επικρατούν στα μεγάλα βάθη.

- Η πίεση αυξάνει περίπου κατά 1 atm ανά 10 m βάθους με αποτέλεσμα να προσεγγίζει ακόμη και τις 1000 atm στα μεγαλύτερα βάθη των τάφρων. Οι θαλάσσιοι οργανισμοί έχουν αναπτύξει βιοχημικούς μηχανισμούς για να επιβιώσουν σε αυτές τις πιέσεις.

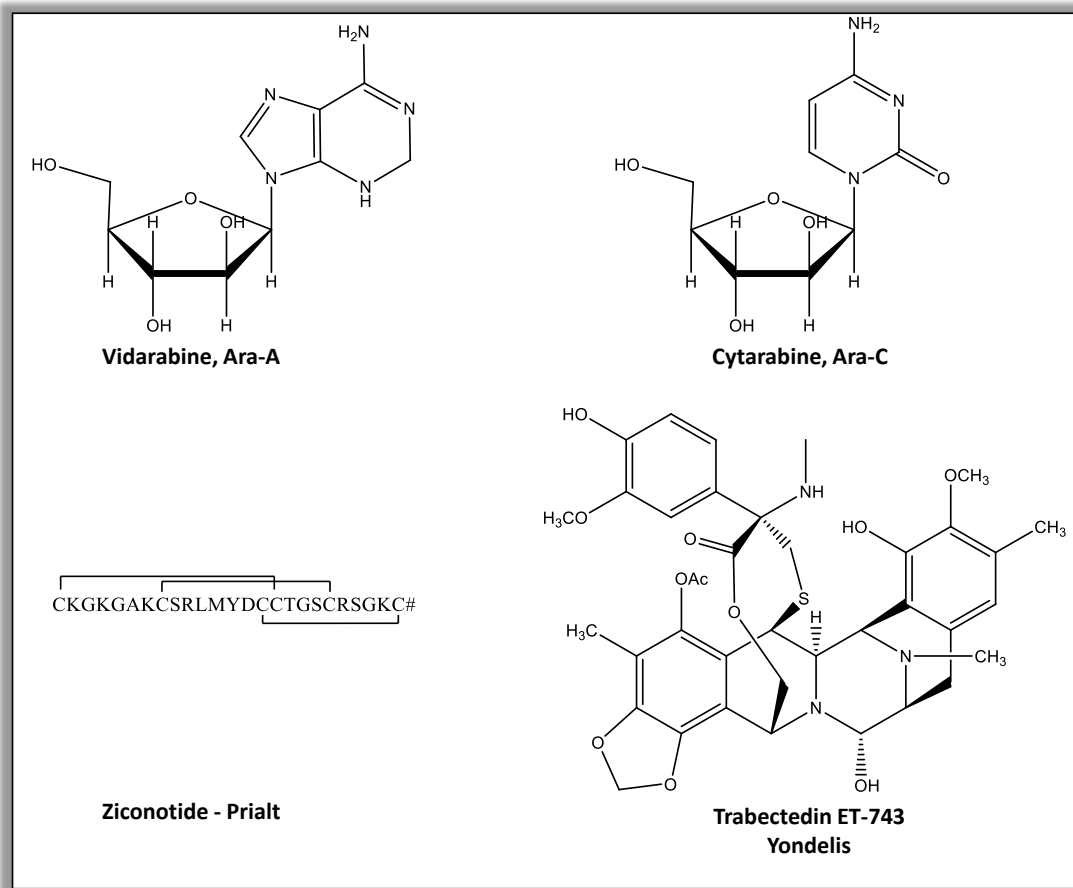
- Η θερμοκρασία μειώνεται με υψηλούς ρυθμούς σε αυξανόμενα βάθη με αποτέλεσμα να προσεγγίζει τους 2°C σε βάθη μεγαλύτερα των 2.000 m. Η μείωση της θερμοκρασίας προκαλεί επιβράδυνση των βιοχημικών αντιδράσεων των οργανισμών με αποτέλεσμα να απαιτείται ιδιαίτερη προσαρμογή των βιοχημικών μηχανισμών για την διατήρηση της απόδοσής τους.
- Η διαπερατότητα του φωτός μειώνεται εκθετικά με την αύξηση του βάθους. Σε βάθος μεγαλύτερο των 250 m δεν υπάρχει σχεδόν καθόλου φως. Σε αυτά τα βάθη οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει τέτοιους μηχανισμούς (chemoreception, mechanoreception) που καθιστούν την όραση ήσσονος σημασίας.
- Η οξύτητα των νερών στα μεγάλα βάθη βρίσκεται κοντά στο pH 8, ενώ η αλατότητα διατηρείται περί το 35‰ χωρίς ιδιαίτερες διακυμάνσεις.

Από τα περίπου 25.000 απομονωμένα θαλάσσια φυσικά προϊόντα μόλις το 2% προέρχεται από μεγάλα βάθη (Marinlit, 2014). Οι δευτερογενείς μεταβολίτες επικουρούν την προσαρμογή και την επιβίωση των οργανισμών στις ανωτέρω συνθήκες. Αυτό αντικατοπτρίζεται στην ποικιλία και στην ιδιαίτερη πρωτοτυπία των δομών τους, η οποία κεντρίζει την περιέργεια και επιπρόσθετα τροφοδοτεί ελπίδες για μια νέα "δεξαμενή" πρωτότυπων φαρμακευτικών μορίων.



## Θαλάσσια φυσικά προϊόντα με φαρμακευτική δράση

Η ιστορία των θαλάσσιων φυσικών προϊόντων με φαρμακευτική δράση ξεκινά το 1974. Τότε δύο θαλάσσια φυσικά προϊόντα, το cytarabine (Ara-C) και το vidarabine (Ara-A) (Newman *et al.* 2009) έλαβαν έγκριση προς εμπορική χρήση. Πέρασαν τριάντα χρόνια, μέχρι το 2004 όταν εγκρίθηκε το ziconotide (Prialt) ως αναλγητικό (για άλγος μέτριας έως ισχυρής εντάσεως) (Kerr and Yoshikami, 1984). Το 2007 έλαβε Ευρωπαϊκή έγκριση το Yondelis για τη θεραπεία του επιθηλιακού σαρκώματος και το 2009 για το καρκίνωμα των ωθηκών. Επιπρόσθετα, ένας μεγάλος αριθμός θαλάσσιων φυσικών προϊόντων με αξιόλογη προκλινική δράση, ελέγχονται σε κλινικές δοκιμές, δημιουργώντας προσδοκίες για την ανακάλυψη νέων αποτελεσματικών φαρμάκων (Πίνακας 1).



**Εικόνα 3** – Θαλάσσια φυσικά προϊόντα, τα οποία έχουν λάβει έγκριση προς εμπορική χρήση.

Πίνακας 1 - Θαλάσσια φυσικά προϊόντα με φαρμακευτική δράση.

Κλινική φάση	Χημική ένωση	Εμπορική ονομασία	Οργανισμός προέλευσης	Χημική κατηγορία	Θεραπευτικός τομέας
<b>Εγκεκριμένο</b>	Cytarabine, Ara-C	Cytosar-U	Σπόγγος	Νουκλεοζίτης	Καρκίνος
	Vidarabine, Ara-A	Vira-A	Σπόγγος	Νουκλεοζίτης	Ιός
	Ziconotide	Prialt	Γαστερόποδο	Πεπτίδιο	Άλγος
	Trabectedin (ET-743)	Yondelis	Ασκίδιο	Αλκαλοειδές	Καρκίνος
<b>Φάση III</b>	Eribulin Mesylate		Σπόγγος	Μακρολίδιο	Καρκίνος
	Soblitodin		Βακτήριο	Πεπτίδιο	Καρκίνος
	Plitidespin	Aplidin	Ασκίδιο	Δεψιπεπτίδιο	Καρκίνος
<b>Φάση II</b>	DMXBA (GTS-21)		Σκώληκας	Αλκαλοειδές	Σχιζοφρένεια
	Plinabulin (NPI-2358)		Μύκητας	Δικετοπιπεραζίνη	Καρκίνος
	Elisidepsin	Irvalec	Μαλάκιο	Δεψιπεπτίδιο	Καρκίνος
	PM1004	Zalypsis	Γυμνοβράγχιο	Αλκαλοειδές	Καρκίνος
	Tasidotin, Synthadotin (ILX-651)		Βακτήριο	Πεπτίδιο	Καρκίνος
	Pseudopterosins		Μαλακό κοράλλι	Διτερπενικός γλυκοσίδης	Επουλωτικό
<b>Φάση I</b>	Bryostatin I		Βρυόζωο	Πολυκετίδιο	Καρκίνος
	Hemiasterlin (E-7974)		Σπόγγος	Τριπεπτίδιο	Καρκίνος
	Marizomib Salinosporamide A, NPI-0052)		Βακτήριο	β-λακτόνη-γ-λακτάμη	Καρκίνος

## Φάρμακα που ήδη κυκλοφορούν στο εμπόριο

### **Cytarabine (Ara-C) - Κυταραβίνη**

Αποτελεί συνθετικό παράγωγο του πυριμιδινικού νουκλεοζίτη σπογγοθυμιδίνη, η οποία έχει απομονωθεί από το σπόγγο *Tethya crypta*. Δρα ως ειδικός αντιμεταβολίτης της S-φάσεως του κυτταρικού κύκλου με αποτέλεσμα την εμφάνιση αντικαρκινικής δράσης. Ο εικαζόμενος μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει την ενδοκυτταρική μετατροπή του προς το τριφωσφορικό του ανάλογο, παρεμποδίζοντας την σύνθεση του DNA στο κύτταρο (Newman *et al.* 2009).

### **Vidarabine (Ara-A) - Βιδαραβίνη**

Αποτελεί συνθετικό παράγωγο του πουρινικού νουκλεοζίτη σπογγοριδίνη, η οποία έχει απομονωθεί από τον σπόγγο *Tethya crypta*. Μετατρέπεται ταχύτατα στο τριφωσφορικό του ανάλογο, το οποίο αναστέλλει την DNA πολυμεράση ιών, καθώς και την σύνθεση DNA των ιών του έρπητος, της ευλογιάς και του έρπητος ζωστήρος (Newman *et al.* 2009).

### **Ziconotide - Ζικονοτίδιο**

Αποτελεί συνθετικό ανάλογο ενός φυσικού πεπτιδίου 25-αμινοξέων, της ω-conotoxin MVIIA, η οποία έχει απομονωθεί από το δηλητήριο του γαστερόποδου *Conus magus* (Kerr & Yoshikami, 1984). Παρουσιάζει ισχυρή αναλγητική δράση χωρίς να προκαλεί εθισμό, όπως τα οπιοειδή. Ο μηχανισμός δράσης του περιλαμβάνει την αναστολή των τασοεξαρτώμενων N-διαύλων ασβεστίου (Milijanich, 2004).

### **Trabectedin - Τραβεκτεδίνη**

Είναι αλκαλοειδές με τετραύδροϊσοιολινικό σκελετό, το οποίο παρασκευάζεται συνθετικά. Έχει απομονωθεί από το ασκίδιο *Ecteinascidia turbinata* (Rineheart *et al.* 1990) και έχει εντοπιστεί στην Καραϊβική και στη Μεσόγειο θάλασσα. Είναι το πρώτο φάρμακο, το οποίο εγκρίθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση έναντι του επιθηλιακού σαρκώματος (Verweiz, 2009). Η δράση της ελέγχεται κλινικά έναντι και άλλων βασικών τύπων καρκίνου.

## Μόρια σε III φάση κλινικών δοκιμών

### **Eribulin mesylate**

Αποτελεί ένα “απλουστευμένο” παράγωγο της χαλιχονδρίνης Β, ενός πολυαιθερικού μακρολιδίου, το οποίο έχει απομονωθεί από διάφορους σπόγγους (Jackson *et al.* 2009) και έχει παρουσιάσει προκλινικά αξιόλογη αντικαρκινική δράση σε πειραματόζωα (Fodstad & Breistol, 1996). Το



οι οποίοι εκφράζονται στα αστροκύτταρα του ΚΝΣ, καθώς και σε περιφερειακά μακρόφαγα (Kem *et al.* 2006). Οι κλινικές δοκιμές της φάσης I και II έχουν επιδείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως προς την γνωσιακή βελτίωση υγιών αλλά και σχιζοφρενών ατόμων.

### **Ελισιδεψίνη (Irvinec)**

Αποτελεί ένα φυσικό κυκλοπεπτίδιο το οποίο ανήκει στην οικογένεια των καχαλαλιδίων. Εμφανίζει άκρως ενθαρρυντική αντιογκογόνο δράση (Ling *et al.* 2009), η οποία επαληθεύει την ήδη γνωστή κυτταροτοξική δράση των προκλινικών δοκιμών. Ο μηχανισμός δράσης πιθανότατα σχετίζεται με ογκολυτικό παρά αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο.

### **PM00104 (Zalypsis)**

Αποτελεί αλκαλοειδές, το οποίο προσδένεται στη γουανίνη σε συγκεκριμένες τριπλέτες DNA, με αποτέλεσμα να επηρεάζει την S-φάση του κυτταρικού κύκλου και να προκαλεί κυτταρική απόπτωση (Leal *et al.* 2009). Οι προκλινικές δοκιμές επέδειξαν ισχυρή αντιογκογόνο δράση έναντι του καρκίνου του στήθους, του προστάτη και των νεφρών, καθώς και μέτρια δράση έναντι του καρκίνου του εντέρου. (Nicholson *et al.* 2006).

### **Πλιναμπουλίνη (NPI-2358)**

Αποτελεί συνθετικό ανάλογο του φυσικού προϊόντος χαλιμιδίου, το οποίο προέρχεται από τον θαλάσσιο μήκυτα *Aspergillus sp.* CNC-139 (που απομονώθηκε από το φύκος *Halimeda lacrimosa* που συλλέχθηκε στις Μπαχάμες). Αναστέλλει τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης, έχοντας ως αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση του αγγειακού ενδοθηλιακού δικτύου που τροφοδοτεί κάποιον όγκο. Επιπρόσθετα, εμφανίζει και άμεσα αποπτωτικά αποτελέσματα (Nicholson *et al.* 2006).

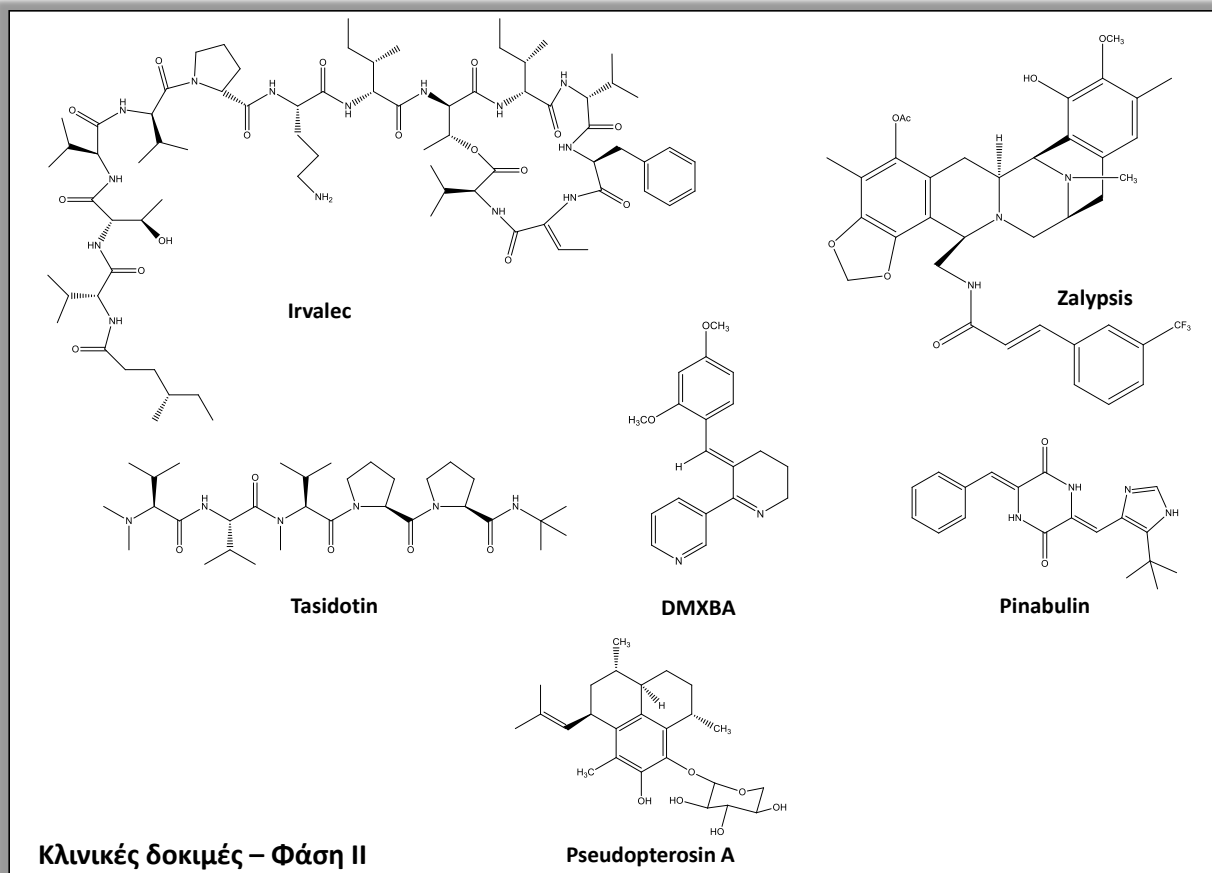
### **Τασιδοτίνη (ILX-651)**

Αποτελεί συνθετικό παράγωγο της δολαστατίνης-15. Ο μηχανισμός δράσης της σχετίζεται με τον πολυμερισμό της τουμπουλίνης αν και πρόσφατα έχουν προταθεί νέες μηχανιστικές υποθέσεις (Ray *et al.* 2007).

### **Ψευδοπτεροσίνες**

Αποτελούν μια ομάδα διτερπενικών γλυκοσιδών που απομονώθηκαν από το οκτωκοράλιο *Pseudopterogorgia elisabethae* (Roussis *et al.* 1990). Οι ψευδοπτεροσίνες A-D αποτελούν τα πρώτα απομονωμένα μέλη αυτής της ομάδας, η οποία πλέον αριθμεί 26 μέλη. Ένα απλό μέθυλο-αιθερικό παράγωγο της ψευδοπτεροσίνης A έχει εμφανίσει προκλινικά επιτάχυνση της επούλωσης πληγών,

καθώς και της ανάπτυξης του επιθηλίου πλεγών, γεγονός που επιβεβαιώνεται και στο δεύτερο στάδιο των κλινικών δοκιμών (Moutesinos *et al.* 1997).



Εικόνα 5 – Θαλάσσια φυσικά προϊόντα που βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές – Φάση II.

## Μόρια σε I φάση κλινικών δοκιμών

### Βρυσστατίνη I

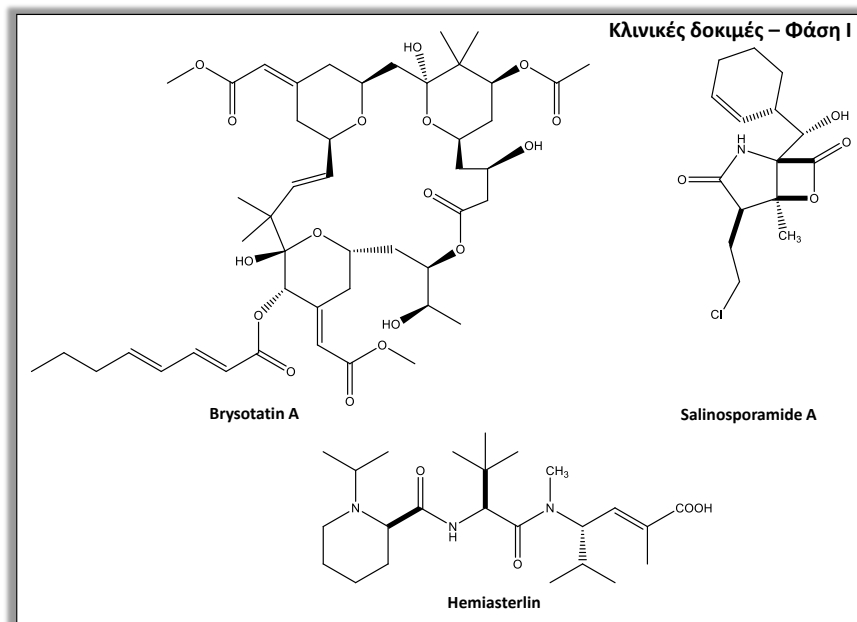
Είναι ένα μακρολίδιο, το οποίο απομονώθηκε από μία συλλογή 13 τόνων του βρυόζου *Bugula neritina*. Έως σήμερα έχει δοκιμαστεί σε περίπου 80 κλινικές δοκιμές, ως προς την αντικαρκινική της δράση. Το 2007 χρησιμοποιήθηκε σε τέσσερις κλινικές δοκιμές φάσης I και οκτώ φάσης II, σε συνδυασμό με άλλους βιολογικούς ή κυτταροτοξικούς παράγοντες έναντι διάφορων καρκινωμάτων. Σήμερα η βρυσστατίνη I βρίσκεται και σε κλινικές δοκιμές φάσης I, όπου εξετάζεται η φαρμακευτική της δράση κατά της νόσου Alzheimer.

**Ημιστερλίνη (E7974)**

Αποτελεί ένα κυτταροτοξικό τριπεπτίδιο, το οποίο έχει απομονωθεί από το σπόγγο *Hemisterella minor* (Talpir *et al.* 1994). Η αντιμυτωτική της δράση ρυθμίζεται μέσω του πολυμερισμού της τουμπουλίνης, ο οποίος οδηγεί σε απόπτωση των καρκινικών κυττάρων (Kuznetsov *et al.* 2009).

**Marizomib (NPI-0052, Σαλινοσποραμίδιο A)**

Αποτελεί φυσικό προϊόν, το οποίο απομονώθηκε από τον θαλάσσιο ακτινομύκητα *Salinispora tropica* (Feling *et al.* 2003). Παρουσιάζει εκλεκτική ανασταλτική δράση του πρωτεασώματος (proteasome), ενός πολυκαταλυτικού ενζυματικού συμπλέγματος, το οποίο αποτελεί στόχο για την αντιμετώπιση του καρκίνου (Chauhan *et al.* 2006). Αυτή η δράση συνδυαζόμενη με επιπλέον δεδομένα οδήγησαν τα σαλινοσποραμίδια σε κλινικές δοκιμές με ασθενείς που αντιμετώπιζαν πολλαπλά μυελώματα, λεμφώματα, λευχαιμεία και ανθεκτικούς όγκους.

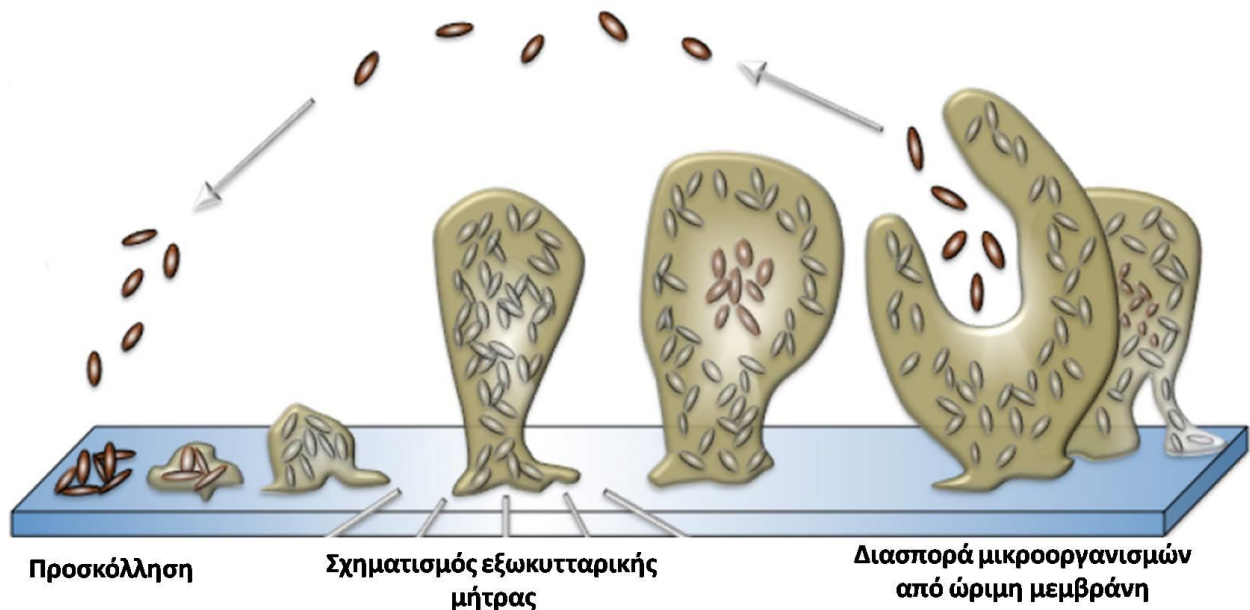


Εικόνα 6 - Θαλάσσια φυσικά προϊόντα που βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές – Φάση I.

## Άλλες χρήσεις θαλάσσιων φυσικών προϊόντων

### Αντιμετώπιση βιοεπίστρωσης

Ως βιοεπίστρωση ονομάζεται η εγκατάσταση μικροοργανισμών, φυκών και ζώων σε υγρές επιφάνειες (Stowe *et al.* 2011). Η βιοεπίστρωση αποτελεί ένα επιζήμιο και καταστροφικό φυσικό φαινόμενο, το οποίο επηρεάζει μια ποικιλία δραστηριοτήτων, όπως τη ναυσιπλοΐα και την ιατρική. Η γενεσιουργός αιτία του φαινομένου είναι η δημιουργία ενός βιοϋμένιου, το οποίο λειτουργεί ως συγκολλητική ύλη ανάμεσα σε διάφορα είδη οργανισμών και σε υγρές επιφάνειες. Τα βιοϋμένια σχηματίζονται από μια ποικιλία μικροοργανισμών (κυρίως από μικροαποικίες βακτηρίων), τα οποία προσκολλούνται σε επιφάνειες και εν συνεχεία αυτοπροστατεύονται με τη δημιουργία μιας εξωτερικής μήτρας. Αυτή αποτελείται από πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα (Stoodley *et al.*, 2002).



Εικόνα 7 – Τα στάδια του φαινομένου της βιοεπίστρωσης.

Με αυτό τον τρόπο τα βακτήρια έχουν τη δυνατότητα να διεισδύουν και να αναπτύσσονται σε διάφορα είδη περιβαλλοντικών κοιλοτήτων. Εξάιρεση δεν αποτελούν οι κοιλότητες του ανθρώπινου οργανισμού. Σύμφωνα με τον NIH (National Institute of Health) οι μικροβιακές μολύνσεις αυτού του τύπου συνιστούν περίπου το 80% των μολύνσεων στον ανθρώπινο οργανισμό (Davies, 2003).

Οι ανθεκτικές βακτηριακές αποικίες δημιουργούν μεγάλα προβλήματα στην ανθρώπινη υγεία, καθώς σε αυτές οφείλεται η πλειοψηφία των νοσοκομειακών λοιμώξεων. Ίσως οι δυσχερέστερες περιπτώσεις μολύνσεων συμβαίνουν όταν ένας ασθενής γίνεται δέκτης μίας μολυσμένης συσκευής, όπως είναι ο καθετήρας. Επιπρόσθετα, επιβλαβή φαινόμενα βιοεπίστρωσης παρατηρούνται σε φακούς



επαφής, ενδοτραχειακούς σωλήνες, τεχνητούς συνδέσμους, καθώς και σε τεχνητές καρδιακές βαλβίδες (Donlan, 2001).

Εκτός από τους τομείς της ανθρώπινης υγείας το φαινόμενο της βιοεπίστρωσης δημιουργεί προβλήματα στις ναυσιπλοϊκές δραστηριότητες. Η βιοεπίστρωση λαμβάνει χώρα στις επιφάνειες των πλοίων και δυσχεραίνει την υδροδυναμική τους αυξάνοντας το κόστος της κίνησης τους. Εκτός τούτου, σε βάθος χρόνου επιταχύνει την διάβρωση των μεταλλικών επιφανειών, αυξάνοντας το κόστος επισκευής και συντήρησης (Chambers *et al.* 2006).

Στην προσπάθεια αντιμετώπισης των συμπτωμάτων του φαινομένου της βιοεπίστρωσης τα θαλάσσια φυσικά προϊόντα απομονώνονται, ταυτοποιούνται και δοκιμάζονται ως προς την αποτελεσματικότητα τους έναντι αυτών των φαινομένων. Έχει παρατηρηθεί πως πάρα πολλοί θαλάσσιοι οργανισμοί ανθίστανται στην βιοεπίστρωση των επιφανειών τους. Τα περισσότερα διάφορων οστρακοειδών, αλλά και το δέρμα 900 περίπου ειδών της υποκλάσης *Elasmobranchii* (καρχαρίες, σελάχια κ.) αποτελούν τέτοιες επιφάνειες (Magina *et al.* 2010). Αυτοί είναι και οι βασικοί υποψήφιοι για την ανακάλυψη αντι-βιοεπιστρωτικών μορίων, τα οποία θα αντικαταστήσουν μελλοντικά τις περιβαλλοντικά τοξικότερες (αν και αποτελεσματικότερες) οργανομεταλλικές ενώσεις του κασσιτέρου και του χαλκού οι οποίες μόλις πρόσφατα αποσύρθηκαν.

### Ως χρωστικές

Εκτός από τα θαλάσσια φυτά και φύκη, τα θαλάσσια ζώα και ιδιαιτέρως αυτά των τροπικών υδάτων, παρουσιάζουν εντυπωσιακούς χρωματισμούς σε διάφορους συνδυασμούς και πρότυπα. Οι χρωματισμοί αυτοί δεν περιορίζονται στα ρηχά νερά, αλλά εμφανίζονται έντονα και σε βαθύτερα νερά, εκεί όπου η ηλιακή ακτινοβολία δεν μπορεί να προσεγγίσει. Οι χρωστικές ουσίες εικάζεται πως διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία των θαλάσσιων οργανισμών, αλλά και σε διάφορες φυσιολογικές τους λειτουργίες. Επιπρόσθετα, έχουν διερευνηθεί διάφορες βιολογικές δράσεις των θαλάσσιων χρωστικών, όπως αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις, κατά της παχυσαρκίας, νευροπροστατευτικές, αντι-αγγειογενείς κ.α (Pangestuti & Kim, 2011).

### Στην κοσμητολογία

Τα φυσικά προϊόντα από θαλάσσιους οργανισμούς (είτε ως εκχυλίσματα, είτε ως καθαρές ουσίες) λόγω των αναλγητικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων τους αποτελούν βασικούς υποψήφιους ως πρόσθετα σε συνταγές κοσμητολογίας διάφορων προϊόντων (κρέμες προσώπου, αντιηλιακά κ.α) (Mayer & Hamann, 2004).

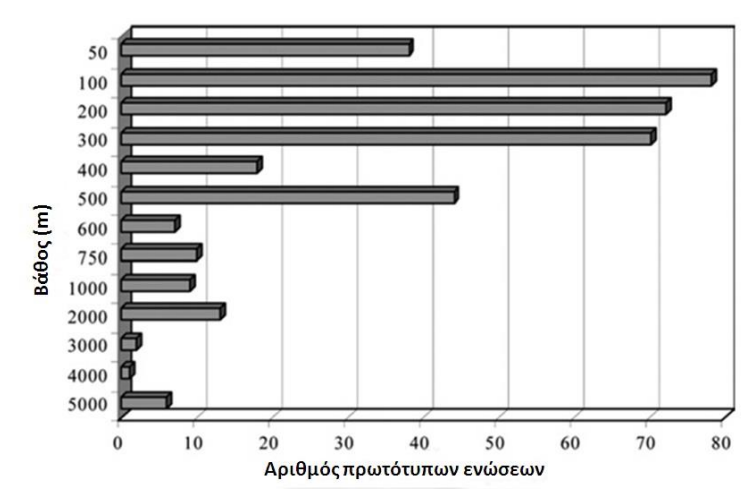
Μία κατηγορία φυσικών προϊόντων με εμπορική εφαρμογή είναι οι ψευδοπτεροσίνες, οι οποίες ανήκουν στους διτερπενικούς γλυκοσίδες και έχουν απομονωθεί από το μαλακό κοράλλι *Pseudopterogorgia elisabethae*. Παρά το γεγονός ότι οι ψευδοπτεροσίνες βρίσκονται ακόμη στο στάδιο προχωρημένων προκλινικών δοκιμών και κλινικών δοκιμών ως αντιφλεγμονώδη και αναλγητικά φάρμακα, τιτλοδοτημένα εκχυλίσματα του κοραλίου είναι εμπορικά διαθέσιμα (Gorgonia Extract- Lipo Chemicals Inc) και χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα σε προϊόντα δερματικής φροντίδας (Estee Lauder Resilience™).

Εκτός από τις ψευδοπτεροσίνες, υπάρχουν και άλλες κατηγορίες φυσικών προϊόντων, τα οποία συμμετέχουν ως πρόσθετα σε προϊόντα κοσμητολογίας. Οι κυριότερες είναι οι εξής (Kim, 2011):

- Φλωροταννίνες, πολυσακχαρίτες και καροτενοειδείς χρωστικές απομονωμένες από φαιόφυκη και ροδοφύκη.
- Βιοδραστικές πρωτεΐνες, βιταμίνες και θρεπτικά συστατικά, καθώς απομονωμένες από εκχυλίσματα μικροφυκών.
- Κολλαγόνο το οποίο παρουσιάζει διάφορα πλεονεκτήματα σε σχέση με αυτό που απομονώνεται από άλλους οργανισμούς.
- Παράγωγα πολυσακχαριτών όπως η χιτίνη που συνήθως παραλαμβάνεται από τα κελύφη θαλάσσιων οργανισμών (καβούρια και γαρίδες), η χιτοζάνη που αποτελεί το απακετυλιωμένο πολυμέρες της χιτίνης και τα COS (Chitin oligosaccharides) που προκύπτουν μέσω χημικής ή ενζυματικής υδρόλυσης της χιτοζάνης.
- Ένζυμα που προέρχονται από βακτήρια μεγάλου βάθους και δρουν ως σαρωτές ελευθέρων ριζών.

## Δευτερογενείς μεταβολίτες οργανισμών από μεγάλα βάθη

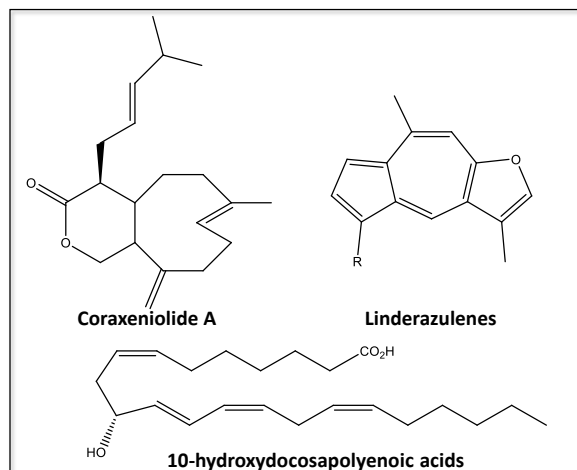
Η χρήση των βαθυσκαφών και των ROV's σε συνδυασμό με τις συνεργασίες με την βιομηχανία πετρελαίου και φυσικού αερίου παρέχει στους ερευνητές τα εργαλεία για να εξερευνήσουν το θαλάσσιο περιβάλλον σε μεγάλα βάθη, να συλλέξουν θαλάσσιους οργανισμούς και να απομονώσουν τους δευτερογενείς τους μεταβολίτες.



Εικόνα 8 – Αριθμός πρωτότυπων ενώσεων συναρτήσει του βάθους.

## Κνιδάρια

Στα κνιδάρια υπάγονται πολλοί γνωστοί θαλάσσιοι οργανισμοί, όπως τα κοράλια, οι ανεμώνες, οι μέδουσες κ.α. Αποτελούν τη σημαντικότερη πηγή νέων θαλάσσιων φυσικών προϊόντων μετά τους σπόγγους. Στα βαθειά ύδατα, νέους δευτερογενείς μεταβολίτες έχει παρουσιάσει κυρίως η κλάση των ανθόζων. Αντιπροσωπευτικά δείγματα μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί από κνιδάρια αποτελούν το διτερπένιο κοραξενιολίδιο A (Schwarz *et al.* 1981), τα λιντεραζουλένια (Raddy *et al.* 2005), τα οποία

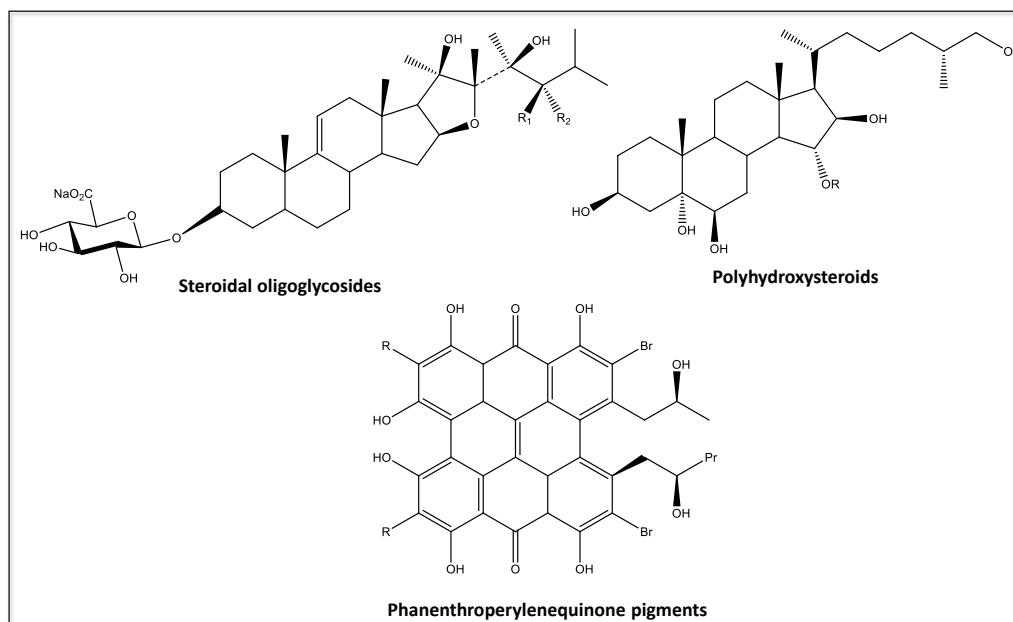


Εικόνα 9 – Αντιπροσωπευτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες κνιδαρίων από μεγάλα βάθη.

εμφανίζουν ήπια κυτταροξικότητα, καθώς και τα 10-υδροξυεικοσιδυπολυενοϊκά οξέα (Mancini *et al.* 1999).

### Εχινόδερμα

Τα εχινόδερμα αποτελούν τα πιο συνηθισμένα ασπόνδυλα που απαντώνται στα μεγάλα βάθη. Σε αυτά ανήκουν οι αστερίες, οι αχινοί, κ.α και υπολογίζεται πως αποτελούν μία εκ των πολυπληθεστέρων ομάδων στον πλανήτη. Όπως και στα ρηγά νερά, έτσι και στα μεγαλύτερα βάθη το μεταβολικό τους προφίλ χαρακτηρίζεται κυρίως από στεροειδή. Στα μεγάλα βάθη στεροειδείς ολιγογλυκοσίδες έχουν απομονωθεί από τον αστερία *Henricia downeyae* (Palagiano *et al.* 1995), του οποίου το εκχύλισμα έχει παρουσιάσει αντιμικροβιακή δράση. Από τον αστερία *Tremaster novaecaledoniae* έχουν απομονωθεί διάφορα πολυυδροξυστεροειδή (DeRicardis *et al.* 1992). Τέλος, από το κρινοειδές *Gymnocrinus richeri* απομονώθηκαν οι φαινανθροπερυλενεκινονικές χρωστικές (DeRicardis *et al.* 1991).

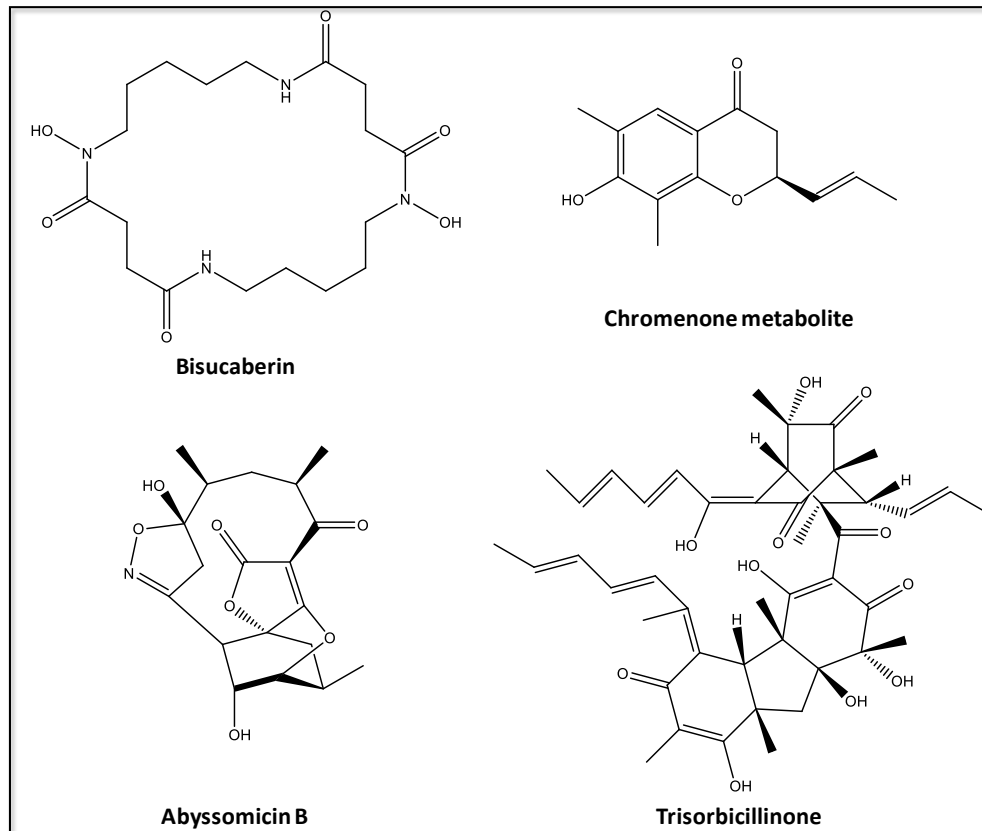


**Εικόνα 10** – Αντιπροσωπευτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες κνιδαρίων από μεγάλα βάθη.

### Μικροοργανισμοί

Το σιδηροφόρο μπισουκαμπερίνη (Kameyama *et al.* 1987) έχει απομονωθεί από το θαλάσσιο βακτήριο *Alteromonas haloplanktis*. Ένας μεταβολίτης τύπου χρωμενόνης (Li *et al.* 2007) έχει απομονωθεί από τον μύκητα *Aspergillus sydowi*, καθώς και άλλος ένας από τον μύκητα *Phialocephala* sp (Li *et al.* 2007), εμφανίζοντας ιδιαίτερη κυτταροτοξικότητα. Από τον ακτινομύκητα *Verrucosispora* sp.

απομονώθηκαν τα πολυκυκλικά αντιβιοτικά, τα οποία είναι γνωστά ως αβυσσομυκίνες (abyssomicins) (Bister *et al.* 2004).

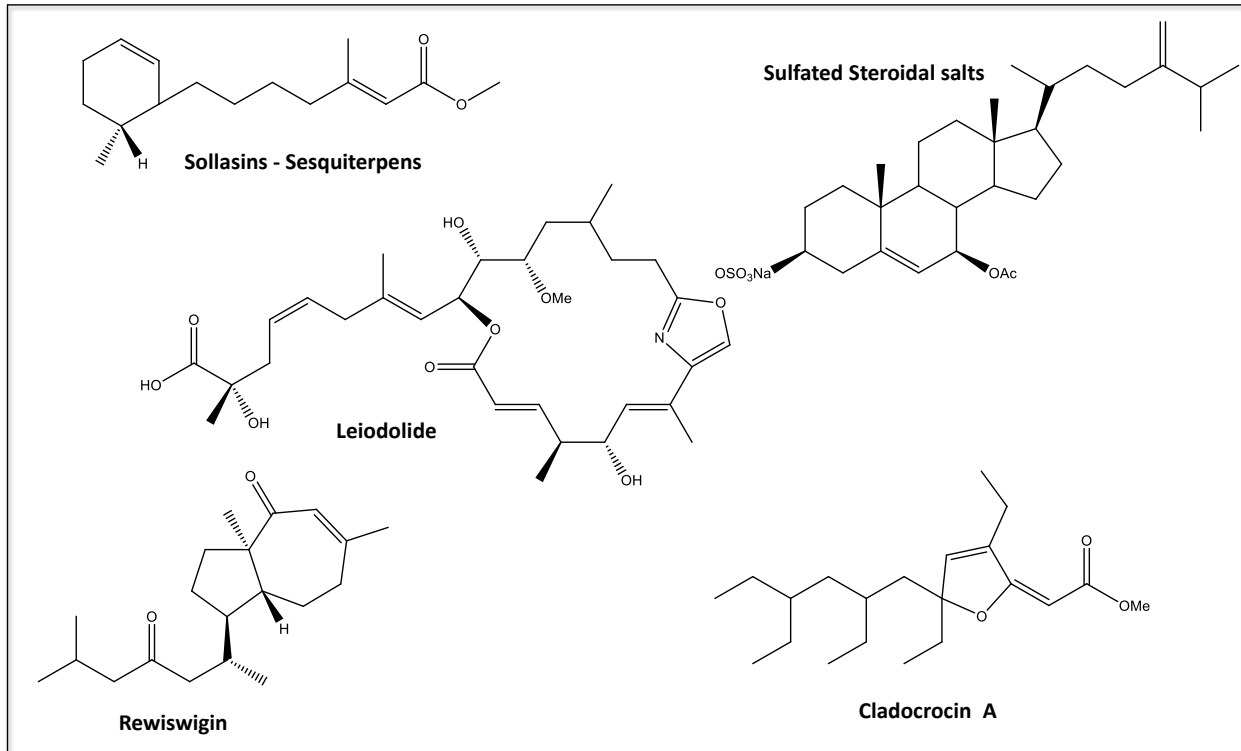


Εικόνα 11 - Αντιπροσωπευτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες μικροοργανισμών από μεγάλα βάθη.

## Σπόγγοι

Οι σπόγγοι αποτελούν την κατηγορία των θαλάσσιων οργανισμών, που προσφέρει το μεγαλύτερο αριθμό νέων θαλάσσιων φυσικών προϊόντων ετησίως. Έχουν περιγραφεί περί τα 7.000 είδη σπόγγων, τα οποία εμφανίζονται από τα ρηχά ύδατα μέχρι τα βάθη των 8.000 m.

Οι σολλασίνες (Killday *et al.* 1993) αποτελούν μία ομάδα σεσκιτερπενίων, οι οποίες έχουν απομονωθεί από το σπόγγο *Poecillastra sollasi* και έχουν επιδείξει αντιμυκητιασική και κυτταροτοξική δράση. Από τον σπόγγο *Poecillastra laminaris* έχει απομονωθεί το θειικό άλας στεροειδούς, αναστερολή (Makarievna *et al.* 1995), το οποίο είναι πιθανός αναστολέας της γλουκανάσης. Το διτερπένιο ρεσβιγκίνη απομονώθηκε από τον σπόγγο *Eriporalis reisiwigi* (Kashman *et al.* 1987) και εμφάνισε αντίκη δράση. Το πολυκετίδιο κλαδοκροσίνη A απομονώθηκε από τον σπόγγο *Cladocroce incurvata* (D'Auria *et al.* 1993). Τέλος, το μακρολίδιο λειοδολίδιο A απομονώθηκε από το σπάνιο σπόγγο *Leiodermatium* sp (Sadler *et al.* 2006) και εμφανίζει αξιόλογη κυτταροτοξική δράση.



Εικόνα 12 – Αντιπροσωπευτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες σπόγγων από μεγάλα βάθη.

## Τα φύκη

Τα φύκη (algae) αποτελούν μία ετερογενή ομάδα οργανισμών που κυμαίνονται σε μέγεθος από μικροσκοπικά απλά κύτταρα μέχρι τεράστια φύκη (Εικ.13). Ανήκουν σε ποικίλες εξελικτικές ομάδες. Με βάση τα οικολογικά τους χαρακτηριστικά δεν είναι δυνατόν να κατηγοριοποιηθούν σε μία απλή ομάδα, η οποία να προήλθε από έναν κοινό πρόγονο.

Είναι κυρίως φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, οι οποίοι παράγουν οξυγόνο και ζουν σε υδάτινα οικοσυστήματα. Δεν παρουσιάζουν ούτε τη δομή, ούτε τα αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά, τα οποία εμφανίζονται στα χερσαία φυτά.

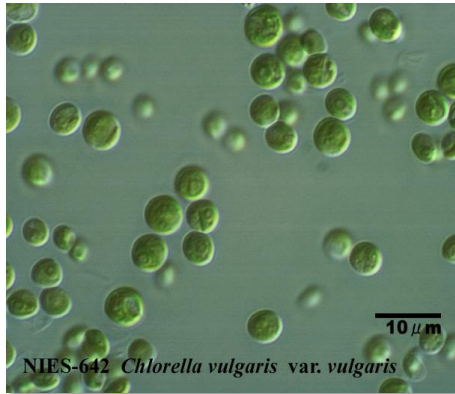
Επιπρόσθετα, έχουν παίξει δραστικό ρόλο στη διαμόρφωση της βιογεωχημείας του πλανήτη εδώ και δισεκατομμύρια χρόνια, μία δράση που συνεχίζεται μέχρι και σήμερα. Τα φύκη παράγουν περί το 50% του οξυγόνου της ατμόσφαιρας και επηρεάζουν όλους τους βιογεωχημικούς κύκλους ανακυκλώνοντας στοιχεία, όπως ο άνθρακας, το άζωτο, ο φωσφόρος, το θείο κ.α

Τα φύκη αναπαράγονται είτε αγενώς, είτε εγγενώς. Η αγενής αναπαραγωγή δεν εμπεριέχει την σύζευξη γαμετών, η οποία αποτελεί τη θεμελιώδη λειτουργία της εγγενούς αναπαραγωγής. Κάποια φύκη αναπαράγονται με ένα συνδυασμό εγγενών και αγενών διαδικασιών.

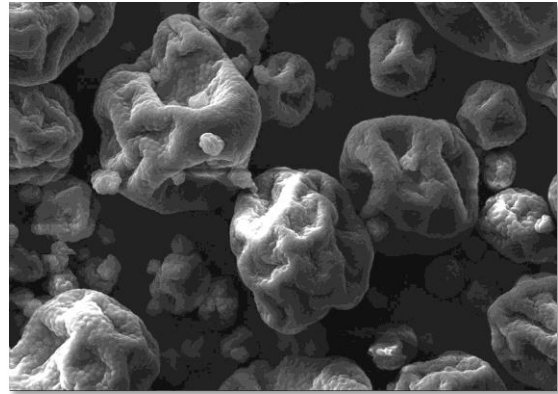
Επιπλέον, συμμετέχουν καθοριστικά στις τροφικές αλυσίδες του θαλάσσιου περιβάλλοντος. Μερικά ευκαρυωτικά φύκη λειτουργούν ως θηρευτές καταναλώνοντας μέρη ή και το σύνολο άλλων οργανισμών. Για παράδειγμα μία κατηγορία φυκών (βακτηριοβόρα) καταναλώνουν και αποβάλλουν μεγάλο αριθμό βακτηρίων.

Τα περισσότερα φύκη είναι φωτοαυτότροφοι οργανισμοί, δηλαδή είναι ικανά να παράγουν το μεγαλύτερο μέρος των απαραίτητων οργανικών ενώσεων μέσω της φωτοσύνθεσης.

Ένα μέρος αυτών των οργανικών ενώσεων αποβάλλονται, τρέφοντας ετερότροφα μικρόβια στις τροφικές αλυσίδες. Επιπρόσθετα μπορούν να χρησιμεύσουν ως τροφή για φυτοφάγους οργανισμούς και σαπροφάγους οργανισμούς κατά την αποσύνθεσή τους.



Algae Resource Database –National Bioresource project



Patrick Biller, Faculty of Engineering – Leeds University



Εικόνα 13 – Η ποικιλομορφία του μεγέθους των φυκών.

Τα φύκη έχουν αναπτύξει μία ποικιλία μηχανισμών για την αντιμετώπιση των φυτοφάγων θηρευτών. Συνοπτικά κάποιοι εξ αυτών αναφέρονται παρακάτω:

- **“Δομική” άμυνα** - Ποικίλα χαρακτηριστικά της δομής τους, όπως το μέγεθος, το είδος των κυττάρων, αλλά και ειδικά δομικά χαρακτηριστικά π.χ ζελατινοειδή περιβλήματα, κερατοειδείς δομές και βελόνες δυσχεραίνουν την κατανάλωσή τους από φυτοφάγους οργανισμούς.
- **Βιοφωταύγεια** - Εξειδικευμένα κύτταρα εκπέμπουν λάμπεις από μπλε-πράσινο φως, οι οποίες απομακρύνουν τους φυτοφάγους οργανισμούς.
- **Τοξίνες** – Πολλά είδη φυκών παράγουν χημικές ενώσεις για να αντιμετωπίσουν φύκη ανταγωνιστές ή φυτοφάγους οργανισμούς. Μερικές γνωστές κατηγορίες τοξινών αποτελούν οι νευροτοξίνες, οι ηπατοτοξίνες, οι κυτοτοξίνες κτλ.

Τα φύκη διακρίνονται σε μικρο- και μακροφύκη. Τα μακροφύκη περιλαμβάνουν τρεις κλάσεις, τα χλωροφύκη, τα φαιοφύκη και τα ροδοφύκη.

Σύμφωνα με εκτιμήσεις υπάρχουν 500-600 γένη ροδοφυκών που περιλαμβάνουν 5000-20000 είδη (Norton et al. 1996) ενώ νέα κρυπτικά είδη ανακαλύπτονται συνεχώς. Με την βοήθεια μοριακών,



μορφολογικών καθώς και αναπαραγωγικών στοιχείων οι Saunders και Hommersand πρότειναν τις εξής κλάσεις για τα ροδοφύκη.

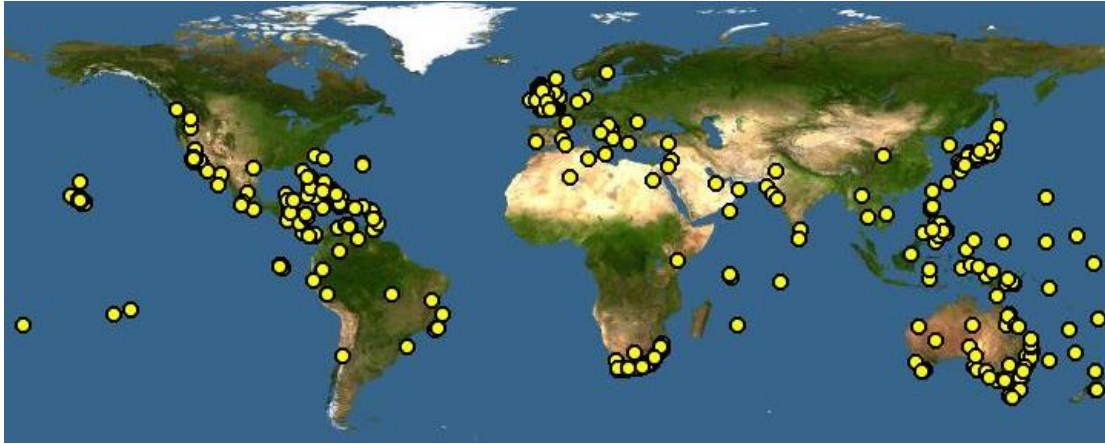
- Cyanidophyceae
- Porphyridiophyceae
- Rhodellophyceae
- Compsorogonophyceae
- Bangiophyceae
- Florideophyceae
- Stylonematoophyceae

Τα περισσότερα ροδοφύκη απαντώνται σε παράλια και υποπαράλια μέρη των θαλάσσιων οικοσυστημάτων τροπικών, υποτροπικών, εύκρατων, καθώς και αρκτικών περιοχών. Εξαιρέσεις αποτελούν κάποιες ποικιλίες ροδοφυκών, οι οποίες αναπτύσσονται σε ακραία περιβάλλοντα, όπως ένα ροδόφυτο το οποίο ζει σε βάθος 210 m κοντά στη νήσο Σαν Σαλβαδόρ, στις Μπαχάμες. Σε αυτό το βάθος η διείσδυση της ακτινοβολίας είναι 0,0005%. Κάποια άλλα ροδοφύκη επιβιώνουν στα νερά της Αρκτικής και της Ανταρκτικής, όπου καλύπτονται από 2 m θαλάσσιου πάγου για 10 μήνες το χρόνο. Παρά το γεγονός ότι τα ροδοφύκη δεν είναι ανεκτικά στην αλλαγή της αλατότητας, με φυσικό τους χώρο το θαλάσσιο οικοσύστημα, έχουν βρεθεί περίπου 150 είδη τα οποία αναπτύσσονται σε γλυκά νερά.

### Το γένος *Laurencia*

Το γένος αυτό είναι από τα πιο συστηματικά μελετημένα γένη θαλάσσιων οργανισμών. Το όνομα του γένους αποδόθηκε από τον Lamouroux το 1813 προς τιμήν του φίλου του Mr de le Laurencie, ενός αξιωματικού του πολεμικού ναυτικού και λάτρη των φυσικών επιστημών.

Τα ροδοφύκη *Laurencia* spp. αναπτύσσονται σε όλες τις θάλασσες και τους ωκεανούς και σχεδόν σε όλα τα γεωγραφικά πλάτη, σε τροπικά, εύκρατα και ψυχρά νερά, είναι δηλαδή κοσμοπολίτες οργανισμοί (**Εικ.14**). Τα είδη του γένους μπορούν να αναπτύσσονται σε ποικίλα περιβάλλοντα και υποστρώματα και σε ποικίλα εύρη θερμοκρασίας (Padilla-Gamiño & Carpenter, 2007; Carballo *et al.* 2002). Αναπτύσσονται σε πετρώδεις ακτογραμμές, όπου σχηματίζουν πυκνές τούφες πάχους 0.5-3.0 cm, αλλά και σε αμμώδεις περιοχές, κυρίως κοντά στην επιφάνεια, αλλά και στο βυθό ως επίφυτο άλλων φυκών. Βρίσκονται σε βάθη ως τα 65 m. Στην εικόνα 14 φαίνεται η παγκόσμια εξάπλωση του γένους.



Εικόνα 14 - Παγκόσμια εξάπλωση του γένους *Laurencia*.

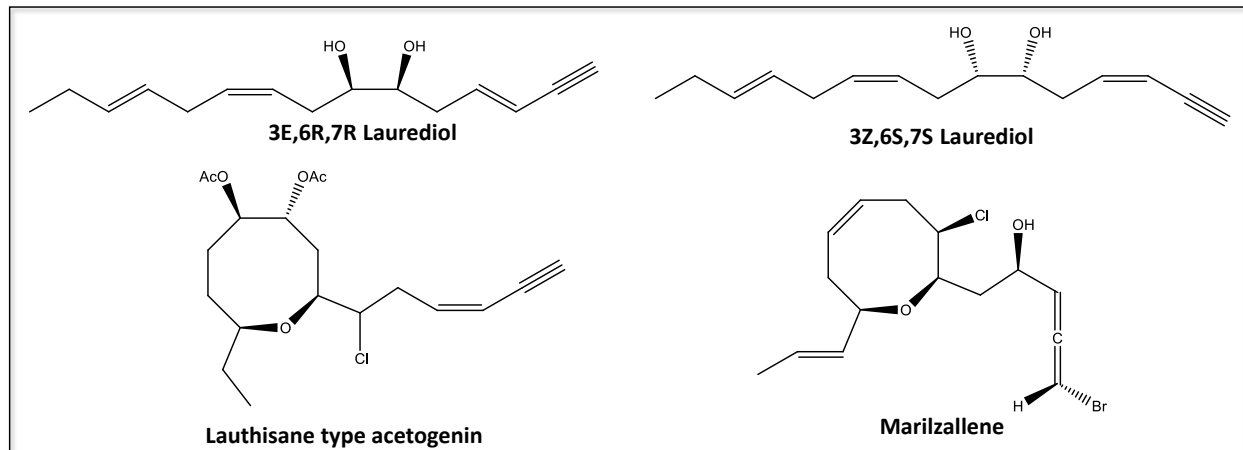
Στην πλειοψηφία, με κάποιες διαφοροποιήσεις ανά είδος, τα διάφορα είδη του γένους *Laurencia* έχουν πυκνό θαλλό ύψους 5-15 cm, σφαιρικές τούφες και κυλινδρικά κλαδιά με στενή βάση. Στα κλαδιά εμφανίζονται λίγα εναλλασσόμενα πλευρικά παρακλάδια σταδιακά κοντύτερα προς την κορυφή σε σχήμα πυραμίδας.

### Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Laurencia*

#### **Μη τερπενικοί C<sub>15</sub> κυκλικοί αιθέρες (C<sub>15</sub> ακετογενίνες)**

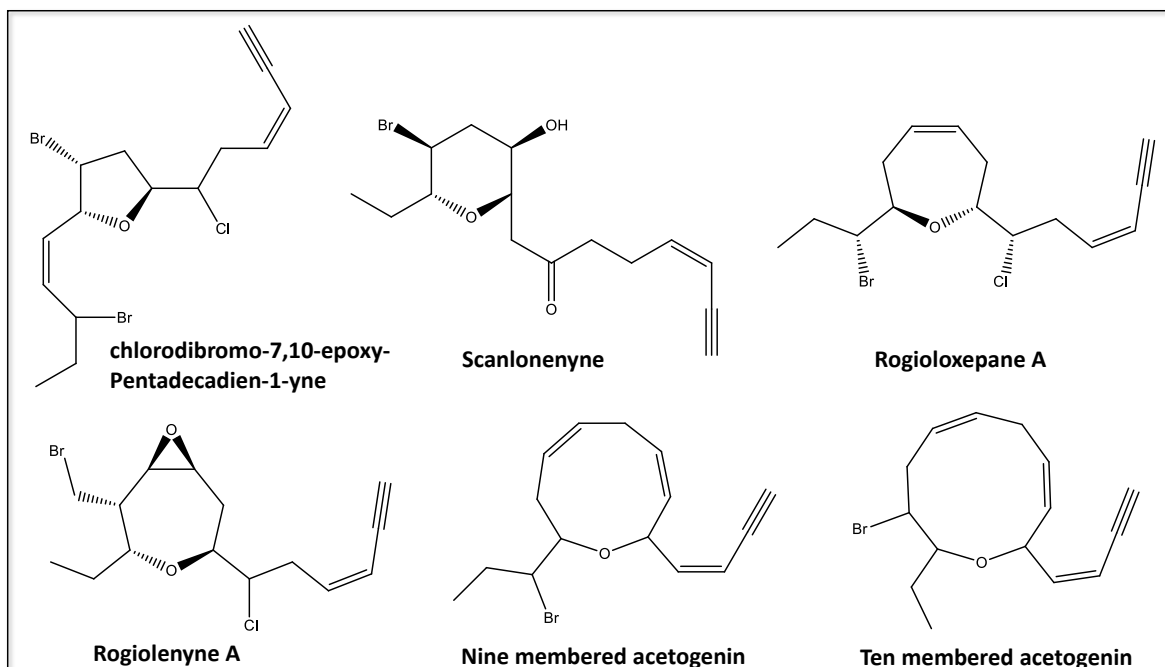
Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ενώσεις γραμμικές ή με διαφορετικού μεγέθους αιθερικούς δακτυλίους που συνήθως διαθέτουν μία συζευγμένη βινυλοακετυλενική ή βρωμοαλλενική πλευρική αλυσίδα. Οι περισσότερες είναι αλογονωμένες με το βρώμιο ή το χλώριο να κυριαρχούν σαν αλογόνα.

Η πλειοψηφία των ενώσεων αυτών είναι οκταμελείς κυκλικοί αιθέρες, οι οποίοι διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τα λαουρενάνια (laurenane) και τα λαουθισάνια (lauthisane) τα οποία βιοσυνθετικά εικάζεται ότι προκύπτουν από τα γραμμικά μόρια 3Z, 6S, 7S – λαουρεδιόλη (3Z, 6S, 7S-laurediol) και 3E,6R,7R-λαουρεδιόλη (3E,6R,7R-laurediol) αντίστοιχα (Fukuzawa *et al.* 1992; Ishihara & Murai, 2001), τα οποία έχουν απομονωθεί από το φύκος *Laurencia nirronica* (Kurosawa *et al.* 1972). Το μαριλζαλλένιο (marilzallene) είναι ένας οκταμελής κυκλικός αιθέρας με βρωμοαλλενική πλευρική αλυσίδα που απομονώθηκε πρόσφατα από το φύκος *Laurencia marilzae* (Gutiérrez-Cepeda *et al.* 2011).



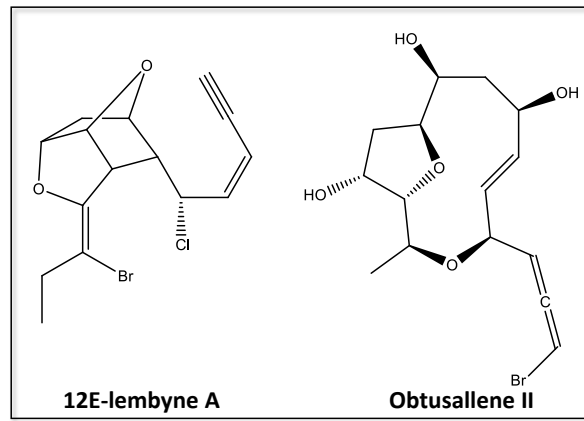
Εικόνα 15 - Οκταμελείς κυκλικοί αιθέρες του γένους *Laurencia* και οι πρόδρομες ενώσεις του.

Ο μεταβολίτης χλωροδιβρωμο-7,10-εποξυ-πενταδεκαδιεν-1-υνιο (chlorodibromo-7,10-epoxy-pentadecadien-yne) από το φύκος *L. glandulifera* διαθέτει τετραϋδροφουρανικό δακτύλιο (Kladi *et al.* 2009), ενώ η σκανλονενίνη (scanlonenyne) από το φύκος *L. obtusa* τετραϋδροπυρανικό δακτύλιο (Suzuki *et al.* 1997). Από το φύκος *L. microcladia* έχουν απομονωθεί οι επταμελείς αιθέρες ροζιολοξεπάνη A (rogioxepane A) και ροζιολενίνη A (rogiolenyne A) (Guella *et al.* 1991; Guella *et al.* 1992b), η δεύτερη εκ των οποίων παρουσιάζει εξαιρετικό βιοσυνθετικό ενδιαφέρον αφού αποτελεί ένα από τα ελάχιστα παραδείγματα διακλαδισμένης ανθρακικής αλυσίδας. Οι επόμενες ακετογενίνες έχουν απομονωθεί από το φύκος *Laurencia implicata* και διαθέτουν εννιαμελή και δεκαμελή αιθερικό δακτύλιο, αντίστοιχα (Coll & Wright, 1989).



Εικόνα 16 – Μονοκυκλικές ακετογενίνες του γένους *Laurencia*.

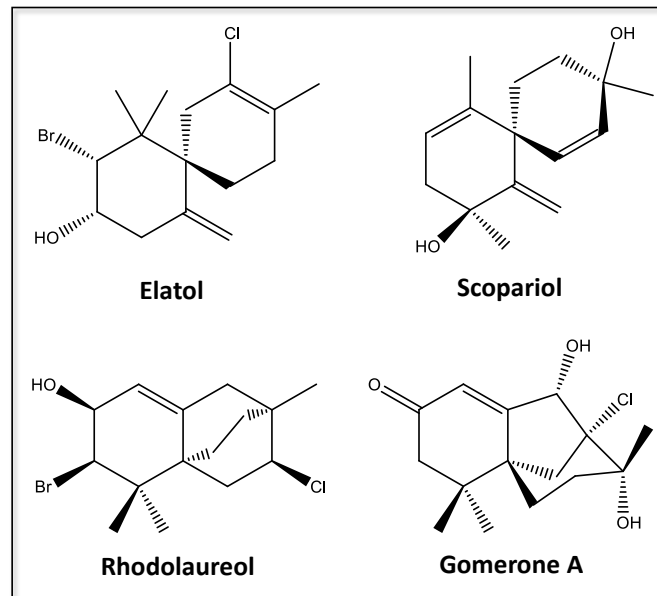
Εκτός από τις παραπάνω μονοκυκλικές δομές, συναντώνται και δικυκλικές ακετογενίνες με διάφορους συνδυασμούς μεγεθών αιθερικών δακτυλίων, αλλά και τρικυκλικές, όπως η 12*E*-λεμβίνη A (12*E*-lembyne A) από το φύκος *Laurencia mariannensis*, με αντιβακτηριακή δράση έναντι θαλάσσιων βακτηρίων (Vairappan *et al.* 2001b). Το ομπτουςαλλένιο II (obtusallene II) (Öztunç *et al.* 1991a) ανήκει σε μία ιδιαίτερη υποκατηγορία ακετογενινών, γνωστή με το όνομα ομπτουςαλλένια, η οποία περιλαμβάνει δωδεκαμελείς κυκλικούς αιθέρες με βρωμοαλλενική πλευρική αλυσίδα και συναντάται στα φύκη *L. obtusa* και *L. marilzae*.



Εικόνα 17 – Δικυκλικές και τρικυκλικές ακετογενίνες του γένους *Laurencia*.

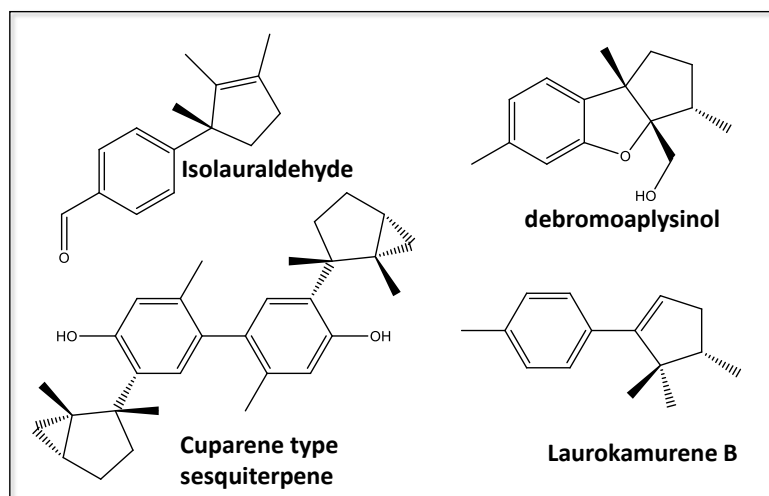
### Σεσκιτερπένια

Τα σεσκιτερπένια αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί από είδη του γένους *Laurencia* και συχνά έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις. Πολύ συχνά απαντώνται σεσκιτερπένια τσαμιγκρανικού τύπου (chamigrane), όπως η ελατόλη (elatol) από το φύκος *Laurencia elata* (Sims *et al.*, 1974), η οποία έχει επιδείξει αντιβακτηριακή (Vairappan, 2003; Vairappan *et al.* 2009), κυτταροτοξική (Dias *et al.* 2005; Campos *et al.* 2012), αντιτρυπανοσωμιακή (Veiga-Santos *et al.* 2010; Desoti *et al.* 2012) και αντιλεϊσμανιακή δράση (Dos Santos *et al.* 2010; Da Silva *et al.* 2011). Η σκοπαριόλη (scorariol) από το φύκος *Laurencia scoraria* έχει σκελετό αναδιατεταγμένου τσαμιγκρανίου (Davyt *et al.* 2001), ενώ η ροδολαουρεόλη (rhodolaureol) από τη *Laurencia* sp. και η γκομερόνη A (gomerone A) από τη *Laurencia majuscula* έχουν σκελετούς ροδολαουρανίου (rhodolaurane) και γκομερανίου (gomerane), αντίστοιχα, οι οποίοι βιοσυνθετικά φαίνεται να προκύπτουν από τα τσαμιγκράνια (González *et al.* 1985; González *et al.* 1982a; Díaz-Marrero *et al.* 2008).



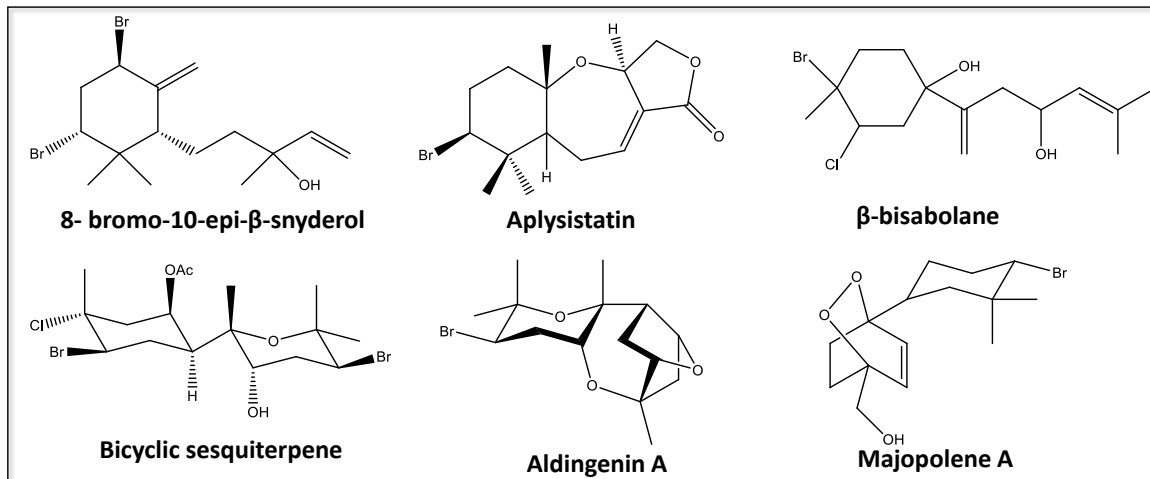
Εικόνα 18 – Σεσκιτερπένια γένους *Laurencia*.

Μία ακόμη πολυπληθής ομάδα σεσκιτερπενίων από αντιπροσώπους του γένους *Laurencia* είναι τα λαουράνια (laurane). Παραδείγματα αυτής της κατηγορίας είναι η ισολαουραλδεΐδη (isolauraldehyde) από το φύκος *L. obtusa* με αντιβακτηριακή, αντιμυκητιασική και δράση κατά των κυττάρων ασκίτη Ehrlich (Alarif *et al.* 2012) και η δεβρωμοαπλυσινόλη (debromoaplysinol) από το φύκος *Laurencia tristicha*, ένα εποξυλαουράνιο με εκλεκτική κυτταροτοξικότητα στην καρκινική σειρά HeLa (Sun *et al.* 2007). Ακόμα, δομικά παρόμοια σεσκιτερπένια με σκελετό κουπαρενίου (cuparene) έχουν απομονωθεί από είδη του γένους, όπως ο μεταβολίτης με κυτταροτοξική δράση από το φύκος *L. microcladia* (Kladi *et al.* 2005). Το λαουροκαμουρένιο B (laurokamurene B) από το φύκος *Laurencia okamurai* έχει σκελετό αναδιατεταγμένου κουπαρενίου (Mao & Guo, 2006).



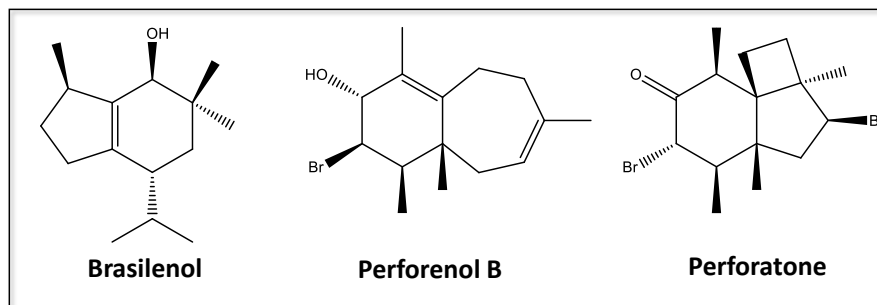
Εικόνα 19 – Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

Η 8-βρώμο-10-επι-β-σνυδερόλη (8-bromo-10-epi-β-snyderol) από το φύκος *L. obtusa* ανήκει στα σνυδεράνια (snyderane) και εμφανίζει ανθελονοσιακή δράση (Torcu *et al.* 2003). Η απλυσιστατίνη (aplysiastatin) η οποία αρχικά απομονώθηκε από το γαστερόποδο *Aplysia angasi* και στη συνέχεια από διάφορα είδη του γένους *Laurencia* είναι ένα τρικυκλικό σνυδεράνιο με αντιλευχαιμική και αντιφλεγμονώδη δράση (Pettit *et al.* 1977; Vairappan *et al.* 2013). Ο μεταβολίτης από το φύκος *L. scoraria* ανήκει στα β-μπισαμπολάνια (β-bisabolane) και εμφανίζει ασθενή ανθελμινθική δράση (Davyt *et al.* 2006). Στην ίδια κατηγορία ανήκουν και το κυτταροτοξικό δικυκλικό σεσκιτερπένιο από το φύκος *Laurencia catarinensis* (Lhullier *et al.* 2010) και η τρικυκλική αλδινγενίνη Α (aldingenin A) από το φύκος *Laurencia aldingenensis* (De Carvalho *et al.* 2003). Με περαιτέρω κυκλοποίηση της ανθρακικής αλυσίδας προκύπτουν μόρια όπως το ματζαπολένιο Α (majapolene A) από το φύκος *L. majuscula*, το οποίο εμφανίζει μέτρια κυτταροτοξική δράση (Erickson *et al.* 1995).



Εικόνα 20 – Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

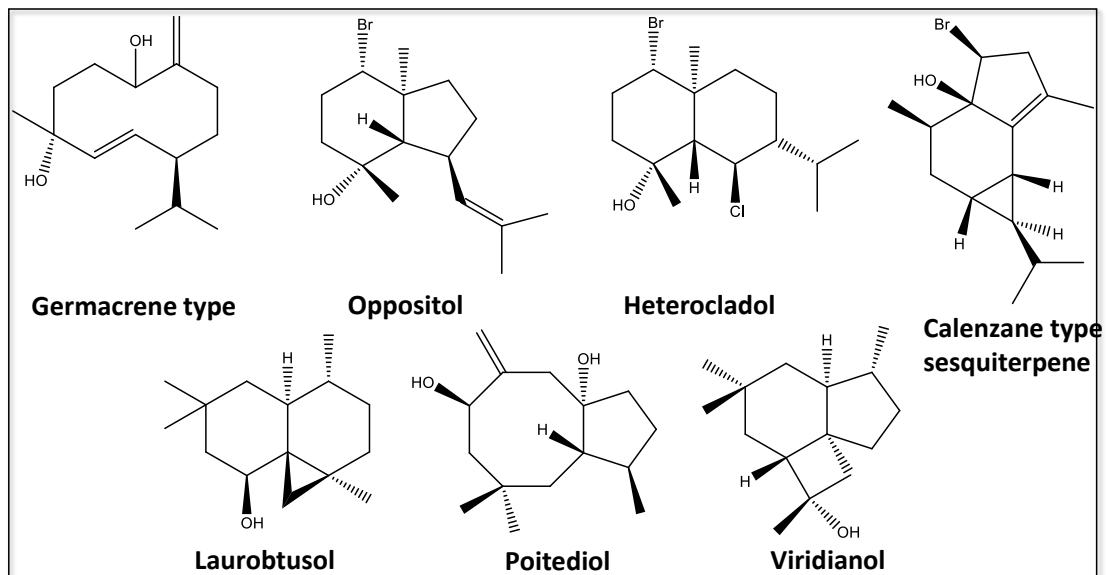
Μία ιδιαίτερη ομάδα συνιστούν τα σεσκιτερπένια μπρασιλανικού τύπου (brasilane), όπως για παράδειγμα η μπρασιλενόλη (brasilenol) που απομονώθηκε αρχικά από το φύκος *L. obtusa* (Stallard *et al.* 1978). Η περφορενόλη Β (perforenol B) από το φύκος *L. obtusa* έχει σκελετό περφορανίου και εμφανίζει κυτταροτοξική δράση (Kladi *et al.* 2006). Η περφορατόνη (perforatone) έχει απομονωθεί από το φύκος *Laurencia perforata* (González *et al.* 1975).



Εικόνα 21 – Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

Άλλα σεσκιτερπένια είναι: γερμακρανικού τύπου (germacrane) από το φύκος *L. subopposita* (Wratten & Faulkner, 1977), η οπποζιτόλη (oppositol) από το ίδιο φύκος με σκελετό οπποζιτανίου (oppositane) και μέτρια αντιβιοτική δράση (Hall *et al.* 1973) και η ετεροκλαδόλη (heterocladol) από το φύκος *Laurencia filiformis* με σκελετό ευδεσμανίου (eudesmane) (Kazlauskas *et al.* 1977). Οι παραπάνω κατηγορίες σεσκιτερπενίων φαίνεται ότι προέρχονται από κοινή βιοσυνθετική πορεία ξεκινώντας από τα γερμακράνια (Bülow & König, 2000; Guella *et al.* 2002).

Τέλος, έχουν αναφερθεί σεσκιτερπένια i) με σκελετό καλενζανίου (calenzane), όπως ένας μεταβολίτης από το φύκος *L. microcladia* που είναι ασταθής και αποσυντίθεται σε ινδενικό παράγωγο (Guella *et al.* 2001; Guella *et al.* 2003), ii) με σκελετό  $\alpha$ -χουμουλανίου ( $\alpha$ -humulane), όπως η λαουρομπουσόλη (laurobtusol) από το φύκος *L. obtusa* (Caccamese *et al.* 1991), iii) με σκελετό ποϊτανίου (poitane), όπως η ποϊτεδιόλη (poitediol) από το φύκος *L. poitei* (Fenical *et al.* 1978) και iv) η βιριντιανόλη (viridianol) από το φύκος *Laurencia viridis* που φαίνεται να έχει βιοσυνθετική συσχέτιση με τα ποϊτάνια (Norte *et al.* 1994).



Εικόνα 22 – Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

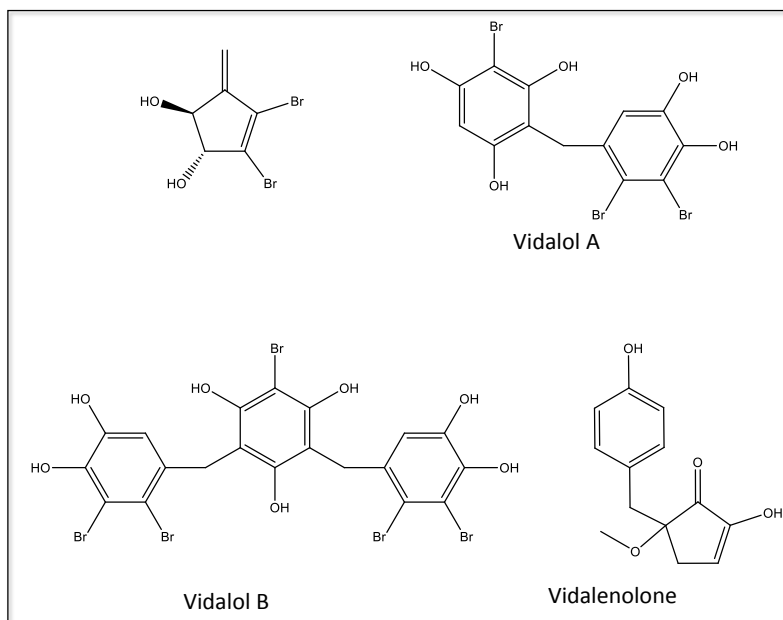
### Το γένος *Vidalia*

Αναπτύσσεται σε σκοτεινά-σκιερά σημεία. Συναντάται σε αμμώδη-λασπώδη πυθμένα πάνω σε υπολείμματα οστρακοειδών και σπανιότερα πάνω σε πέτρες. Συναντάται στη Δυτική Μεσόγειο κατά μήκος των Ισπανικών ακτών, στη Σαρδηνία, στην Κορσική, στη Νότια Ιταλία στη Βόρεια Αδριατική, στην Αλγερία και στην Τουρκία, σε βάθος μεταξύ 10-40 m. Αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα φύκη της Αδριατικής, τα οποία ανάλογα με τη θέση τους σχηματίζουν μαζικά συστάδες.

Τα φύκη του γένους *Vidalia*, μορφολογικά εμφανίζουν θαλλό σπειροειδή, οδοντωτό στις παρυφές, περιφερειακά διακλαδιζόμενο

### Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Vidalia*

Από το γένος *Vidalia* έχουν απομονωθεί οι βρωμοφαινόλες βιδαλόλη Α και Β (Wiemer *et al.* 1991), οι οποίες εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση, ένας βρωμιωμένος μεταβολίτης από τη *Vidalia spiralis* (Kazlauskas *et al.* 1992), καθώς και ο φαινολικός μεταβολίτης βιδαλενονόνη (Yoo *et al.* 2002).

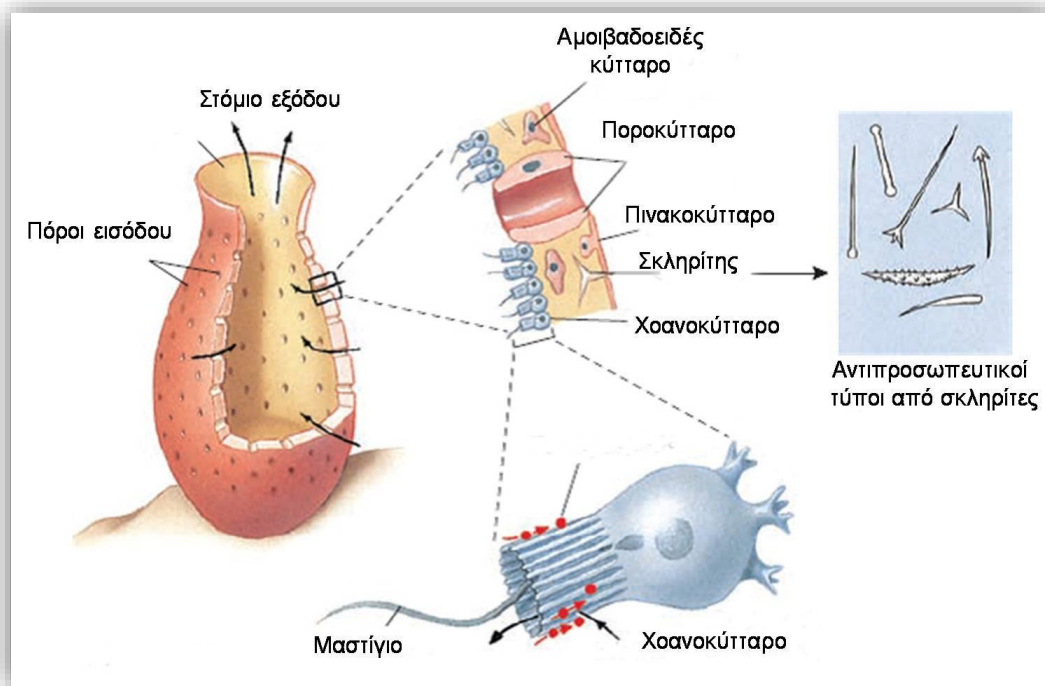


**Εικόνα 23** – Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Vidalia*.



## Σπόγγοι (Πορίφερα)

Οι σπόγγοι αποτελούν τους απλούστερους πολυκύτταρους οργανισμούς του ζωικού βασιλείου. Παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία μεγεθών, σχημάτων και χρωμάτων, με μία συγκεκριμένη σκελετική δομή, η οποία χαρακτηρίζεται από πολυάριθμους πόρους που επιτρέπουν στο νερό να εισέρχεται και να κυκλοφορεί σε μία σειρά από κανάλια και πλαγκτονικοί οργανισμοί να διηθούνται και να καταναλώνονται. Εξαιτίας αυτής της δομής ονομάστηκαν πορίφερα καθώς φέρουν πόρους (porifera = pore bearers) Οι σπόγγοι αποτελούνται από ομάδες κυττάρων ανεξάρτητες μεταξύ τους, με αποτέλεσμα να μη δημιουργούν ιστούς ή διακριτά όργανα. Η αναπαραγωγή τους μπορεί να είναι είτε εγγενής, είτε αγενής.



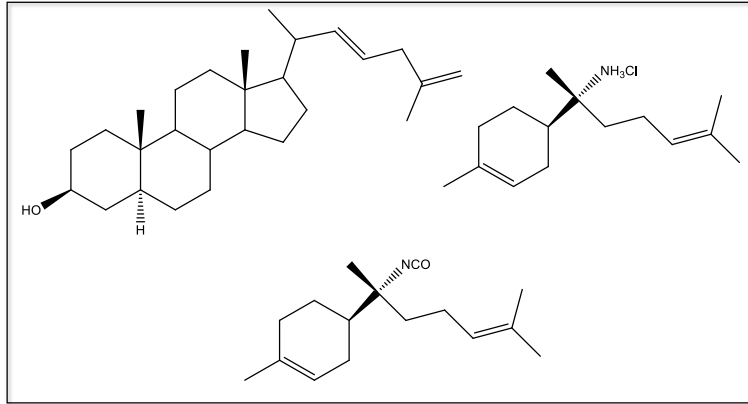
Εικόνα 24 - Ανατομία σπόγγου.

### Το γένος *Ciocalypta*

Αποτελούνται από κανάλια σχήματος δακτύλων φέροντας ένα κεντρικό άξονα από σκληρίτες με έντονες δευτεροταγείς δομές, οι οποίες υποστηρίζουν τον εξωσκελετό. Η κύρια μάζα του σπόγγου βρίσκεται θαμμένη μέσα στο θαλάσσιο ίζημα με εκβλαστήματα σχήματος δακτύλου να προεξέχουν σε κωνοειδή σχηματισμό. Η επιφάνειά του είναι λεία σχετικώς διάφανη χωρίς εμφανές στόμιο εξόδου. Περίπου 15 είδη έχουν καταγραφεί στις εύκρατες και υποτροπικές περιοχές του Ατλαντικού και του Νότιου Ειρηνικού. Συνήθως απαντάται σε βάθη μέχρι τα 50 m.

Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Ciocalypta* sp.

Από το γένος *Ciocalypta* έχουν απομονωθεί ελάχιστοι δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως το στεροειδές και τα δύο σεσκιτερπένια με σκελετό μπισαμπολενίου της εικόνας 25.



Εικόνα 25 – Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Ciocalypta*.

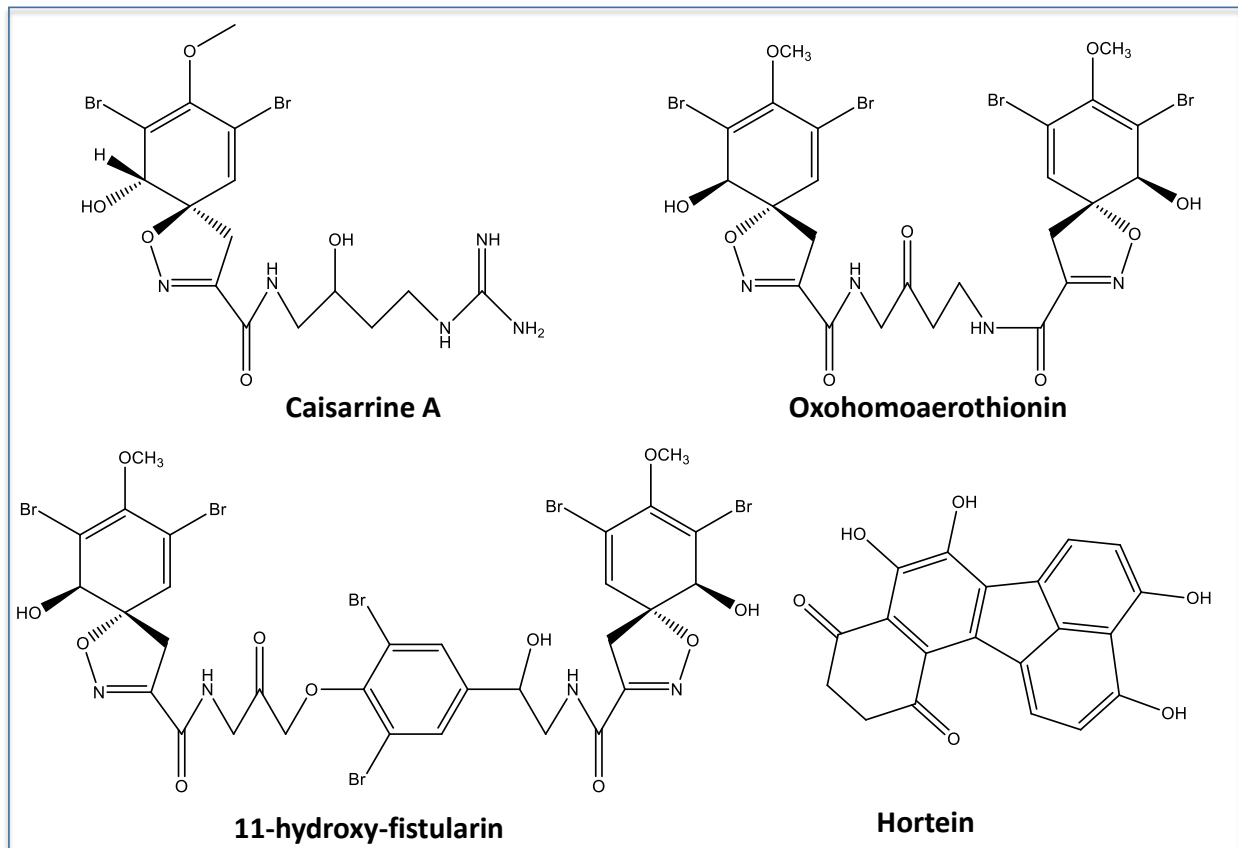
Το γένος *Aplysina*

Τα είδη του γένους *Aplysina* εμφανίζουν ευρείες οικολογικές προτιμήσεις και απαντώνται συνήθως σε βάθη μέχρι τα 45 m. Παρατηρούνται σε περιοχές τροπικών και υποτροπικών περιοχών. Συνήθως είναι ευμεγέθεις σπόγγοι, με έντονη ποικιλομορφία (σωληνοειδείς, κλαδωτοί, μισχοειδείς κτλ) και έντονο χρωματισμό που ποικίλει από κίτρινος έως πράσινος. Παρουσιάζουν χαρακτηριστικό σκελετό, ο οποίος φέρει ένα κανονικό δίκτυο από πολυγωνικούς βρόγχους χωρίς ιδιαίτερες εξωσκελετικές δομές. Σε αντίθεση με άλλα είδη δημοσπόγγων, οι συγκεκριμένοι αποτελούνται κυρίως από α-χιτίνη (και όχι από σπογγίνη), γεγονός που τους προσδίδει ιδιαίτερο βιοφαρμακευτικό ενδιαφέρον σε πεδία όπως η μηχανική των ιστών (Cruz-Barraza *et al.* 2012).

Το είδος *Aplysina aerophoba* εμφανίζεται στις συνευρέσεις φωτόφιλων φυκών, λιμώνων Ποσειδώνιας, σε ημισκιάδη και σκιάδη σπήλαια και σε βράχια ανοιχτής θάλασσας. Το είδος *Aplysina cavernicola* είναι σκιάφιλο και εμφανίζεται σε βράχους, υποβρύχια σπήλαια σε σχετικά μεγάλα βάθη. Εμφανίζει πιο ανοιχτό χρώμα από την *Aplysina aerophoba*.

Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Aplysina*

Από το γένος *Aplysina* έχουν απομονωθεί περίπου 150 δευτερογενείς μεταβολίτες (MarinLit, 2014). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα παράγωγα διβρωμοτυροσίνης, οξομοαεροθειονίνης, 11-υδρόξυ-φιστουλαρίνης-3, (Ciminiello *et al.* 1997) καισαρίνης A (Saeki *et al.* 2002). Από την *Aplysina aerorhoba*, απομονώθηκε ο δευτερογενής μεταβολίτης χορτεΐνη ο οποίος φέρει ένα ιδιαίτερο πολυκυκλικό σύστημα (Brauers *et al.* 2001).



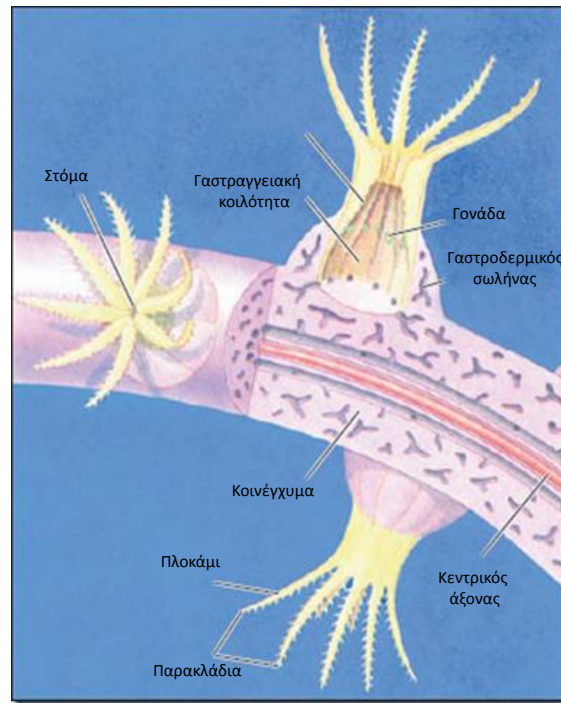
Εικόνα 26 – Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Aplysina*.

## Κοράλια

Τα κοράλια, αποτελούν ασπόνδυλους οργανισμούς, οι οποίοι ανήκουν στην κλάση ανθόζωα του φύλου των κνιδόζων. Αναπτύσσονται σε συμπαγείς αποικίες οι οποίες αποτελούνται από μεγάλο αριθμών πολυπόδων.

Στην υποτάξη *Octocorallia* ανήκουν κοράλια, τα οποία αποτελούνται από αποικιακούς πολύποδες, που φέρουν οκτώ πτεροειδείς κεραίες και οκτώ πλήρη μεσεντέρια. Οι πολύποδες αυτοί είναι

συνδεδεμένοι μεταξύ τους με μία μάζα ιστού, το κοινέγχυμα, από το οποίο εξέρχει μόνο το ανώτερο τμήμα τους. Το κοινέγχυμα αποτελείται από μία παχιά μάζα μεσογλοίας, τα αμοιβαδοειδή κύτταρα της οποίας εκκρίνουν σκελετικό υλικό. Το κοινέγχυμα διαπερνάται από γαστροδερμικούς σωλήνες, οι οποίοι επικοινωνούν με τη γαστραγγειακή κοιλότητα των πολυπόδων και περιβάλλεται από επιδερμίδα, η οποία συνδέεται με την επιδερμίδα του μίσχου των πολυπόδων.



Εικόνα 27 – Ανατομία οκτωκοραλλίου.

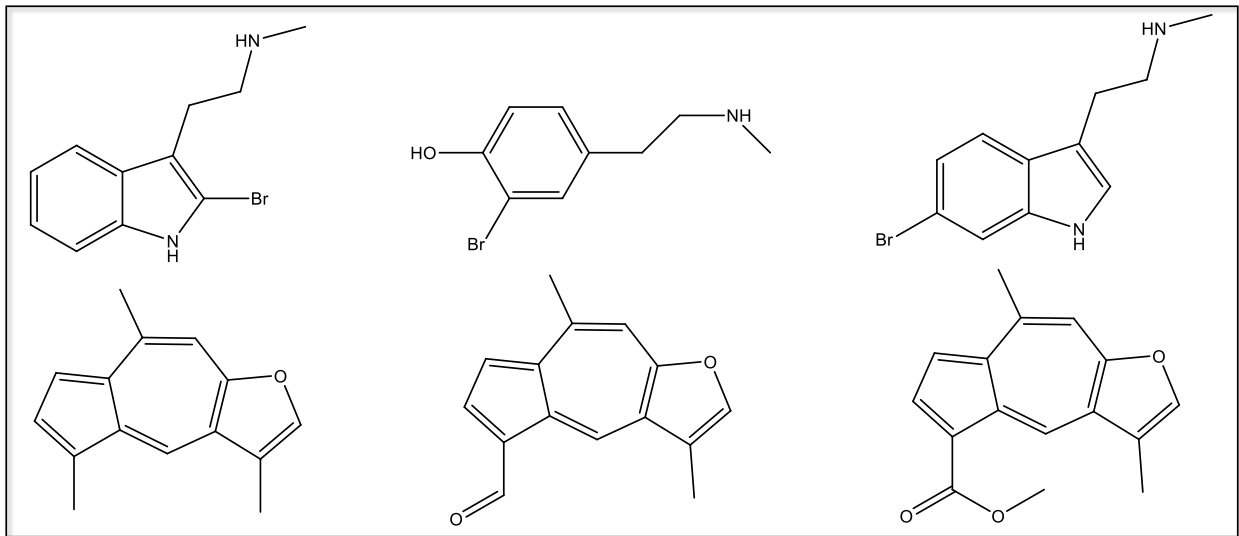
### Το κοράλι *Paramuricea clavata*

Αποτελεί αποικιακό γοργονοειδές, που εμφανίζεται πολύ συχνά σε βραχώδη υποστρώματα ρηχών νερών στην περιοχή της Μεσογείου. Στον κόλπο του Μεξικό έχει συλλεχθεί και από βάθη μεγαλύτερα των 200 m. Είναι σκίοφιλο και ευδοκιμεί σε κάθετες προεξέχουσες επιφάνειες σχηματίζοντας αποικίες με ακανόνιστα διαμορφωμένες διακλαδώσεις.

### Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Paramuricea*

Από το γένος *Paramuricea* έχουν απομονωθεί τα αλκαλοειδή 2-βρώμο-*N*-μεθυλοτρυπταμίνη και 3-βρώμο-*N*-μεθυλοτυραμίνη, καθώς και ένα παράγωγο βρωμοινδολίου. Επιπρόσθετα, έχουν

απομονωθεί η μωβ χρωστική με δομή αζουλενίου, το λιντεραζουλένιο, καθώς και δύο παράγωγά του. Η ομάδα των λιντεραζουλενίων έχει παρουσιάσει μέτρια κυτταροτοξικότητα.



Εικόνα 28 –Δευτερογενείς μεταβολίτες του γένους *Paramuricea*.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2°: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## Γενικές πληροφορίες

### Οργανολογία και λοιπές πληροφορίες

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους Bruker AC 200 και Bruker DRX 400 και Varian 600. Τα 2D NMR πειράματα πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τις τυποποιημένες ακολουθίες παλμών Bruker και Varian. Για τη λήψη όλων των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δευτεριωμένοι διαλύτες:  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$  και  $\text{D}_2\text{O}$ .

Τα φάσματα μάζας χαμηλής ευκρίνειας καταγράφηκαν σε φασματογράφο μάζας Hewlett-Packard 5973 με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων (EIMS) ή σε φασματογράφο μάζας Thermo Electron Corporation DSQ με μέθοδο ιονισμού τον θετικό χημικό ιονισμό χρησιμοποιώντας  $\text{CH}_4$  ως το αέριο ιονισμού (PCIMS).

Τα φάσματα μάζας υψηλής ευκρίνειας (HRMS) καταγράφηκαν σε φασματογράφο μάζας Thermo Scientific LTQ Orbitrap Velos mass spectrometer.

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί HPLC πραγματοποιήθηκαν στους εξής χρωματογράφους/στήλες χρωματογραφίας:

**Πίνακας 2** – Συστήματα χρωματογραφίας που χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής.

Στήλες Χρωματογραφίας (HPLC)	HPLC
Supelcosil LC-Si 5 $\mu\text{m}$ , 25 cmx10mm	Agilent 1100 Series Pharmacia LKB_HPLC (Shodex-RI102 Detector) CECIL 1100 WATERS 600
Lichorsobr 10 DIOL, 25cmx4.6mm	
Chiralcel OD, DAICEL, 25cmx10mm	
Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm	
Nucleosil SP 250/10, 100-7, C18, 25cmx10mm	
Spherisorb S10 ODS2, PhaseSep, 25cmx10mm	
Nucleosil C8 SP250/10, 100-7, C8, Macherey-Nagel, 25cmx10mm	
Kromasil 100 C18 5 $\mu\text{m}$ , M2- Analysen Technik	

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

Οι στερεοχημικές διαμορφώσεις δομής ελάχιστης ενέργειας σχεδιάστηκαν με το υπολογιστικό πρόγραμμα μοριακής μοντελοποίησης HyperChem 7.0 (Hypercube, Inc.).

## Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια

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

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί υγρής χρωματογραφίας βαρύτητας πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης της στήλης, γέλη πυριτίου κανονικής φάσης Kieselgel 60A flash (35-70  $\mu\text{M}$ ) της εταιρείας Merck.

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί εκχύλισης στερεής φάσης πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας προκατασκευασμένες στήλες γέλης πυριτίου κανονικής ( $\text{SiOH}$ ) ή αντίστροφης ( $\text{C}_{18}$ ) φάσης τύπου SEP-PAK (Silica cartridge for rapid sample preparation) της εταιρείας Waters Associates ή Chromafix της εταιρείας Macherey-Nagel.

Οι χρωματογραφικοί προσδιορισμοί TLC πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας πλάκες αλουμινίου με επίστρωση Kieselgel 60 G/UV<sub>254</sub> (20 x 20 cm, πάχους 0,2 mm) της εταιρείας Macherey-Nagel. Μετά την ανάπτυξη τους σε κατάλληλο σύστημα διαλυτών, οι πλάκες ελέγχονταν σε λάμπα υπεριώδους φωτός (UV) στα 254 nm και 365 nm και οι κηλίδες ανιχνεύονταν ύστερα από ψεκασμό με διάλυμα 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  σε MeOH και θέρμανση της πλάκας στους 100°C για περίπου 2min.

Οι διαλύτες cHex, EtOAc,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και MeOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences, οι οποίοι πριν από τη χρήση τους αποστάχθηκαν. Ο διαλύτης EtOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Οι διαλύτες *n*-Hex, *i*-Prop και  $\text{Me}_2\text{CO}$  ήταν καθαρότητας HPLC της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Όλοι οι διαλύτες πριν από τη χρήση τους σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν.

Το  $\text{H}_2\text{O}$  που χρησιμοποιήθηκε ήταν απεσταγμένο που στη συνέχεια διηθήθηκε μέσω συστήματος ρητινών.



## Συλλογή των οργανισμών

Οι συλλεχθέντες οργανισμοί παρουσιάζονται στην εικόνα 29. Βασικές πληροφορίες της συλλογής δίνονται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3** – Οι θαλάσσιοι οργανισμοί που συλλέχθηκαν στα πλαίσια της διατριβής.

Είδος/Οργανισμός		Βάθος συλλογής	Μέθοδος συλλογής	Περιοχή συλλογής	Περίοδος συλλογής
<i>Ciocalpyta sp.</i>	Σπόγγος	230 m	Βαθυσκάφος	Σαντορίνη	08/2010
<i>Aplysina cavernicola</i>	Σπόγγος	100-120 m	Με σύρση	Κυλλήνη	04/2010
<i>Paramuricea clavata</i>	Κοράλλι	80-110 m	Δίχτυα ψαράδων	Σάμος	06/2009
<i>Vidalia volubilis</i>	Φύκος	25-40 m	Με σύρση	Πόρτο Γερμενό	05/2009
<i>Laurencia microcladia</i>	Φύκος	10-15 m	SCUBA	Ζάκυνθος	08/2009
<i>Laurencia obtusa</i>	Φύκος	10-20 m	SCUBA	Λευκάδα	08/2012

Μετά τη συλλογή τους μεταφέρθηκαν με πάγο σε φορητό ψυγείο στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία τους.



*Ciocalypta* sp.



*Aplysina cavernicola*



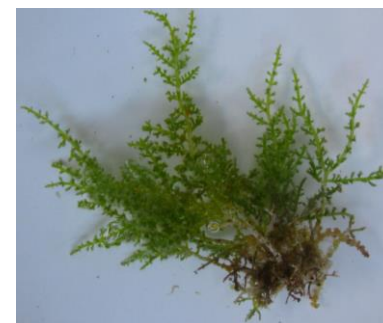
*Paramuricea clavata*



*Osmundaria volubilis*  
(syn. *Vidalia volubilis*)



*Laurencia obtusa*



*Laurencia microcladia*

Εικόνα 29 - – Οι θαλάσσιοι οργανισμοί που συλλέχθηκαν στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής.

## Πορεία διαχωρισμών – *Laurencia microcladia*

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

- MeOH (x2 επαναλήψεις), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (2:1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (3:1)

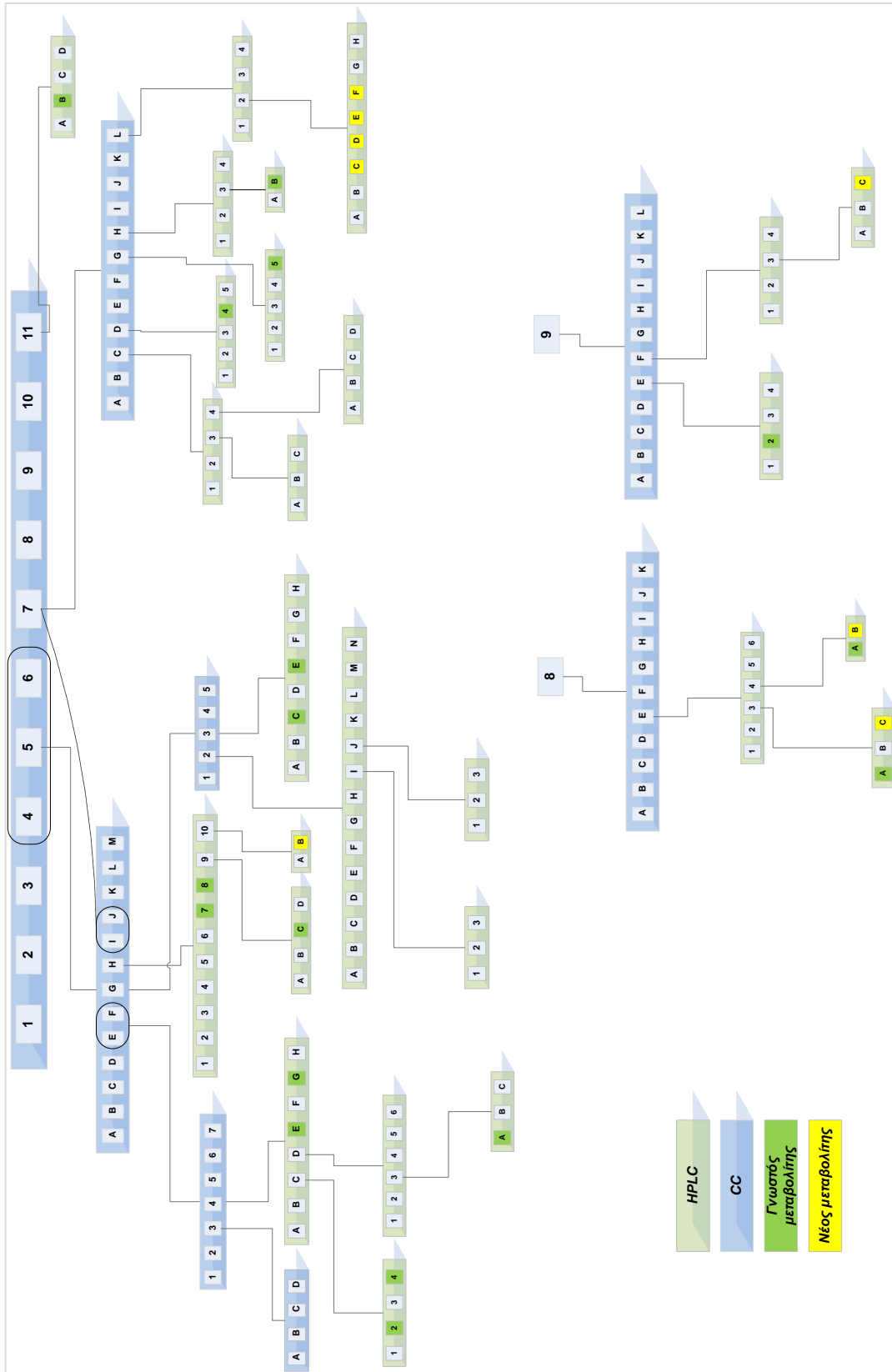
Το εκχύλισμα συμπυκνώθηκε υπό κενό και αφαλατώθηκε με απόλυτη αιθανόλη. Μετά από διήθηση και συμπύκνωση υπό κενό παρελήφθησαν 15.8 g στερεού υπολείμματος το οποίο χρωματογραφήθηκε σε στήλη με υποβοήθηση κενού (VLC) και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex, EtOAc και MeOH, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Παρελήφθησαν 20 κλάσματα, τα οποία αναλύθηκαν με TLC και ομαδοποιήθηκαν σε 11 κλάσματα.

**Πίνακας 4** – VLC στο ολικό εκχύλισμα του οργανισμού *Laurencia microcladia*.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH			Μάζα κλάσματος (mg)
<b>1</b>	100	0		46.5
<b>2</b>	95	5		40.0
<b>3</b>	95	5		59.3
	90	10		
<b>4</b>	90	10		31.0
	85	15		
<b>5</b>	85	15		382.8
	80	20		
<b>6</b>	80	20		384.8
<b>7</b>	75	25		459.4
	75	25		
<b>8</b>	70	30		264.4
	60	40		
	50	50		
<b>9</b>	40	60		242.4
	20	80		
	0	100		
<b>10</b>		90	10	166.2
		50	50	
<b>11</b>		0	100	2200

Ο φασματοσκοπικός έλεγχος οδήγησε στη συνένωση των κλασμάτων **4, 5 και 6**. Το κλάσμα που προέκυψε χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 13 κλάσματα.



Εικόνα 30 – Δενδρόγραμμα πορείας διαχωρισμών του θαλάσσιου οργανισμού *Laurencia microcladia*.

Πίνακας 5 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητα του κλάσματος 4.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	4A	1-16	121.9
99	1	4B	17-25	7.8
98	2	4C	26-40	16.4
97	3	4D	41-52	15.1
95	5	4E	53-58	138.4
93	7	4F	59-62	88.1
90	10	4G	63-68	125.8
85	15	4H	69-77	142.1
75	25	4I	78-85	136.1
50	50	4J	88-92	26.0
0	100	4K	93-95	18.2
		4L	96-101	7.0
		4M	101- 120	6.1

Ο φασματοσκοπικός έλεγχος (NMR) οδήγησε στη συνένωση των κλασμάτων **4E** και **4F**. Το κλάσμα που προέκυψε χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 7 κλάσματα.

Πίνακας 6 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 4E.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	<b>4E1</b>	1-14	3.5
100	0	<b>4E2</b>	15-38	4.0
99.5	0.5	<b>4E3</b>	39-42	90.3
99.5	0.5	<b>4E4</b>	43-46	51.7
98.5	1.5	<b>4E5</b>	47-55	29.0
98.5	1.5	<b>4E6</b>	56-60	11.1
95	5	<b>4E7</b>	61-78	16.5

Το κλάσμα **4E3** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών nHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 7 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4E3.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
	4E3A	100	0	
99		1	10	
4E3B	98	2	10	9.6
	98	2	10	
4E3C	97	3	10	15.2
	97	3	10	
4E3D	0	100	10	1.3
	0	100	10	

Το κλάσμα **4E4**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (97/3), υπό σταθερή ροή 1.5 ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 8 – Χρωματογραφία HPLC στο κλάσμα 4E4.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	9.8	11.0	
B	10.6	14.1	
C	17.5	14.9	
D	7.5	17.2	
E	2.6	19.4	<b>24 (LMZ14)</b>
F	1.9	19.8	
G	2.8	22.1	<b>28 (LMZ15)</b>
H	0.2	22.6	

Το κλάσμα **4E4C**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών nHex/EtOAc (97/3), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 9 – Χρωματογραφία HPLC στο κλάσμα 4E4C.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.8	15.1	
2	4.0	16.4	<b>32 (LMZ17)</b>
3	6.6	17.2	
4	2.3	19.2	<b>22 (LMZ16)</b>

Το κλάσμα **4E4D**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών nHex/EtOAc (97/3), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 10 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4E4D.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
1	0.1	17.7
2	0.5	19.1
3	3.7	20.3
4	2.1	22.3
5	4.2	23.0
6	1.7	24.1

Το κλάσμα **4E4D3**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών nHex/EtOAc (98/2), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 11 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4E4D3.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.8	26.6	<b>33 (LMZ18)</b>
B	2.3	27.5	
C	0.9	28.3	

Το κλάσμα **4G** χρωματογραφήθηκε με VLC και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 5 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 12 - Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4G.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
	cHex	EtOAc	V	
4G1	100	0	20	3.2
	100	0	20	
	98	2	20	
4G2	98	2	20	70.1
4G3	95	5	20	40.8
	95	5	20	

<b>4G4</b>	90	10	20	1.4
	90	10	20	
<b>4G5</b>	80	20	40	2.7

Το κλάσμα **4G2**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (95/5), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 13 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G2.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
A	3.1	12.5
B	1.3	13.6
C	0.2	13.8
D	1.1	14.7
E	2.0	15.6
F	0.1	16.7
G	0.7	17.1
H	0.1	18.1
I	1.9	18.4
J	1.0	19.2
K	1.1	19.8
L	2.2	19.9
M	22.5	22.4
N	0.1	24.5

Το κλάσμα **4G2I**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (96/4), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 14 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G2I.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
1	0.1	18.2
2	0.6	20.3
3	0.3	21.9

Το κλάσμα **4G2J**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (96/4), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.



Πίνακας 15 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G2J.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
1	0.1	18.7
2	0.4	20.3
3	0.2	21.6

Το κλάσμα **4G3**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (95/5), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 16 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G3.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	2.1	18.8	
B	3.4	19.0	
C	17.6	22.2	<b>25 (LMZ01)</b>
D	2.6	23.6	
E	2.2	24.5	<b>27 (LMZ06)</b>
F	0.9	26.1	
G	0.6	27.7	
H	0.8	28.4	

Το κλάσμα **4H** το επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 3 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 17 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4H.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.5	10.7	
2	0.8	16.3	
3	6.6	17.0	25 (LMZ01)
4	6.2	17.4	
5	3.5	18.1	
6	4.5	19.7	
7	5.4	20.3	<b>26 (LMZ03)</b>
8	10.2	22.6	<b>10 (LMZ02)</b>
9	21.4	23.7	

10	1.3	28.8	
----	-----	------	--

Το κλάσμα **4H9** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 18 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4H9.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	1.0	21.1	
B	5.0	23.7	
C	4.9	24.9	<b>11 (LMZ04)</b>
D	1.9	26.2	

Το κλάσμα **4H10** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 19 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4H10.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.1	21.3	
B	1.2	26.1	<b>21 (LMZ05)</b>

/

Ο φασματοσκοπικός έλεγχος οδήγησε στη συνένωση των κλασμάτων **7**, **4I** και **4J**. Το κλάσμα που προέκυψε χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου (silica gel). Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 12 κλάσματα.

Πίνακας 20 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 7.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	7A	1-28	27.4
97	3	7B	29-44	40.7
95	5	7C	45-49	27.1
93	7	7D	50-54	30.3

90	10
85	15
80	20
75	25
50	50

7E	55-58	92.2
7F	59-63	163.7
7G	64-82	90.7
7H	83-89	27.2
7I	90-100	44.9
7J	101-106	10.5
7K	107-110	14.0
7L	111-130	40.1

Το κλάσμα **7C** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 21 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 7C.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
1	5.0	17.1
2	0.5	18.8
3	5.4	19.5
4	1.0	20.3

Το κλάσμα **7D** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 22 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 7D.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.6	17.7	
2	1.9	19.5	
3	1.0	20.3	
4	1.9	22.3	<b>23 (LMZ19)</b>
5	10.1	23.9	

Το κλάσμα **7G** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 3 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 23 –Χρωματογραφία HPLC στο κλάσμα 7G.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	20.8	25.8	25 (LMZ01)
2	13.2	26.7	10 (LMZ02)
3	5.8	33.9	
4	8.4	40.1	
5	7.9	41.6	<b>12 (LMZ12)</b>

Το κλάσμα **7H**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (90/10), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 24 – Χρωματογραφία HPLC στο κλάσμα 7H.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.6	22.6	
2	8.7	23.4	12 (LMZ12)
3	2.5	24.9	
4	3.1	35.6	

Το κλάσμα **7H3**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, σε HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (90/10), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 25 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 7H3.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.4	25.6	12 (LMZ12)
B	1.0	27.0	<b>13 (LMZ13)</b>

Το κλάσμα **7L** χρωματογραφήθηκε με VLC με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών nHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 26 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 7L.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως			Μάζα κλάσματος (mg)
<b>7L1</b>	85	15	10	0.2
<b>7L2</b>	75	25	10	20.9
<b>7L3</b>	50	50	10	18.3
<b>7L4</b>	0	100	10	5.3

Το κλάσμα **7L2** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (65/35), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 4 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 27 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 7L2.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	1.2	13.4	
<b>B</b>	0.6	15.2	
<b>C</b>	1.1	19.2	<b>17 (LMZ08)</b>
<b>D</b>	2.0	20.1	<b>16 (LMZ09)</b>
<b>E</b>	2.4	21.9	<b>18 (LMZ10)</b>
<b>F</b>	1.7	24.3	<b>19 (LMZ11)</b>
<b>G</b>	1.4	26.5	
<b>H</b>	0.4	29.0	

Το κλάσμα **8** χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 12 κλάσματα.

Πίνακας 28 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 8.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα συνενωμένων κλασμάτων
92	8			
90	10	<b>8B</b>	10-14	3.5
87	13	<b>8C</b>	15-19	4.2
80	20	<b>8D</b>	20-23	1.7
65	35	<b>8E</b>	24-38	43.0
0	100	<b>8F</b>	39-43	25.9
		<b>8G</b>	44	47.0
		<b>8H</b>	45-59	7.4
		<b>8I</b>	60-75	24.6


<b>8J</b>	76-89	27.8
<b>8K</b>	93-95	32.6

Το κλάσμα **8E**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσης σε στήλη (Supelcosil LC-SI 5 mm, 25cm X 10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc (93/7), υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 29** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 8E.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>1</b>	9.0	23.8	10 (LMZ02)
<b>2</b>	4.9	25.2	
<b>3</b>	1.8	30.6	
<b>4</b>	4.0	33.0	
<b>5</b>	8.8	36.1	12 (LMZ12)
<b>6</b>	2.1	36.6	

Το κλάσμα **8E3**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC αντιστρόφου φάσεως σε χειρόμορφη στήλη (Chiral). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από nHex/i-pr (93/7), υπό σταθερή ροή 2.0 ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 30** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 8E3.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	1.5	7.9	<b>29 (LMZ26)</b>
<b>B</b>	0.4	11.3	
<b>C</b>	1.0	23.4	<b>15 (LMZ28)</b>

Το κλάσμα **8E4**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC αντιστρόφου φάσεως σε χειρόμορφη στήλη (Chiral). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από nHex/i-pr (93/7), υπό σταθερή ροή 2.0 ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 31** - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 8E4.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	1.2	9.1	<b>31 (LMZ25)</b>
<b>B</b>	1.0	27.9	<b>14 (LMZ24)</b>

Το κλάσμα **9** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου (silica gel). Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και EtOAc, του οποία η πολικότητα παρέμεινε σταθερή σε αναλογία όγκων 95/5. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 12 κλάσματα.

Πίνακας 32 - Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 9.

Σύσταση κινητής φάσεως CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOAc	Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
<b>95/5</b>	<b>9A</b>	1-8	3.2
	<b>9B</b>	9-18	10.1
	<b>9C</b>	19-23	15.5
	<b>9D</b>	24-31	36.1
	<b>9E</b>	32-41	18.2
	<b>9F</b>	42-52	24.5
	<b>9G</b>	53-59	6.5
	<b>9H</b>	60-64	7.0
	<b>9I</b>	65-70	11.9
	<b>9J</b>	71-79	20.6
	<b>9K</b>	80-95	9.9
	<b>9L</b>	96-110	65.7

Το κλάσμα **9E**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό με HPLC αντιστρόφου φάσεως σε στήλη (Kromasil 100 C18 5μm, M2- Analysen Technik). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από MeOH, υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 33 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 9E.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>1</b>	0.3	4.9	
<b>2</b>	4.3	5.2	<b>34 (LMZ22)</b>
<b>3</b>	3.6	5.6	
<b>4</b>	0.7	6.1	

Το κλάσμα **9F**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC αντιστρόφου φάσης σε στήλη (Kromasil 100 C18 5μm, M2- Analysen Technik). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών MeOH/H<sub>2</sub>O 95/5, υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 34 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 9F.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
<b>1</b>	1.0	4.5
<b>2</b>	1.0	5.8

<b>3</b>	4.0	6.7
<b>4</b>	1.5	9.0

Το κλάσμα **9F3**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC αντιστρόφου φάσης σε στήλη (Kromasil 100 C18 5μm, M2- Analysen Technik). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών MeOH/H<sub>2</sub>O (95/5), υπό σταθερή ροή 1.5 ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 35 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 9F3.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	0.4	8.7	
<b>B</b>	2.3	9.5	
<b>C</b>	0.9	10.7	<b>20 (LMZ20)</b>

Το κλάσμα **11** χρωματογραφήθηκε με VLC με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών nHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 36 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 7L.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH			Μάζα κλάσματος (mg)	Μεταβολίτης
<b>11A</b>	98	2	10	1.2	
<b>11B</b>	90	10	10	5.4	<b>30 (LMZ21)</b>
<b>11C</b>	75	25	10	8.3	
<b>11D</b>	0	100	10	6.3	



Πορεία διαχωρισμών – *Laurencia obtusa*.

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

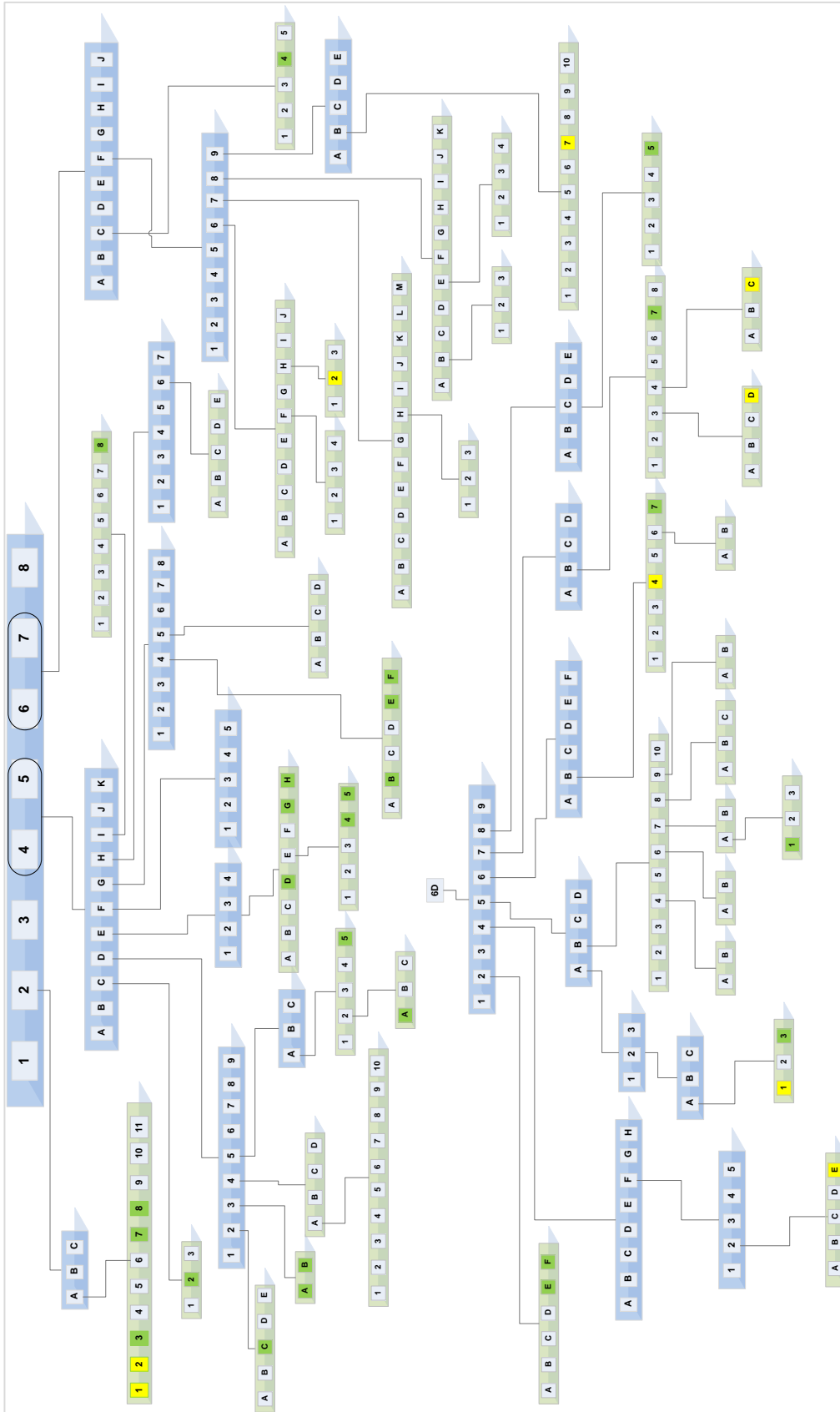
- MeOH (x2 επαναλήψεις), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (2:1)

Το εκχύλισμα συμπυκνώθηκε υπό κενό και αφαλατώθηκε με απόλυτη αιθανόλη. Μετά από διήθηση και συμπύκνωση υπό κενό παρελήφθησαν 8.5 g στερεού υπολείμματος το οποίο χρωματογραφήθηκε σε στήλη με υποβοήθηση κενού (VLC) και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex, EtOAc και MeOH, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Παρελήφθησαν 26 κλάσματα, τα οποία αναλύθηκαν με TLC και ομαδοποιήθηκαν σε 8 κλάσματα.

**Πίνακας 37** - VLC στο ολικό εκχύλισμα του οργανισμού *Laurencia sp.*

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσης cHex/EtOAc/MeOH			Μάζα κλάσματος (mg)
1	100	0		31.5
2	100	0		125.3
	95	5		
	95	5		
	90	10		
	90	10		
3	85	15		75.6
	85	15		
	80	20		
	80	20		
	75	25		
4	70	30		321.3
	65	35		
5	60	40		874.6
	55	45		
6	50	50		
	40	60		
	30	70		
7	20	80		
	10	90		
		100	0	
		90	10	
		80	20	
8		50	50	10.51 g
		0	100	



Εικόνα 31 – Δενδρόγραμμα πορείας διαχωρισμών θαλάσσιου οργανισμού *Laurencia obtusa*.

Το κλάσμα **2** μάζας χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 3 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

**Πίνακας 38** - Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 2.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος
	<b>2A</b>	100	0	
100		0	20	
99.5		0.5	20	
<b>2B</b>	99.5	0.5	20	8.7
	99	1	20	
<b>2C</b>	50	50	20	38.5

Το κλάσμα **2A**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη (Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από nHex 100% υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 5 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 39** - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 2A.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>1</b>	1.2	22.6	<b>43 (LL08)</b>
<b>2</b>	4.4	23.3	<b>42 (LL09)</b>
<b>3</b>	2.2	27.9	<b>44 (LL06)</b>
<b>4</b>	18.0	30.2	
<b>5</b>	0.5	34	
<b>6</b>	0.3	36.5	
<b>7</b>	4.1	38.3	<b>45 (LL07)</b>
<b>8</b>	1.9	42.1	<b>49 (LL10)</b>
<b>9</b>	0.5	47.0	
<b>10</b>	1.1	50.7	
<b>11</b>	2.5	53.8	

Ο φασματοσκοπικός έλεγχος NMR οδήγησε στη συνένωση των κλασμάτων **4** και **5**. Το κλάσμα που προέκυψε χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 11 κλάσματα.

Πίνακας 40 - Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητα του κλάσματος 4.

Σύσταση κινητής φάσης cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	4A	1-11	28.7
99	1	4B	12-30	16.8
98	2	4C	31-36	2.0
97	3	4D	39-44	325.2
96	4	4E	45-49	68.1
94	6	4F	50-55	86.7
92	8	4G	56-70	147.4
90	10	4H	71-80	127.0
85	15	4I	81-93	17.2
75	25	4J	94-100	19.5
0	100	4K	101-148	129.7

Το κλάσμα **4C** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη (Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 95:5 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 41 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4C.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτες
1	0.3	11.4	
2	1.7	12.5	<b>48 (LL42)</b>
3	1.4	12.8	

Το κλάσμα **4D** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 9 κλάσματα.

Πίνακας 42 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 4D.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
99	1	4D1	1-9	3.7
98.5	1.5	4D2	10-12	2.7
97.5	2.5	4D3	13-15	36.9
96	4	4D4	16-18	177.5
50	50	4D5	19-21	61.6
		4D6	22-23	12.6


<b>4D7</b>	24-27	10.4
<b>4D8</b>	28-30	2.1
<b>4D9</b>	31-	6.1

Το κλάσμα **4D2**, επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη (Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 99.5:0.5 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 43** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4D2.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	0.2	16.2	
<b>B</b>	0.2	16.6	
<b>C</b>	0.5	19.6	<b>35 (LL03)</b>
<b>D</b>	0.3	26.4	
<b>E</b>	0.1	31.1	

Το κλάσμα **4D3** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 99:1 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 44** - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4D3

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	9.2	21.0	<b>68 (LL01)</b>
<b>B</b>	13.9	24.0	<b>67 (LL02)</b>

Το κλάσμα **4D4** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 45 - Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4D4.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσης cHex/ EtOAc/ V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
4D4A	99	1	20	20.7
4D4B	99	1	20	0.3
4D4C	98	2	20	5.8
4D4D	97	3	20	23.8
	90	10	20	
	0	100	20	
	75	25	20	

Το κλάσμα **4D4A** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 99:1 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 46 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4D4A.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	32.0	20.6	68 (LL01)
2	6.5	23.1	67 (LL02)
3	0.8	25.4	
4	3.3	28.2	
5	6.9	28.7	
6	9.1	30.1	
7	3.8	30.9	
8	2.0	32.0	
9	0.5	35.0	
10	0.5	40.5	

Το κλάσμα **4D5** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 3 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 47 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4D5.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσης cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
4D5A	99	1	20	48.6
4D5B	97	3	20	5.2
4D5C	95	5	20	10.0

Το κλάσμα **4D5A** επιλέχθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 96:4 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 48 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4D5A.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	5.6	17.0	
2	2.2	19.0	
3	12.6	21.1	
4	16.3	21.7	
5	9.2	22.2	<b>50 (LL14)</b>

Το κλάσμα **4D5A2** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 96:4 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 49 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4D5A2.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.9	18.8	<b>69 (LL15)</b>
B	0.3	19.2	
C	0.5	20.6	

Το κλάσμα **4E** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 50 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4E.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/ V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
4E1	98	2	15	1.1
4E2	96	4	15	57.0
	94	6	15	
4E3	90	10	15	3.1
4E4	50	50	15	12.3
	0	100	15	

Το κλάσμα **4E2** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 3 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 51 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4E2.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	23.5	14.2	
B	2.0	16.3	
C	1.4	17.8	
D	8.4	19.3	<b>57 (LL29)</b>
E	7.4	20.6	
F	2.8	21.1	
G	1.6	25.7	<b>38 (LL19)</b>
H	4.0	27.0	<b>47 (LL30)</b>

Το κλάσμα **4E2E** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως με στήλη.... Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc 94/6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 καθαροί δευτερογενείς μεταβολίτες.

Πίνακας 52 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4E2E.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.7	16.8	
2	0.3	18.7	
3	0.3	20.6	
4	2.0	21.2	<b>66 (LL16)</b>
5	2.8	33.4	<b>46 (LL39)</b>

Το κλάσμα **4F** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 5 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 53 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4F.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
4F1	98	2	10	2.4



	97	3	10	
<b>4F2</b>	96	4	10	48.2
	95	5	10	
<b>4F3</b>	95	5	10	9.5
<b>4F4</b>	90	10	10	3.4
<b>4F5</b>	0	100	10	17.5

Το κλάσμα **4G** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 8 κλάσματα.

Πίνακας 54 –Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 4G.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
98	2	<b>4G1</b>	1-4	2.5
96	4	<b>4G2</b>	5-9	13.3
95	5	<b>4G3</b>	10-11	11.8
92	8	<b>4G4</b>	12-13	20.5
90	10	<b>4G5</b>	14-15	27.5
80	20	<b>4G6</b>	16-20	51.4
		<b>4G7</b>	21-22	8.6
		<b>4G8</b>	23	3.5

Το κλάσμα **4G4** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex/EtOAc 88:12 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 3 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 55 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G4.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>A</b>	1.9	16.3	
<b>B</b>	1.8	16.9	<b>64 (LL17)</b>
<b>C</b>	2.9	17.9	
<b>D</b>	1.2	18.6	
<b>E</b>	4.2	19.6	<b>58 (LL32)</b>
<b>F</b>	2.3	23.7	<b>62 (LL26)</b>

Το κλάσμα **4G5** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από

μίγμα cHex/EtOAc 88:12 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 56 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4G5.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	1.0	18.8	
B	1.5	19.7	58 (LL32)
C	4.8	23.5	
D	7.8	26.5	

Το κλάσμα **4H** μάζας χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 7 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 57 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 4H.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
	cHex	EtOAc	V	
4H1	100	0	20	0.3
4H2	98	2	20	0.3
4H3	96	4	20	5.8
4H4	94	6	20	23.8
4H5	92	8	20	43.9
4H6	90	10	20	21.3
4H7	75	25	20	10.7

Το κλάσμα **4H6** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 89:11 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 58 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4H6.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
A	3.4	23.4
B	2.2	26.1
C	1.9	27.3
D	2.5	30.8
E	2.4	35.9

Το κλάσμα **4I** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 80:20 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 59 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4I.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.6	17.6	
2	1.2	18.7	
3	3.6	20.6	
4	1.9	22.1	
5	1.6	22.8	
6	2.3	24.8	
7	1.6	26.9	
8	4.0	28.7	<b>59 (LL31)</b>

Το κλάσμα που προέκυψε από τη συνένωση των κλασμάτων **6** και **7** χρωματογραφήθηκε σε στήλη με υποβοήθηση κενού (VLC – Vacuum Column Chromatography) και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex, EtOAc και MeOH, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Πίνακας 60 –Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/ V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6A	100	0		1.0
6B	90	10		1.7
6C	80	20		8.5
6D	70	30		248.5
6E	30	70		969.1
6F	20	80		874.9
6G	10	90		95.7
6H	0	100		270.6
6I		90	10	81.0
		50	50	
6J		0	100	25.2

Το κλάσμα **6C** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από

μίγμα nHex/EtOAc 100:0 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 61 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6C.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.2	22.5	
2	0.8	23.7	
3	0.2	24.6	
4	1.4	29.8	<b>37 (LL12)</b>
5	0.7	31.0	

Το κλάσμα **6D** χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 9 κλάσματα.

Πίνακας 62 – Χρωματογραφία με στήλη βαρύτητας στο κλάσμα 6D.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	<b>6D1</b>	1-7	6.6
99	1	<b>6D2</b>	8-11	21.3
98.5	1.5	<b>6D3</b>	12-25	16.0
97.5	2.5	<b>6D4</b>	26-32	431.8
97	3	<b>6D5</b>	33-40	105.0
92	8	<b>6D6</b>	41-44	72.8
90	10	<b>6D7</b>	45-50	140.6
85	15	<b>6D8</b>	51-61	151.9
80	20	<b>6D9</b>	62-69	63.7

Το κλάσμα **6D2** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 100:0 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 63 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D2.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.3	19.1	
B	0.8	21.8	

<b>C</b>	0.8	22.4	
<b>D</b>	0.5	26.9	
<b>E</b>	0.8	28.2	<b>39 (LL04)</b>
<b>F</b>	0.8	34.1	<b>40 (LL05)</b>

Το κλάσμα **6D4** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 8 κλάσματα.

Πίνακας 64 – Χρωματογραφία σε στήλη βαρύτητας του κλάσματος 6D4.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
100	0	<b>6D4A</b>	1-15	6.1
99	1	<b>6D4B</b>	16-17	0.9
98	2	<b>6D4C</b>	18	38.1
97	3	<b>6D4D</b>	19	123.0
97	3	<b>6D4E</b>	20	93.2
95	5	<b>6D4F</b>	21-22	110.0
90	10	<b>6D4G</b>	23-30	17.0
50	50	<b>6D4H</b>	31-40	11.0

Το κλάσμα **6D4F** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 5 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 65 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D4F.

Κλασμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
<b>6D4F1</b>	99	1	15	19.8
<b>6D4F2</b>	98	2	15	38.3
<b>6D4F3</b>	98	2	15	26.4
<b>6D4F4</b>	98	2	15	4.9
	96	4	15	
	95	15	15	
<b>6D4F5</b>	0	100	15	11.1

Το κλάσμα **6D4F2** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 98:2 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 66 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D4F2.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	11.6	19.1	
B	5.6	19.7	
C	4.4	21.3	
D	2.2	21.9	
E	2.7	23.7	56 (LL43)

Το κλάσμα **6D5** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 67 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D5.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V (mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6D5A	97	3	15	19.2
6D5B	96	4	15	47.0
	95	5	15	
	95	5	15	
6D5C	90	10	15	4.6
6D5D	50	50	20	16.0

Το κλάσμα **6D5A3** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 68 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D5A3.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V (mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6D5A3A	95	5	15	6.5
6D5A3B	95	5	15	4.3
6D5A3C	75	25	15	3.3

Το κλάσμα **6D5A3A** χρωματογραφήθηκε με HPLC αντιστρόφου φάσεως σε στήλη Kromasil 100 C18 5μm, M2- Analysen Technik. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από CH<sub>3</sub>CN 100% υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καιαρή μορφή.

Πίνακας 69 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5A3A.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	3.0	7.6	60 (LL46)
2	0.7	9.9	
3	2.2	10.6	51 (LL47)

Το κλάσμα **6D5B** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 70 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
1	1.5	11.1
2	9.0	15.3
3	1.8	20.9
4	4.6	21.9
5	3.4	23.0
6	2.7	25.9
7	4.1	27.1
8	11.4	28.7
9	4.9	30.3
10	1.5	32.8

Το κλάσμα **6D5B4** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 71 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B4.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	2.3	22.6	66 (LL16)
B	0.1	23.2	

Το κλάσμα **6D5B6** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 72 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B6.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	1.1	25.6	
B	1.2	27.1	

Το κλάσμα **6D5B7** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 73 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B7.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	1.7	25.6	
B	0.2	27.1	

Το κλάσμα **6D5B7A** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 93:7 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 74 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B7A.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.8	31.6	63 (LL20)
2	0.2	33.2	
3	3.1	34.9	38 (LL19)

Το κλάσμα **6D5B8** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 93:7 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 75 – Χρωματογραφία με κλάσμα HPLC στο κλάσμα 6D5B8.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	3.3	33.1	63 (LL20)
B	0.2	34.9	
C	6.3	36.2	



Το κλάσμα **6D5B9** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 76 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D5B9.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	1.0	29.2	64 (LL17)
B	0.1	31.6	

Το κλάσμα **6D6** μάζας χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 6 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 77 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D6.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6D6A	95	5	15	3.1
6D6B	94	6	15	22.2
6D6C	94	6	15	12.4
6D6D	93	7	15	5.5
6D6E	90	10	15	2.1
6D6F	50	50	20	10.1

Το κλάσμα **6D6B** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 78 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D6B.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1		27.1	
2	3.4	29.2	
3	7.3	30.6	
4	3.3	33.6	41 (LL23)
5	2.4	40.2	
6	7.2	51.6	
7	8.8	54.2	61 (LL18)

Το κλάσμα **6D6B6** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 94:6 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 79 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D6B6.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	3.1	55.6	62 (LL26)
B	0.3	60.1	

Το κλάσμα **6D7** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 80 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D7.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6D7A	95	5	20	3.4
6D7B	94	6	20	16.3
	94	6	20	
6D7C	93	7	20	7.4
	90	10	20	
6D7D	50	50	20	45.2

Το κλάσμα **6D7B** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 93:7 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 81 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D7B.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.9	32.1	
2	0.3	35.3	
3	0.9	37.2	
4	1.3	38.8	
5	1.6	42.2	
6	6.0	45.7	
7	1.0	51.3	36 (LL22)
8	1.6	55.7	

Το κλάσμα **6D7B3** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 92:8 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 82 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D7B3.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.1	38.8	
B	0.3	42.8	
C	0.1	48.8	
D	0.8	53.9	<b>54 (LL27)</b>

Το κλάσμα **6D7B4** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα nHex/EtOAc 92:8 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 83 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D7B4.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
A	0.2	50.1	
B	0.1	54.2	
C	0.6	63.3	<b>53 (LL28)</b>

Το κλάσμα **6D8** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 5 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 84 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6D8.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6D8A	94	6	20	1.7
6D8B	93	7	20	3.6
6D8C	92	8	20	45.1
6D8D	91	9	20	29.9
	88	12	20	
6D8E	50	50	20	44.0

Το κλάσμα **6D8C**, χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 92:8 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 85 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6D8C.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.6	35.1	
2	1.9	39.8	
3	6.1	40.6	
4	1.7	43.6	
5	21.4	45.8	<b>65 (LL25)</b>

Το κλάσμα **6F** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 9 κλάσματα.

Πίνακας 86 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6F.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc		Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
96	4	6F1	1-7	2.8
95	5	6F2	8-16	31.9
93	7	6F3	17-31	15.7
90	10	6F4	32-40	44.9
88	12	6F5	41-48	101.1
80	20	6F6	49-57	79.3
70	30	6F7	58-79	136.4
50	50	6F8	80-83	169.3
		6F9	84	139.2

Το κλάσμα **6F6**, χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 87 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F6.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
A	2.5	11.5
B	4.3	13.7
C	3.4	14.2

<b>D</b>	6.4	15.2
<b>E</b>	3.9	15.6
<b>F</b>	9.0	16.5
<b>G</b>	10.8	16.7
<b>H</b>	4.1	17.8
<b>I</b>	5.0	19.1
<b>J</b>	7.3	20.3

Το κλάσμα **6F6F** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/Acetone 98:2 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

**Πίνακας 88** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F6F.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
<b>1</b>	0.9	16.3
<b>2</b>	0.8	17.6
<b>3</b>	1.8	18.0
<b>4</b>	2.3	18.6

Το κλάσμα **6F6H** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/Acetone 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 89** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F6H.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>1</b>	0.3	18.9	
<b>2</b>	3.2	19.5	<b>52 (LL35)</b>
<b>3</b>	0.3	20.3	

Το κλάσμα **6F7** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

**Πίνακας 90** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F7.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
<b>A</b>	2.0	13.9
<b>B</b>	2.3	14.6

<b>C</b>	3.9	15.4
<b>D</b>	4.1	17.2
<b>E</b>	4.6	17.8
<b>F</b>	3.9	18.4
<b>G</b>	6.6	19.3
<b>H</b>	5.0	20.2
<b>I</b>	44.6	21.2
<b>J</b>	4.1	23.0
<b>K</b>	5.0	24.2
<b>L</b>	9.1	27.1
<b>M</b>	3.9	31.3

Το κλάσμα **6F7H** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min

Πίνακας 91 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F7H.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
<b>1</b>	0.1	21.3
<b>2</b>	0.6	22.6
<b>3</b>	0.1	23.6

Το κλάσμα **6F8** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 92 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F8.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
<b>A</b>	7.5	22.0
<b>B</b>	5.3	24.2
<b>C</b>	7.1	25.4
<b>D</b>	10.6	26.3
<b>E</b>	10.2	27.8
<b>F</b>	4.6	28.5
<b>G</b>	4.2	29.1
<b>H</b>	4.6	31.2
<b>I</b>	7.3	33.8
<b>J</b>	3.8	36.8
<b>K</b>	13.7	38.8

Το κλάσμα **6F8B** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 93 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F8B.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
1	1.6	30.9
2	0.5	32.2
3	0.4	33.2

Το κλάσμα **6F8E** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzonobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 75:25 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 94 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F8E.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)
1	0.3	31.5
2	1.0	32.6
3	5.0	33.7
4	0.4	35.2

Το κλάσμα **6F9** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 5 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 95 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 6F9.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
6F9A	75	25	15	3.6
6F9B	70	30	15	20.2
	70	30	15	
6F9C	65	35	15	31.0
	65	35	15	
6F9D	55	45	15	17.0
	55	45	15	
6F9E	30	70	30	25.6

Το κλάσμα **6F9B** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 65:35 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 96 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 6F9B.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	3.0	18.9	
2	0.4	19.7	
3	1.1	19.9	
4	1.1	20.2	
5	1.7	23.1	55 (LL33)

Το κλάσμα **6F9C** χρωματογραφήθηκε με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Kromasil 100-10-Sil, Akzo-nobel, 25cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 65:35 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 97 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα στο κλάσμα 6F9C.

Κωδικός Κορυφής	Μάζα Κλάσματος	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.6	15.9	
2	0.7	18.9	
3	0.6	19.6	
4	0.7	19.9	
5	0.7	20.1	
6	1.7	23.1	55 (LL33)
7	0.6	24.2	
8	0.7	25.3	
9	0.8	27.2	
10	1.1	29.8	

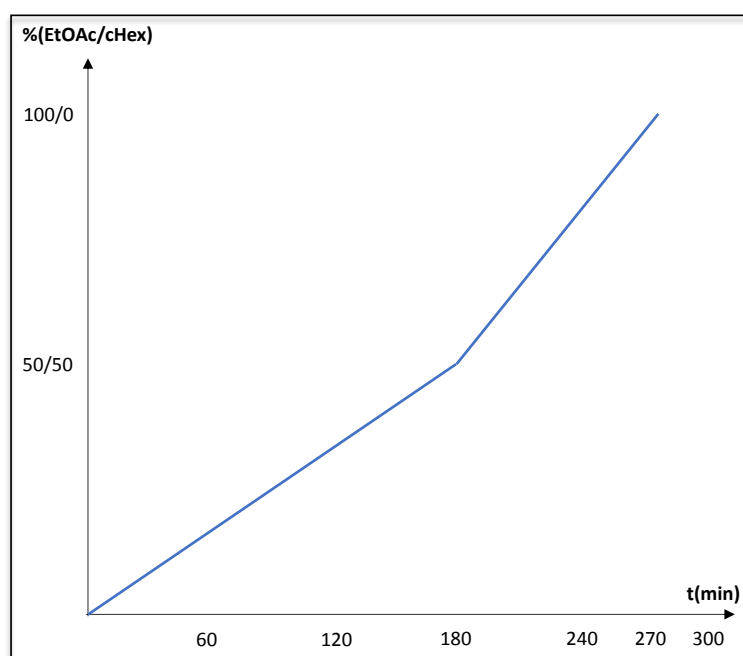


Πορεία διαχωρισμών – *Paramuricea clavata*

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (3:1) (x3 επαναλήψεις)

Το εκχύλισμα συμπυκνώθηκε υπό κενό και τοποθετήθηκε σε στήλη MPLC. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc και MeOH, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Η βαθμίδωση της έκλουσης σε συνάρτηση με το χρόνο παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα. Η ροή της κινητής φάσεως ορίστηκε στα 14 ml/min. Μετά τα 270 min, η βαθμίδωση της έκλουσης, μεταβαλλόταν κάθε 100mL ανά 10%, ξεκινώντας από EtOAc (100%) και τερματίζοντας με MeOH (100%).



Εικόνα 32 – Σύσταση του μίγματος διαλυτών συναρτήσει του χρόνου κατά τη διάρκεια της MPLC

Τα κλάσματα τα οποία παρελήφθησαν, αναλύθηκαν με TLC και ομαδοποιήθηκαν σε 11 κλάσματα.

Πίνακας 98 – Χρωματογραφία με MPLC στο ολικό εκχύλισμα του οργανισμού.

Κλάσματα	Όνομα κλάσματος	Μάζα κλάσματος (mg)
1-19	1	5.2
20-49	2	527.3
50-51	3	6.3
52-63	4	452.3
64-83	5	312.8
84-93	6	41.1

94-105	<b>7</b>	21.6
106-114	<b>8</b>	71.3
117-126	<b>9</b>	21.1
127-138	<b>10</b>	11.9
139-170	<b>11</b>	398.3

Το κλάσμα **2** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 6 κλάσματα.

Πίνακας 99 – Χρωματογραφία με στήλη βαρύτητας στο κλάσμα 2.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH			Κλάσμα	Μάζα κλάσματος (mg)
<b>98</b>	<b>2</b>		<b>2A</b>	1.3
<b>95</b>	<b>5</b>		<b>2B</b>	422.8
<b>50</b>	<b>50</b>		<b>2C</b>	10.3
<b>0</b>	<b>100</b>		<b>2D</b>	8.5
	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>2E</b>	42.2
	<b>0</b>	<b>100</b>	<b>2F</b>	7.3

Το κλάσμα **2B** χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και CHCl<sub>3</sub>, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 6 κλάσματα. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 100 – Χρωματογραφία με στήλη βαρύτητας στο κλάσμα 2B.

Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH			Κλάσμα	Μάζα κλάσματος (mg)	Μεταβολίτης
<b>100</b>	<b>0</b>		<b>2B1</b>	31.2	<b>5 (PC01)</b>
<b>100</b>	<b>0</b>		<b>2B2</b>	4.1	
<b>100</b>	<b>0</b>		<b>2B3</b>	4.8	
<b>99</b>	<b>1</b>		<b>2B4</b>	0.8	<b>6 (PC02)</b>
<b>95</b>	<b>5</b>		<b>2B5</b>	122.3	
<b>90</b>	<b>10</b>		<b>2B6</b>	156.6	
<b>60</b>	<b>40</b>				

Το κλάσμα **9** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 4 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 101 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 9.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσης cHex/ EtOAc/ V(mL)			Μάζα κλάσματος (mg)
<b>9A</b>	50	50	20	2.1
<b>9B</b>	50	50	20	4.9
<b>9C</b>	50	50	20	11.0
<b>9D</b>	45	55	20	3.8
<b>9E</b>	40	60	20	0.7
<b>9F</b>	20	80	20	2.0

Το κλάσμα **9D** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Supercosil LC-Si 5μm, 25 cmx10mm Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 50:50 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 102 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 9D.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
<b>1</b>	0.3	31.2	
<b>2</b>	1.9	35.6	<b>7 (PC03)</b>
<b>3</b>	1.0	37.2	

Πορεία διαχωρισμών – *Ciocalypta* sp.

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

- Ακετόνη (x2 φορές), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (x2 φορές), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1)

Ένα μέρος του εκχύλισματος CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1) μάζας 1.4 g χρωματογραφήθηκε σε στήλη βαρύτητας με στατική φάση C<sub>18</sub> silica gel. Η κινητή φάση αποτελούνταν από MeOH/H<sub>2</sub>O (6:4).

Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 12 κλάσματα. Παρελήφθη ένας δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 103 – Χρωματογραφία με στήλη βαρύτητας στο ολικό εκχύλισμα

Κλάσμα	Μάζα κλάσματος (mg)	Μεταβολίτης
1	649.9	
2	53.3	
3	34.7	
4	25.1	
5	48.4	1 (CSP01)
6	6.4	
7	13.9	
8	28.3	
9	18.6	
10	17.9	
11	17.4	
12	53.3	

Πορεία διαχωρισμών – *Aplysina cavernicola*

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

Ακετόνη (x1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 1:1 (x1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 2:1 (x1), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 3:1 (x1).

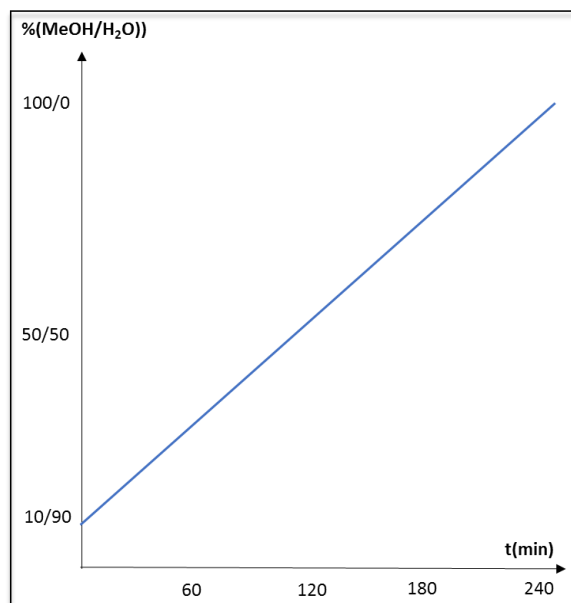
Το εκχύλισμα συμπυκνώθηκε υπό κενό και αφαλατώθηκε με απόλυτη αιθανόλη. Μετά από διήθηση και συμπύκνωση υπό κενό παρελήφθησαν 22.7 g στερεού υπολείμματος το οποίο χρωματογραφήθηκε σε στήλη με υποβοήθηση κενού (VLC) και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex, EtOAc και MeOH, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Παρελήφθησαν 15 κλάσματα, τα οποία αναλύθηκαν με TLC.

Πίνακας 104 – Χρωματογραφία με VLC στο ολικό εκχύλισμα.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH		Μάζα κλάσματος (mg)	
1	100	0	12.3	
2	90	10	68.9	
3	80	20	775.4	
4	70	30	1538	
5	60	40	251.5	
6	50	50	62.4	
7	40	60	22.6	
8	30	70	12.4	
9	20	80	9.5	
10	10	90	5.3	
11	0	100	20.3	
12		95	5	72.2
13		90	10	109.1
14		80	20	212.2
15		0	100	3200

Το κλάσμα 15 τοποθετήθηκε σε στήλη MPLC. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών MeOH και H<sub>2</sub>O. Η βαθμίδωση της έκλουσης σε συνάρτηση με το χρόνο παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα. Η ροή της κινητής φάσεως ορίστηκε στα 8 ml/min. Μετά τα 270 min, η βαθμίδωση της έκλουσης, μεταβαλλόταν κάθε 100mL ανά 10%, ξεκινώντας από EtOAc (100%) και τερματίζοντας με MeOH (100%). Η στατική φάση εκπλύθηκε μετά τη βαθμιδωτή έκλουση, με CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.



**Εικόνα 33** - Σύσταση του μίγματος διαλυτών συναρτήσει του χρόνου κατά τη διάρκεια της MPLC.

Τα κλάσματα τα οποία παρελήφθησαν, αναλύθηκαν με TLC και ομαδοποιήθηκαν σε 14 κλάσματα.

**Πίνακας 105** – Χρωματογραφία με MPLC στο κλάσμα 15.

Κλάσματα	Όνομα κλάσματος	Μάζα κλάσματος (mg)
1-5	<b>A</b>	5.2
6-12	<b>B</b>	527.3
13-17	<b>C</b>	6.3
18-21	<b>D</b>	452.3
22-28	<b>E</b>	312.8
23-38	<b>F</b>	41.1
39-47	<b>G</b>	21.6
48-56	<b>H</b>	71.3
57-67	<b>I</b>	21.1
65-83	<b>J</b>	11.9
84-99	<b>K</b>	398.3
100-118	<b>L</b>	15.5
119-135	<b>M</b>	45.8
136-150	<b>N</b>	109.6

Το κλάσμα **15J** χρωματογραφήθηκε με VLC σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex και EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Μετά τις συνενώσεις παρελήφθησαν 7 κλάσματα που παρουσίασαν παρόμοιο χημικό προφίλ.

Πίνακας 106 – Χρωματογραφία με VLC στο κλάσμα 15J.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσης cHex/ EtOAc/MeOH/ V(mL)				Μάζα κλάσματος (mg)
1	80	20		100	55.8
2	70	30		100	10.4
3	60	40		100	2.8
4	50	50		100	2.6
5	0	100		50	2.0
6		75	25	50	16.3
7		25	75	50	18.6

Το κλάσμα **15J1** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Supelcosil LC-Si 5μm, 25 cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 80:20 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min.

Πίνακας 107 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 15J1.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)
A	7.5	9.1
B	2.8	9.7
C	7.8	10.7
D	1.4	11.4
E	2.1	12.3
F	1.2	13.4
G	1.6	15.2
H	2.6	16.5
I	3.4	17.4
J	7.0	19.2

Το κλάσμα **15J1G** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Supelcosil LC-Si 5μm, 25 cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 80:20 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 108 - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 15J1G.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	0.7	12.4	2 (APC01)
2	0.4	15.1	

3	0.7	15.7	
---	-----	------	--

Το κλάσμα **15J1I** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Supelcosil LC-Si 5μm, 25 cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 80:20 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 109** - Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 15J1I.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.5	15.1	<b>4 (APC03)</b>
2	0.1	17.6	
3	0.4	18.2	

Το κλάσμα **15J1J** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC αντιστρόφου φάσεως σε στήλη Kromasil 100 C18 5μm, M2- Analysen Technik. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από MeOH υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθη 1 δευτερογενής μεταβολίτης σε καθαρή μορφή.

**Πίνακας 110** – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 15J1J.

Κωδικός κορυφής	Μάζα Κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	1.1	5.6	
2	2.9	9.1	<b>3 (APC02)</b>
3	1.2	10.6	
4	0.1	11.2	
5	3.5	11.8	



Πορεία διαχωρισμών – *Vidalia volubilis*

Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με:

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 3:1 (x3).

Το εκχύλισμα συμπυκνώθηκε και παρελήφθησαν 7.04 g στερεού υπολείμματος το οποίο χρωματογραφήθηκε σε στήλη με υποβοήθηση κενού (VLC) και στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών cHex, EtOAc, βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας.

Παρελήφθησαν 17 κλάσματα, τα οποία αναλύθηκαν με TLC.

**Πίνακας 111** – Χρωματογραφία με VLC στο ολικό εκχύλισμα του οργανισμού *Vidalia volubilis*.

Κλάσμα	Σύσταση κινητής φάσεως cHex/EtOAc/MeOH			Μάζα κλάσματος (mg)
1	100	0		32.2
2	90	10		
3	80	20		
4	70	30		45.2
5	60	40		62.2
6	50	50		103.3
7	40	60		45.5
8	30	70		52.1
9	20	80		20.3
10	10	90		90.4
11	0	100		
12		90	10	279.9
13		75	25	
14		50	50	
15		100	0	2430.4
16		100	0	
17		100	0	

Ο φασματοσκοπικός έλεγχος οδήγησε στη συνένωση των κλασμάτων **4-14**. Το κλάσμα που προέκυψε χρωματογραφήθηκε με στήλη βαρύτητας σε στατική φάση γέλη πυριτίου. Η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγματα διαλυτών CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/cHex (50/50 έως 100/0), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (100/0 έως 0/100) και MeOH/EtOAc (25/75 έως 100/0), βαθμιδωτά αυξανόμενης πολικότητας. Τα κλάσματα τα οποία προέκυψαν (μετά από έλεγχο με TLC) ομαδοποιήθηκαν σε 23 κλάσματα.

Πίνακας 112 – Χρωματογραφία με στήλη βαρύτητας στο κλάσμα 4.

Σύσταση κινητής φάσεως CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /cHex/EtOAc/MeOH				Κλάσμα	Αριθμός κλασμάτων	Μάζα κλάσματος (mg)
50	50			4A	1-6	20.2
60	40			4B	7-8	26.4
70	30			4C	9-11	26.7
80	20			4D	12-25	19.5
90	10			4E	26-37	11.6
100	0			4F	38-49	59.2
90		10		4G	50-70	12.5
80		20		4H	71-72	1.7
70		30		4I	73-85	74.4
60		40		4J	86-93	9.0
50		50		4K	94-110	6.0
40		60		4L	111-123	16.2
30		70		4M	124-135	13.7
20		80		4N	136-148	11.3
10		90		4O	149-175	53.9
0		100		4P	176-189	3.0
		75	25	4Q	190-232	18.3
		50	50	4R	233-248	13.5
		50	50	4S	249-256	8.8
		25	75	4T	257-277	33.9
		0	100	4U	278-284	59.0
		0	100	4V	285-286	30.7
				4W	287-295	112.1

Το κλάσμα **4I** επιλέχθηκε για περαιτέρω διαχωρισμό, με HPLC κανονικής φάσεως σε στήλη Supercosil LC-Si 5μm, 25 cmx10mm. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από μίγμα cHex/EtOAc 92/8 υπό σταθερή ροή 1.5ml/min. Παρελήφθησαν 2 δευτερογενείς μεταβολίτες σε καθαρή μορφή.

Πίνακας 113 – Χρωματογραφία με HPLC στο κλάσμα 4I.

Κωδικός κορυφής	Μάζα κλάσματος (mg)	t <sub>R</sub> (min)	Μεταβολίτης
1	5.3	42.4	8 (VV01)
2	6.1	43.5	
3	6.8	44.3	9 (VV02)
4	2.3	46.2	

## Πορεία διαχωρισμών – Επισκόπηση

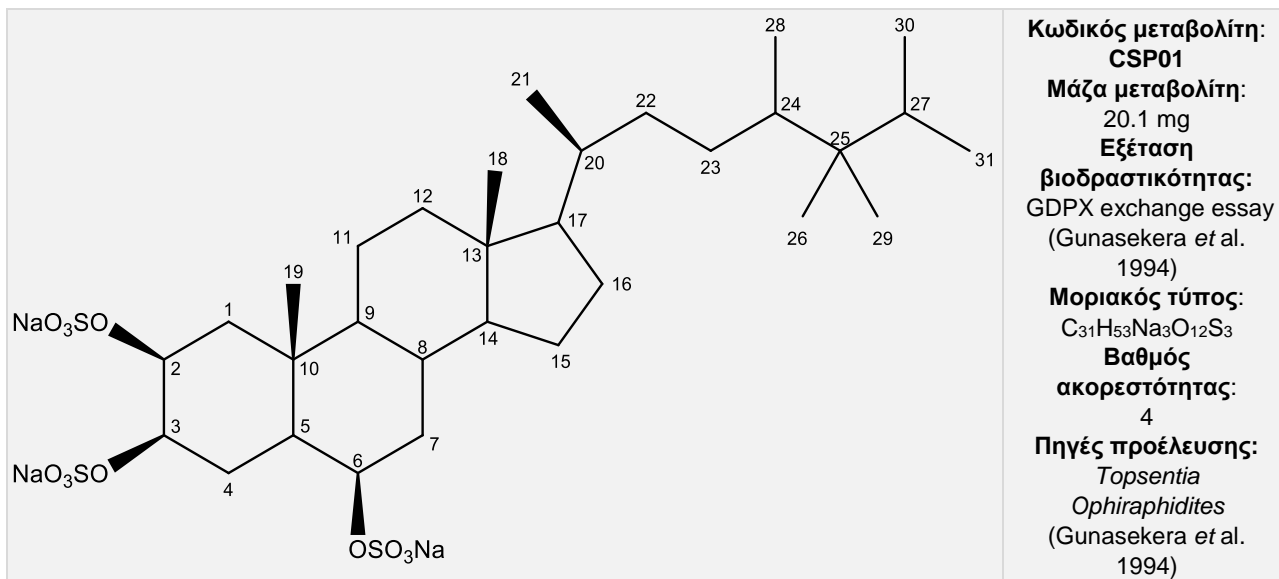
Πίνακας 114 – Επισκόπηση της πορείας διαχωρισμών των θαλάσσιων οργανισμών

Μεταβολίτης	Κωδικός	Κλάσμα απομόνωσης	Μάζα (mg)	Χημική κατηγορία
01	CSP01	5	48.4	Στεροειδές
02	APC01	15J1G	0.7	Διτερπένιο
03	APC02	15J1J	2.9	Διτερπένιο
04	APC03	15J1I	1.5	Διτερπένιο
05	PC01	2B1, 2B2	35.3	Αζουλένιο
06	PC02	2B4	0.9	Αζουλένιο
07	PC03	9D2	1.0	Στεροειδές
08	VV01	4I1	5.3	Στεροειδές
09	VV02	4I3	6.8	Στεροειδές
10	LMZ02	4H8, 7G2, 8E1	32.4	Ακετογενίνη
11	LMZ04	4H9C	4.9	Ακετογενίνη
12	LMZ12	7G5, 7H2, 7H3A, 8E5	38.7	Ακετογενίνη
13	LMZ13	7H3B	1.0	Ακετογενίνη
14	LMZ24	8E4B	1.2	Ακετογενίνη
15	LMZ28	8E3C	0.6	Ακετογενίνη
16	LMZ09	7L2D	2.0	Ακετογενίνη
17	LMZ08	7L2C	1.1	Ακετογενίνη
18	LMZ10	7L2E	2.4	Ακετογενίνη
19	LMZ11	7L2F	1.7	Ακετογενίνη
20	LMZ20	9F3C	0.9	Ακετογενίνη
21	LMZ05	4H10B	1.2	Ακετογενίνη
22	LMZ16	4E4C4, 4E4D4	4.4	Ακετογενίνη
23	LMZ19	7D4	1.9	Ακετογενίνη
24	LMZ14	4E4E	2.6	Σεσκιτερπένιο
25	LMZ01	4G3C, 4H3, 7G1	45.0	Σεσκιτερπένιο
26	LMZ03	4H7	5.4	Σεσκιτερπένιο
27	LMZ06	4G3E	2.2	Σεσκιτερπένιο
28	LMZ15	4E4G	2.8	Σεσκιτερπένιο
29	LMZ26	8E3A	1.5	Σεσκιτερπένιο
30	LMZ21	11B	5.4	Σεσκιτερπένιο
31	LMZ25	8E4A	1.2	Διτερπένιο
32	LMZ17	4E4C2, 4E4D2	4.5	Διτερπένιο
33	LMZ18	4E4D3A	0.8	Αλειφατική αλδεύδη
34	LMZ22	9E2	4.3	Φαινολική ένωση
35	LL03	4D2C	0.5	Σεσκιτερπένιο
36	LL22	6D7B7	1.0	Σεσκιτερπένιο
37	LL12	6C4	1.4	Σεσκιτερπένιο
38	LL19	4E2G, 6D5B7A3	4.7	Σεσκιτερπένιο
39	LL04	6D2E	0.8	Σεσκιτερπένιο
40	LL05	6D2F	0.8	Σεσκιτερπένιο
41	LL23	6D6B4	3.3	Σεσκιτερπένιο
42	LL09	2A2	4.4	Σεσκιτερπένιο

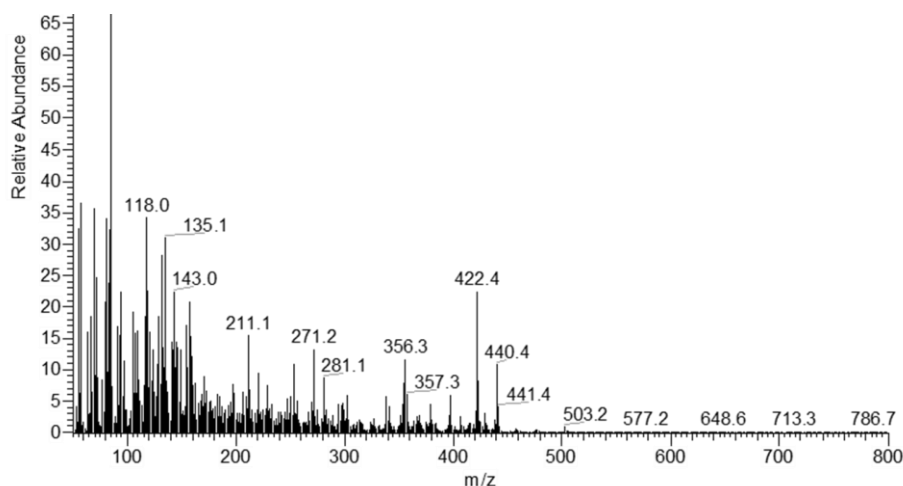
43	LL08	2A1	1.2	Σεσκιτερπένιο
44	LL06	2A3	2.2	Σεσκιτερπένιο
45	LL07	2A7	4.1	Σεσκιτερπένιο
46	LL39	4E2E5	2.8	Σεσκιτερπένιο
47	LL30	4E2H	4.0	Σεσκιτερπένιο
48	LL42	4C2	1.7	Σεσκιτερπένιο
49	LL10	2A8	1.9	Σεσκιτερπένιο
50	LL14	4D5A5	9.2	Σεσκιτερπένιο
51	LL47	6D5A3A3	2.2	Ακετογενίνη
52	LL35	6F6H2	3.2	Ακετογενίνη
53	LL28	6D7B4	0.6	Ακετογενίνη
54	LL27	6D7B3D	0.8	Ακετογενίνη
55	LL33	6F9B7, 6F9C7	3.4	Ακετογενίνη
56	LL43	6D4F2E	2.7	Ακετογενίνη
57	LL29	4E2D	8.4	Ακετογενίνη
58	LL32	4G4E, 4G5B	5.7	Ακετογενίνη
59	LL31	4I8	4.0	Ακετογενίνη
60	LL46	6D5A3A1	3.0	Ακετογενίνη
61	LL18	6D6B7	8.8	Ακετογενίνη
62	LL26	4G4F, 6D6B6A	5.4	Ακετογενίνη
63	LL20	6D5B8A	3.3	Ακετογενίνη
64	LL17	4G4B, 6D5B9A	2.8	Ακετογενίνη
65	LL25	6D8C5	21.4	Ακετογενίνη
66	LL16	4E2E, 6D5B4A	4.3	Ακετογενίνη
67	LL02	4D3B, 4D4A2	20.4	Ακετογενίνη
68	LL01	4D3A, 4D4A1	41.2	Ακετογενίνη
69	LL15	4D5A2A	0.9	Ακετογενίνη

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>: ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

## Μεταβολίτης 1



Ο μεταβολίτης **1** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.34) εμφανίζεται χαρακτηριστικό θραύσμα απόσπασης τριών θειϊκών ριζών σε  $m/z$  422.

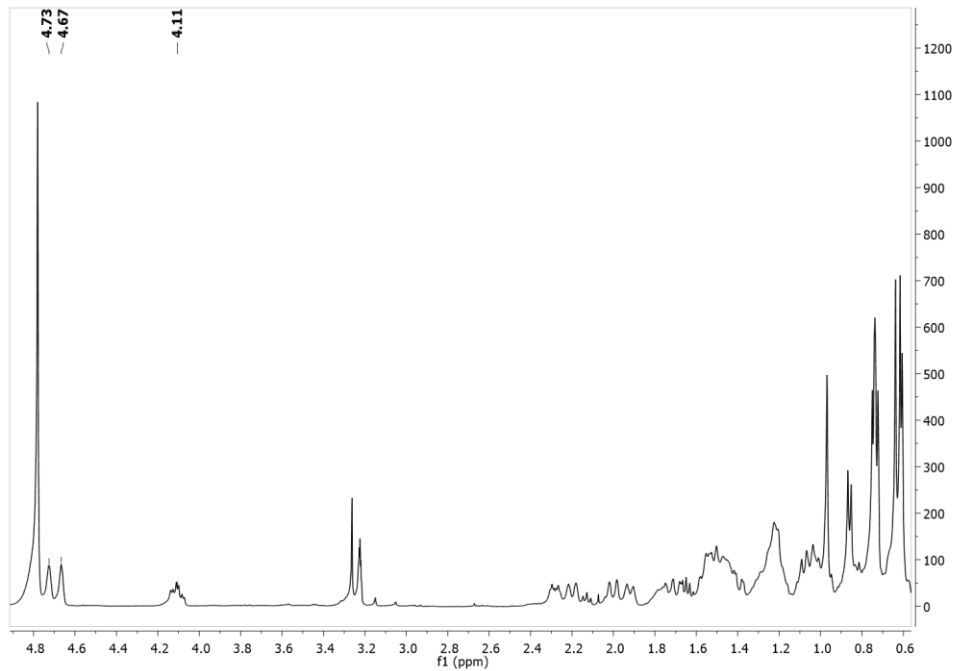


Εικόνα 34 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **1**.

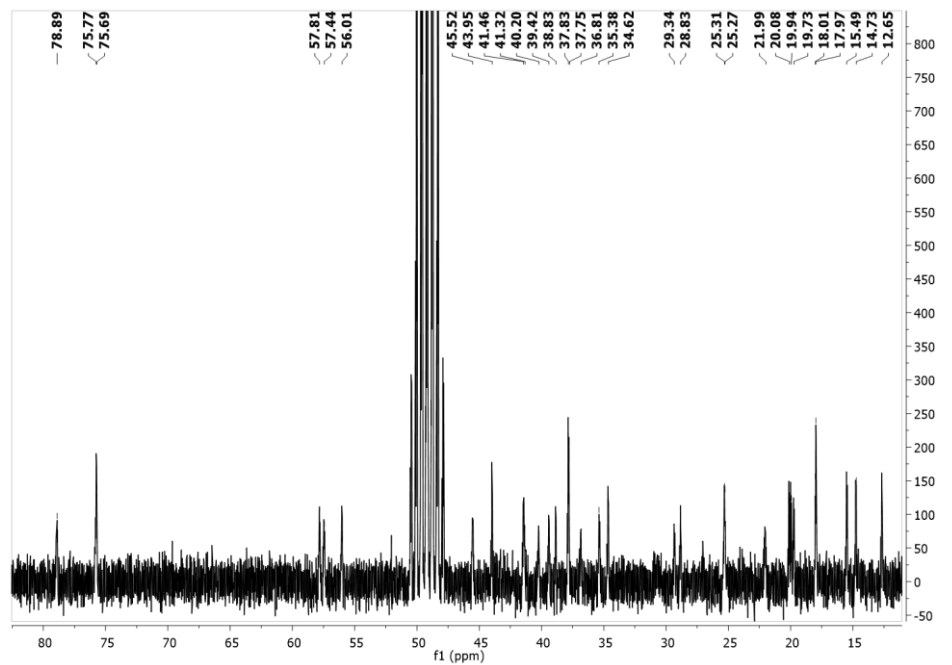
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.35) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Οκτώ κορυφές στην περιοχή δ 0.60 – 0.99, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια οκτώ μεθύλιων.

- Δύο ευρείες απλές κορυφές σε  $\delta$  4.73, 4.67 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.11, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια υδροξυλιωμένων ανθράκων.



Εικόνα 35 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) του μεταβολίτη 1.



Εικόνα 36 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) του μεταβολίτη 1.

Λόγω της έντονης σύμπτωσης των χημικών μετατοπίσεων του φάσματος  $^1\text{H}$  NMR στην περιοχή των μεθυλιών, για την ταυτοποίηση της δομής εκτός από το φάσμα μάζας χρησιμοποιήθηκαν ενισχυτικά

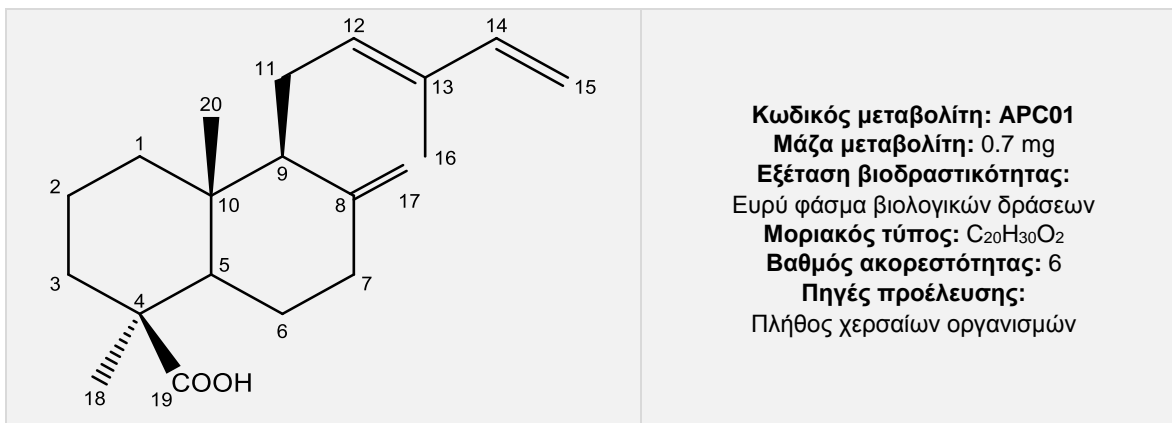
και τα δεδομένα του φάσματος  $^{13}\text{C}$  NMR (Εικ.36), τα οποία εμφάνισαν απόλυτη ταύτιση με τα αντίστοιχα βιβλιογραφικά. Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **1** ως το στεροειδές Ophirapstanol trisulfate (Gunasekera *et al.* 1994). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 115.

**Πίνακας 115** – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) του μεταβολίτη **1**.

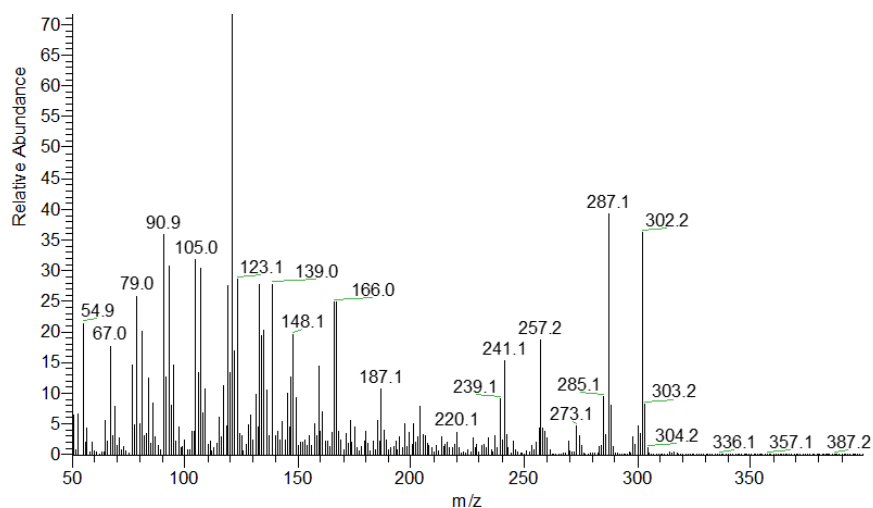
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	39.4	39.2
2	75.8	75.6
3	75.7	75.5
4	25.3	25.0
5	45.5	45.3
6	78.9	78.7
7	40.2	40.1
8	35.4	35.2
9	56.0	55.8
10	37.8	37.6
11	22.0	21.8
12	41.3	41.1
13	44.0	43.8
14	57.8	57.6
15	28.8	28.6
16	29.3	29.1
17	57.4	57.3
18	12.7	12.5
19	15.5	15.3
20	37.8	37.7
21	19.7	19.6
22	36.8	36.7
23	25.3	25.1
24	41.5	41.3
25	38.8	38.7
26	20.1	19.9
27	34.6	34.5
28	14.7	14.6
29	19.9	19.8
30	18.0	17.8
31	18.0	17.8



## Μεταβολίτης 2



Ο μεταβολίτης **2** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.37) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 302.

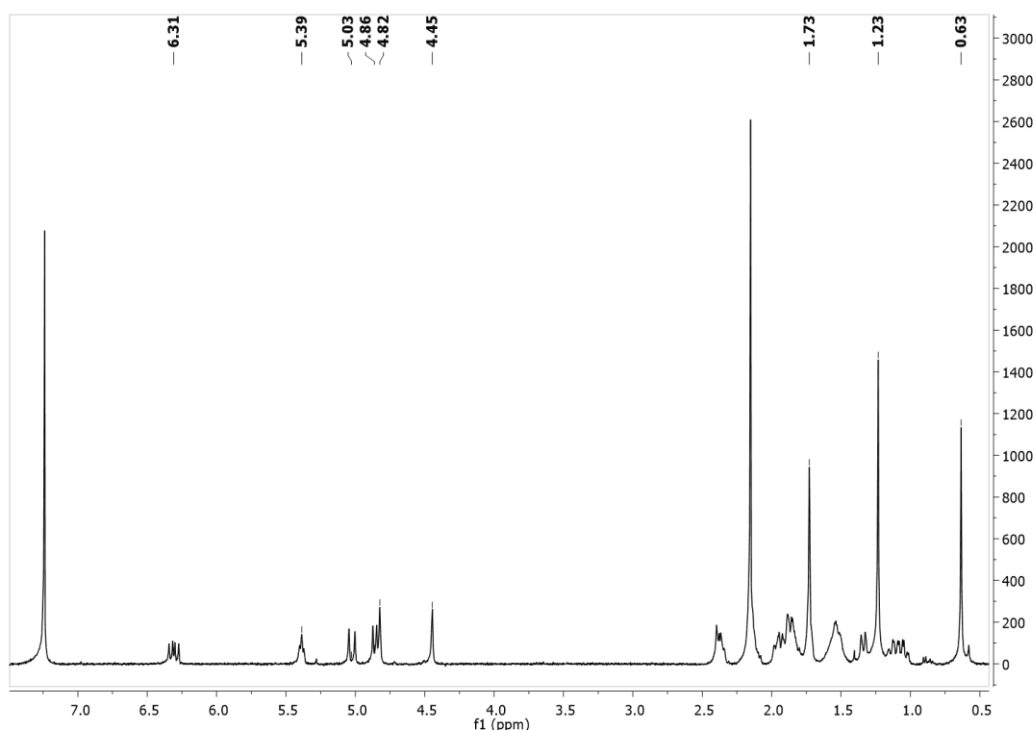


Εικόνα 37 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **2**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.38) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.23 και 0.63, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 1.73, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  5.39 και μια διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.31, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  5.03 και 4.85, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.
- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  4.82 και 4.45, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.



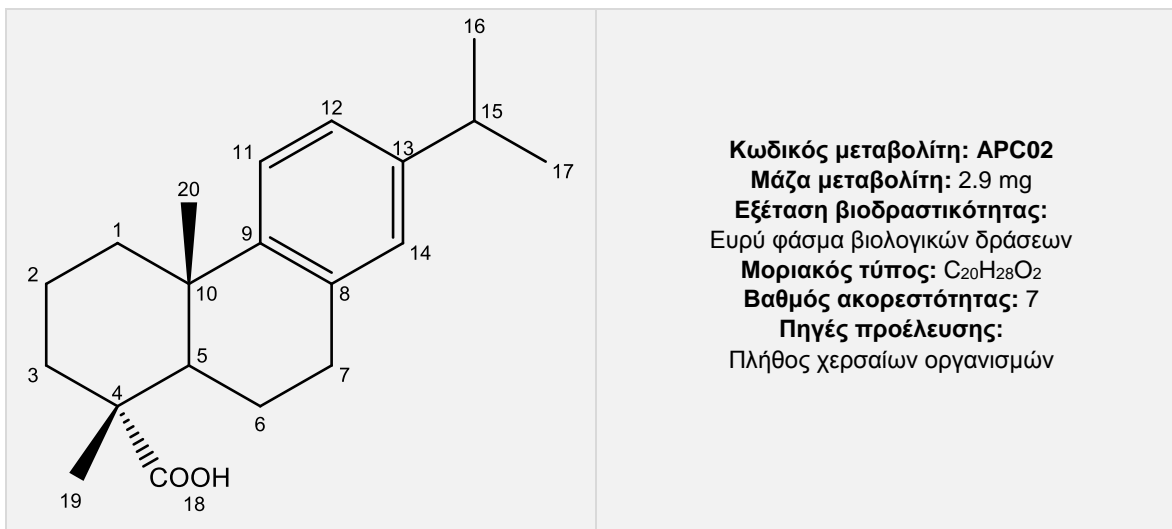
Εικόνα 38 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **2**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **2** ως το διτερπένιο *trans*-κομμουνικό οξύ (*trans*-communic acid) (Woo *et al.* 2011). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 116.

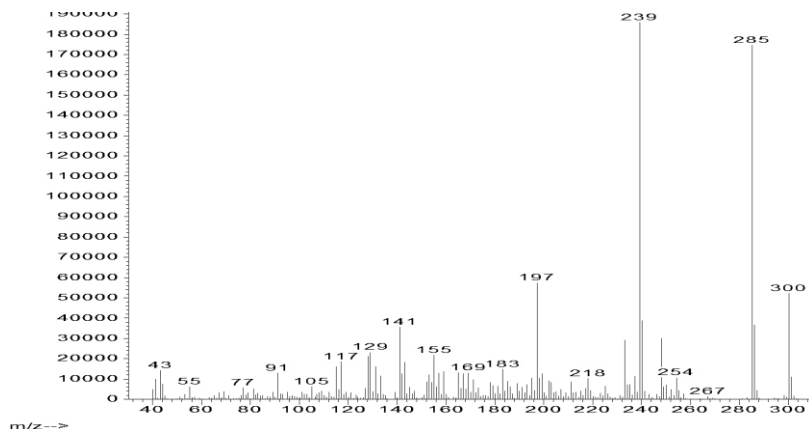
Πίνακας 116 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **2**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
12	5.39 dd (6.2, 6.1)	5.41 t (6.5)
14	6.31 dd (17.4, 10.6)	6.32 dd (17.5, 10.5)
15	5.03 d (17.4) 4.86 d (10.6)	5.03 d (17.0) 4.87 d (11.0)
16	1.73 s	1.75 s
17a	4.82 s	4.84 s
17b	4.45 s	4.47 s
18	1.23 s	1.25 s
20	0.63 s	0.65 s

### Μεταβολίτης 3



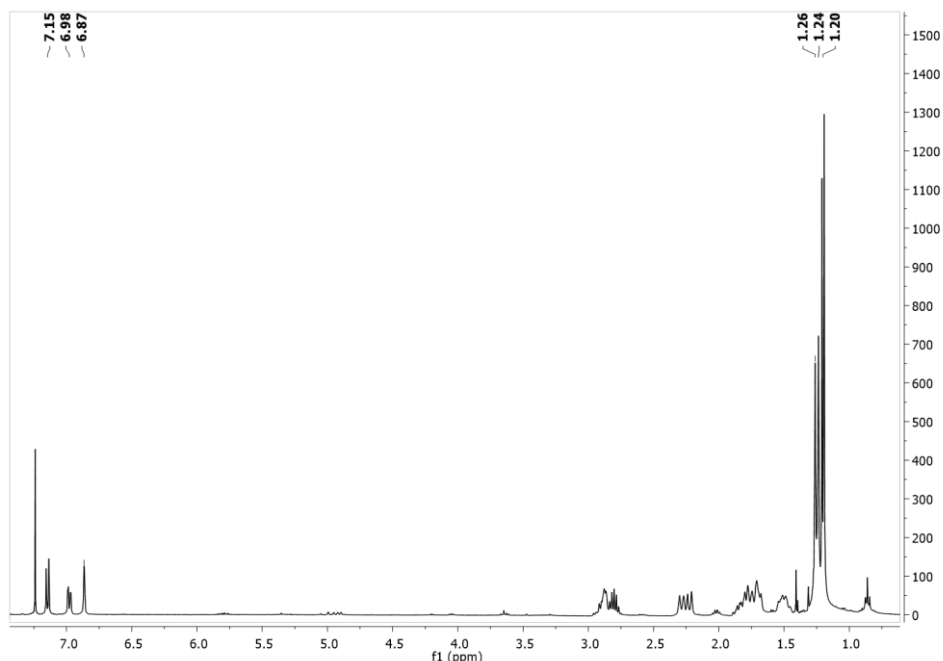
Ο μεταβολίτης **3** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.39) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  300.



Εικόνα 39 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **3**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.40) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  1.26 και 1.24, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  1.20, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλίων σε τριτοταγή άνθρακα.
- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  7.15, 6.98 και μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.87, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.



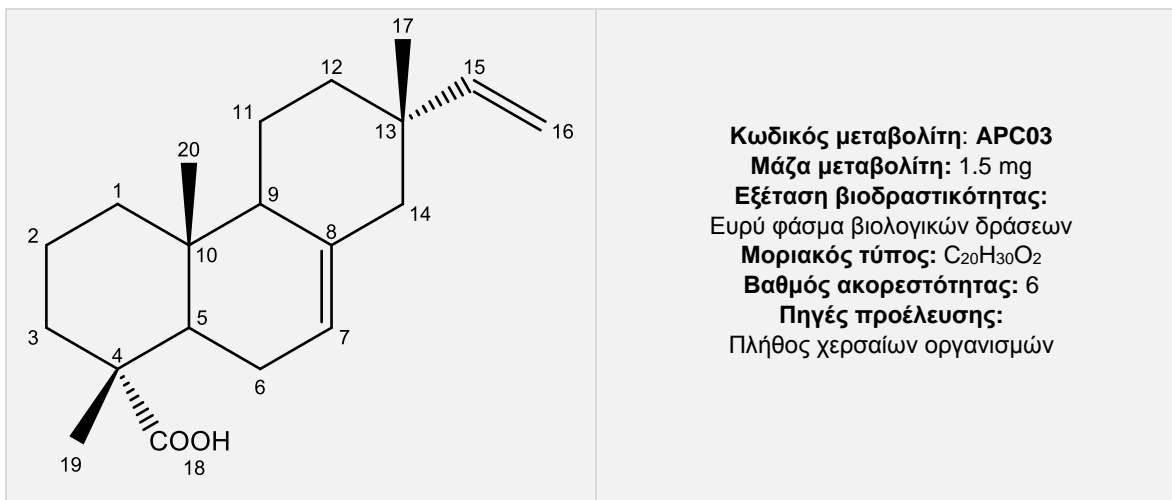
Εικόνα 40 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **3**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **3** ως το διτερπένιο δεϋδροαβιετικό οξύ (dehydroabietic acid) (Shyong and McChesney, 1992). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 117.

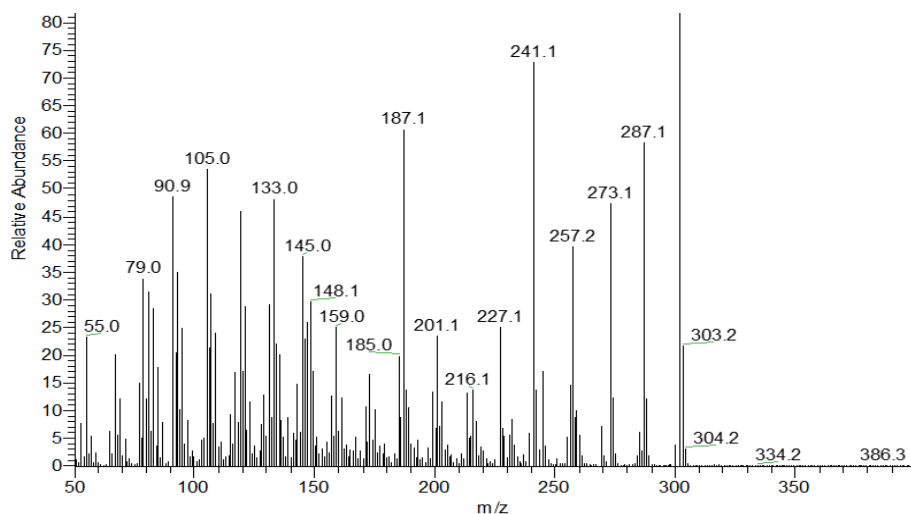
Πίνακας 117 - Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **3**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1a	2.26 m	2.28 m
1b	1.46 m	1.47 m
2a	1.70 m	1.72 m
2b	1.75 m	1.77 m
3	1.66 m	1.68 m
5	2.19 dd (12.3, 1.8)	2.21 dd (12.5, 1.8)
6	1.81 m	1.83 m
	1.50 m	1.51 m
7	2.86 m	2.88 m
11	7.15 d (8.2)	7.14 d (7.7)
12	6.98 d (8.2)	6.98 d (7.7)
14	6.87 br s	6.87 br s
15	2.81, septet (6.8)	2.80, septet (7.0)
16	1.20 d (6.5)	1.20 d (6.6)
17	1.20 d (6.5)	1.20 d (6.6)
19	1.26 s	1.26 s
20	1.24 s	1.23 s

## Μεταβολίτης 4



Ο μεταβολίτης 4 παρελήφθη με σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.41) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 302.

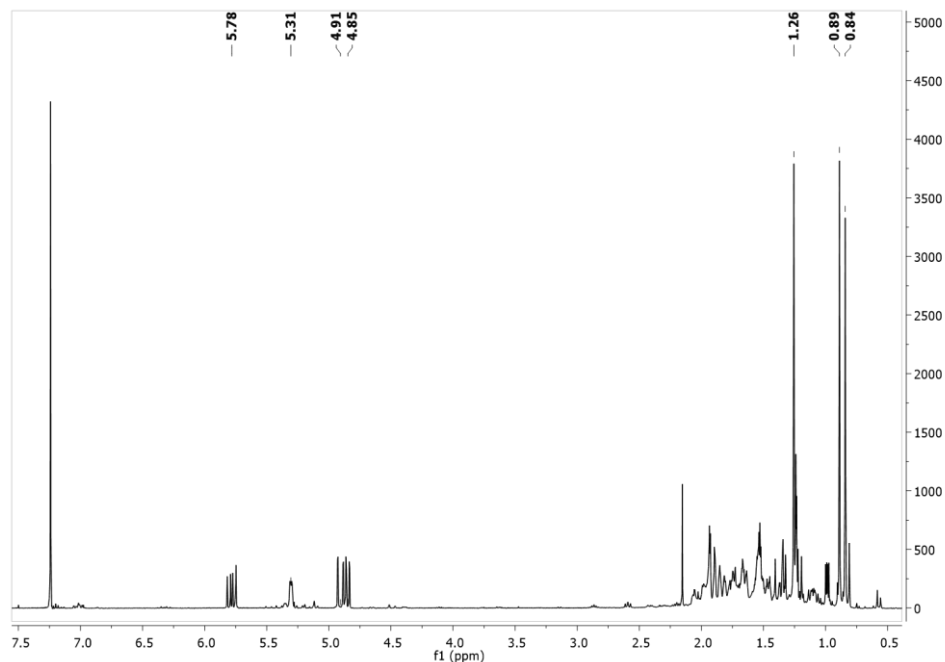


Εικόνα 41 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 4.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.42) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 0.84, 1.26 και 0.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλιών σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε δ 5.75 και μια διπλή διπλών κορυφή σε δ 5.78, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Δύο διπλές διπλών σε  $\delta$  4.91 και 4.85, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.



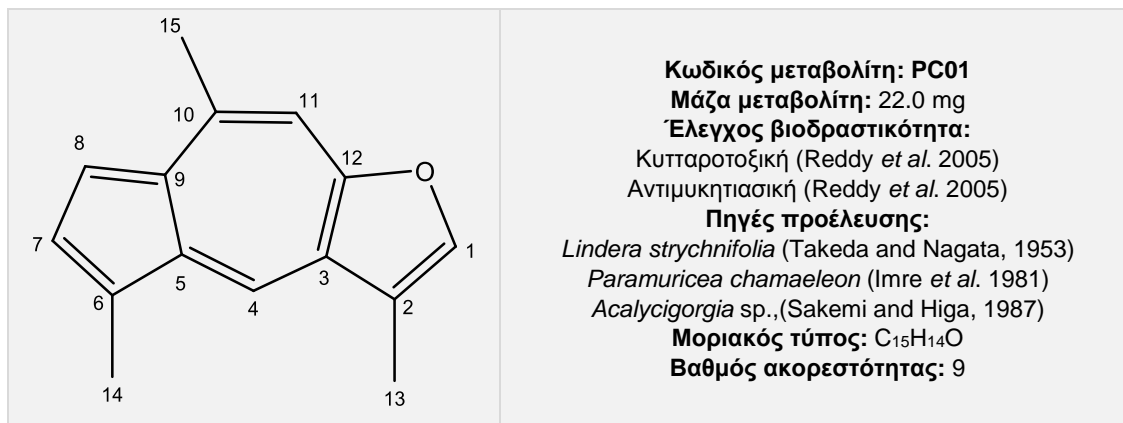
Εικόνα 42 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **4**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **4** ως το διτερπένιο ισοπιμαρικό οξύ (isoripmaric acid) (Ryu *et al.* 2010). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 118.

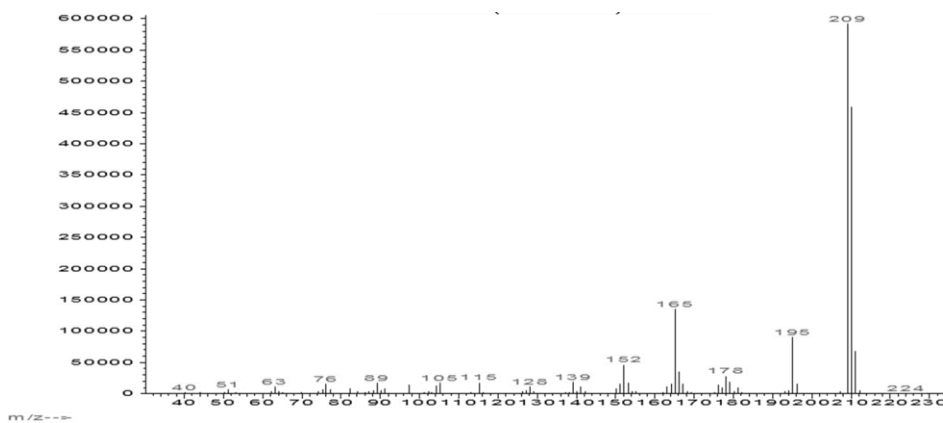
Πίνακας 118 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **4**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
7	5.75 br s	5.77 br s
15	5.78 dd (17.5, 10.8)	5.77 dd (17.2, 10.8)
16	4.91 dd (17.5, 1.4)	4.89 d (17.5)
	4.85 dd (10.8, 1.4)	4.83 d (10.8)
17	0.84 s	0.84 s
19	1.26 s	1.22 s
20	0.89 s	0.88 s

## Μεταβολίτης 5



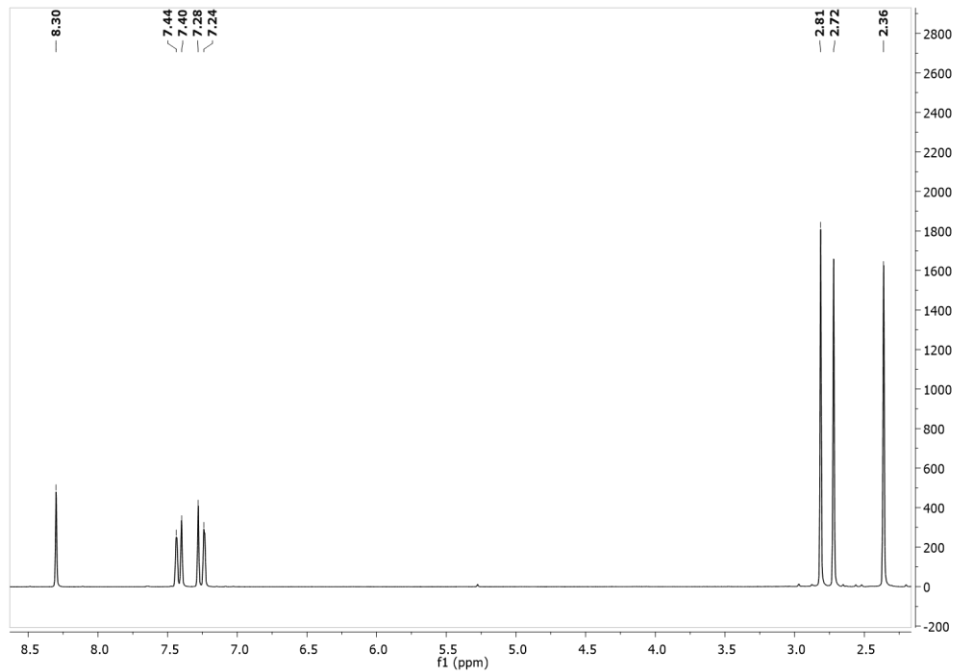
Ο μεταβολίτης 5 παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.43) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 210.



Εικόνα 43 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 5.

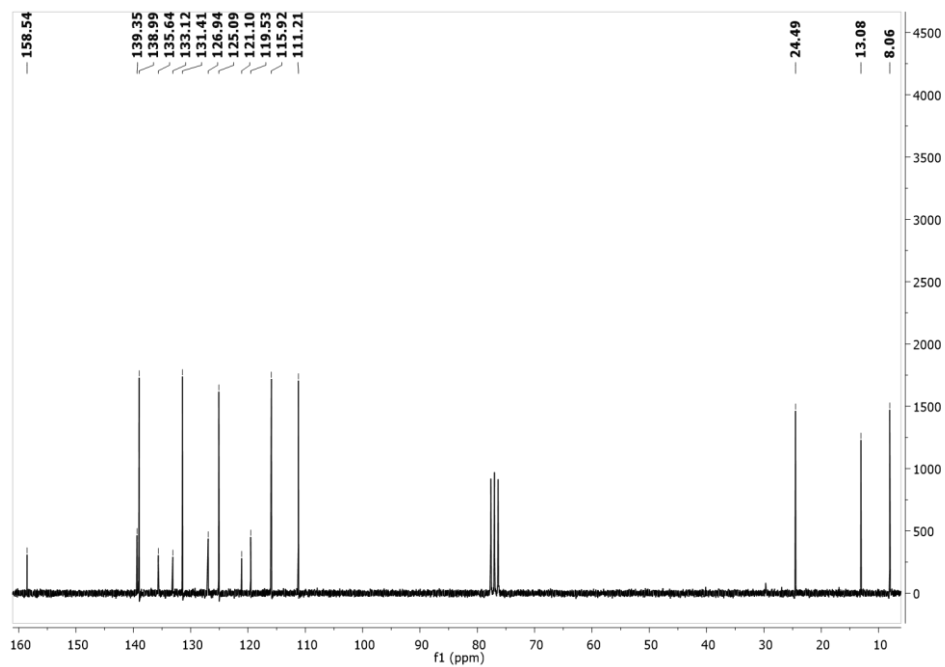
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.44) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 2.36, 2.72 και 2.81, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλιών σε αρωματικούς άνθρακες.
- Τρεις απλές κορυφές σε δ 7.40, 8.30 και 7.28, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.
- Δύο διπλές κορυφές σε δ 7.44 και 7.24, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.



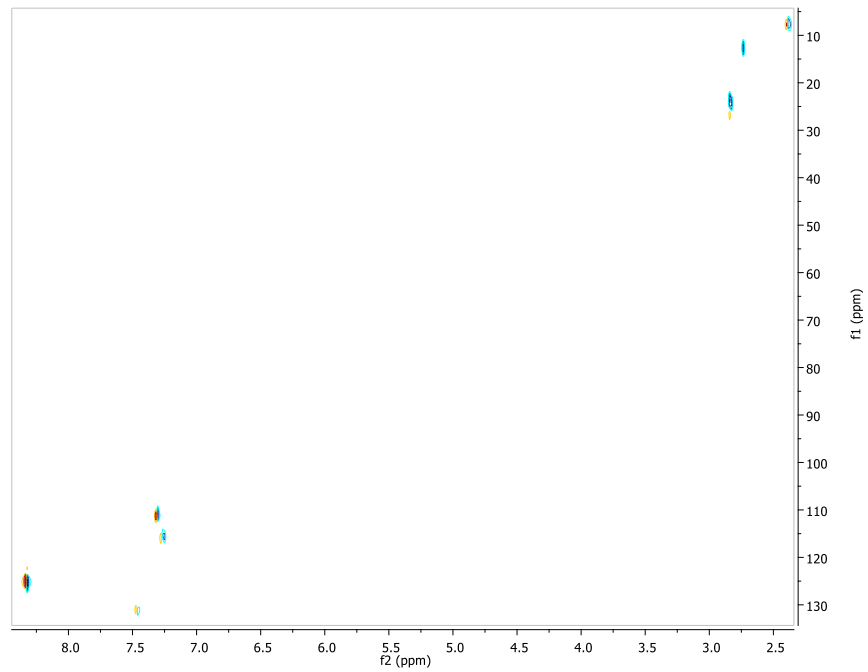
Εικόνα 44 - Φάσμα <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 5.

Στο φάσμα <sup>13</sup>C NMR (Εικ.45) παρατηρήθηκαν 15 κορυφές με χημικές μετατοπίσεις, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρεις μεθυλικούς και δώδεκα αρωματικούς άνθρακες. Οι επτά εκ των δώδεκα αποθωρακισμένων κορυφών αντιστοιχούν σε τεταρτοταγείς άνθρακες.

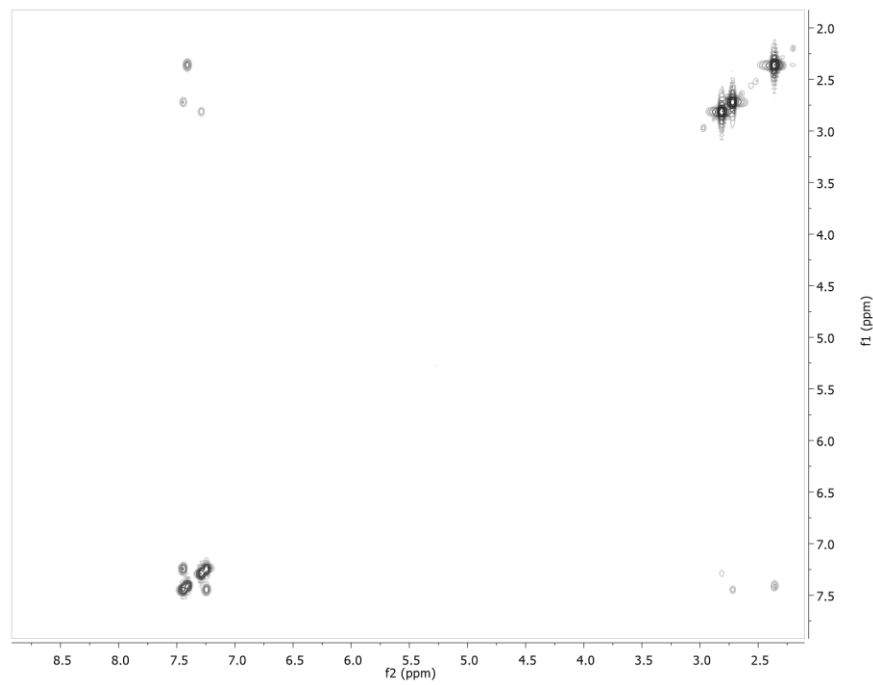


Εικόνα 45 - Φάσμα <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 5.

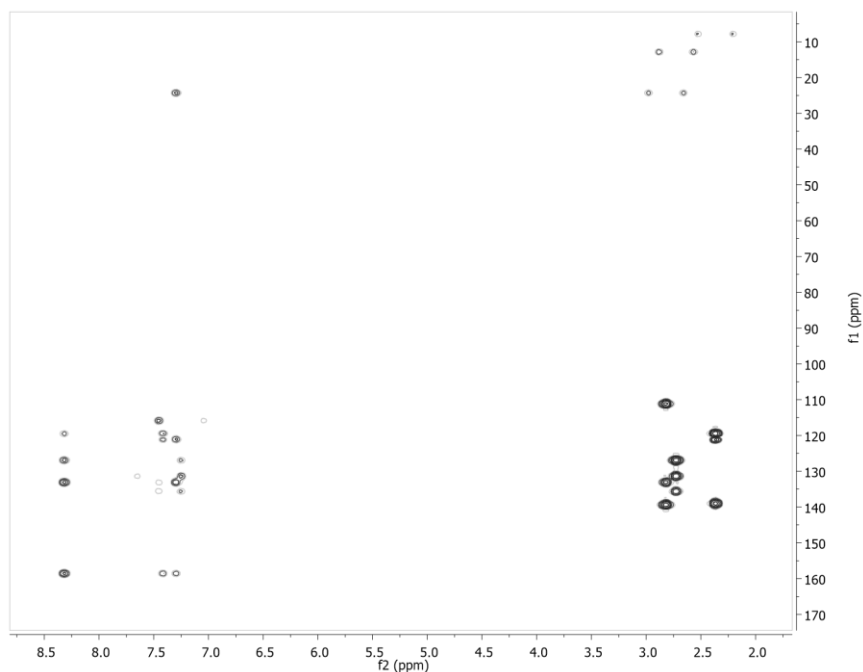




Εικόνα 46 – Φάσμα HSQC-DEPT (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 5.



Εικόνα 47 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 5.



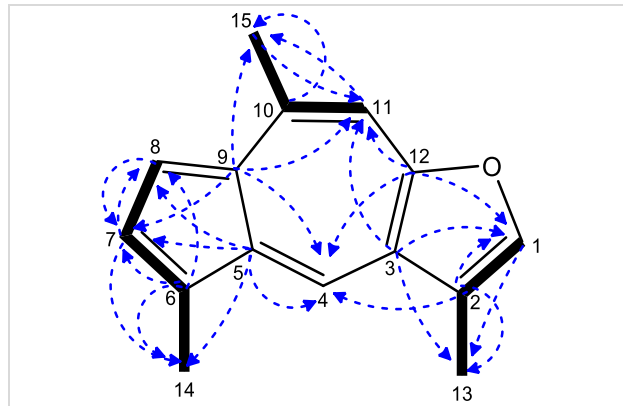
Εικόνα 48 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 5.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **5** ως το σεσκιτερπένιο με σκελετό αζουλενίου, λιντεραζουλένιο (Linderazulene) (Imre *et al.* 1981). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 119.

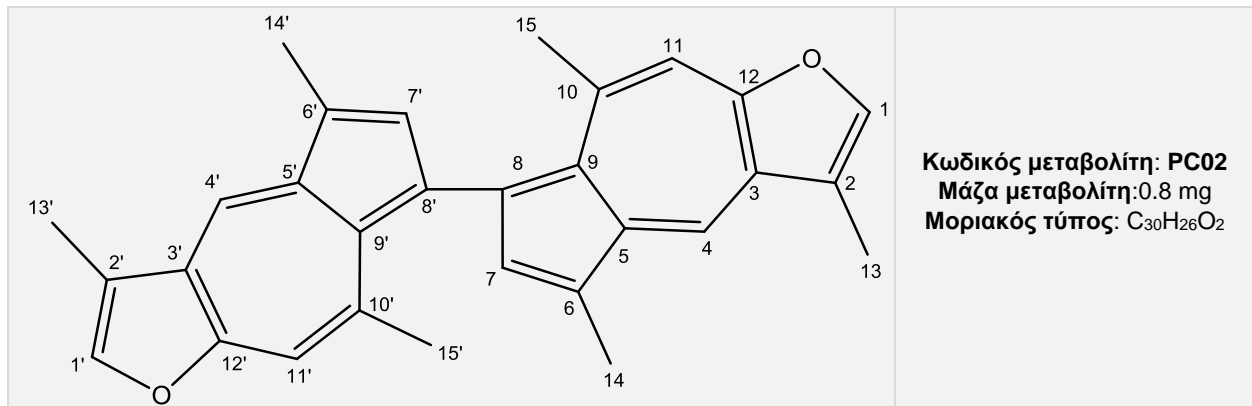
Πίνακας 119 – Φασματοσκοπικά δεδομένα <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub> και CCl<sub>4</sub>) του μεταβολίτη 5.

#	Πειραματικά <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> )	Βιβλιογραφικά <sup>1</sup> H NMR (CCl <sub>4</sub> )	Πειραματικά <sup>13</sup> C NMR (CDCl <sub>3</sub> )	COSY	HMBC
1	7.40 s	7.13 s	139.0	H-13	H-13
2					H-1, H-4, H-13
3			119.5		H-1, H-11, H-13
4	8.30 s	8.10 s	125.1		
5			126.9		H-4, H-7, H-8, H-14
6			135.6		H-7, H-8, H-14
7	7.44 d (3.0)	7.25 d (4.0)	131.4	H-8, H-14	H-8, H-14
8	7.24 d (3.0)	7.04 d (4.0)	115.9	H-7	H-7
9			133.1		H-7, H-11, H-15
10			139.4		H-15
11	7.28 s	7.28 s	111.2	H-15	H-15
12			158.5		H-1, H-4, H-11
13	2.36 s	2.33 s	8.1	H-1	
14	2.72 s	2.64 s	13.1	H-7	
15	2.81 s	2.75 s	24.5	H-11	H-11

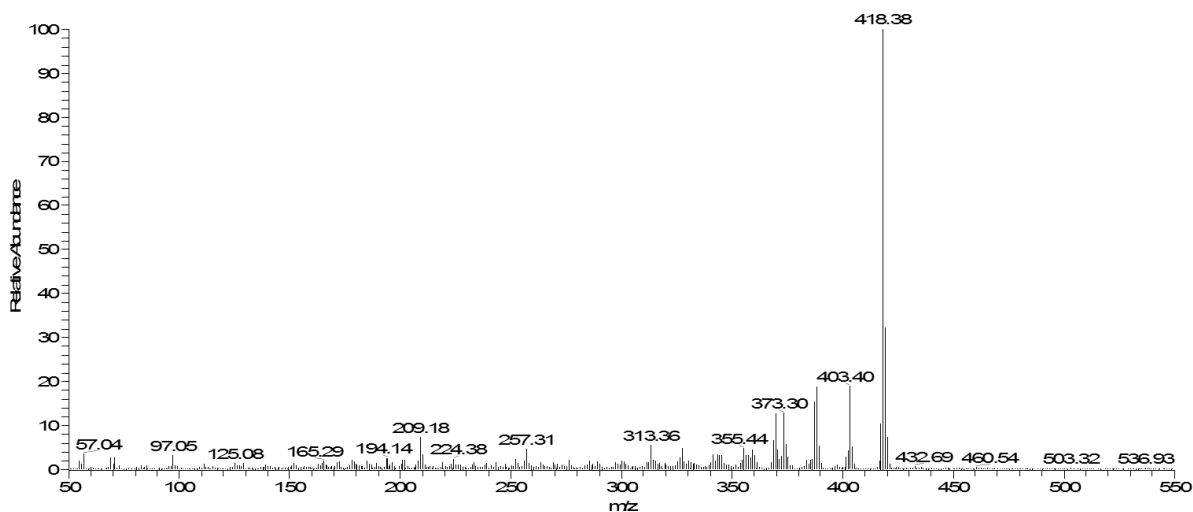
Εικόνα 49 - Συσχετίσεις COSY, HMBC του μεταβολίτη 5.



## Μεταβολίτης 6



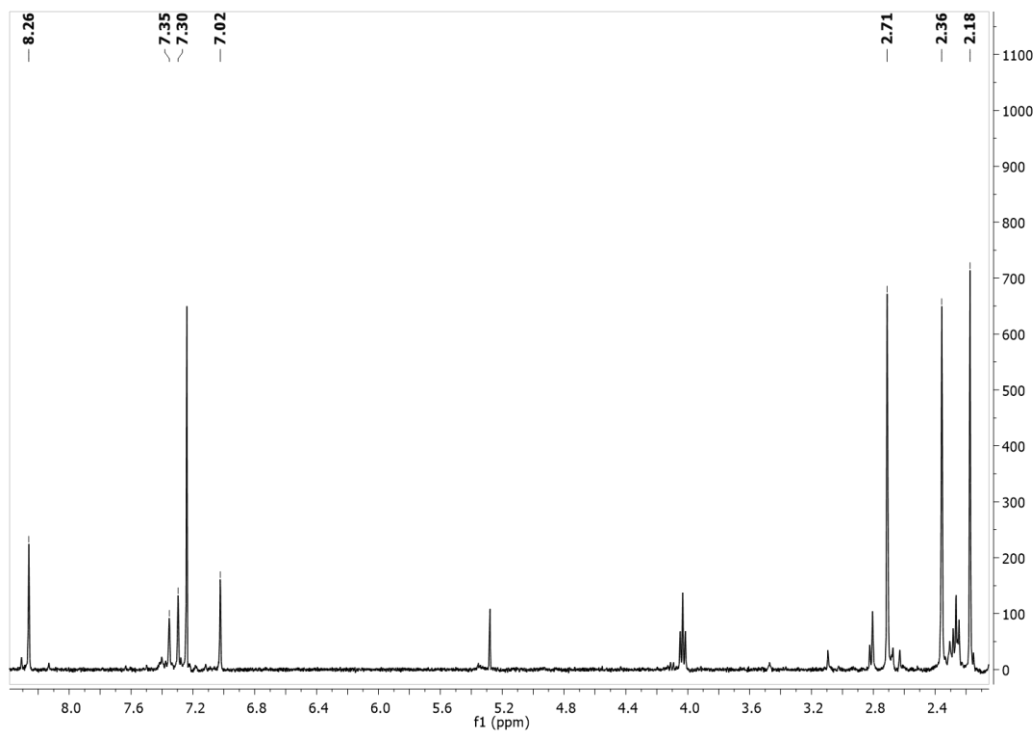
Ο μεταβολίτης **6** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.50) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 418.



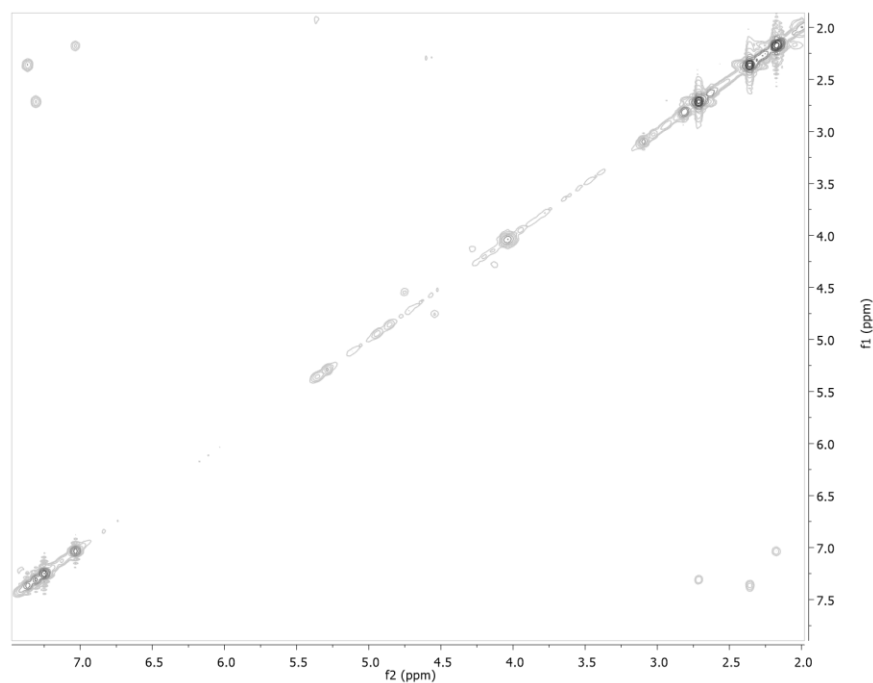
Εικόνα 50 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **6**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.51) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 2.18, 2.36 και 2.71, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια έξι μεθυλίων σε αρωματικούς άνθρακες.
- Τέσσερις απλές κορυφές σε δ 8.26, 7.35, 7.30 και 7.02, οι οποίες αντιστοιχούν σε οκτώ πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.



Εικόνα 51 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη.



Εικόνα 52 - Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 6.

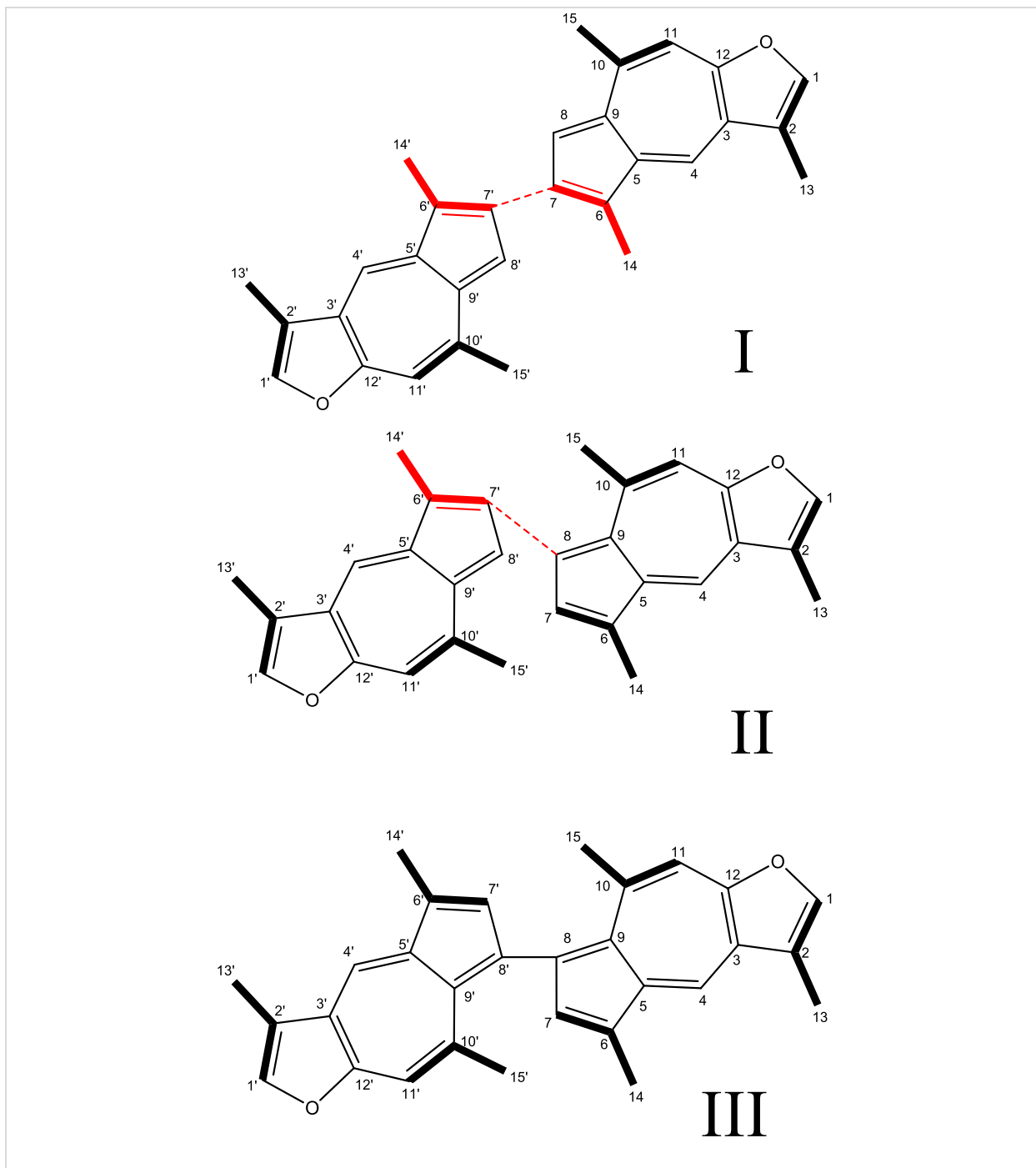
Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY (Εικ.52) υπέδειξαν την ύπαρξη έξι διακριτών spin συστημάτων H-1 – H-13, H-7 – H-14 και H-11 – H-15 και των H-1' – H-13', H-7' – H-14' και H-11' – H-15'.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **5** με τα αντίστοιχα του μεταβολίτη **6** υπέδειξε ότι ο δεύτερος αποτελεί διμερές του πρώτου μέσω του δεσμού C-8 – C-8'. Σημαντική ένδειξη για τα παραπάνω αποτελεί η απουσία της συσχέτισης COSY H-7 – H-8, η οποία εμφανίζεται στο μεταβολίτη **5** σε συνδυασμό με το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **6**, το οποίο υπέδειξε μοριακό ιόν διπλάσιου  $m/z$  από το αντίστοιχο του μεταβολίτη **5** και την ύπαρξη της συσχέτισης COSY H-7 – H-14 (H-7' – H-14') στο μεταβολίτη **6** μέσω της οποίας απορρίφθηκε η περίπτωση της σύνδεσης του διμερούς μέσω του δεσμού C-7 – C-7' (Εικόνα 53/Περ.Ι). Επίσης, η πρόταση υποστηρίζεται από την ύπαρξη 6 συσχέτισεων COSY συγκριτικά με τις 5 οι οποίες θα υπήρχαν στην περίπτωση της σύνδεσης του διμερούς μέσω του δεσμού C-7' – C-8. (Εικόνα 53/Περ.ΙΙ)

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **6** ως το νέο φυσικό προϊόν δις-λιντεραζουλένιο (Bis-Linderazulene). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **6** παρουσιάζονται στον πίνακα 120.

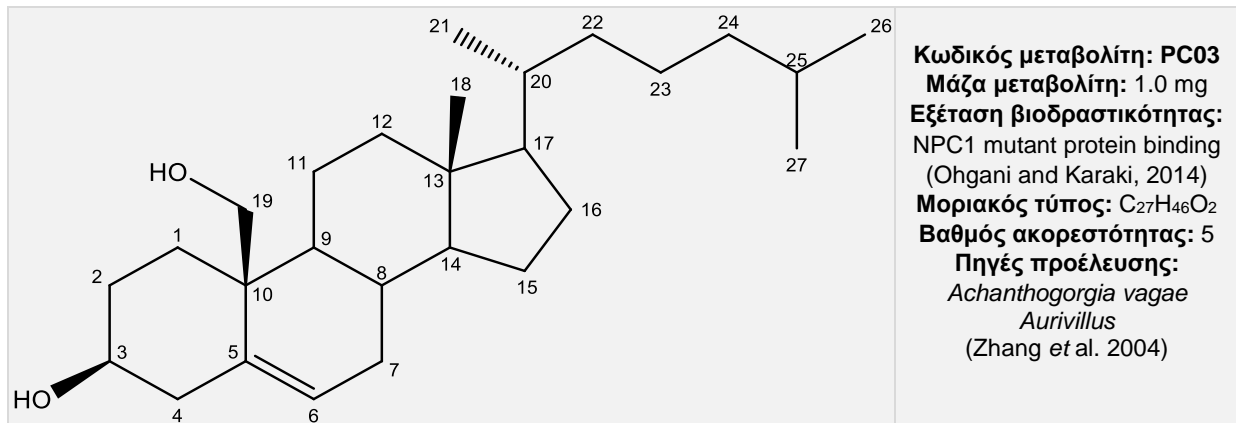
**Πίνακας 120** – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **6**.

#	<sup>1</sup> H NMR	COSY
1/1'	7.38 s	H-13/H-13'
4/4'	8.26 s	
7/7'	7.05 s	H-14/H-14'
11/11'	7.33 s	H-15/H-15'
13/13'	2.38 s	H-1/H-1'
14/14'	2.21 s	H-7/H-7'
15/15'	2.74 s	H-11/H-11'

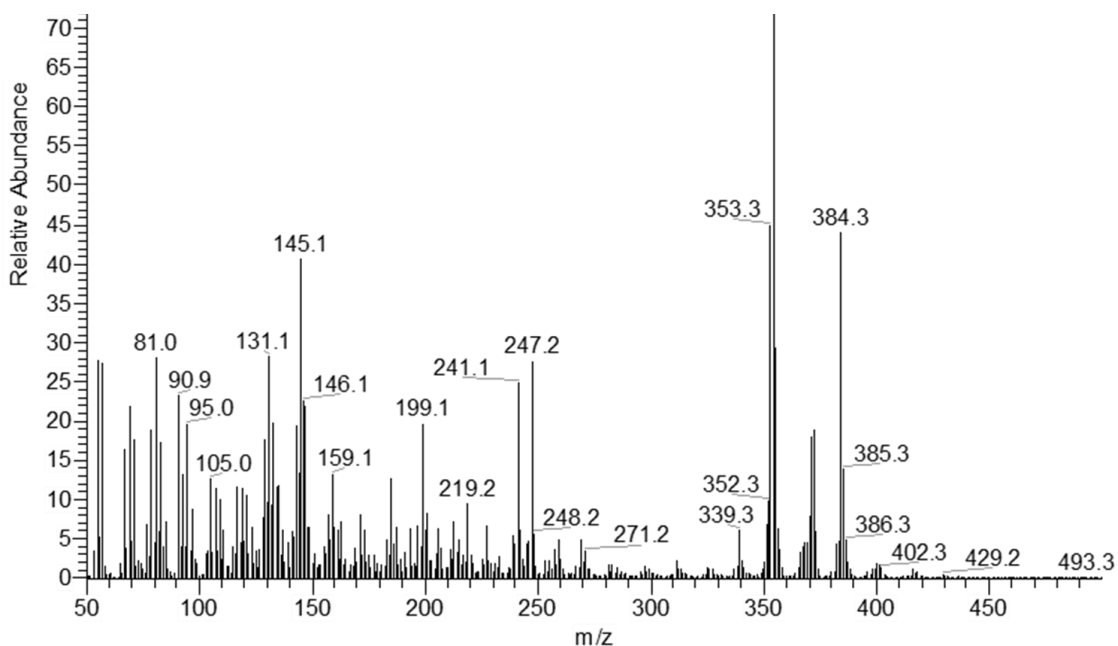


**Εικόνα 53** – (I) Η περίπτωση σχηματισμού διμερούς μέσω του δεσμού C-7 – C-7' κατά την οποία δε θα δικαιολογούνταν έξι (άλλα μόνο τέσσερις) συσχετίσεις COSY. (II) Η περίπτωση σχηματισμού διμερούς μέσω του δεσμού C-7' – C-8 κατά την οποία δε θα δικαιολογούνταν έξι (αλλά μόνο πέντε) συσχετίσεις COSY. (III) Η περίπτωση σχηματισμού διμερούς μέσω του δεσμού C-8 – C-8'

## Μεταβολίτης 7



Ο μεταβολίτης **7** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.54) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  402.



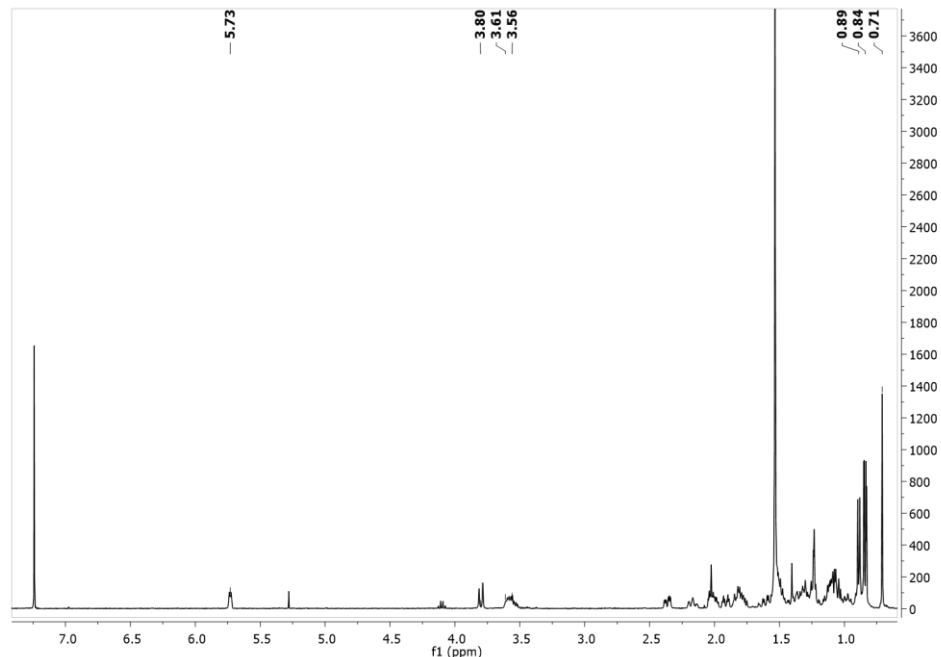
Εικόνα 54 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 6.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.55) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με χαρακτηριστικές τις ακόλουθες μετατοπίσεις:

- Τεσσερις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια τεσσάρων μεθυλιών:
  - Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  0.71, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλιου σε τεταρτοταγή άνθρακα.



- Τρεις διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.89, 0.83 και 0.85, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τριτοταγείς άνθρακες.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.73, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.80 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.61, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια ενός οξυγονωμένου μεθυλενικού άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.56, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



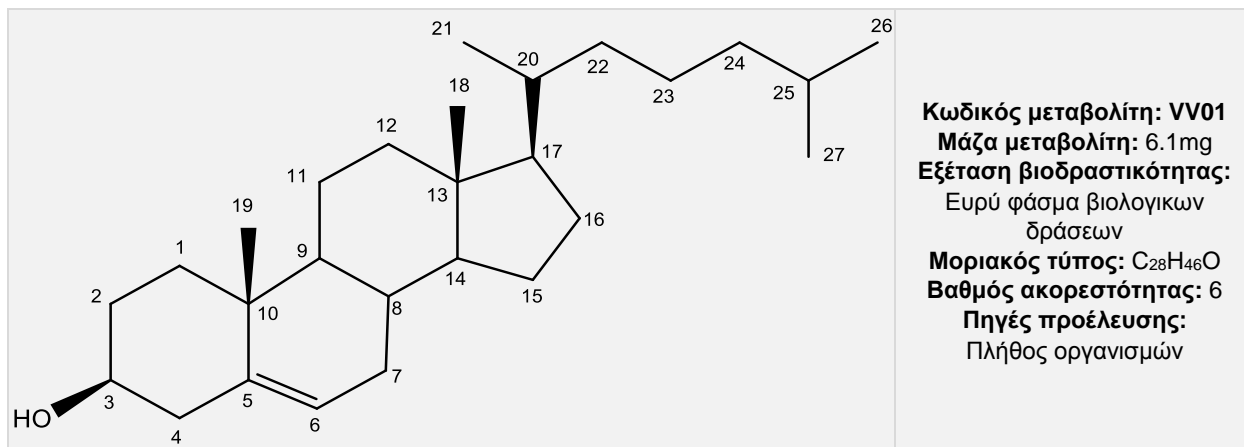
Εικόνα 55 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **7**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **7** ως το στεροειδές χολεστ-5-εν-3β-19-διόλη (cholest-5-en-3β-19-diol) (Zhang *et al.* 2004). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 121.

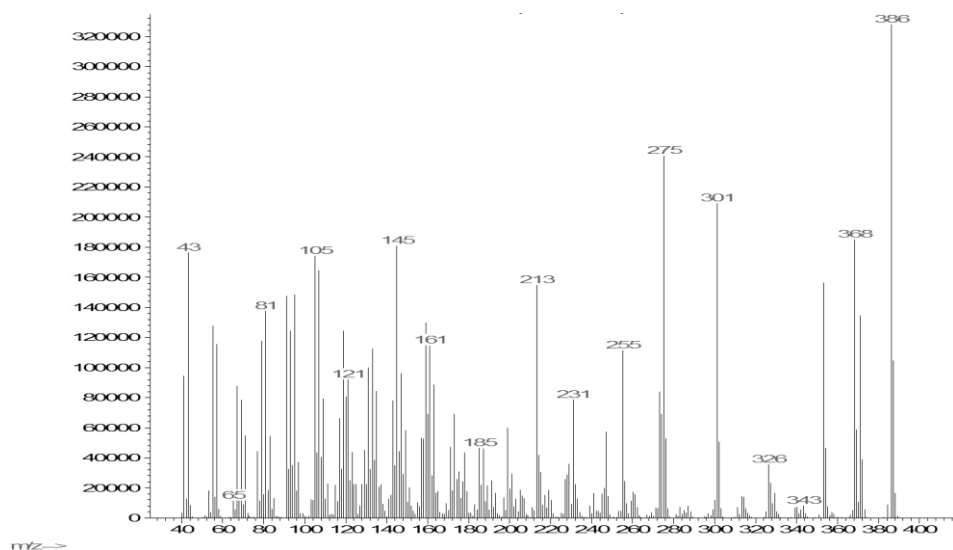
**Πίνακας 121** – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 7.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
3	3.56 m	3.57 m
6	5.73 m	5.75 t (2.6)
18	0.71 s	0.75 s
19	3.61 d (11.5) 3.80 d (11.5)	3.61 d (11.6) 3.82 d (11.6)
21	0.89 d (6.5)	0.90 d (6.7)
26	0.83 d (6.5)	0.86 d (6.7)
27	0.85 d (6.5)	0.86 d (6.7)

## Μεταβολίτης 8



Ο μεταβολίτης **8** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.56) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 386.

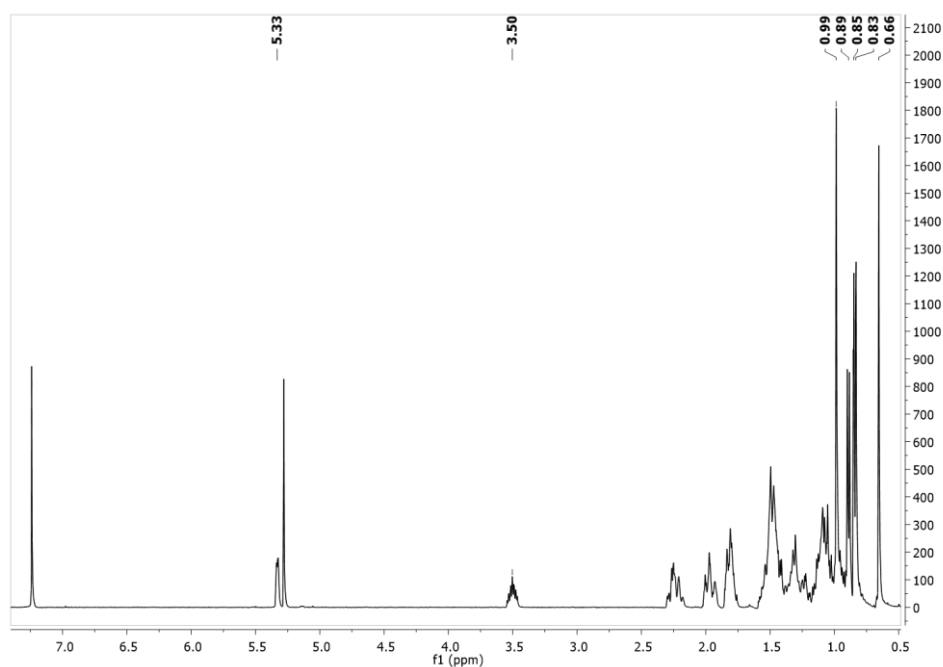


Εικόνα 56 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **8**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.57) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές ετατοπίσεις:

- Πέντε κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια πέντε μεθυλίων:
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 0.65 και 0.98, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.

- Τρεις διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.89, 0.85 και 0.83, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τριτοταγείς άνθρακες.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.33 η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.50, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



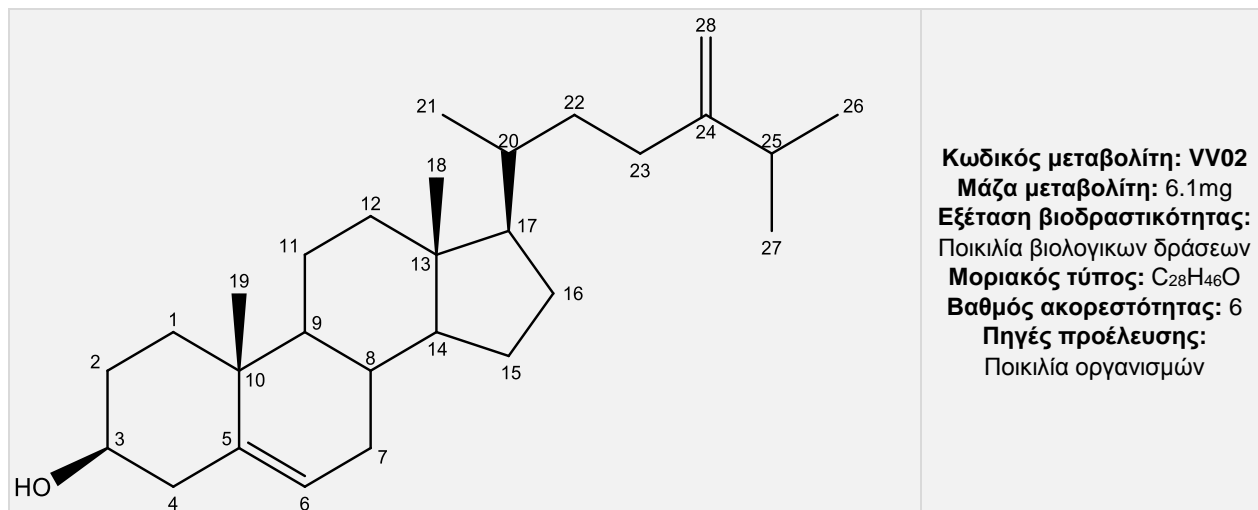
Εικόνα 57 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **8**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **8** ως το στεροειδές χοληστερόλη (cholesterol). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται στον Πίνακα 122.

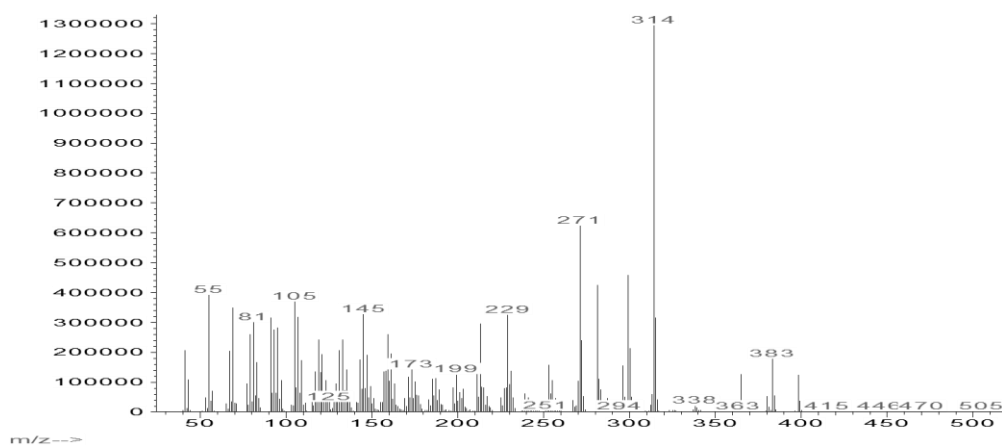
Πίνακας 122 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **8**.

#	Πειραματικά
3	3.50 m
6	5.33 m
18	0.65 s
19	0.98 s
21	0.89 d (6.4)
26	0.85 d (1.8)
27	0.83 d (1.8)

## Μεταβολίτης 9



Ο μεταβολίτης **9** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.58) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  398.

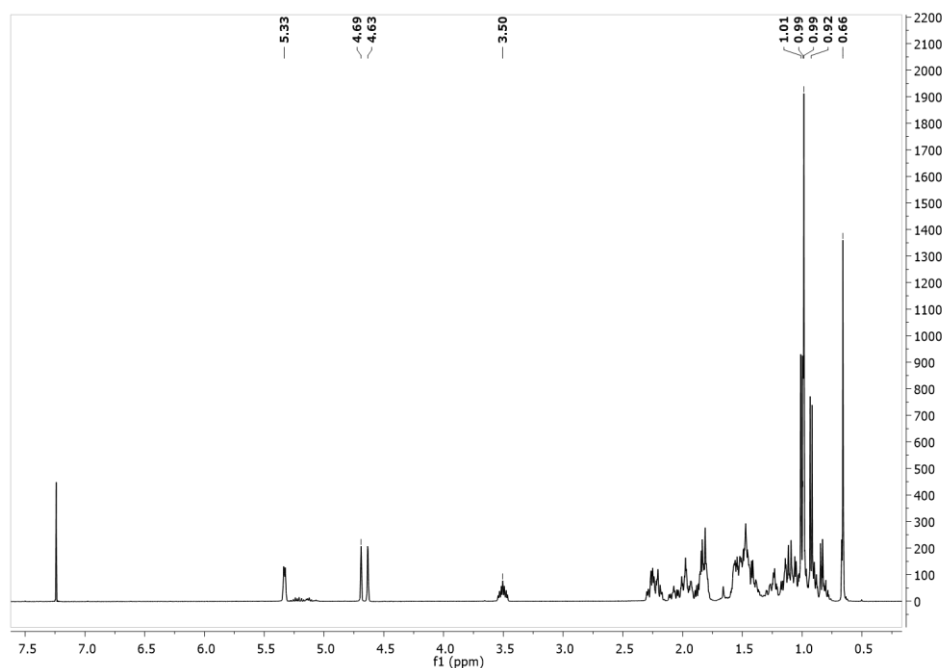


Εικόνα 58 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **9**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR (Εικ.59) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Πέντε κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια πέντε μεθυλίων:
  - Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.66 και 0.99, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
  - Τρεις διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.92, 1.01 και 0.99, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τριτοταγείς άνθρακες.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.33, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.

- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.50, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



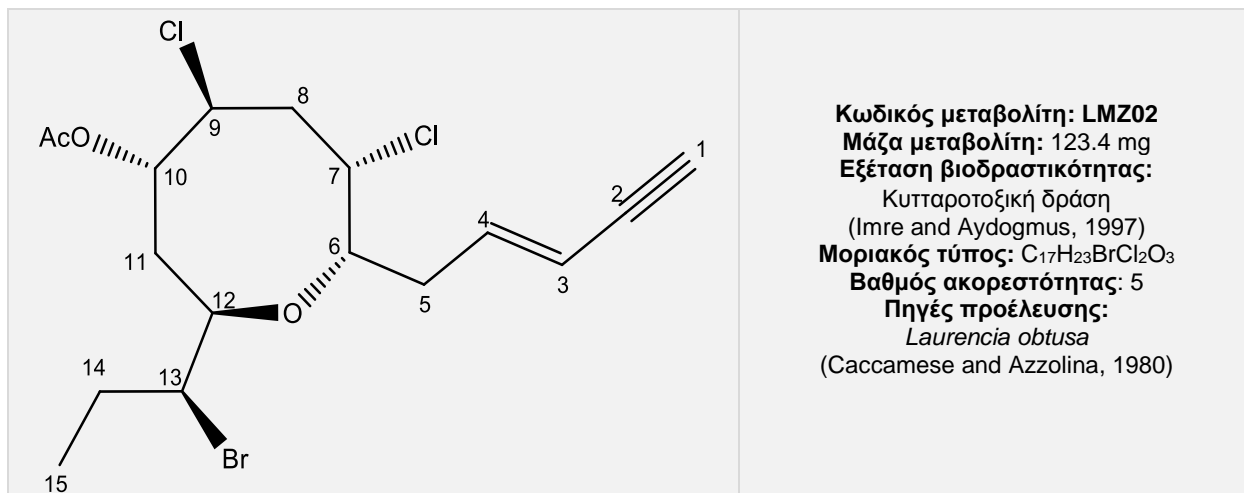
Εικόνα 59 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 9.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη 9 ως το στεροειδές 24-μεθυλένο-χοληστερόλη (24-methylene-cholesterol) (Bazina *et al.* 2006). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 123.

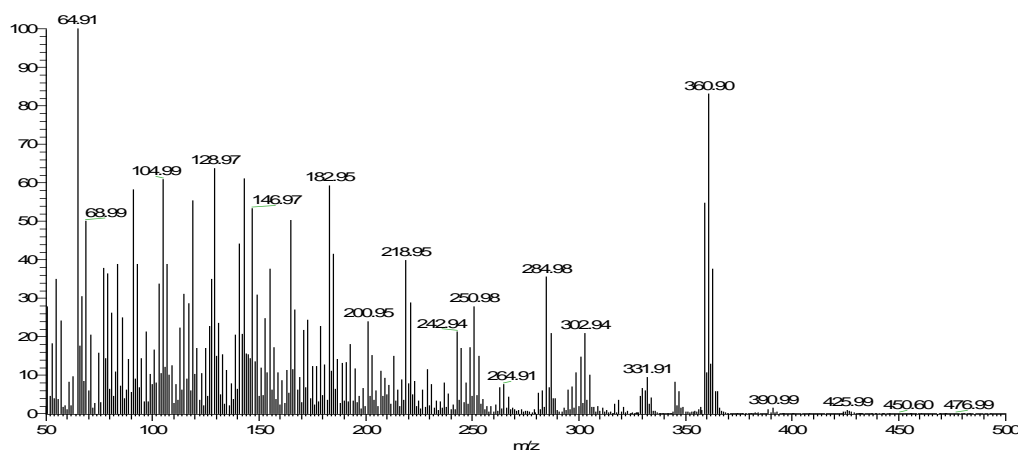
Πίνακας 123 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 9.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
3	3.50 m	3.52 m
6	5.33 m	5.34 d (5.1)
18	0.66 s	0.68 s
19	0.99 s	1.01 s
21	0.92 d (6.4)	0.94 d (6.6)
26	1.01 d (2.3)	1.02 d (2.5)
27	0.99 d (2.3)	1.02 d (2.5)

## Μεταβολίτης 10



Ο μεταβολίτης **10** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.60) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  424 και ιστοπικές κορυφές σε  $m/z$  426 και 428 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός ατόμου χλωρίου  $[M-Cl]^+$  σε  $m/z$  391.

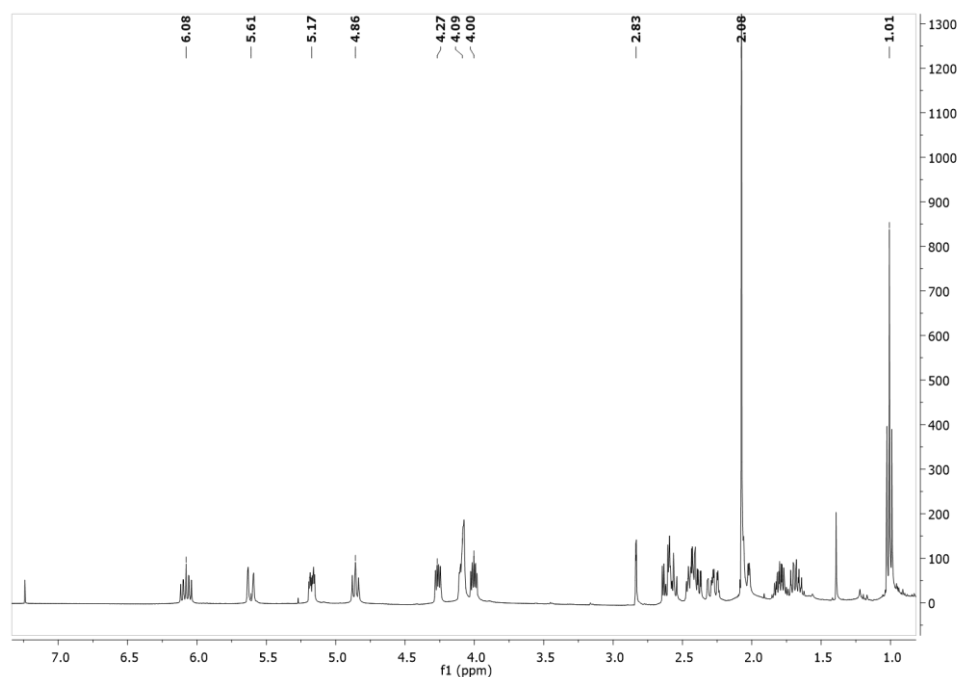


Εικόνα 60 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 10.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.61) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.00, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.

- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.08, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.61 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή 6.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.27 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.09, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή, σε  $\delta$  5.17 η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλιωμένου υδροξυ άνθρακα.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.07 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.86, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.00, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 61 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **10**.

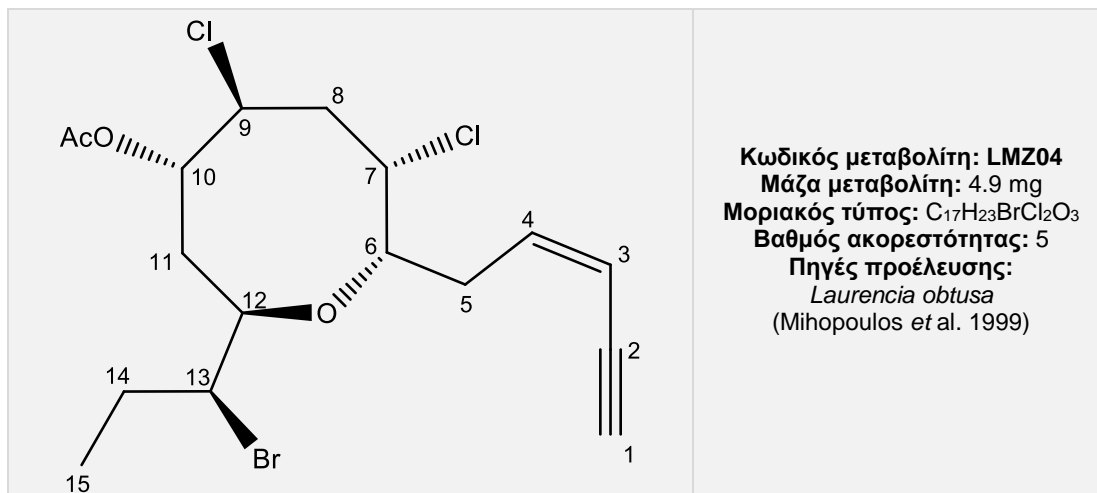
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **10** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, Λαουρενσιενίνη (Laurencienyne) (Μιθοπουλος *et al.* 1999). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **10** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 124.



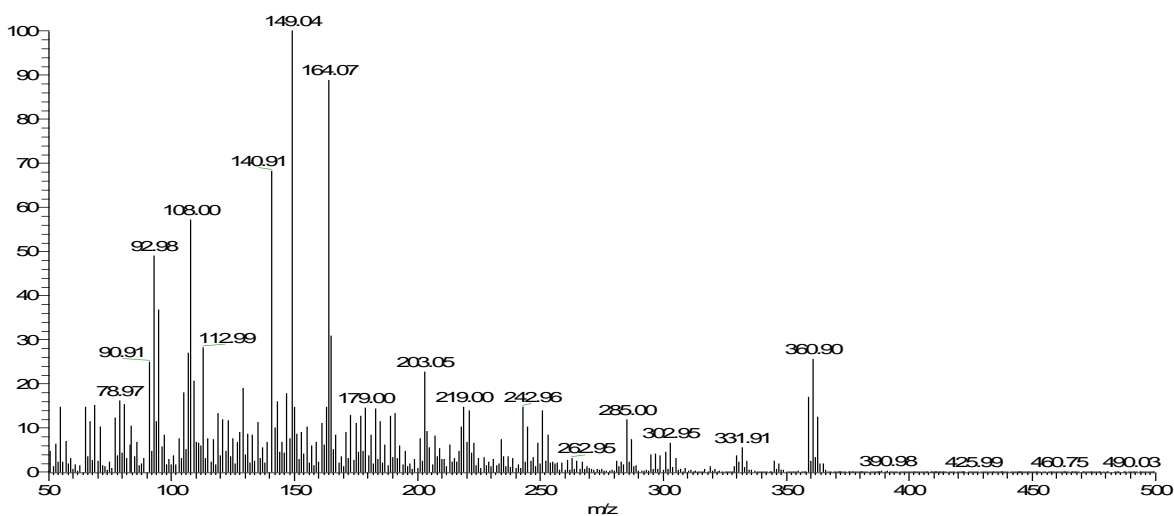
Πίνακας 124 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 10.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.83 d (1.7)	2.86 d (2.7)
3	5.61 br d (15.9)	5.64 br d (16.5)
4	6.08 ddd (15.9, 8.5, 7.1)	6.11 ddd (16.5, 8.3, 7.3)
5a	2.53 m	2.24- 2.71 m
5b	2.45 m	
6	4.27 dd (8.3, 4.9)	4.29 dd (9.1, 5.1)
7	4.07 m	3.99- 4.65 m
8a	2.63 m	2.24- 2.71 m
8b	2.41 m	
9	4.86 dd (9.8, 9.6)	4.89 dd (9.1, 9.0)
10	5.17 ddd (9.8, 3.9, 2.5)	5.21 ddd (9.1, 3.8, 3.2)
11a	2.27 m	2.24 – 2.71 m
11b	2.05 m	
12	4.09 m	3.99- 4,65 m
13	4.00 m	3.99- 4,65 m
14a	1.78 m	1.75 m
14b	1.66 m	
15	1.00 t (7.3)	1.05 t (7.2)
17	2.08 s	2.10 s

## Μεταβολίτης 11



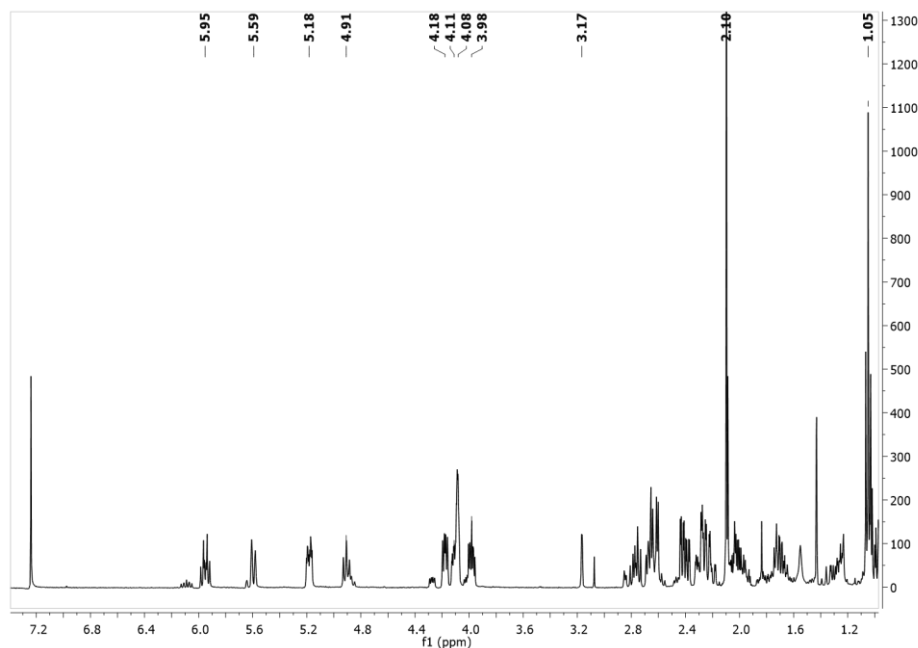
Ο μεταβολίτης **11** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.62) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 424 και ιστοπικές κορυφές σε *m/z* 426 και 428 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός ατόμου χλωρίου [M-Cl]<sup>+</sup> σε *m/z* 391.



Εικόνα 62 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **11**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.63) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.17, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  5.95, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.18 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.11, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.18, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλιωμένου υδρόξυ άνθρακα.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.08 και μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  4.91, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.98, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



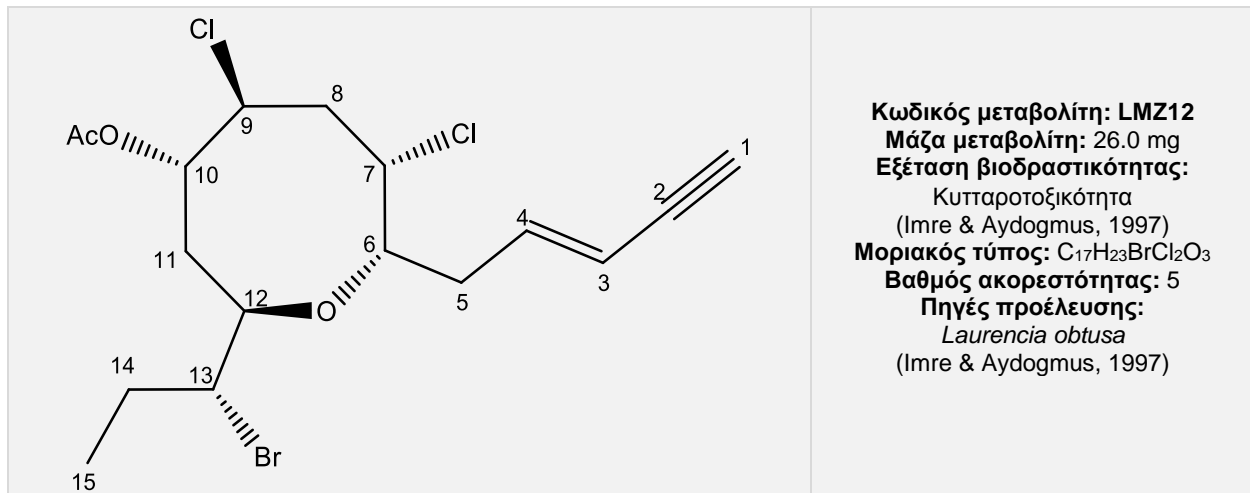
Εικόνα 63 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **11**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **11** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, Λαουρενσιενίνη Β (Laurencienyne Β) (Mihopoulos *et al.* 1999). Επιπρόσθετα, ο μεταβολίτης **11** αποτελεί το γεωμετρικό ισομερές του μεταβολίτη **10**. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **11** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 125.

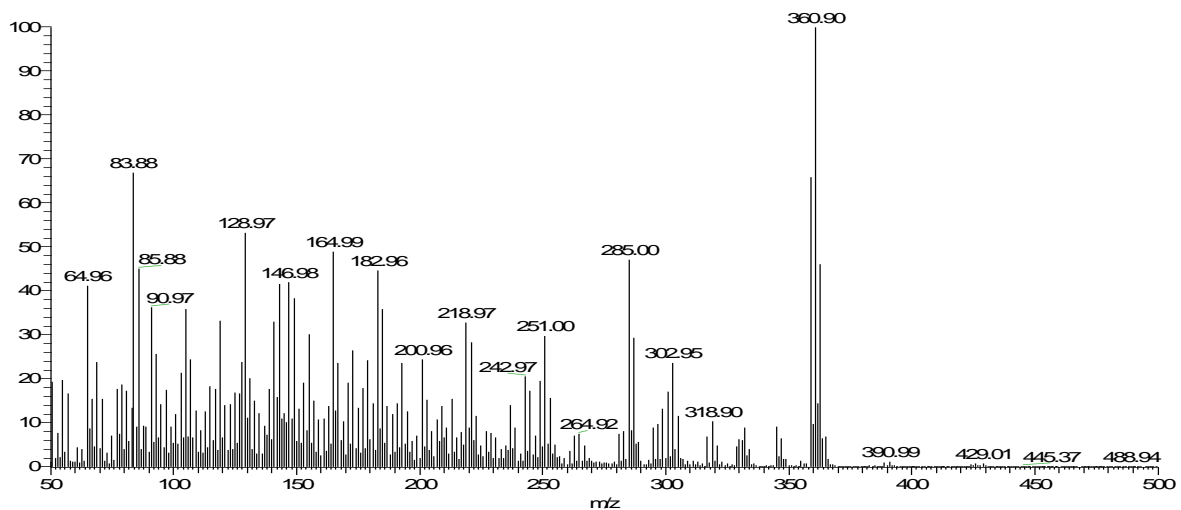
Πίνακας 125 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 11.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	3.17 (d, 1.8)	3.17 (d, 2.2)
3	5.59 br d (10.6)	5.59 dd (10.6, 2.2)
4	5.95 dt (10.6, 7.5)	5.95 dt (10.6, 7.6)
5a	2.75 m	2.74 ddd (13.9, 8.8, 7.6)
5b	2.66 m	2.65 m
6	4.18 ddd (8.8, 5.2, 0.7)	4.18 ddd (8.8, 5.9, 1.0)
7	4.08 m	4.08 m
8a	2.61 dd (16.7, 5.6)	2.61 dd (17.1, 4.8)
8b	2.40 ddd (16.7, 8.5, 2.3)	2.40 ddd (17.1, 8.4, 2.6)
9	4.91 dd (9.4, 9.3)	4.90 dt (9.9, 1.3)
10	5.18 (ddd, 9.4, 3.8, 2.6)	5.18 ddd (9.9, 2.6, 1.5)
11	2.25 m	2.25 ddd (11.0, 9.1, 2.2)
12	4.11 m	4.12 ddd (11.0, 5.8, 2.2)
13	3.98 ddd (9.5, 5.6, 3.7)	3.98 ddd (9.5, 3.7, 2.2)
14a	2.02 m	2.01 ddq (14.6, 7.3, 3.7)
14b	1.71 m	1.70 ddq (14.6, 7.3, 1.8)
15	1.05 t (7.3)	1.04 t (7.3)
17	2.10 s	2.11 s

## Μεταβολίτης 12



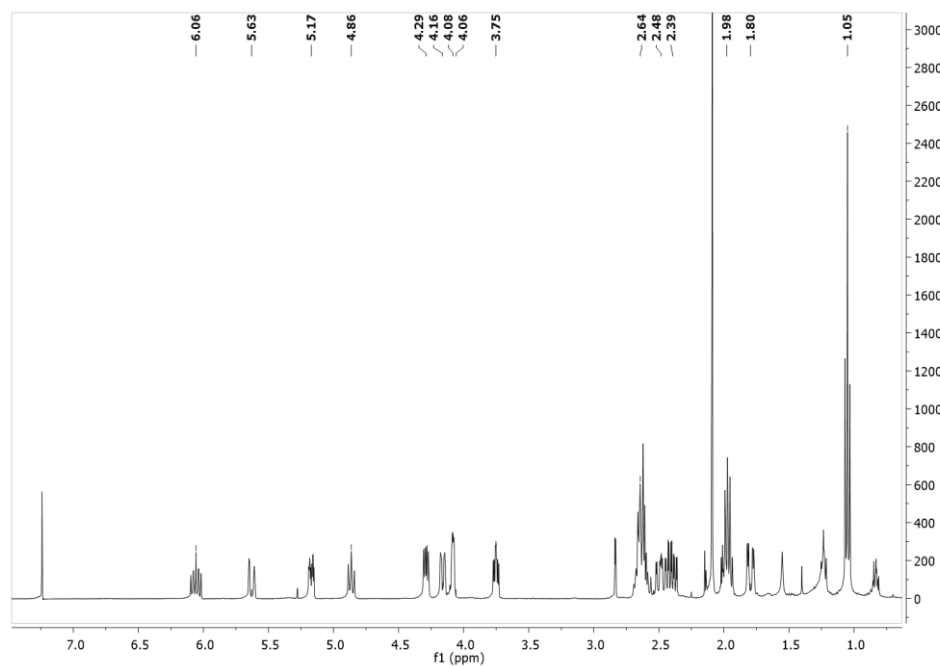
Ο μεταβολίτης **12** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.64) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  424 και ιστοπικές κορυφές σε  $m/z$  426 και 428 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός ατόμου χλωρίου  $[M-Cl]^+$  σε  $m/z$  391.



Εικόνα 64 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **12**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.65) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.85, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μια ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.63 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.06, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.16, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός οξυγονωμένου ανθράκα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.17, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.08 και μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  4.86, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.75, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



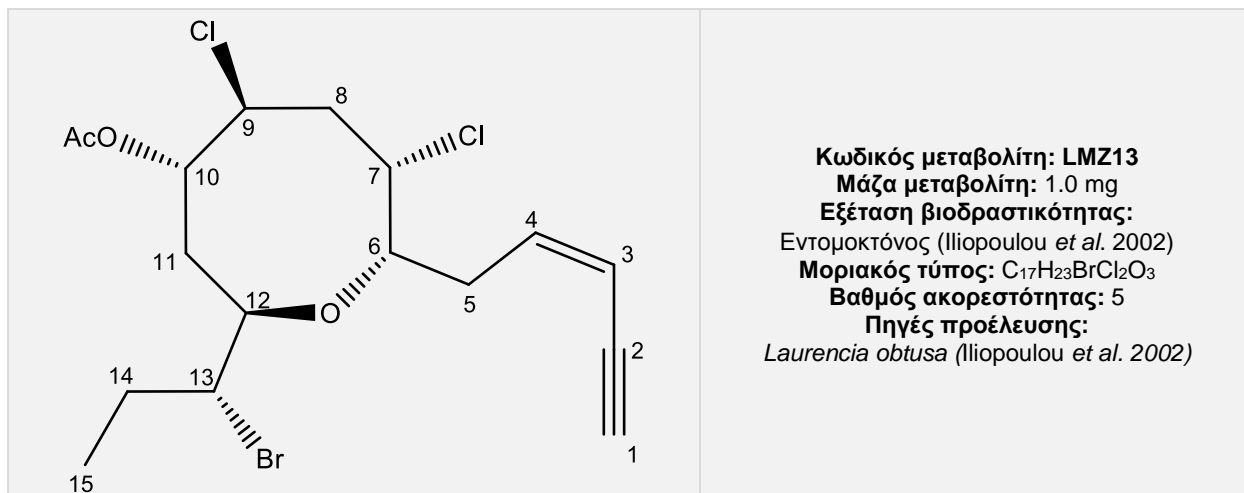
Εικόνα 65 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **12**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **12** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, 13-επι-λαουρενσιενίνη (13-epi-laurencienyne) (Imre & Aydogmus, 1997). Ο μεταβολίτης **12** αποτελεί επιμερές του μεταβολίτη **10** ως προς τη σχετική στερεοχημεία στον C-13. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 126.

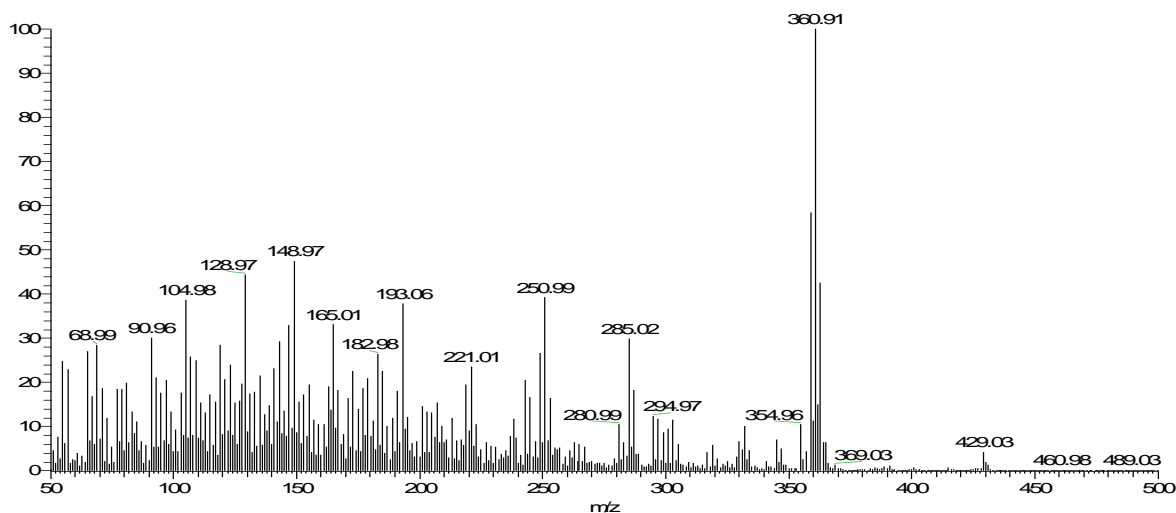
Πίνακας 126 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 12.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.85 d (2.2)	2.85 d (2.2)
3	5.63 br d (16.0)	5.65 br d (16.1)
4	6.06 ddd (16.0, 8.6, 6.7)	6.07 ddd (16.1, 8.7, 7.0)
5a	2.60 -2.70 m	2.60 – 2.71 m
5b	2.60 – 2.70 m	2.60 – 2.71 m
6	4.29 m	4.31 dd (9.2, 5.1)
7	4.08 m	4.10 dd (5.1, 2.5)
8a	2.60-2.70 m	2.60 – 2.71 m
8b	2.42 ddd (16.3, 8.7, 2.3)	2.41 ddd (16.2, 8.5, 2.5)
9	4.86 t (9.7)	4.88 dd (9.5, 9.2)
10	5.17 ddd (9.7, 3.7, 2.7)	5.19 ddd (9.5, 3.7, 3.1)
11a	2.48 ddd (16.5, 11.4, 2.7)	2.50 ddd, (16.6, 11.5, 3.1)
11b	1.80 ddd (16.5, 3.7, 1.6)	1.82 ddd (16.6, 3.7, 1.4)
12	4.16 m	4.18 dd (9.9, 2.9)
13	3.75 ddd (8.2, 6.2, 2.9)	3.77 ddd (7.9, 6.1, 2.9)
14	1.97 m	1.98 m
15	1.05 t (7.0)	1.08 t (7.2)
17	2.09 s	2.10 s

## Μεταβολίτης 13



Ο μεταβολίτης **13** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.66) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  424 και ιστοπικές κορυφές σε  $m/z$  426 και 428 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



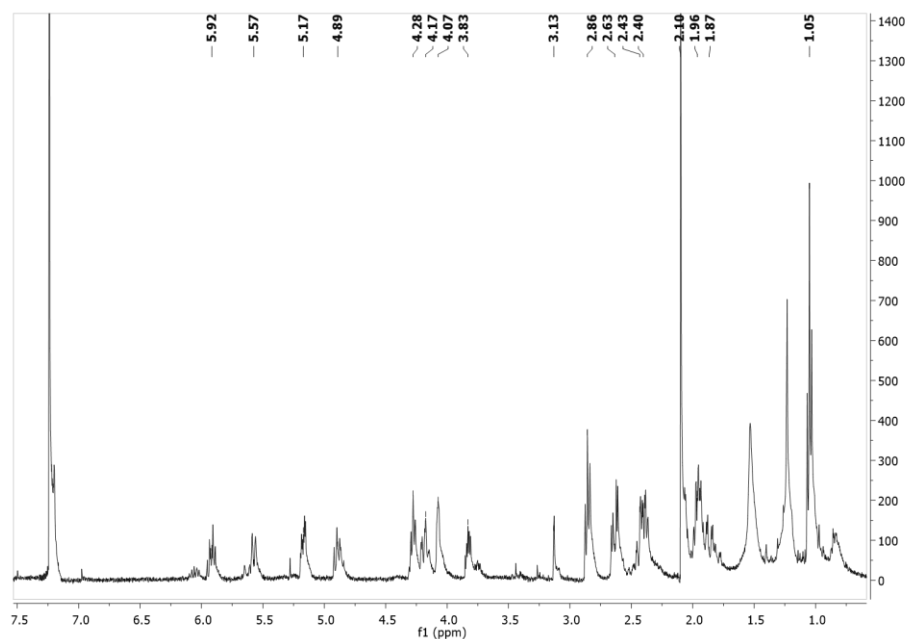
Εικόνα 66 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **13**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.67) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.



- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.13, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.57 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  5.92, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.28 και 4.17, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.17, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.07 και 4.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



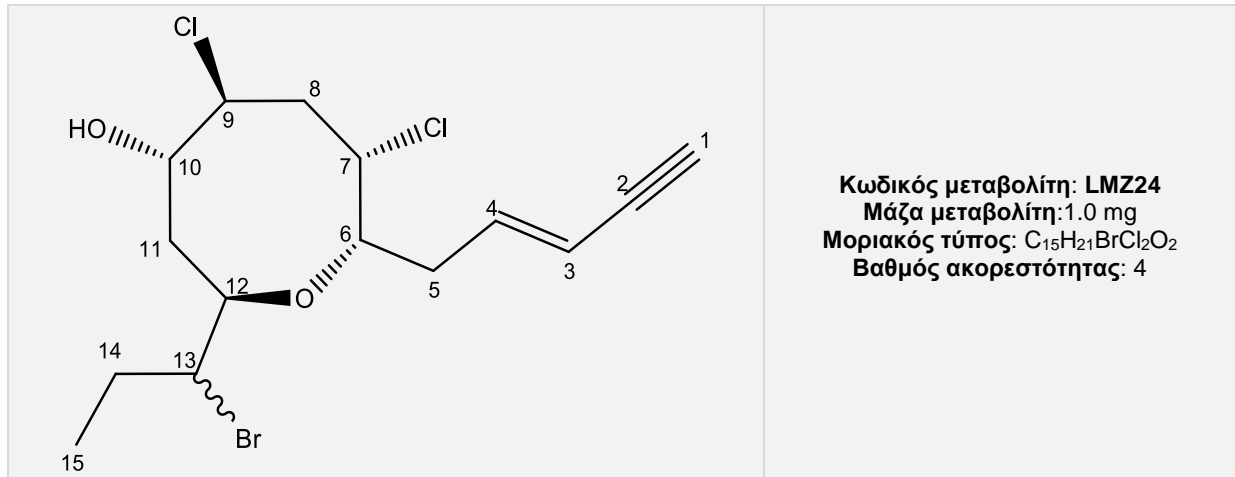
Εικόνα 67 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **13**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **13** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, 13-επι-λαουρενσιενίνη Β (13-*eri*-laurencienyne-B) (Ιλιουρούλου *et al.* 2002). Ο μεταβολίτης **13** αποτελεί επιμερές του μεταβολίτη **11** ως προς τη σχετική στερεοχημεία στον C-13 και γεωμετρικό ισομερές του μεταβολίτη **12**. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 127.

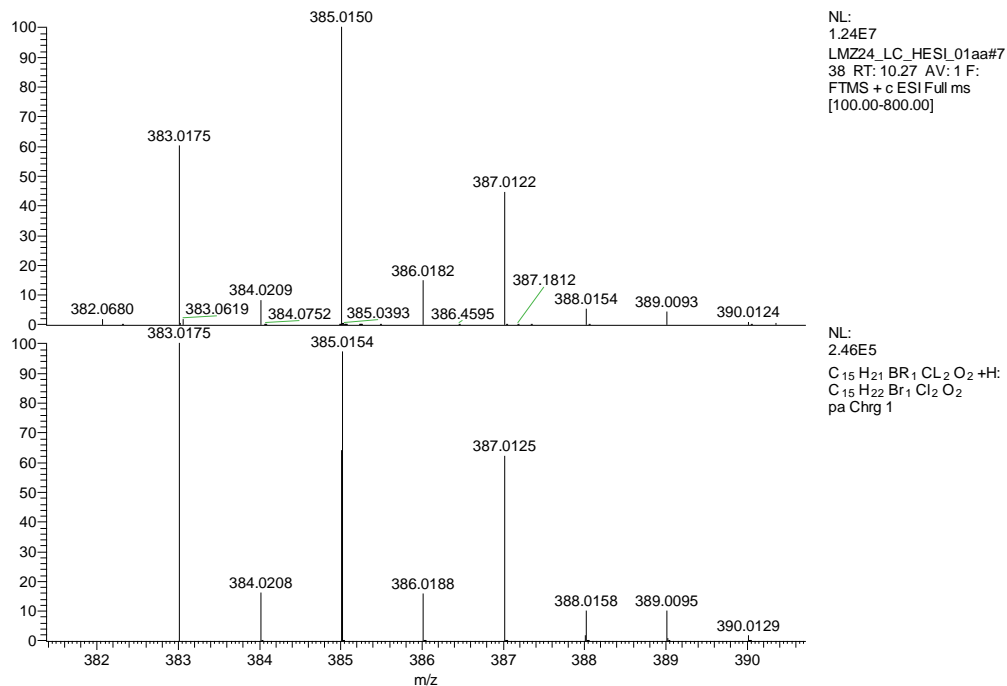
**Πίνακας 127** – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **13**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	3.13 d (2.1)	3.14 d (2.0)
3	5.57 d (11.0, 2.1)	5.57 dd (10.8, 2.0)
4	5.92 dt (11.0, 7.9)	5.92 dt (10.8, 7.7)
5a	2.86 m	2.85 dd (7.4, 7.4)
5b		2.55 m
6	4.28 m	4.28 br dd (7.2, 7.2)
7	4.07 m	4.07 dd (5.0, 1.0)
8a	2.63 dd (16.3, 5.2)	2.63 dd (16.2, 5.0)
8b	2.40 ddd (16.3, 8.4, 2.1)	2.39 ddd (16.2, 8.4, 2.4)
9	4.89 m	4.90 br dd (9.1, 9.1)
10	5.17 ddd (9.9, 3.8, 2.6)	5.17 ddd (9.8, 4.0, 3.2)
11a	2.43 m	2.43 m
11b	1.87 ddd (16.6, 3.8, 1.3)	1.86 ddd (16.5, 4.0, 1.0)
12	4.17 m	4.19 ddd (11.3, 3.6, 1.0)
13	3.83 m	3.83 ddd (8.1, 4.9, 3.8)
14	1.96 m	1.96 m
15	1.05 t (7.3)	1.04 t (7.2)
17	2.10 s	2.09 s

## Μεταβολίτης 14



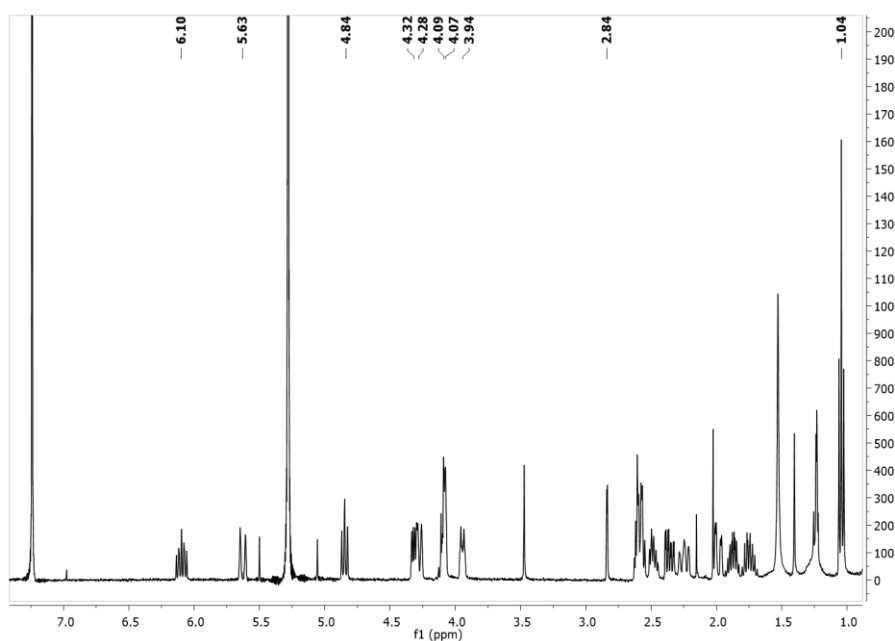
Ο μεταβολίτης **14** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.68) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  383 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  385 και 387 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



Εικόνα 68 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **14**.

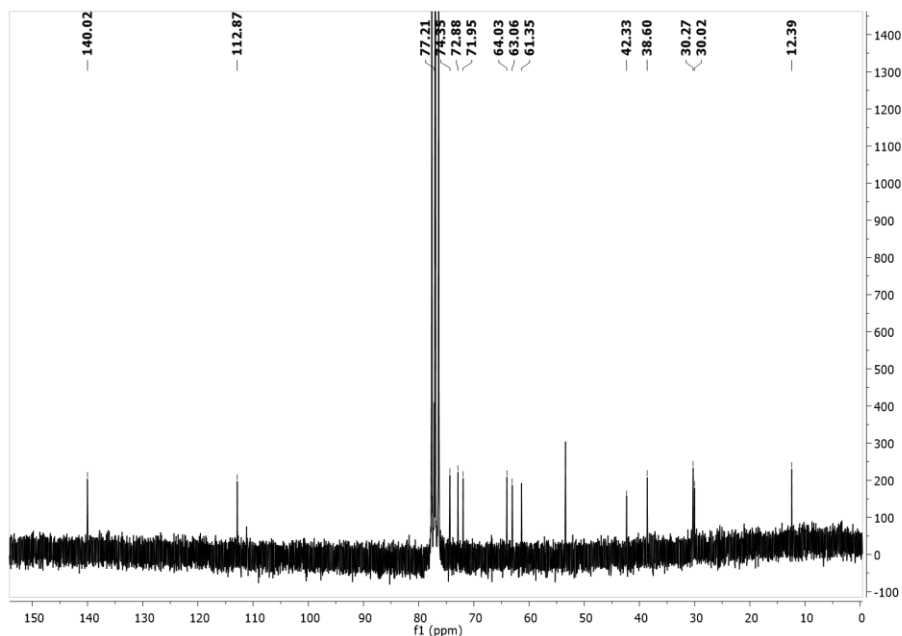
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.69) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.04, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.84, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.63 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.10, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.32 και μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  4.28, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  3.94, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.08 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.84, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

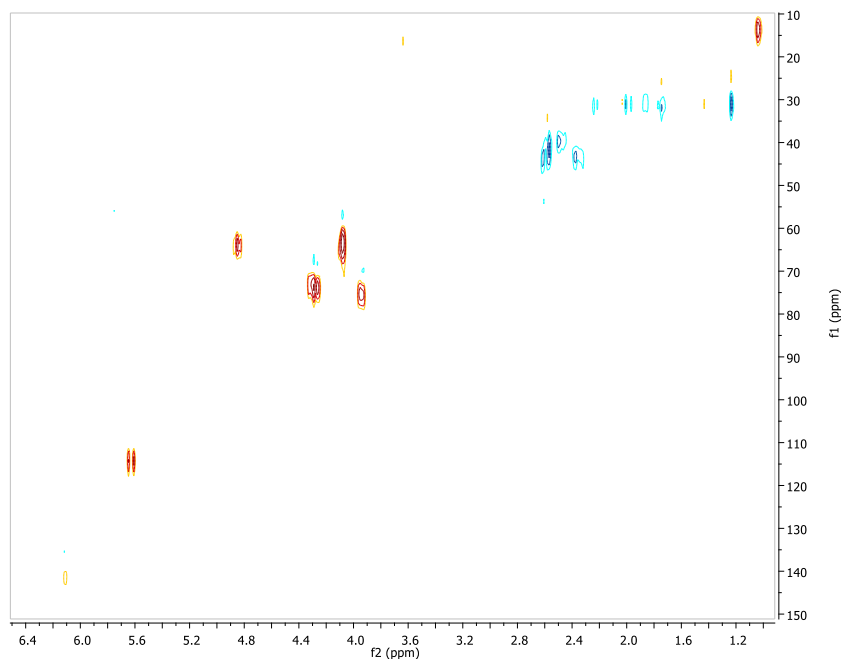


Εικόνα 69 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **14**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **14** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.71,72,73).



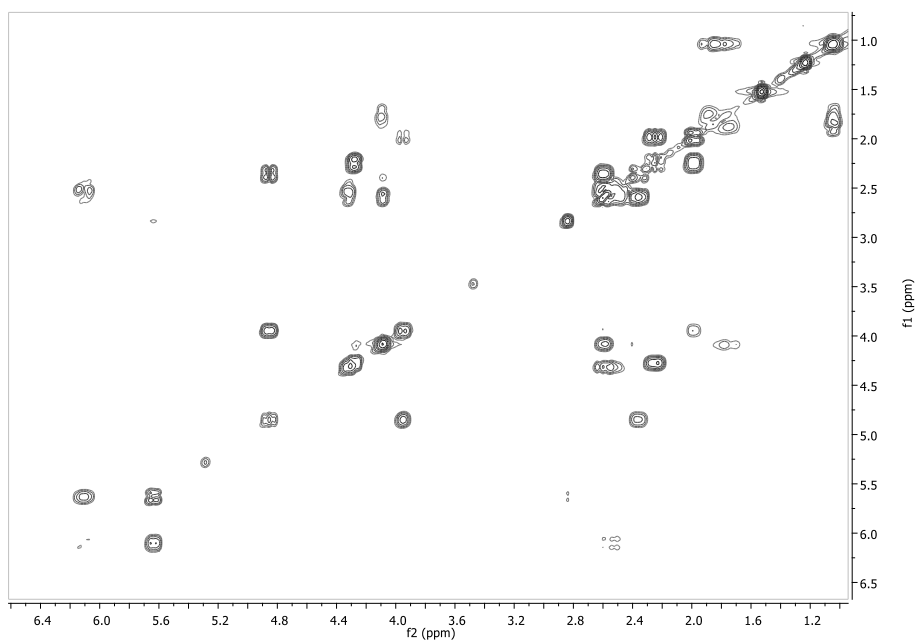
Εικόνα 70 –Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 14.



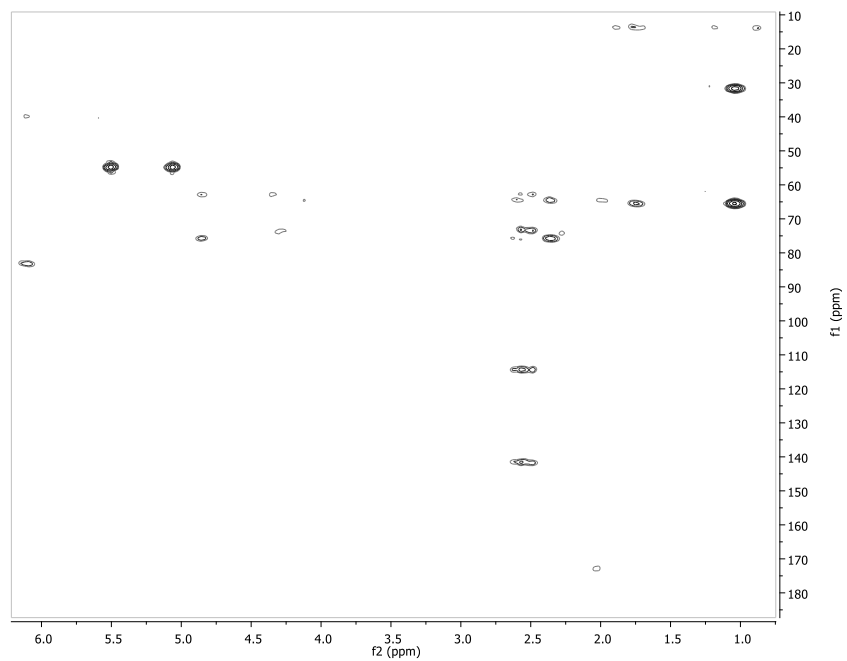
Εικόνα 71 - Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 14.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-6 και H-7 – H-15. Στο φάσμα HMBC, η συσχέτιση του τριτοταγούς χλωριωμένου άνθρακα C-7 με τα H<sub>2</sub>-5, H-6 και H-9 υπέδειξε τη σύνδεση των δύο συστημάτων spin. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του τριτοταγούς

άνθρακα C-6 με το H-12 στο φάσμα HMBC υπέδειξε την παρουσία μιας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των ανθράκων C-6 και C-12 (Εικ.75).

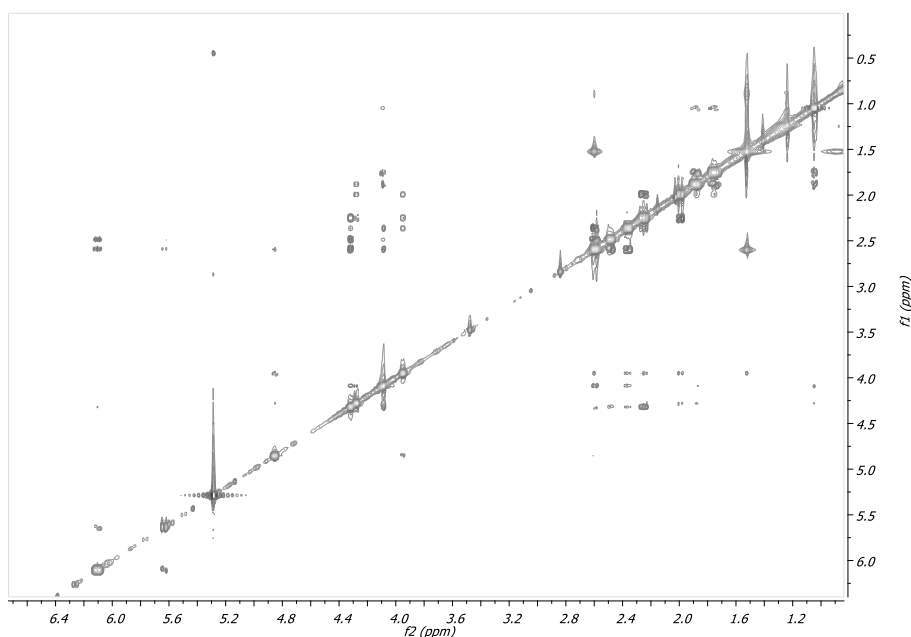


Εικόνα 72 – Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 14.



Εικόνα 73 – Φάσμα HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 14.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **14** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY (Εικ.74). Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις του (i) του H-6 με τα H-8β και H-11β (ii) του H-8β με το H-10 και (iii) του H-9 με το H-8α και το H-12, υπέδειξαν ότι τα πρωτόνια H-6, H-8β, H-10 και H-11β είναι ομοεπίπεδα. Αντίστοιχα, τα πρωτόνια H-8α, H-9 και H-12 είναι ομοεπίπεδα και βρίσκονται στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ των H-6 και H-7 στο φάσμα COSY είναι ενδεικτική της ύπαρξης γωνίας περίπου 90° μεταξύ των H-6 και H-7 στον άξονα C-6 και C-7, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί μόνο στην περίπτωση ομοεπίπεδης διευθέτησης των H-6 και H-7. (Εικ.75)



Εικόνα 74 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **14**.

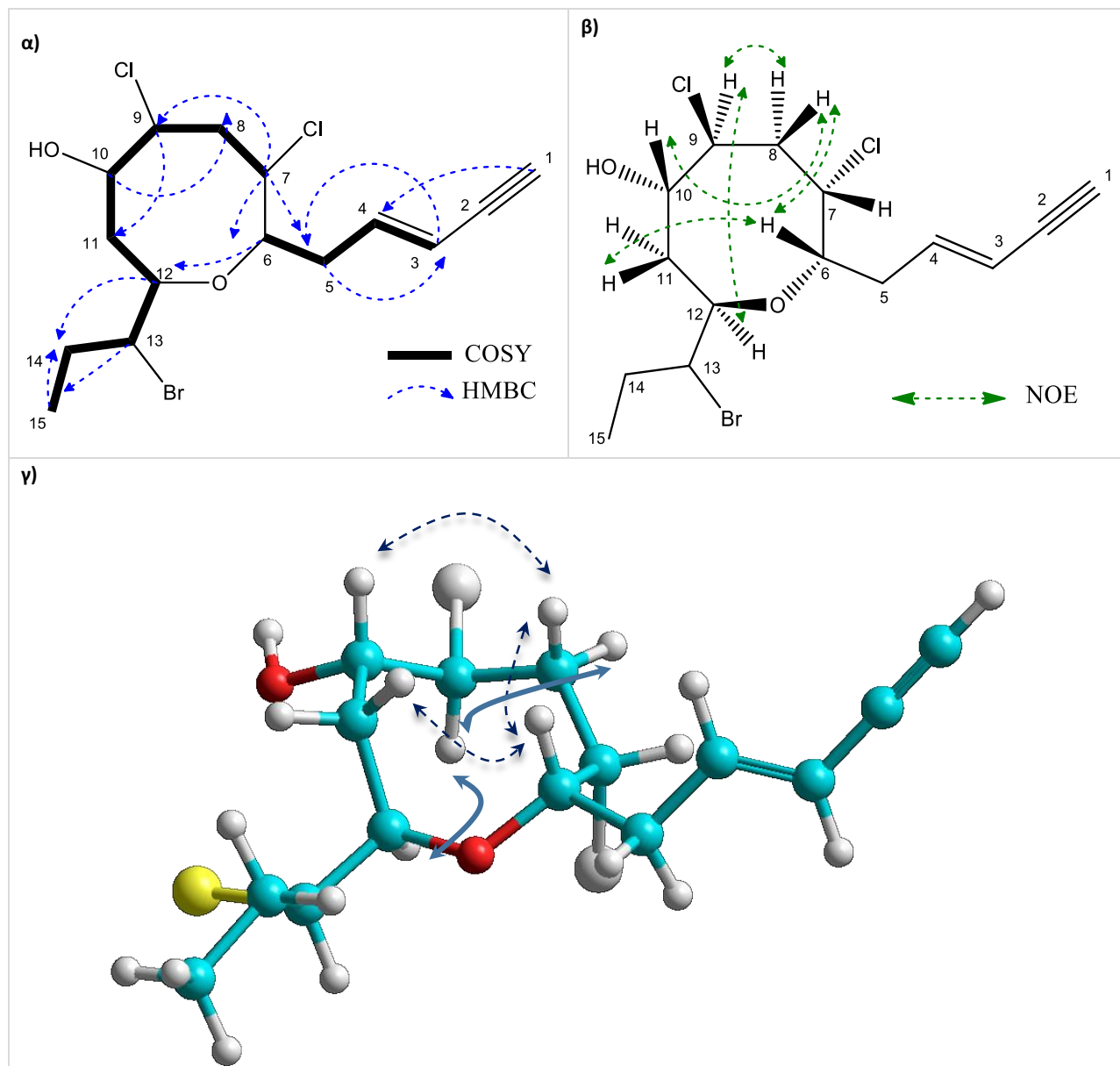
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **14** ως νέο φυσικό προϊόν, μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **14** με τα αντίστοιχα των μεταβολιτών **10** και **12** υπέδειξε την μεταξύ τους δομική ομοιότητα με βασική διαφορά ότι το C-10 υδροξύλιο στον μεταβολίτη **14** δεν είναι ακετυλιωμένο. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **14** παρατίθενται στον Πίνακα 128.

Πίνακας 128 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 14.

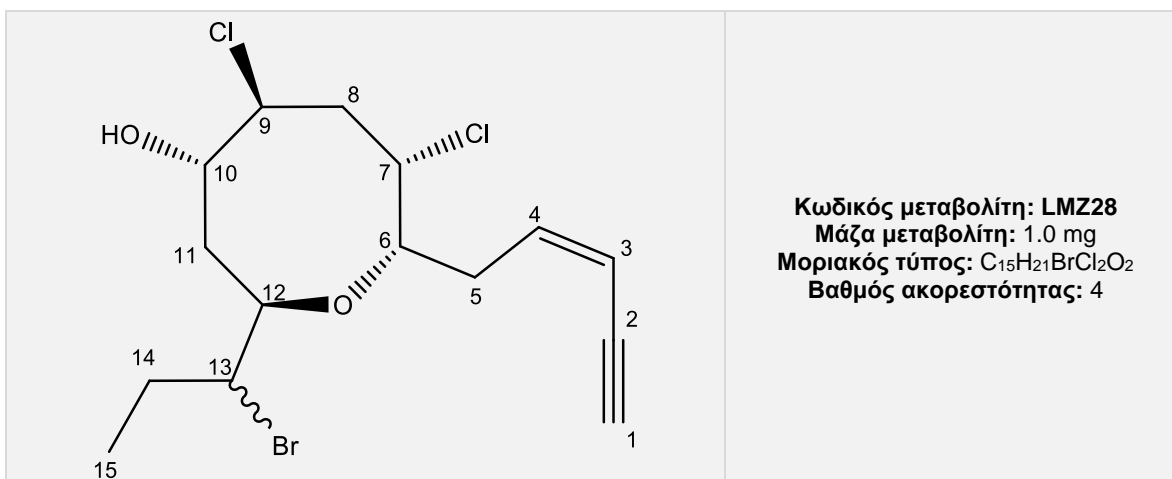
#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1	2.84 d (2.1)	81.7	H-4
2		77.2	
3	5.63 br d (15.7)	112.9	H-5a, H-5b
4	6.10 ddd (15.7, 8.4, 6.8)	140.0	H-5a, H-5b
5a	2.57 m	38.6	H-3, H-4
5b	2.50 m		
6	4.32 dd (9.3, 4.7)	72.0	H-5a, H-5b, H-12
7	4.08 m	61.4	H-5a, H-5b, H-6, H-9
8α	2.60 m	42.3	
8β	2.36 ddd (16.1, 8.9, 2.4)		
9	4.84 dd (9.3, 9.2)	63.1	H-8α, H-8β, H-11α
10	3.94 dt (9.3, 3.1)	74.4	H-8α, H-8β, H-9
11α	1.98 dd (15.8, 3.1)	30.3	
11β	2.26 m		
12	4.28 m	72.9	H-11β
13	4.09 m	64.0	H-14b, H-15
14a	1.87 m	30.0	H-15
14b	1.74 m		
15	1.04 t (7.3)	12.4	H-14a, H-14b



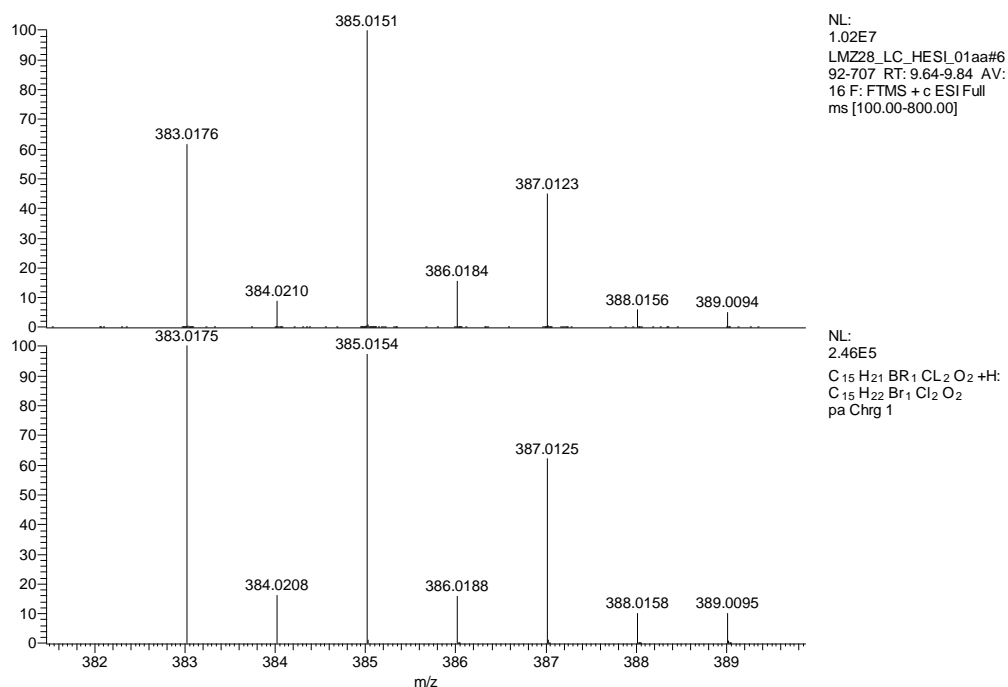
Εικόνα 75 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 14.



## Μεταβολίτης 15



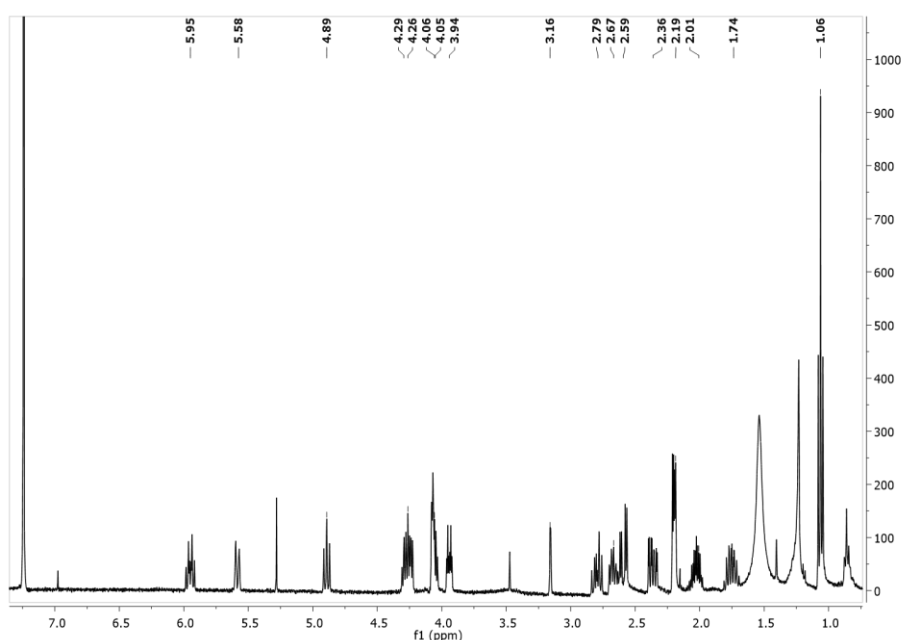
Ο μεταβολίτης **15** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.76) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  383 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  385 και 387 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



Εικόνα 76 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **15**.

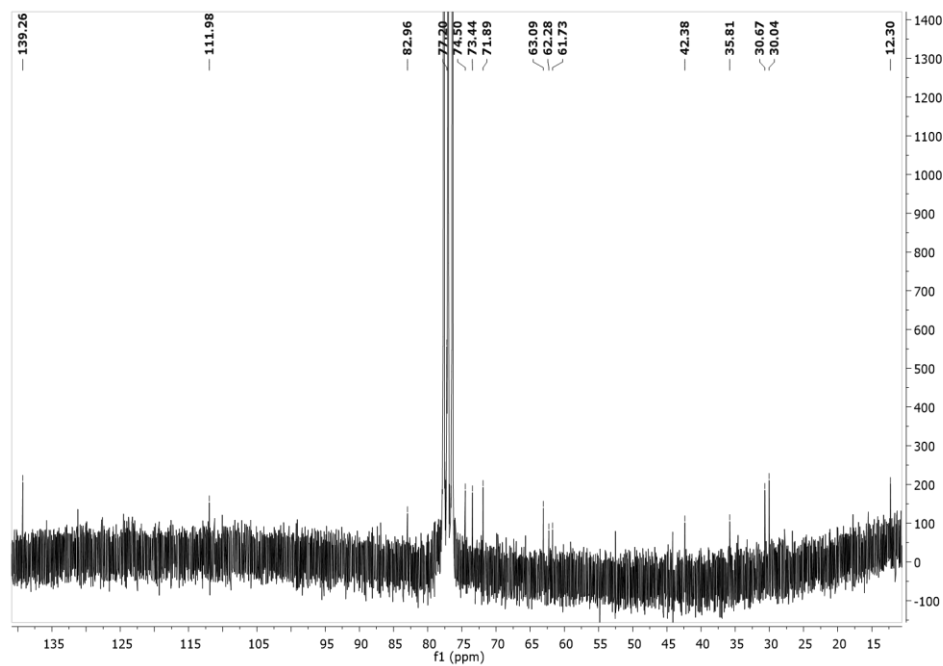
Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Εικ.77) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.06, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.16, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.58 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  5.95, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.26 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.29, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  3.93, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.06 και μία διπλή διπλών σε  $\delta$  4.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια χλωριωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

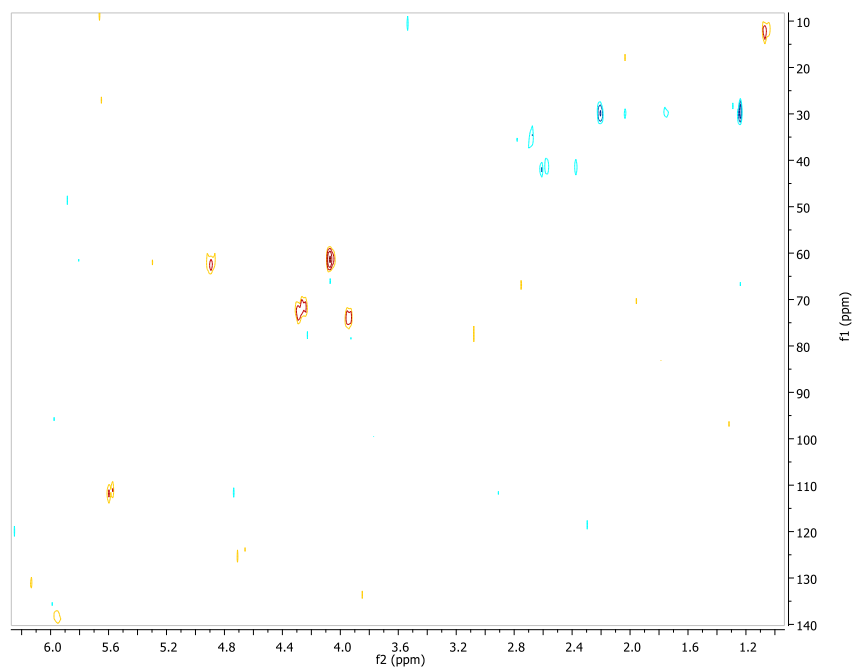


Εικόνα 77- Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **15**.

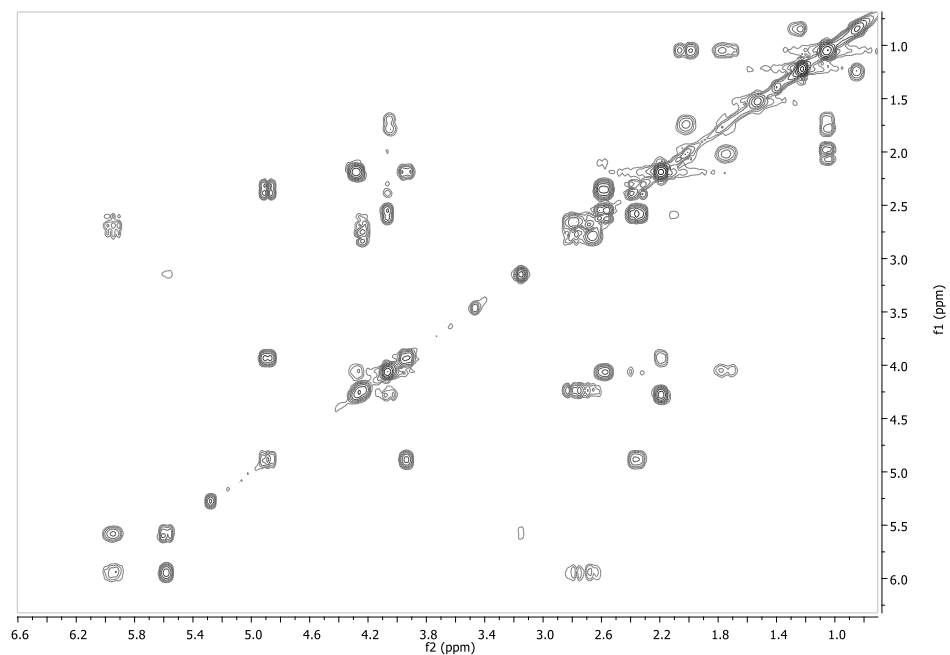
Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ατόμων άνθρακα και συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **15** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα, HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.79,80,81,83).



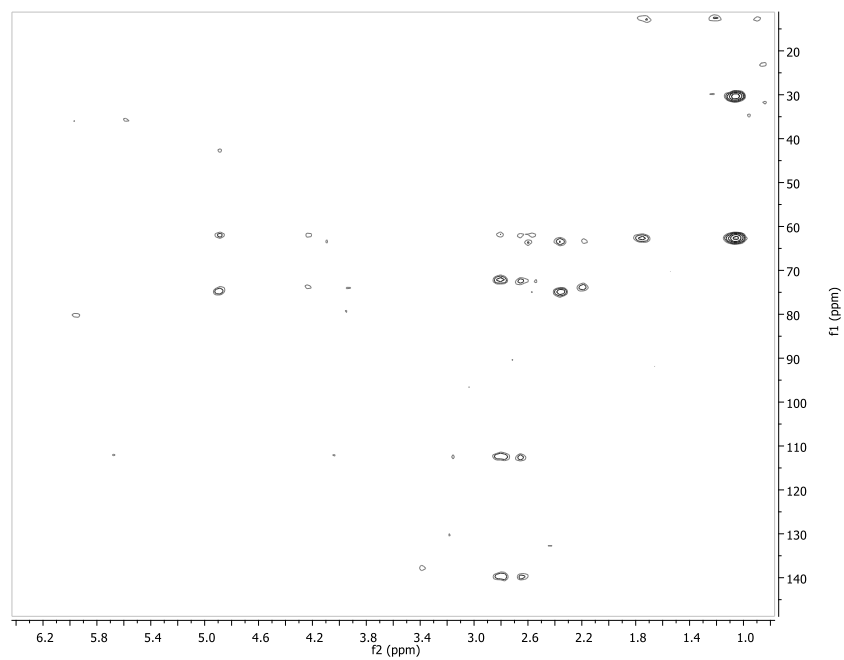
Εικόνα 78 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 15.



Εικόνα 79 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 15.

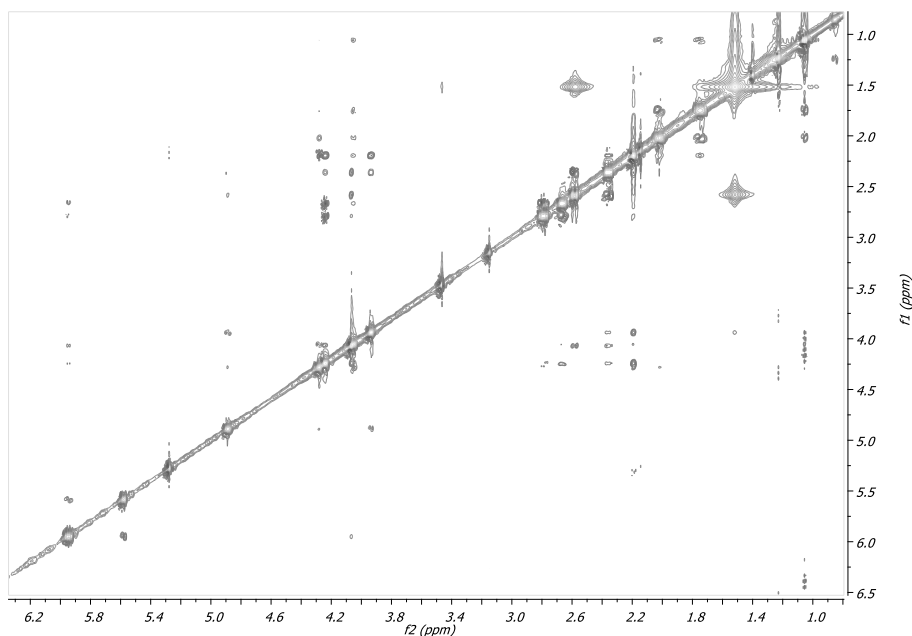


Εικόνα 80 – Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 15.



Εικόνα 81 – Φάσμα HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 15.

Η σχετική στεreoχημεία του μεταβολίτη 15 αποδόθηκε με βάση την ανάλυση δεδομένων από το φάσμα NOESY και εμφανίζεται να διατηρείται όπως έχει προταθεί και για τον μεταβολίτη 14 (Εικ.82,83).



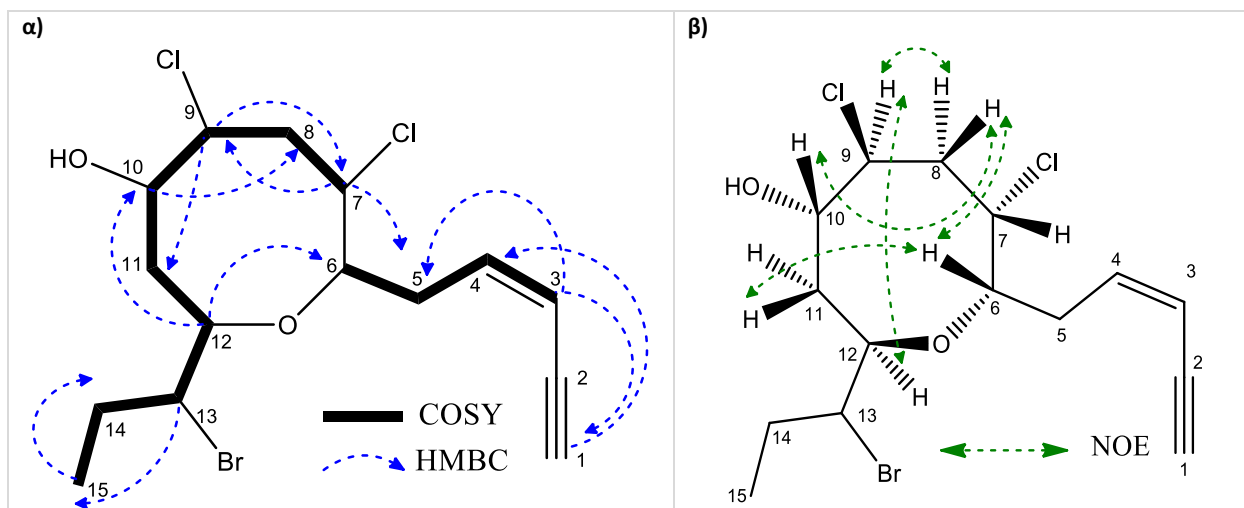
Εικόνα 82 – Φάσμα NOESY του μεταβολίτη **15**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **15** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **15** με αντίστοιχα του μεταβολίτη **14** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά την γεωμετρία του διπλού δεσμού  $\Delta^3$ . Η *cis* γεωμετρία του διπλού δεσμού στο μεταβολίτη **15** καθορίστηκε από τη σταθερά σύζευξης μεταξύ των H-3 και H-4 ( $J = 10.9$  Hz), και επιβεβαιώθηκε από την χαρακτηριστική αποθωράκιση του ακετυλενικού πρωτονίου H-1 της βινυλοακετυλενικής αλυσίδας που συντονίζεται σε  $\delta$  3.16 αντί για  $\delta$  2.84 (Πίνακας 128). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **15** παρουσιάζονται στον πίνακα 129.

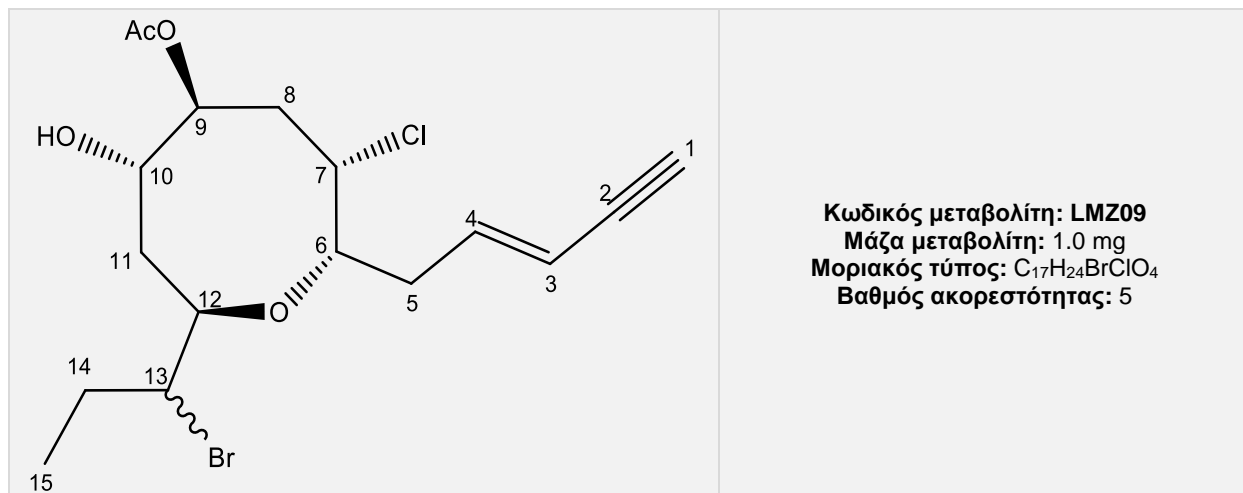
Πίνακας 129 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 15.

#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1	3.16 d (1.8)	83.0	
2		77.2	
3	5.58 d (10.9)	112.0	H-5a, H-5b
4	5.95 dt (10.9, 7.7)	139.3	H-5a, H-5b
5a	2.79 m	35.8	
5b	2.67 m		
6	4.26 m	71.9	H-5a, H-5b
7	4.06 m	61.8	H-5a, H-5b, H-6, H-9
8α	2.58 ddd (16.3, 9.0, 2.2)	42.4	H-9
8β	2.36 dd (16.3, 4.9)		
9	4.89 dd (9.0, 8.9)	63.1	H-7, H-8α, H-8β, H-11β
10	3.93 dt (9.0, 3.3)	74.5	H-8β, H-9
11α	1.98 m	30.7	
11β	2.19 m		
12	4.29 m	73.4	H-6, H-10, H-11β
13	4.05 m	62.3	H-14b, H-15
14a	2.01 m		
14b	1.74 m	30.0	H-15
15	1.06 t (7.3)	12.3	H-14b

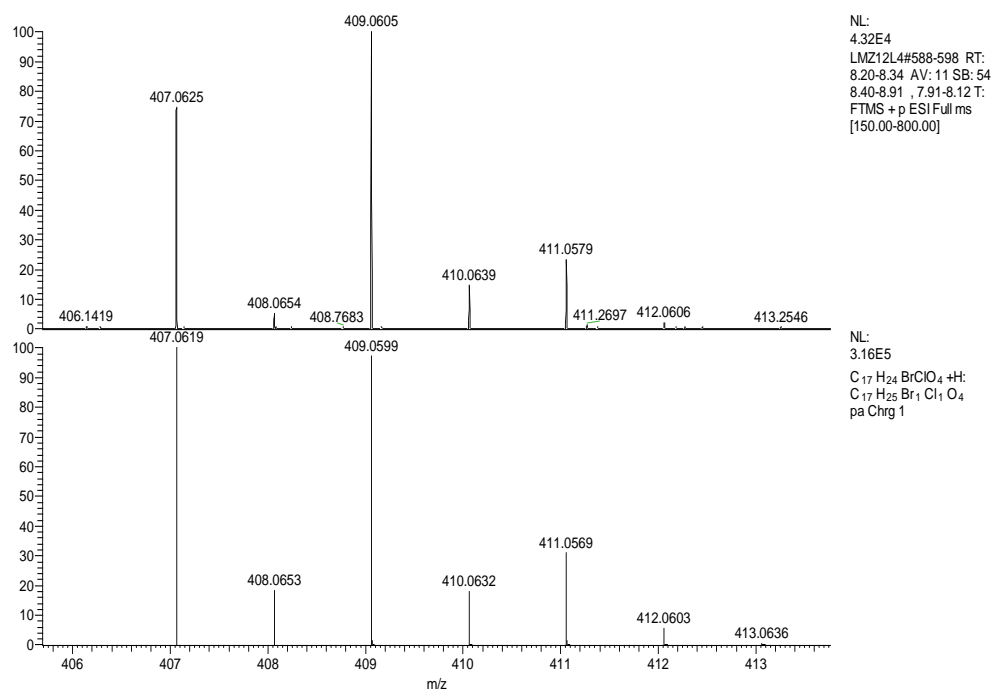
Εικόνα 83 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE του μεταβολίτη 15.



## Μεταβολίτης 16



Ο μεταβολίτης **16** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.84) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε *m/z* 407 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 409 και 411 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.

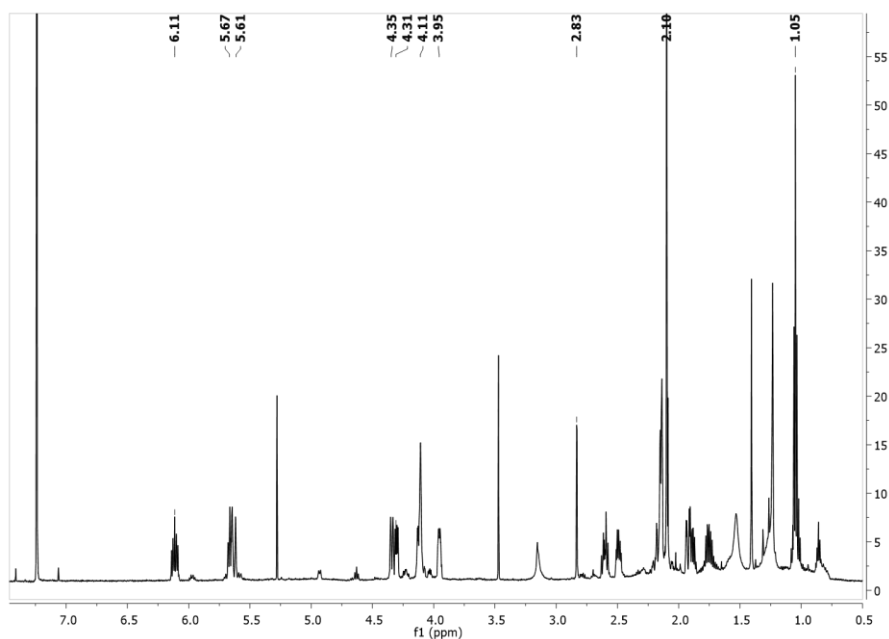


Εικόνα 84 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **16**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.85) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

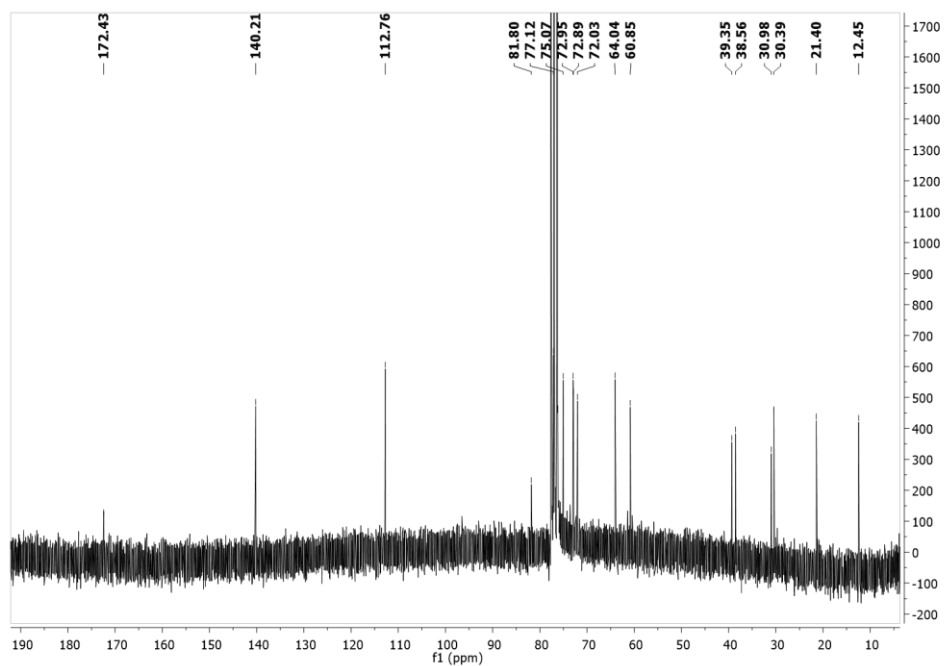


- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.61 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.11, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  4.31 και 4.35, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μια διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.67, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

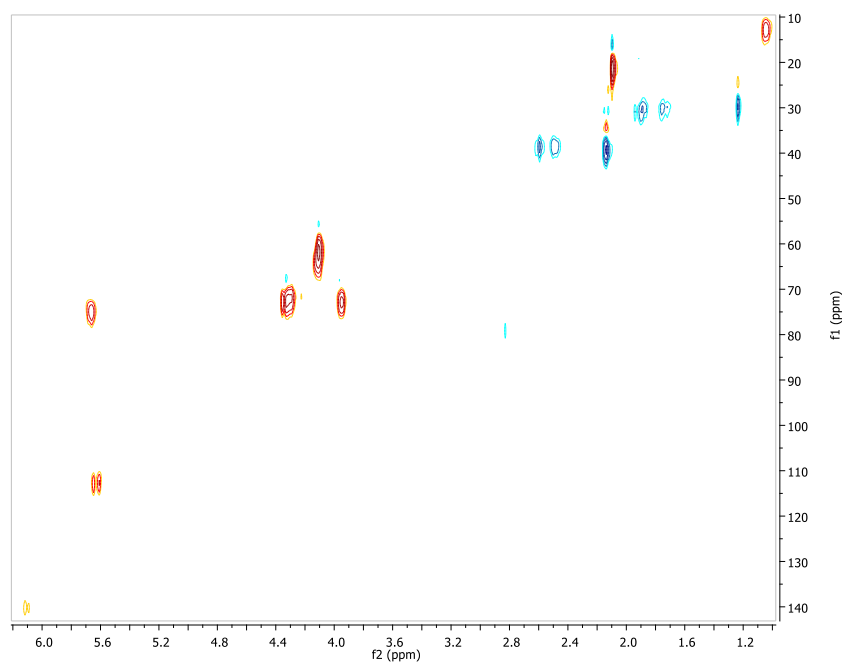


Εικόνα 85 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 16.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 17 ατόμων άνθρακα και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων ανθράκα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη 16 αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.86,87,88,89).

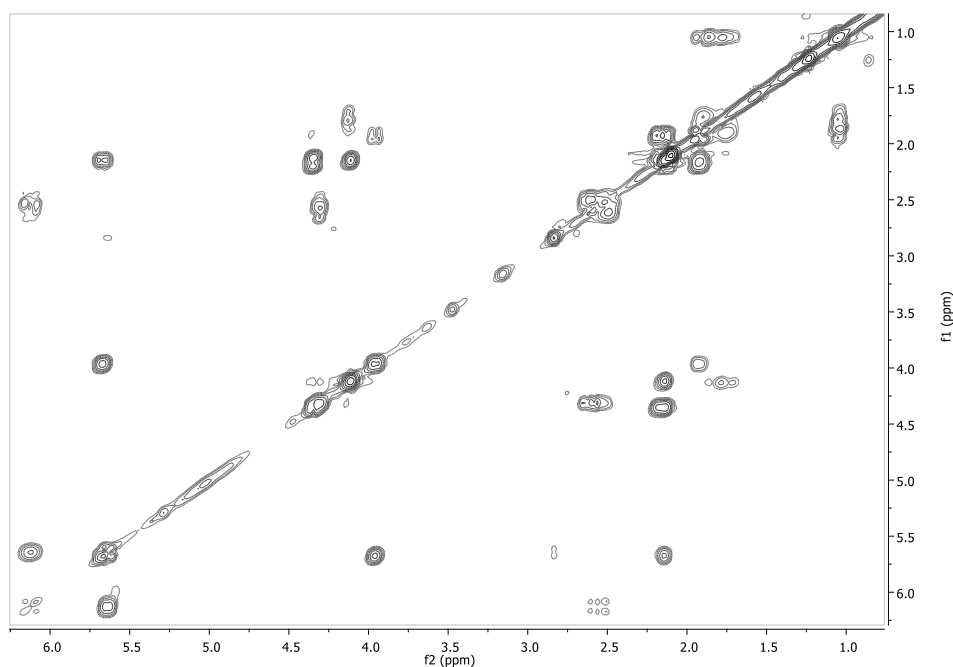


Εικόνα 86 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 16.

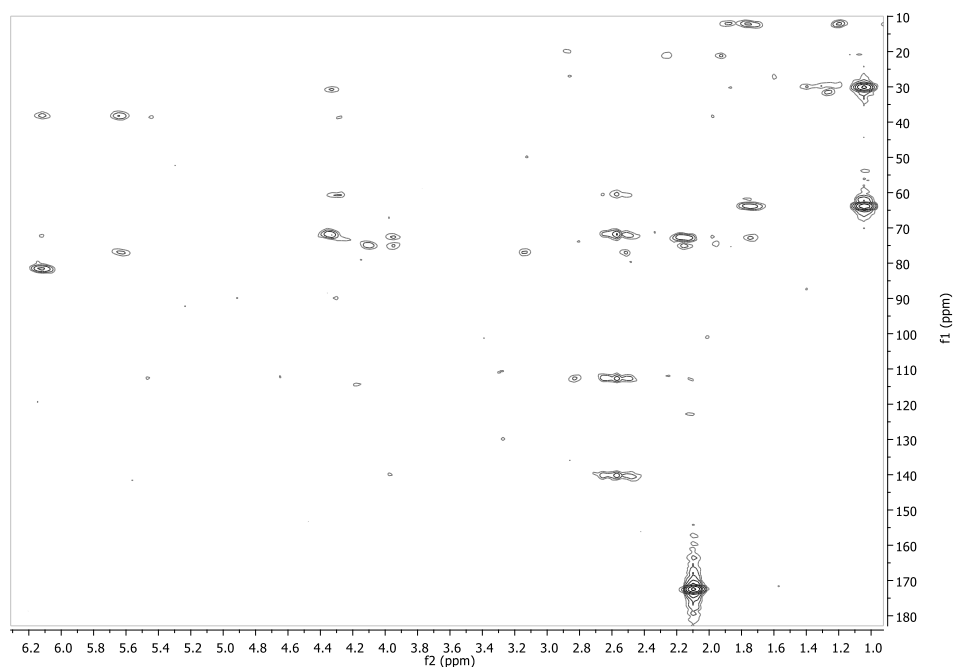


Εικόνα 87 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 16.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-6 και H-7 – H-15. Στο φάσμα HMBC η συσχέτιση του τριτοταγούς άνθρακα C-7 με το H-6 υπέδειξε τη σύνδεση των δύο συστημάτων spin. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-6 με το H-12 υπέδειξε την παρουσία μιας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των ανθράκων C-6 και C-12. Τέλος, η συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-9 με το H<sub>3</sub>-17 υπέδειξε την θέση της ακετόξυ ομάδας στον C-9 (Εικ.93).

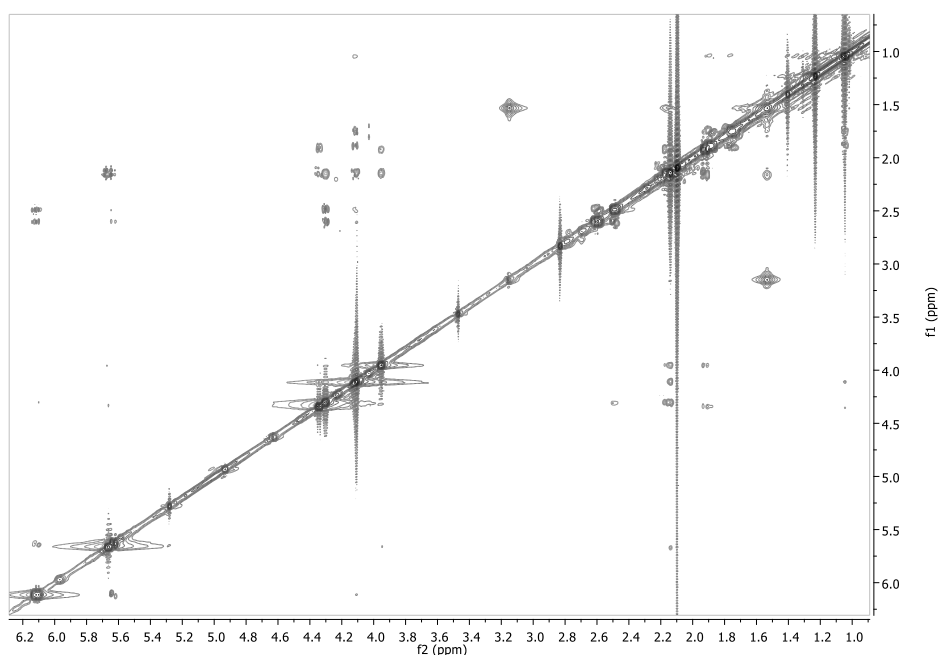


Εικόνα 88 - Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 16.

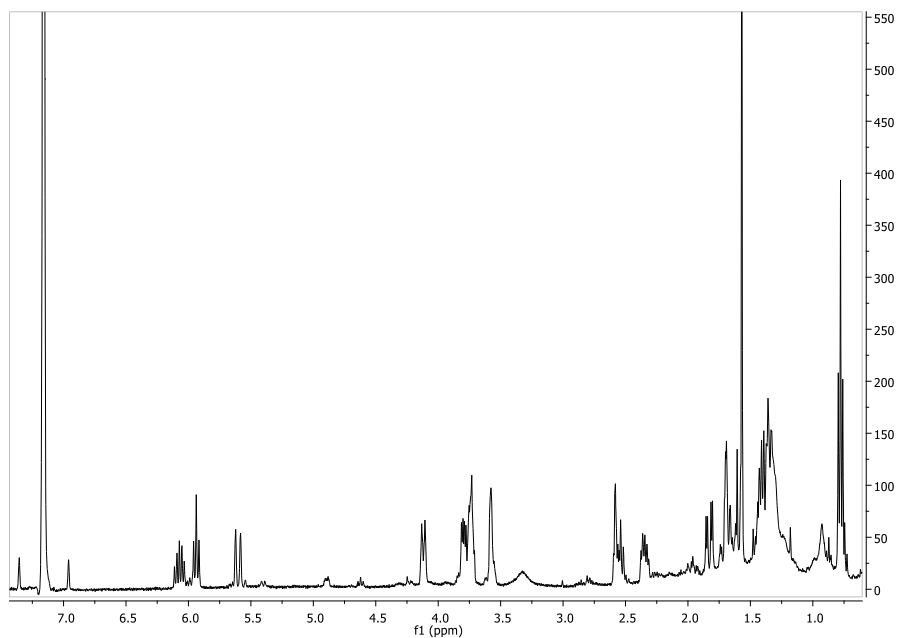


Εικόνα 89 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 16.

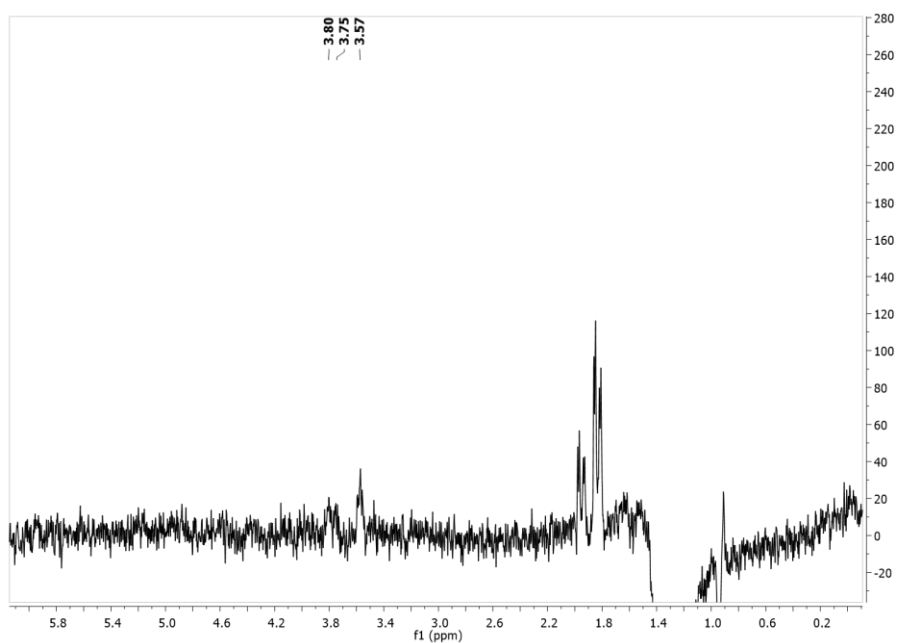
Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **16** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, η συσχέτιση του H-9 με το H-12 σε συνδυασμό με τη σταθερά σύζευξης ανάμεσα στα H-9 και H-10 ( $J_{9-10}=9.0$  Hz) η οποία διατηρείται στις ίδιες τιμές με την αντίστοιχη των μεταβολίτων **10-15** υπέδειξαν την διατήρηση της σχετικής στερεοχημείας στα ασύμμετρα κέντρα C-9, C-10 και C-12, όπως και στους μεταβολίτες **10-15**. Σε σειρά πειραμάτων 1D-NOE (σε  $C_6D_6$ ), ακτινοβολήση του H-8β οδήγησε στην ενίσχυση των κορυφών των H-6, H-7 και H-10 καταδεικνύοντας την ομοεπίπεδη διαμόρφωσή τους. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ των H-6 και H-7 στο φάσμα COSY είναι ενδεικτική της ύπαρξης δίεδρης γωνίας περίπου  $90^\circ$  μεταξύ των H-6 και H-7 στον άξονα C-6 και C-7, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί μόνο στην περίπτωση ομοεπίπεδης διευθέτησης των H-6 και H-7 (Εικ.90,91,92,93).



Εικόνα 90 – Φάσμα NOESY ( $CDCl_3$ ) του μεταβολίτη **16**.



Εικόνα 91 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη **16**.



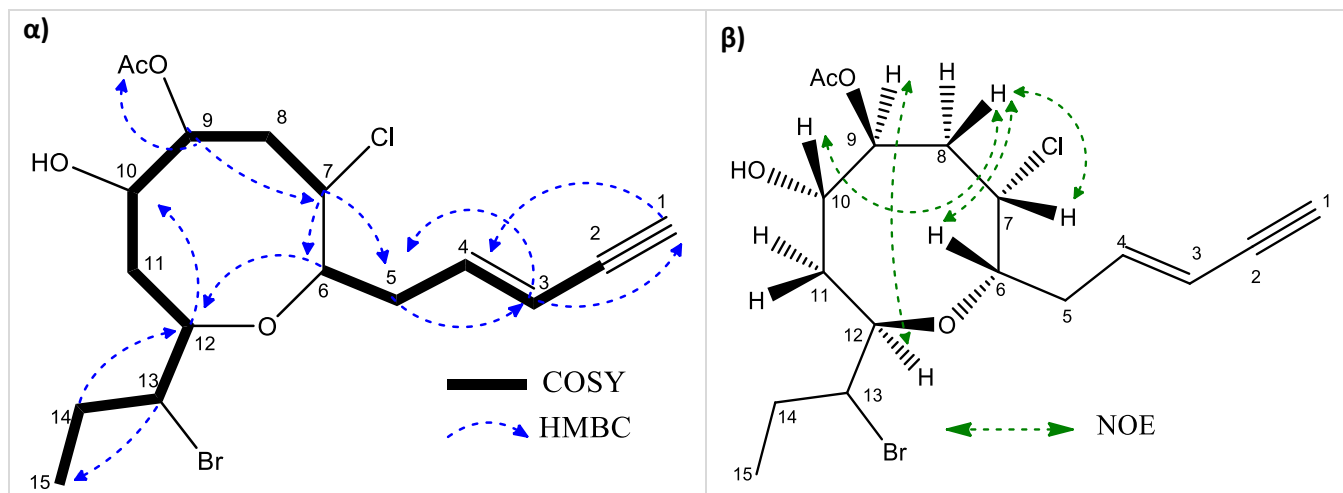
Εικόνα 92 – Φάσμα 1D NOE ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) – Ακτινοβολήση πρωτονίου H-8β ( $\delta$  1.39)

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **16** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **16** παρατίθενται στον Πίνακα 130.

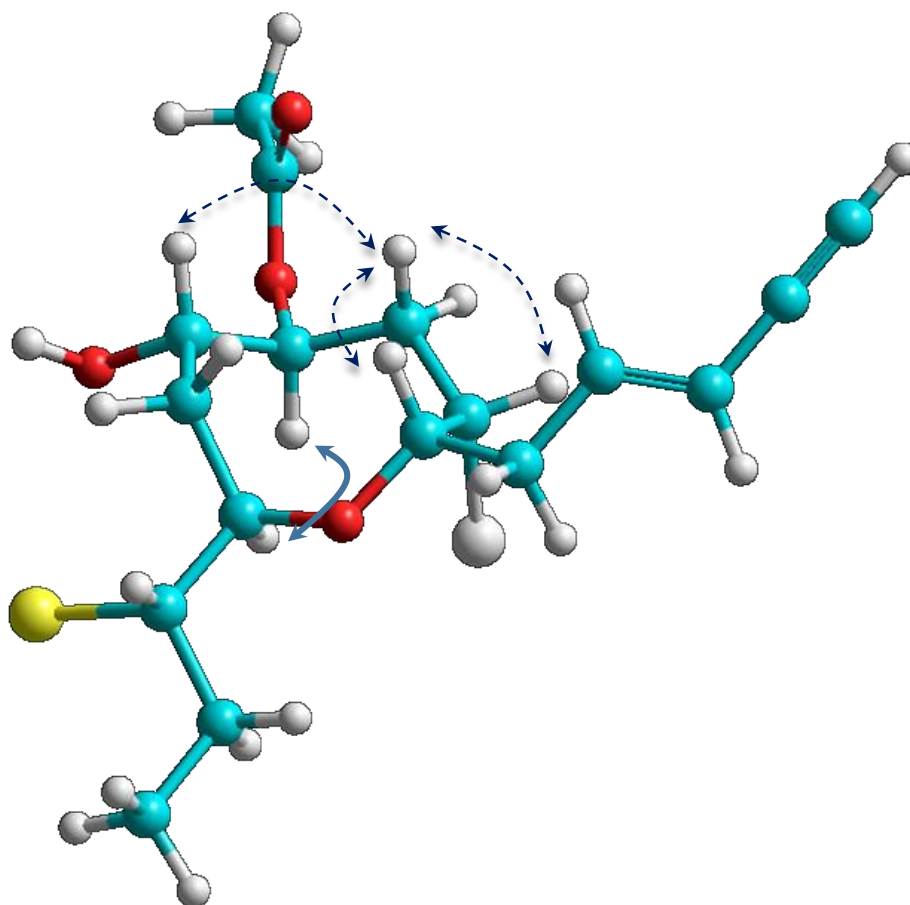
Πίνακας 130 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $\text{CDCl}_3$  και  $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη 16.

#	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{C}_6\text{D}_6$ )	$^{13}\text{C}$ NMR	HMBC
1	2.83 d (1.9)	2.58 m	81.8	H-4
2			77.1	H-3, H-5a
3	5.61 br d (15.9)	5.60 br d (15.5)	112.8	H-1, H-5a, H-5b
4	6.11 ddd (15.9, 8.4, 5.6)	6.07 dd (15.5, 7.8, 7.6)	140.2	H-5a, H-5b
5a	2.49 m	2.36 m	38.6	H-3, H-4
5b	2.59 m	2.55 m		
6	4.31 dd (9.7, 5.1)	3.80 m	72.1	H-5a, H-5b, H-12
7	4.11 m	3.57 m	60.9	H-5a, H-5b, H-6
8α		1.88 m	39.4	
8β		1.39 m		
9	5.67 ddd (9.0, 7.1, 2.1)	5.92 m	75.1	H-7, H-8a, H-8b, H-10
10	3.95 ddd (9.0, 3.8, 2.4)	3.74 m	73.0	H-11a, H-11b
11a	2.13 m	1.66 m	30.4	H-12
11b	1.92 m			
12	4.35 dd (12.0, 2.2)	4.12 m	72.9	H-10, H-11α, H-14b
13	4.11 m	3.74 m	64.0	H-14b, H-15
14a	1.90 m	1.42 m	30.4	H-12, H-13, H-15
14b	1.75 m			
15	1.05 t (7.3)	0.77 t (7.2)	12.5	H-14b
16			172.4	H-17
17	2.10 s	1.57 s	21.4	

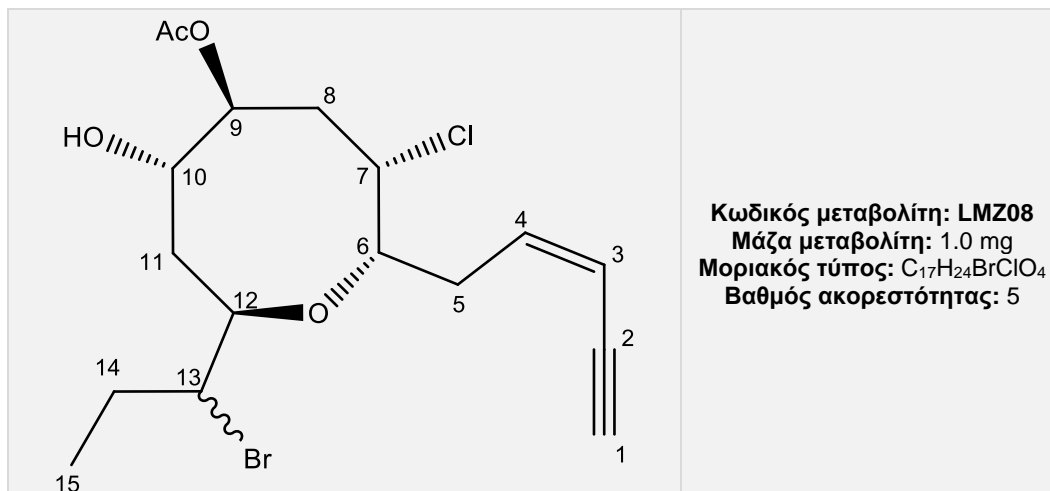
Εικόνα 93 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 16.



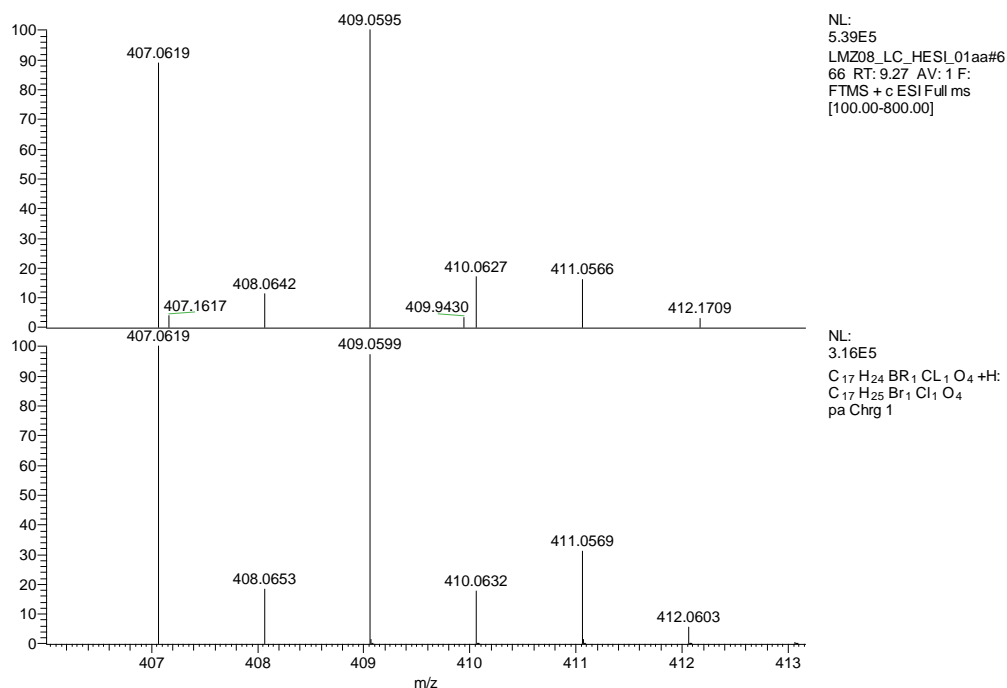
γ)



## Μεταβολίτης 17



Ο μεταβολίτης **17** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.94) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε *m/z* 407 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 409 και 411 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.

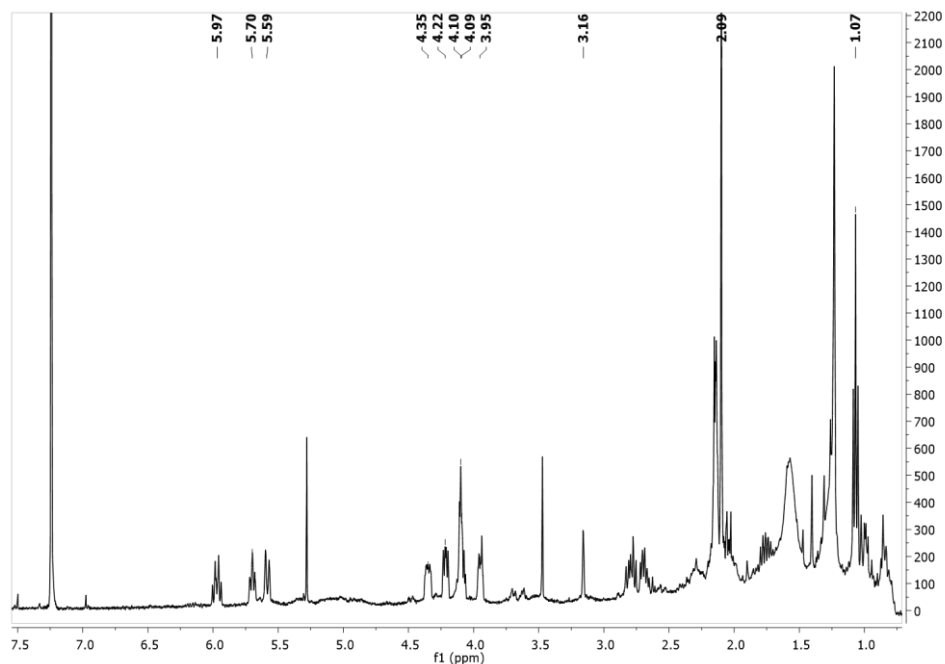


Εικόνα 94 - Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **17**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.95) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

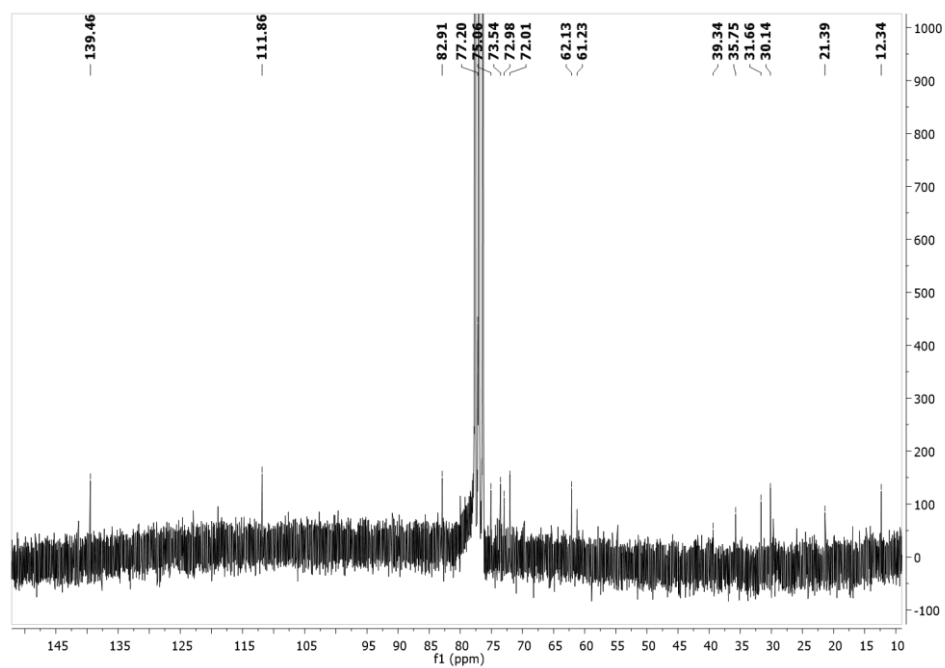


- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.07, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.16, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  5.97, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή  $\delta$  4.22 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.35, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μία τριπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.70, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

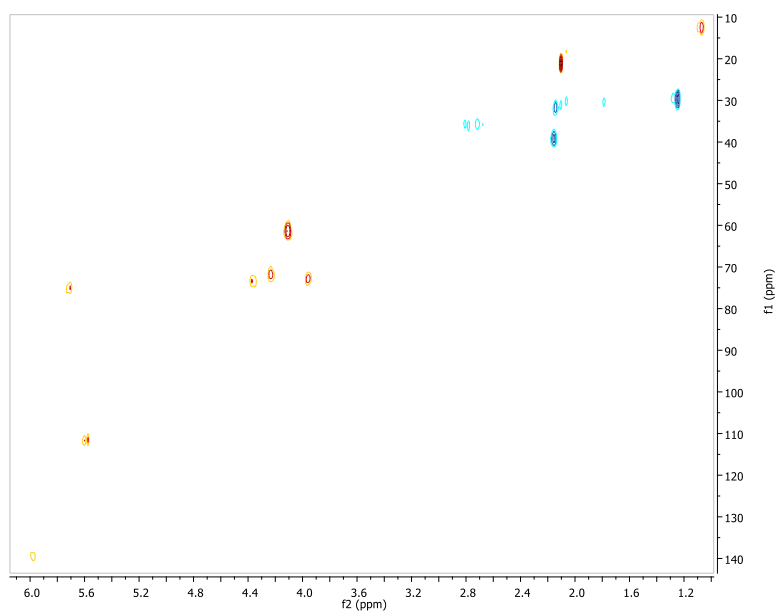


Εικόνα 95 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 17.

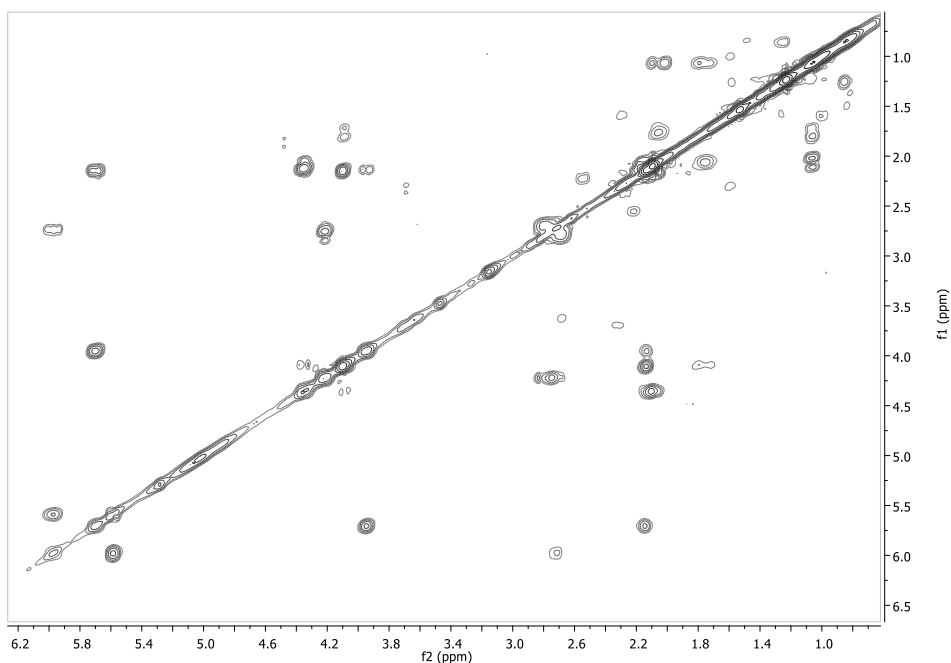
Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 17 ανθράκων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική του μεταβολίτη 17 αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.96,97,98,99).



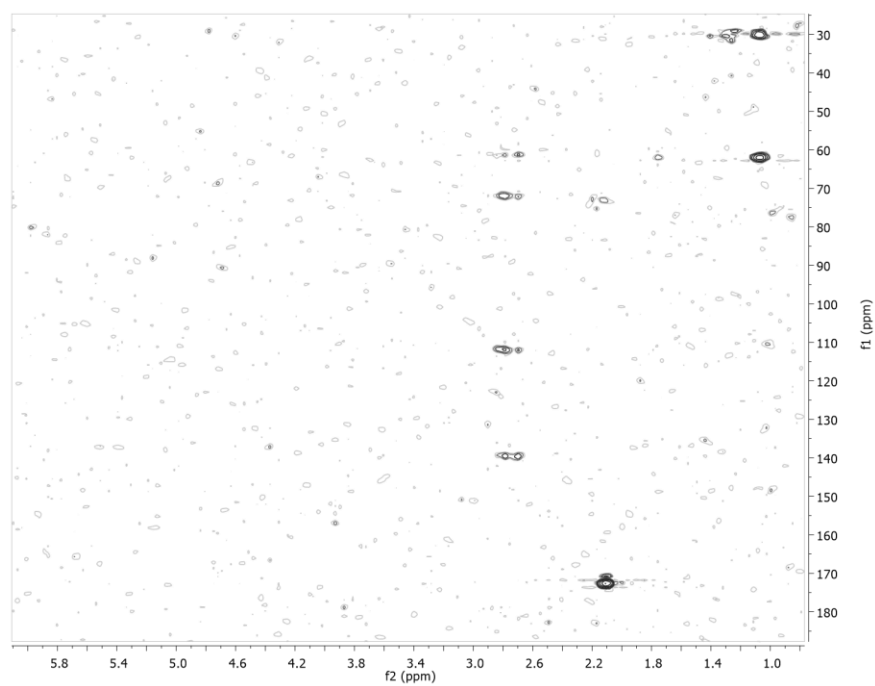
Εικόνα 96 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 17.



Εικόνα 97 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 17.



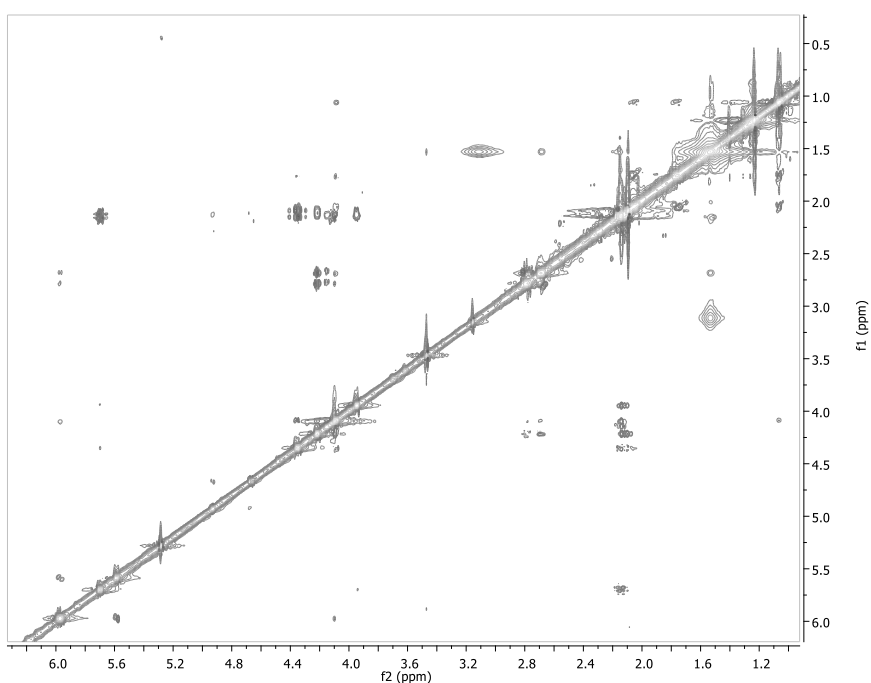
Εικόνα 98 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 17.



Εικόνα 99 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 17.

Η σχετική στεreoχημεία του μεταβολίτη **17** αποδόθηκε με βάση την ανάλυση δεδομένων από το φάσμα NOESY και εμφανίζεται να διατηρείται όπως έχει προταθεί και για τον μεταβολίτη **16** (Εικ.100, 101).

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **17** ως νέο φυσικό προϊόν, μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **17** με αντίστοιχα του μεταβολίτη **16** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών, με βασική διαφορά την γεωμετρία του διπλού δεσμού  $\Delta^3$ . Η cis γεωμετρία του διπλού δεσμού στο μεταβολίτη **17** καθορίστηκε από τη σταθερά σύζευξης μεταξύ των H-3 και H-4 ( $J= 11.1$  Hz), και επιβεβαιώθηκε από την χαρακτηριστική αποθωράκιση του ακετυλενικού πρωτονίου H-1 της βινυλοακετυλενικής αλυσίδας που συντονίζεται σε  $\delta$  3.16 αντί για  $\delta$  2.83. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **17** παρουσιάζονται στον πίνακα 131.

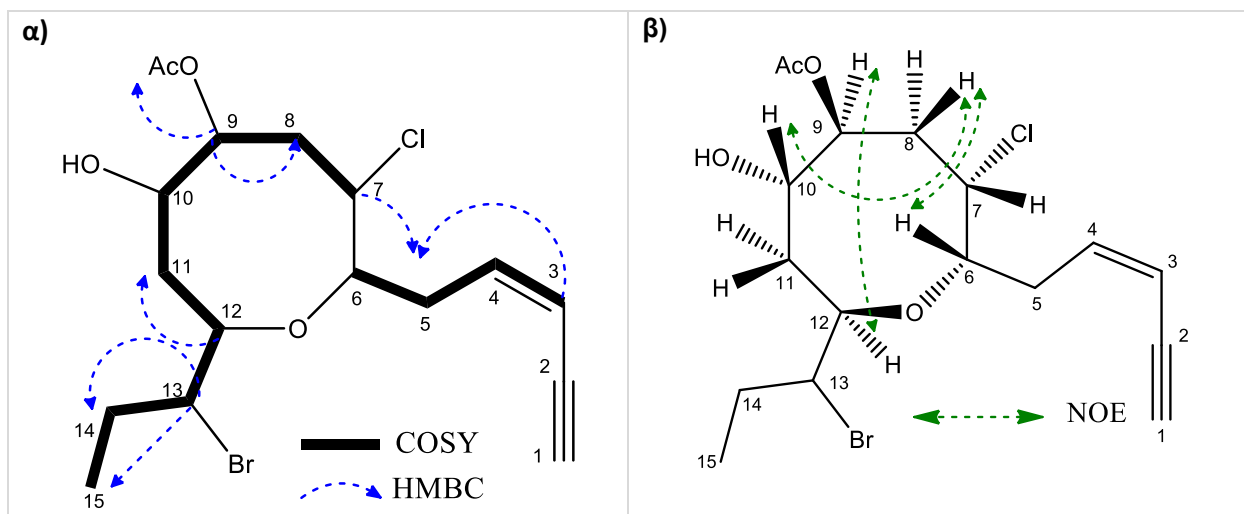


Εικόνα 100 – Φάσμα NOESY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **17**.

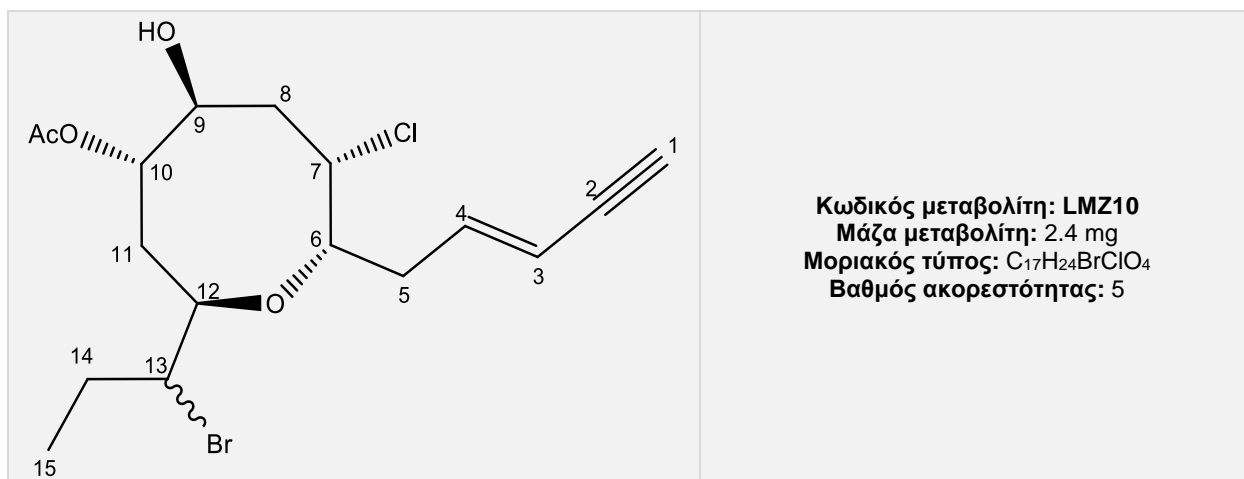
Πίνακας 131 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 17.

#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1	3.16 d (1.7)	82.9	
2		77.2	
3	5.59 d (11.1)	111.9	H-5a, H-5b
4	5.97 dt (11.1, 7.9)	139.5	H-5a, H-5b
5a	2.79 m	35.7	H-3, H-4
5b	2.70 m		
6	4.22 ddd (9.1, 5.4, 1.3)	72.0	H-5a, H-5b
7	4.10 m	61.2	H-5a, H-5b
8a	2.15 m	39.3	
8b	2.15 m		
9	5.70 td (9.0, 2.1)	75.0	
10	3.95 m	73.0	
11a	2.14 m	31.7	
11b	2.10 m		
12	4.35 m	73.5	
13	4.09 m	62.1	H-14b, H-15
14a	2.04 m	30.1	
14b	1.76 m		
15	1.07 t (7.3)	12.3	
16		172.6	H-17
17	2.09 s	21.4	

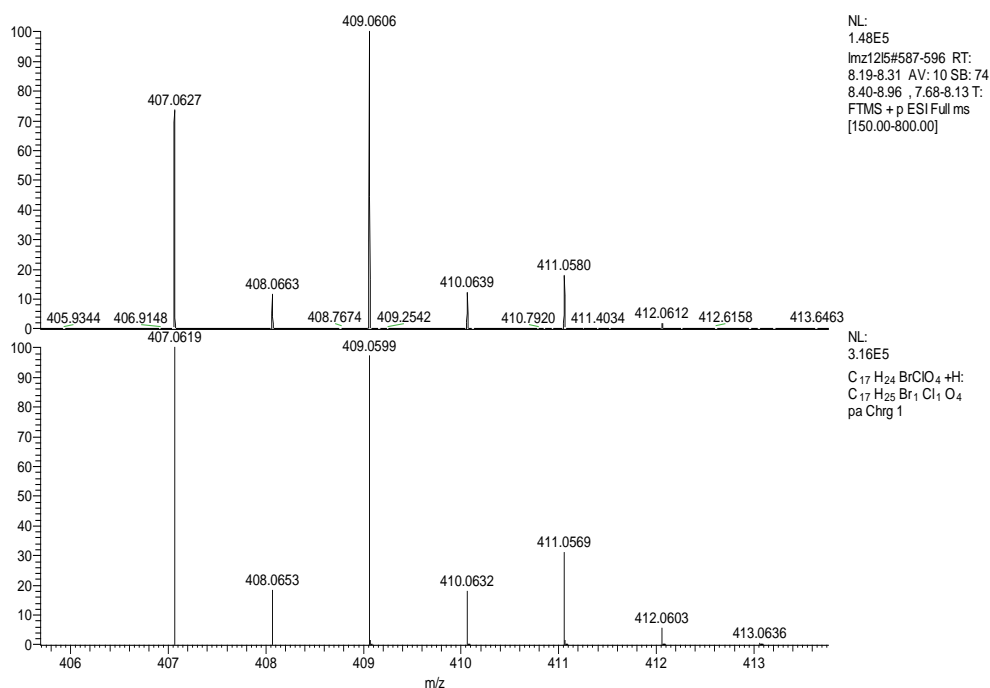
Εικόνα 101 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE του μεταβολίτη 17.



## Μεταβολίτης 18



Ο μεταβολίτης **18** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.102) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  407 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  409 και 411 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.

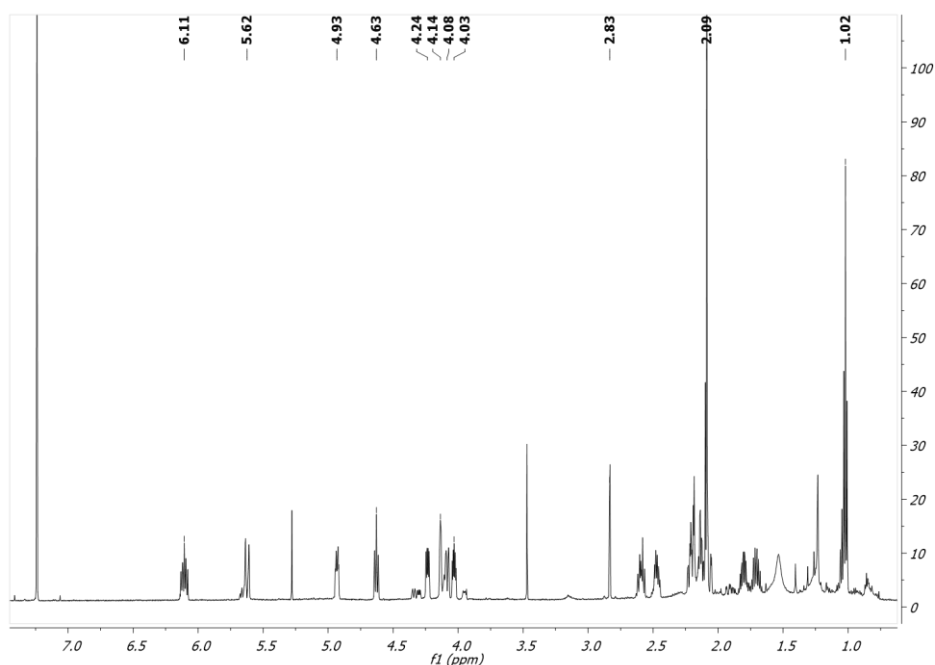


Εικόνα 102 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **18**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.103) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

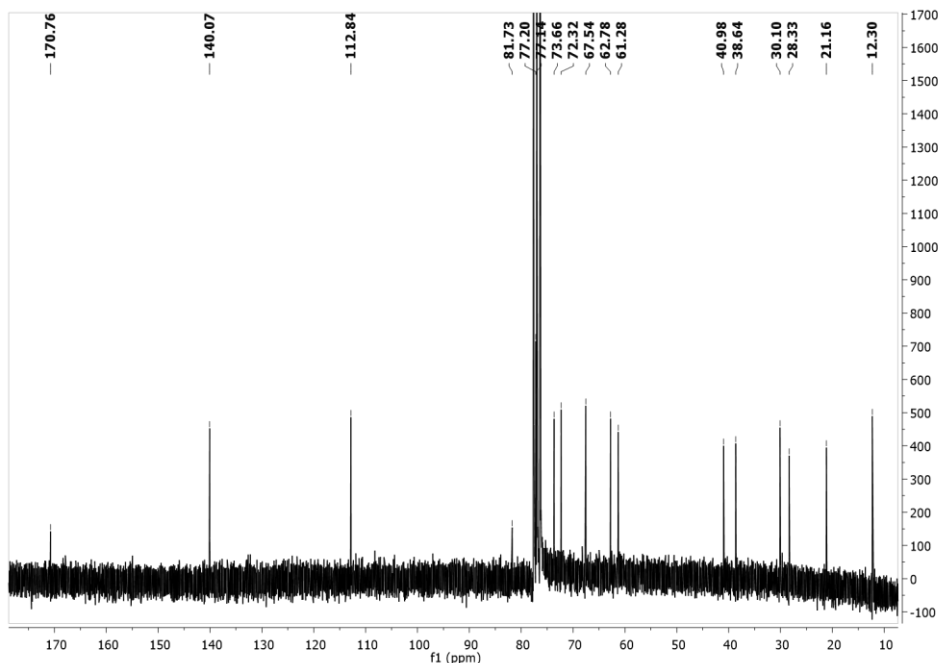
- Μία τριπλή κορυφή σε δ 1.02, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.

- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.62 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.11, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.24 και μία πολλαπλή σε  $\delta$  4.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.93, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.63, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.14, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.03, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

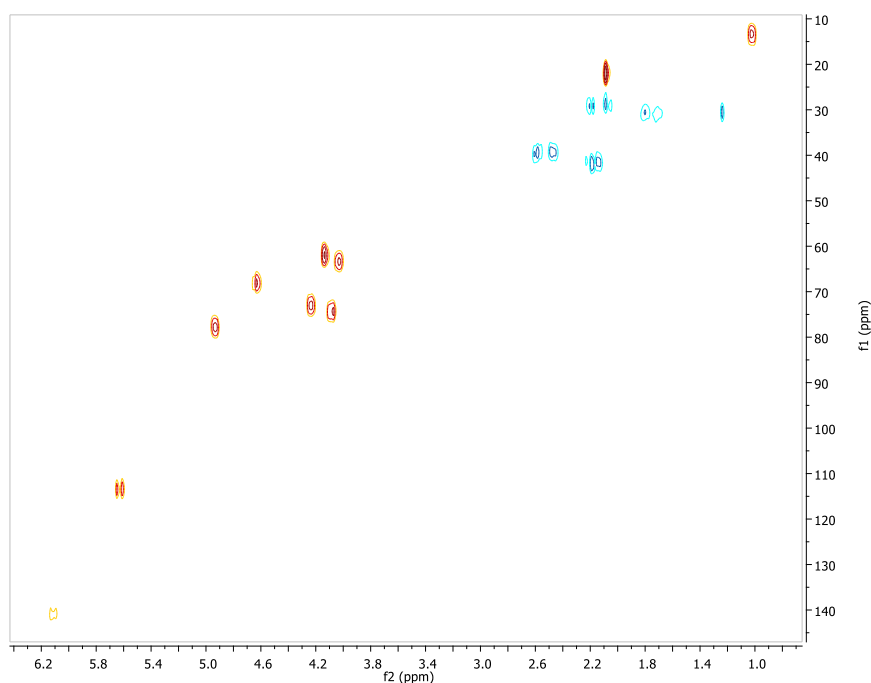


Εικόνα 103 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **18**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 17 ανθρακων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **18** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.104,105,106,107).



Εικόνα 104 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **18**.

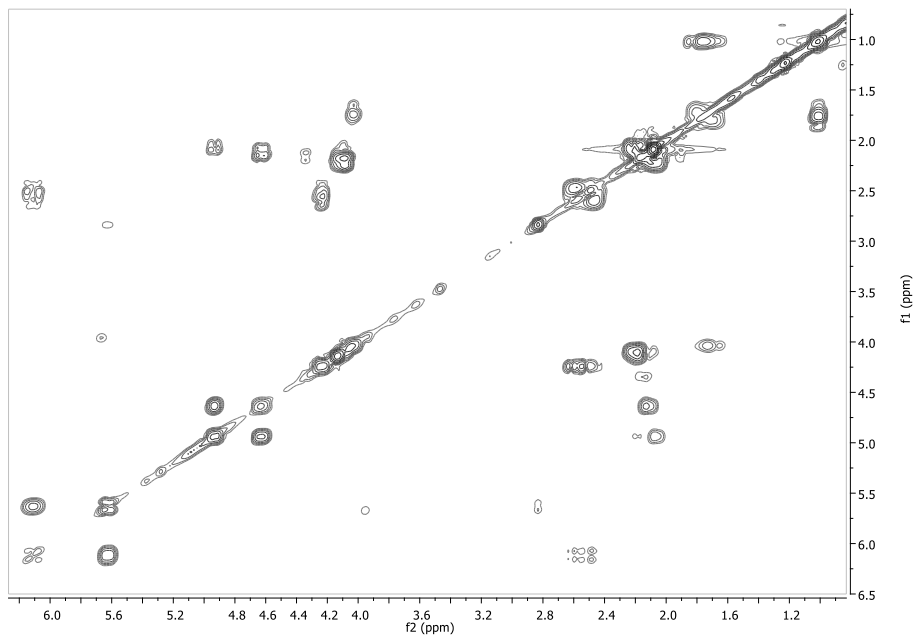


Εικόνα 105 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **18**.

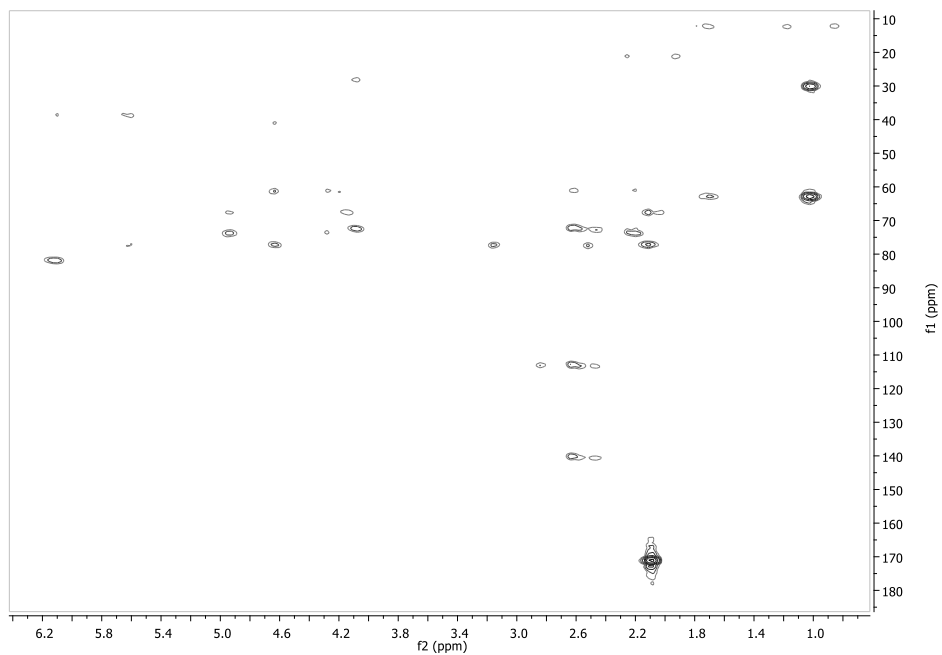
Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-6 και H-7 – H-15. Στο φάσμα HMBC η συσχέτιση του τριτοταγούς χλωριωμένου άνθρακα C-7 με το H-6 υπέδειξε τη σύνδεση των δύο συστημάτων spin. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-6 με το H-12 υπέδειξε την παρουσία μιας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των



ανθράκων C-6 και C-12. Τέλος, η συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-10 με τα H<sub>3</sub>-17 υπέδειξε την υποκατάσταση του C-10 από μία ακετόξυ ομάδα (Εικ.111).

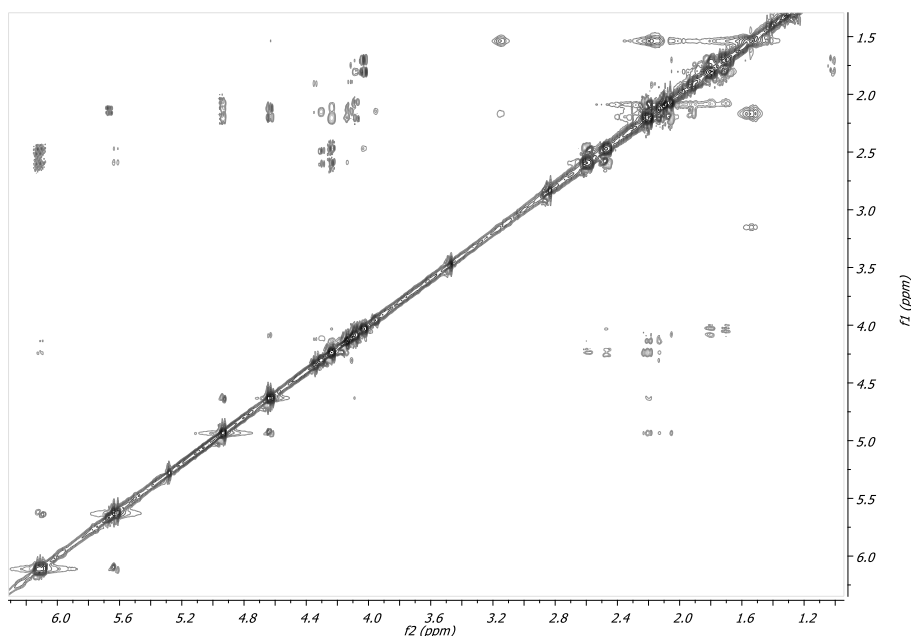


Εικόνα 107 - Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 18

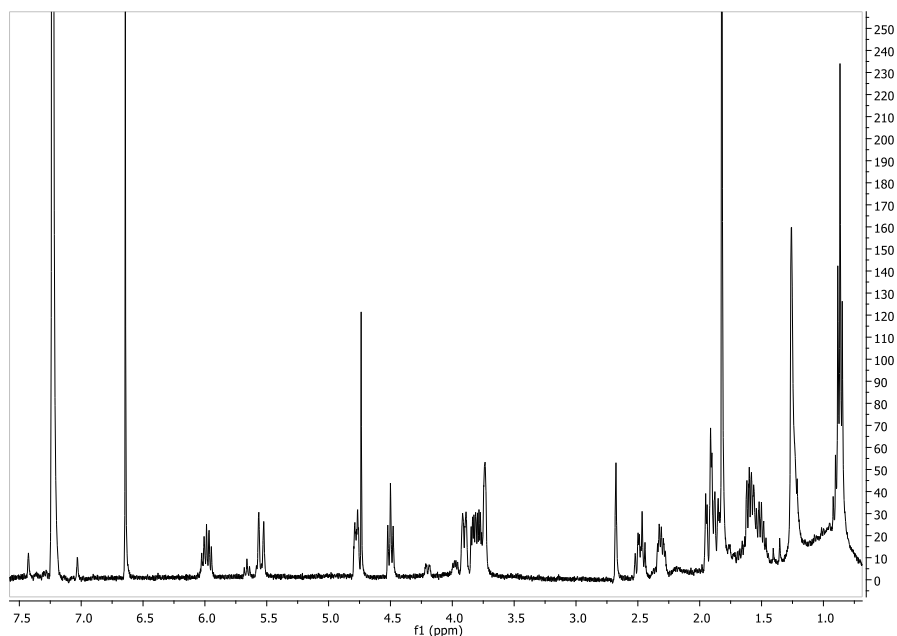


Εικόνα 106 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 18.

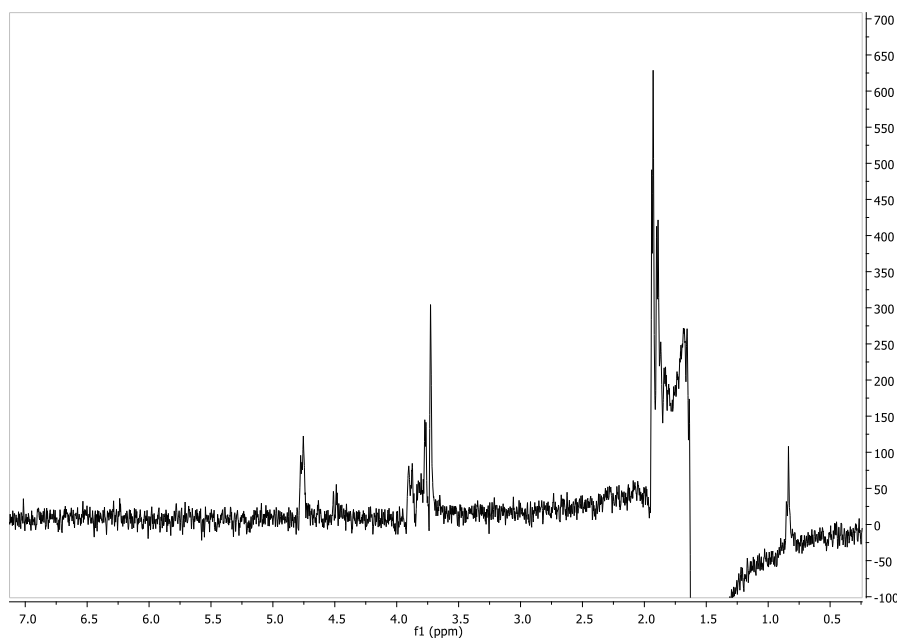
Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **18** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις του H-9 με το H-12 σε συνδυασμό με τη σταθερά σύζευξης ανάμεσα στα H-9 και H-10 ( $J_{9-10} = 9.0$  Hz) η οποία διατηρείται στις ίδιες τιμές με την αντίστοιχη των μεταβολίτων **10-17** υπέδειξαν την διατήρηση της σχετικής στερεοχημείας στα ασύμμετρα κέντρα C-9, C-10 και C-12, όπως και στους μεταβολίτες **10-17**. Σε σειρά πειραμάτων 1D-NOE (σε μίγμα  $\text{CDCl}_3:\text{C}_6\text{D}_6$  /6:4) ακτινοβολήση του H-8β οδήγησε στην ενίσχυση των κορυφών των H-6, H-7 και H-10 καταδεικνύοντας την ομοεπίπεδη διαμόρφωσή τους. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ των H-6 και H-7 στο φάσμα COSY είναι ενδεικτική της ύπαρξης διεδρης γωνίας περίπου  $90^\circ$  μεταξύ των H-6 και H-7 στον άξονα C-6 και C-7, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί μόνο στην περίπτωση ομοεπίπεδης διευθέτησης των H-6 και H-7 (Εικ.108,109,110,111).



**Εικόνα 108-** Φάσμα NOESY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **18**.



Εικόνα 110 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3:\text{C}_6\text{D}_6/60:40$ ) του μεταβολίτη **18**.



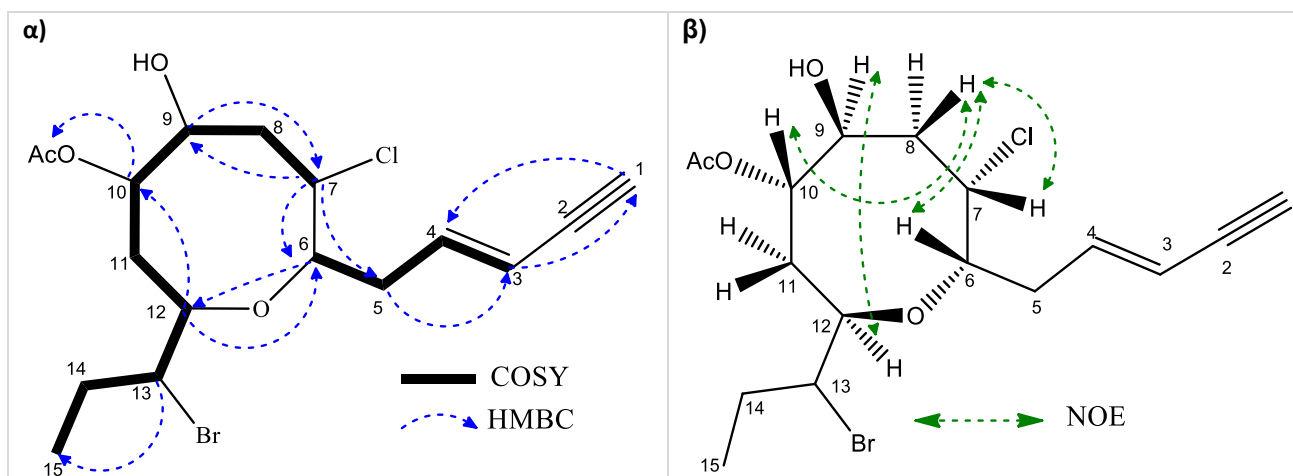
Εικόνα 109 – Φάσμα 1D NOE ( $\text{CDCl}_3:\text{C}_6\text{D}_6/60:40$ )- Ακτινοβολή πρωτονίου H-8β ( $\delta$  1.58).

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **18** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **18** παρατίθενται στον Πίνακα 132.

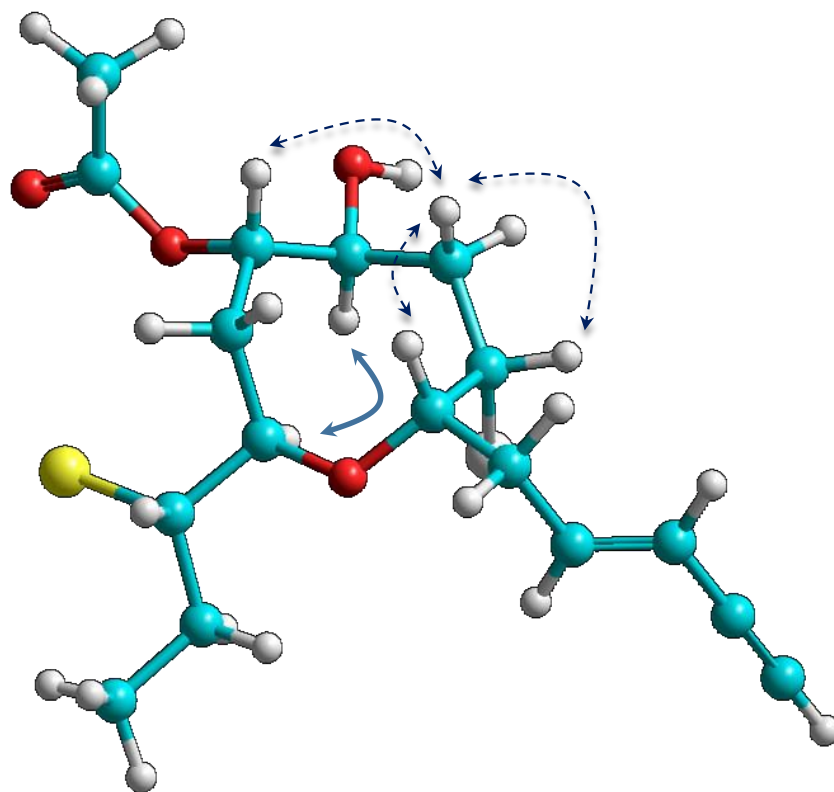
Πίνακας 132 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $\text{CDCl}_3$  και μίγμα  $\text{CDCl}_3/\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη 18.

#	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3:\text{C}_6\text{D}_6$ / 6:4)	$^{13}\text{C-NMR}$	HMBC
1	2.83 d (2.0)	2.68 d (1.9)	81.7	H-4
2			77.1	H-3
3	5.62 br d (15.6)	5.54 br d (16.1)	112.8	H-1, H-5a, H-5b
4	6.11 ddd (15.6, 8.6, 7.1)	5.99 ddd (16.1, 8.3, 8.2)	140.0	H-5a, H-5b
5a	2.59 m	2.50 m	38.6	H-3, H-4
5b	2.46 m	2.33 m		
6	4.24 ddd (9.5, 5.1, 5.0)	3.82 m	72.3	H-5a, H-5b, H-12
7	4.14 m	3.74 m	61.3	H-5a, H-6, H-8 $\alpha$ , H-9
8 $\alpha$	2.19 m	1.91	41.0	H-9
8 $\beta$	2.14 m	1.58 m		
9	4.63 dd (9.0, 8.9)	4.50 m	67.5	H-7, H-10, H-11b
10	4.93 ddd (9.0, 3.8, 2.7)	4.78 ddd (9.0, 4.9, 2.6)	77.1	H-9, H-11b, H-12, H-17
11a	2.19 m	1.85 m	28.3	H-12
11b	2.07 dd (3.8, 1.5)			
12	4.08 m	3.89 m	73.7	H-6, H-10, H-11a
13	4.03 ddd (8.6, 4.7, 3.7)	3.79 m	62.8	H-14b, H-15
14a	1.80 m	1.53 m	30.1	H-15
14b	1.72 m			
15	1.02 t (7.2)	0.87 t (7.2)	12.3	H-14b
16			170.8	H-17
17	2.09 s	1.82 s	21.2	

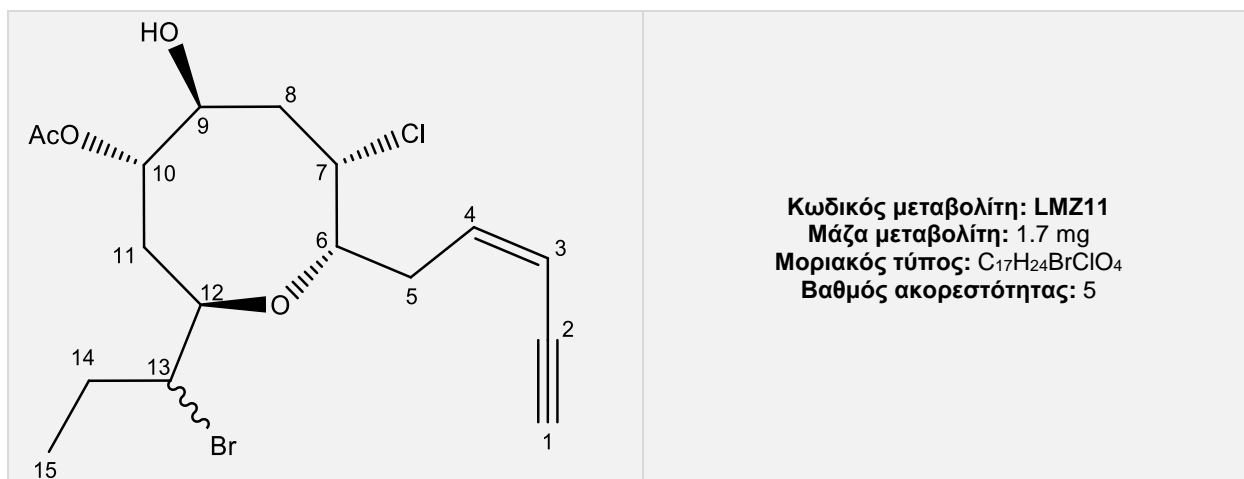
Εικόνα 111 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 18.



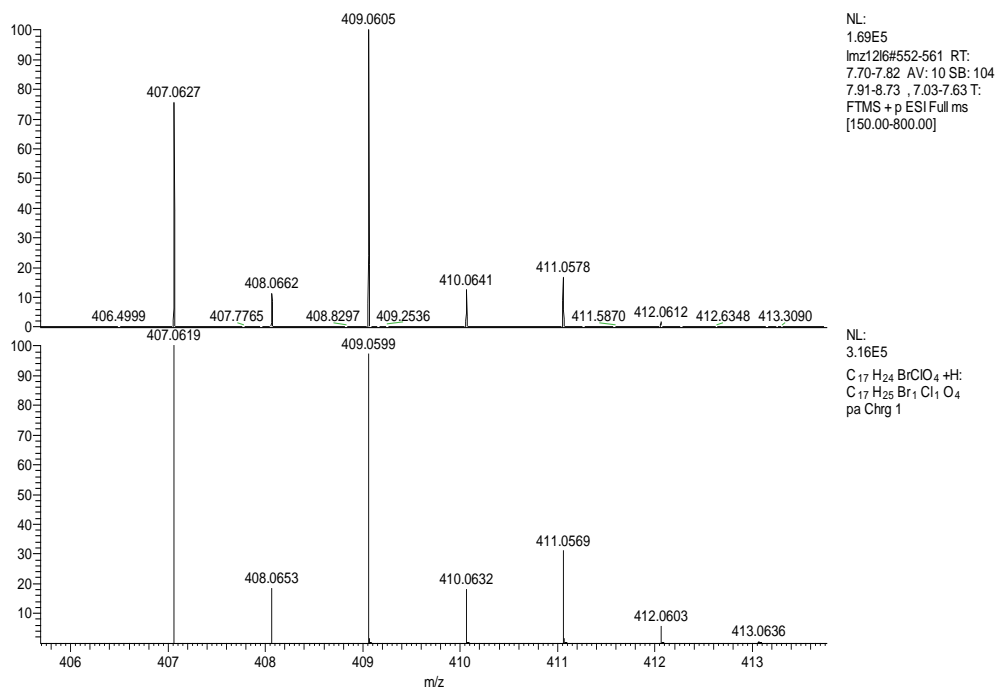
γ)



## Μεταβολίτης 19



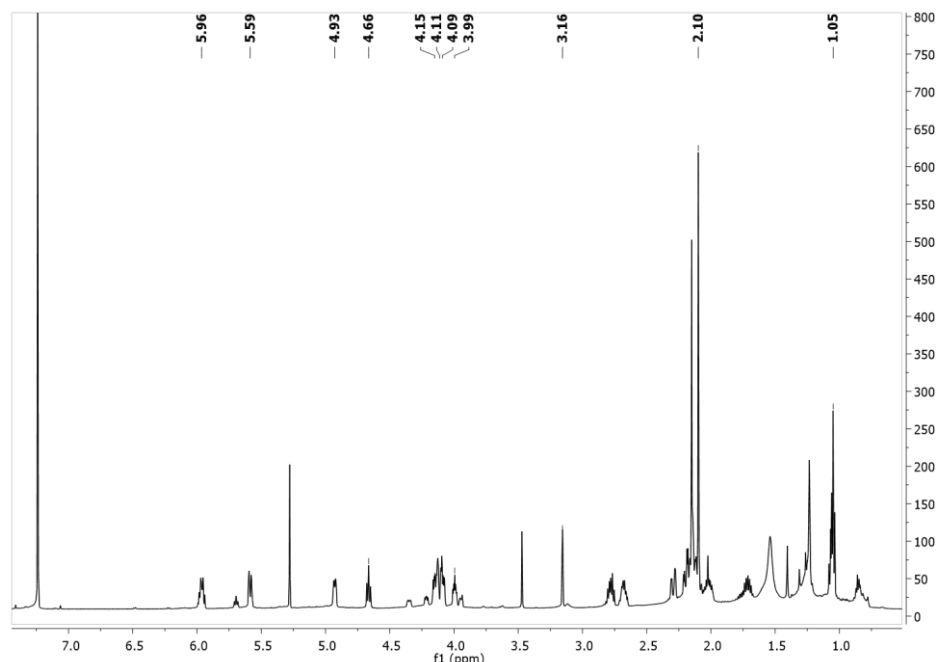
Ο μεταβολίτης **19** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.112) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  407 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  409, 411 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



Εικόνα 112 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **19**.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Εικ.113) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

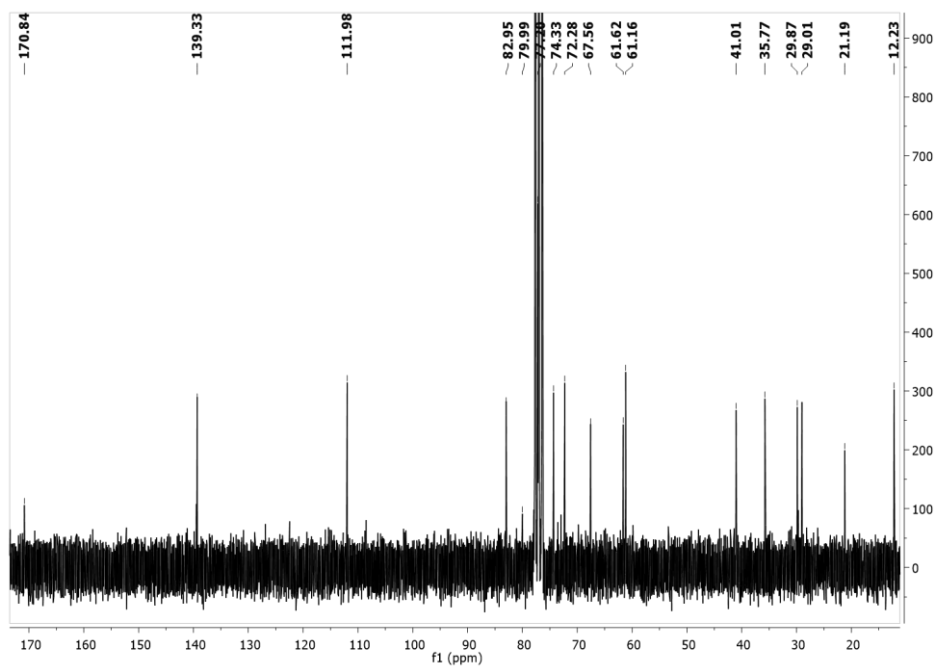
- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.16, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  5.96, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.15 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.09, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.93, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.66, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.99, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



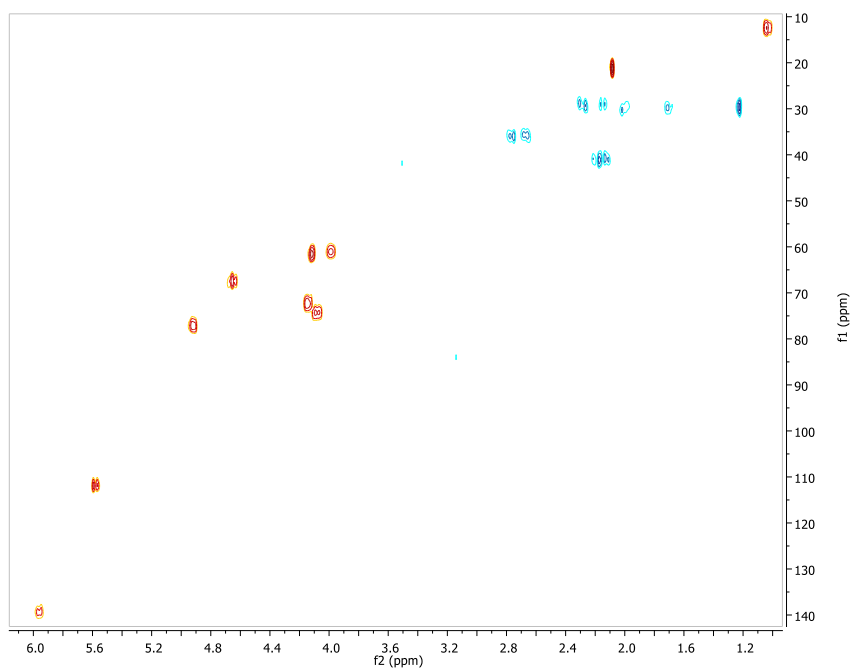
Εικόνα 113 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **19**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 17 ανθράκων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα.

Η δισδιάστατη χημική του μεταβολίτη **19** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.114,115,116,117).

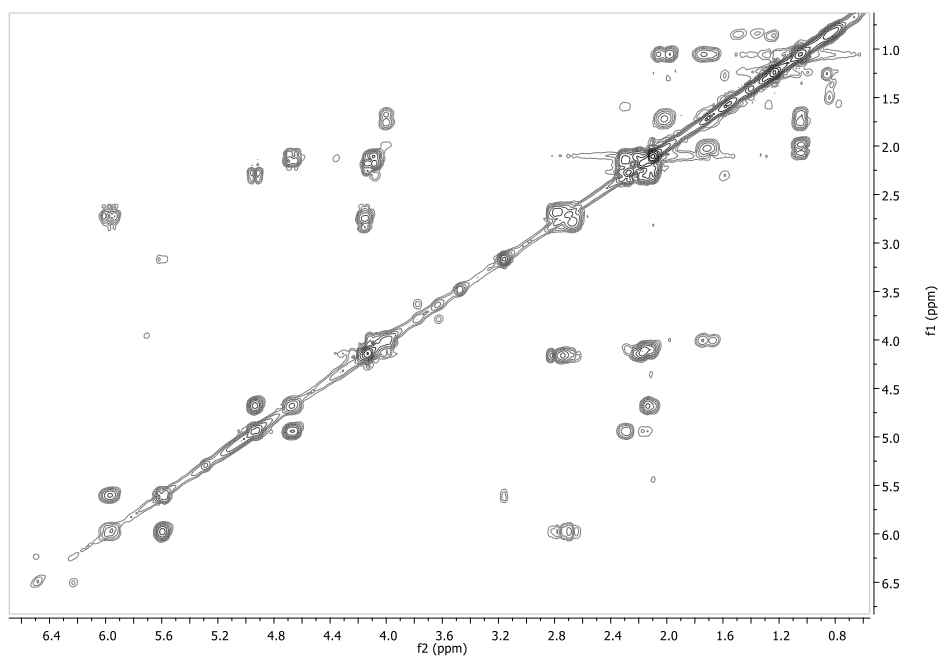


Εικόνα 114 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **19**.

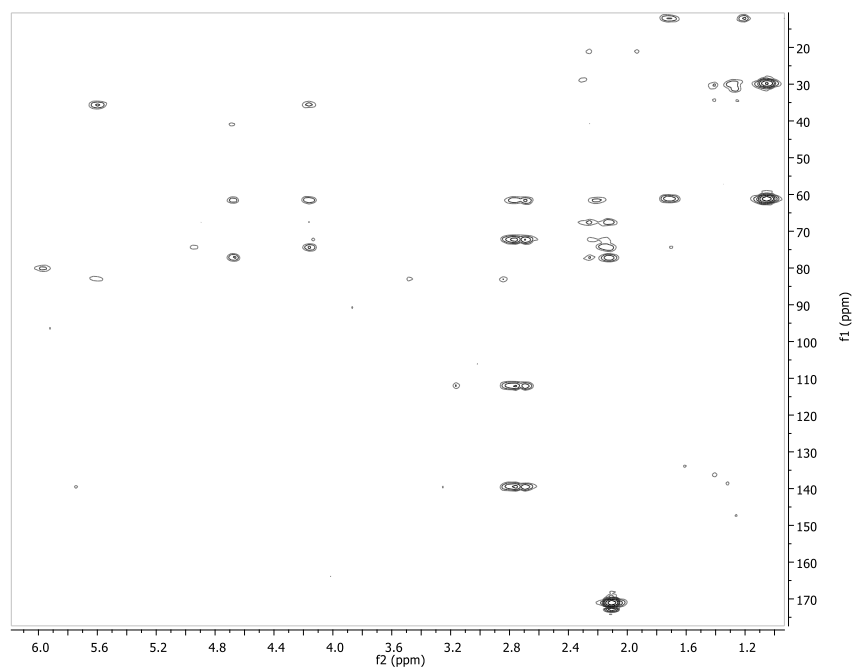


Εικόνα 115 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **19**



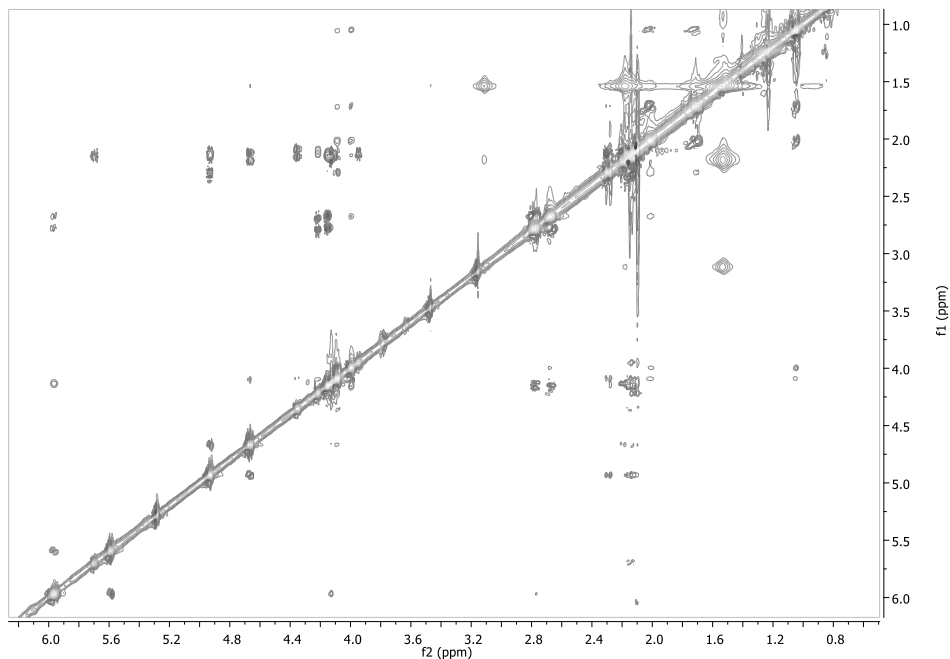


Εικόνα 116 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 19.



Εικόνα 117 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 19.

Η σχετική στεreoχημεία του μεταβολίτη **19** αποδόθηκε με βάση την ανάλυση δεδομένων από το φάσμα NOESY και εμφανίζεται να διατηρείται όπως έχει προταθεί και για τον μεταβολίτη **18** (Εικ.118,119).

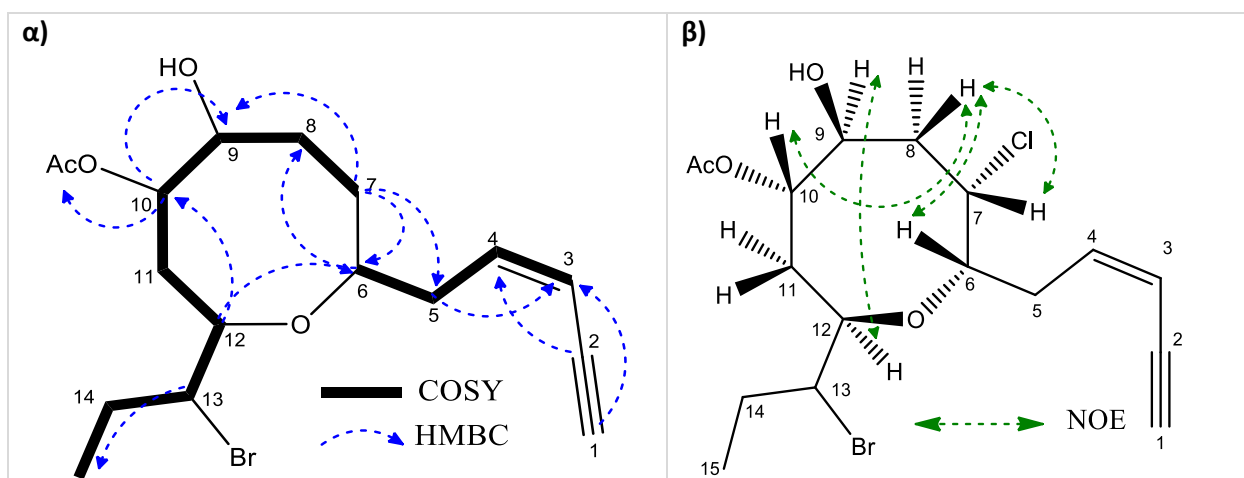


Εικόνα 118 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **19**.

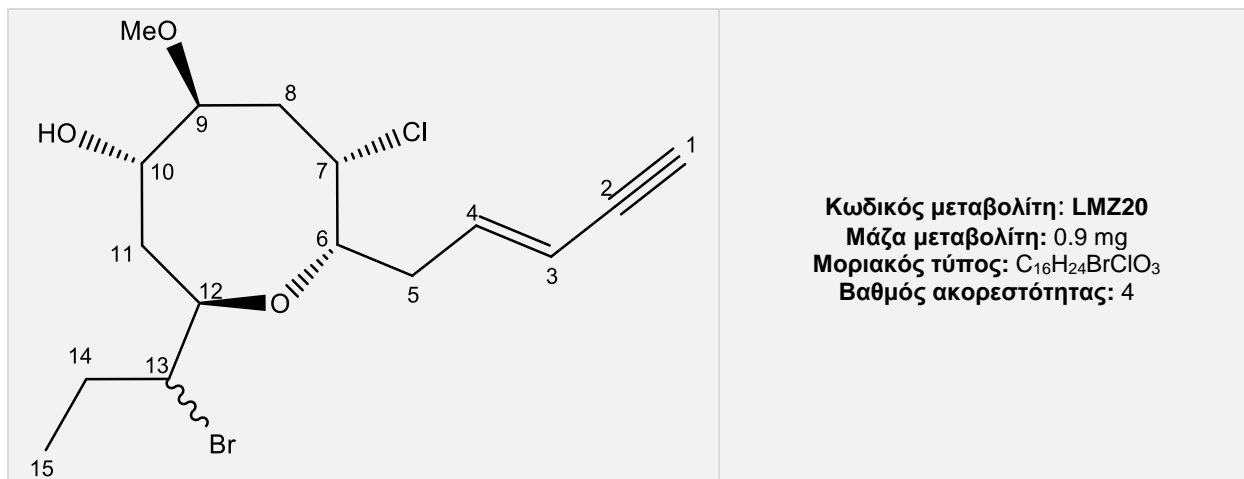
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **19** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **19** με αντίστοιχα του μεταβολίτη **18** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά την γεωμετρία του διπλού δεσμού Δ<sup>3</sup>. Η cis γεωμετρία του διπλού δεσμού στο μεταβολίτη **19** καθορίστηκε από τη σταθερά σύζευξης μεταξύ των H-3 και H-4 ( $J = 10.9$  Hz) και επιβεβαιώθηκε από την χαρακτηριστική αποθωράκιση του ακετυλενικού πρωτονίου H-1 της βινυλοακετυλενικής αλυσίδας που συντονίζεται σε  $\delta$  3.16 αντί για  $\delta$  2.83. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **19** παρουσιάζονται στον πίνακα 133.

Πίνακας 133 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **19** (CDCl<sub>3</sub>).

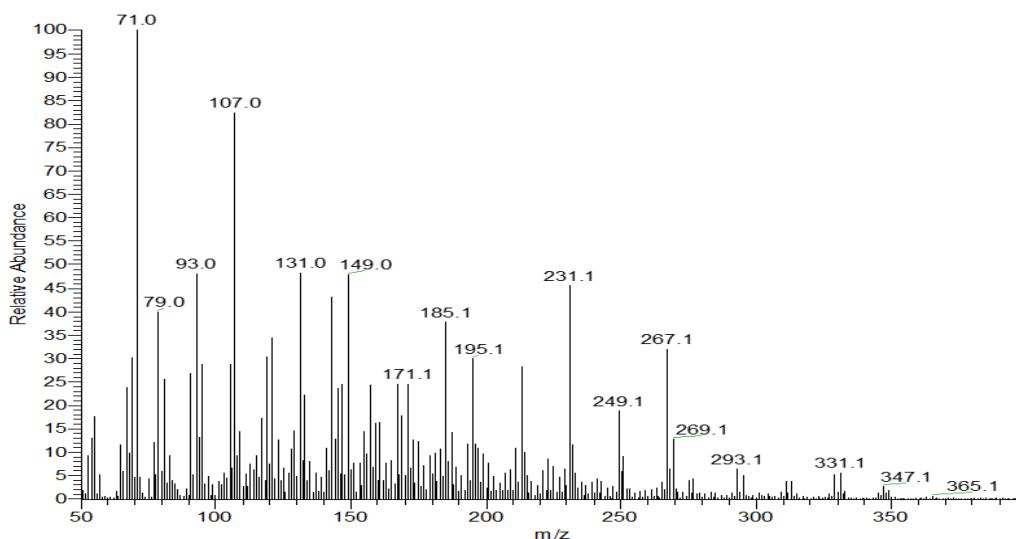
#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
<b>1</b>	3.16 d (1.2)	83.0	H-3
<b>2</b>		80.0	H-4
<b>3</b>	5.59 br d (10.9)	112.0	H-1, H-5a, H-5b
<b>4</b>	5.96 ddd (10.9, 7.5, 7.2)	139.3	H-5a, H-5b
<b>5a</b> <b>5b</b>	2.76 m 2.67 m	35.8	H-3, H-6
<b>6</b>	4.15 ddd (9.1, 5.2, 5.1)	72.3	H-5a, H-5b, H-8
<b>7</b>	4.11 m	61.6	H-5a, H-5b, H-6, H-8, H-9
<b>8</b>	2.15 m	41.0	H-9
<b>9</b>	4.66 dd (8.7, 8.6)	67.6	H-8a, H-8b
<b>10</b>	4.93 ddd (8.7, 4.0, 3.2)	77.2	H-9, H-11a, H-11b
<b>11a</b> <b>11b</b>	2.28 dd (16.7, 3.2) 2.14 m	29.0	
<b>12</b>	4.09 m	74.3	H-6, H-10, H-11b
<b>13</b>	3.99 ddd (9.6, 5.4, 4.2)	61.2	H-14b, H-15
<b>14a</b> <b>14b</b>	2.00 m 1.70 m	29.9	H-15
<b>15</b>	1.05 t (7.4)	12.2	H-14b
<b>16</b>		170.8	H-17
<b>17</b>	2.10 s	21.0	

Εικόνα 119 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE του μεταβολίτη **19**.

## Μεταβολίτης 20



Ο μεταβολίτης **20** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.120) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M-OCH_3]^+$  σε  $m/z$  347.

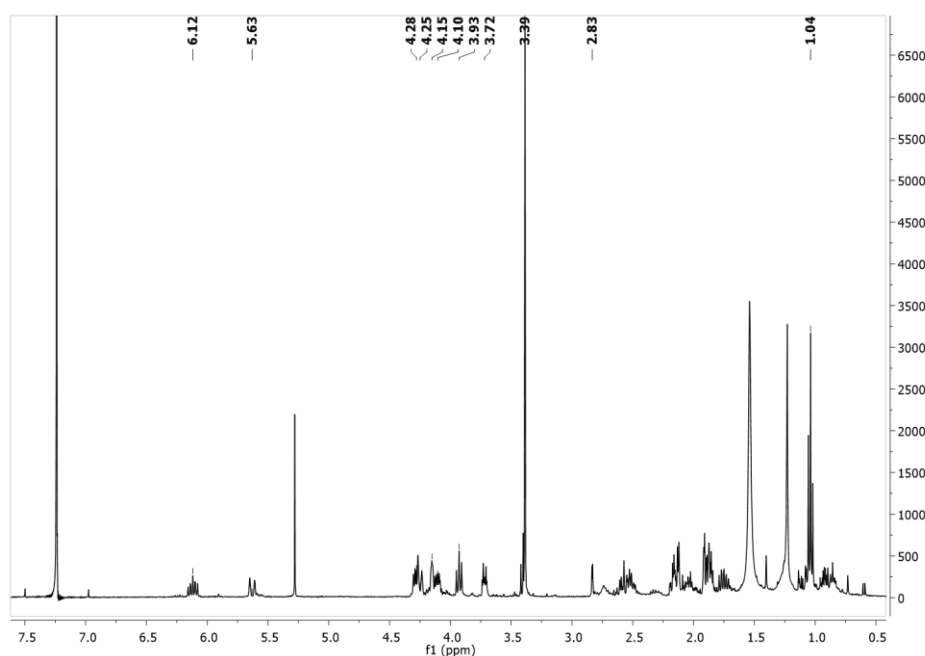


Εικόνα 120 - Φάσμα μάζας (ESI-MS) του μεταβολίτη **20**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.121) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

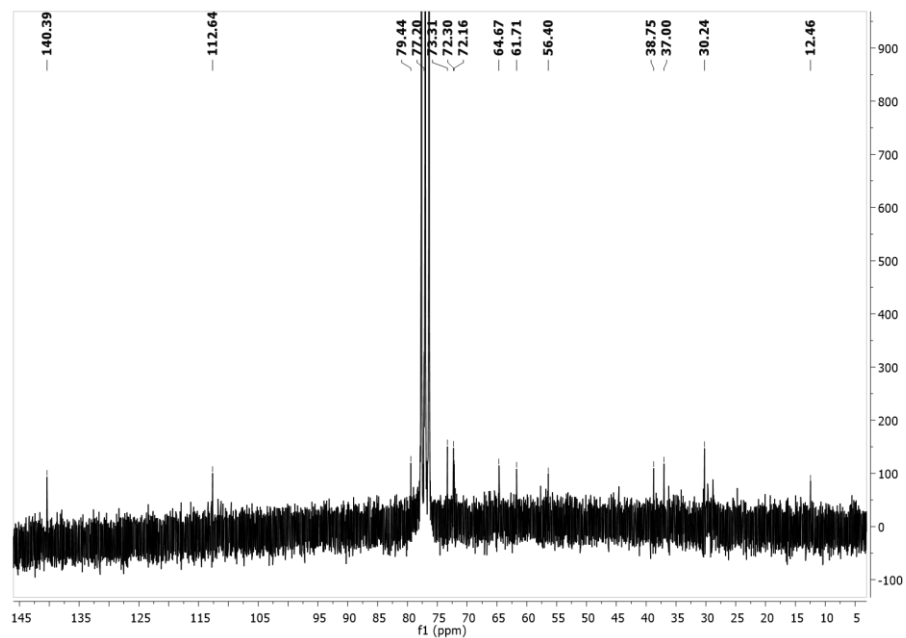
- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.04, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.39, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια μίας μεθύξυ ομάδας.

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.63 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.12, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.28, 3.93, μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  3.72 και μία πολλαπλή σε  $\delta$  4.25, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.15, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

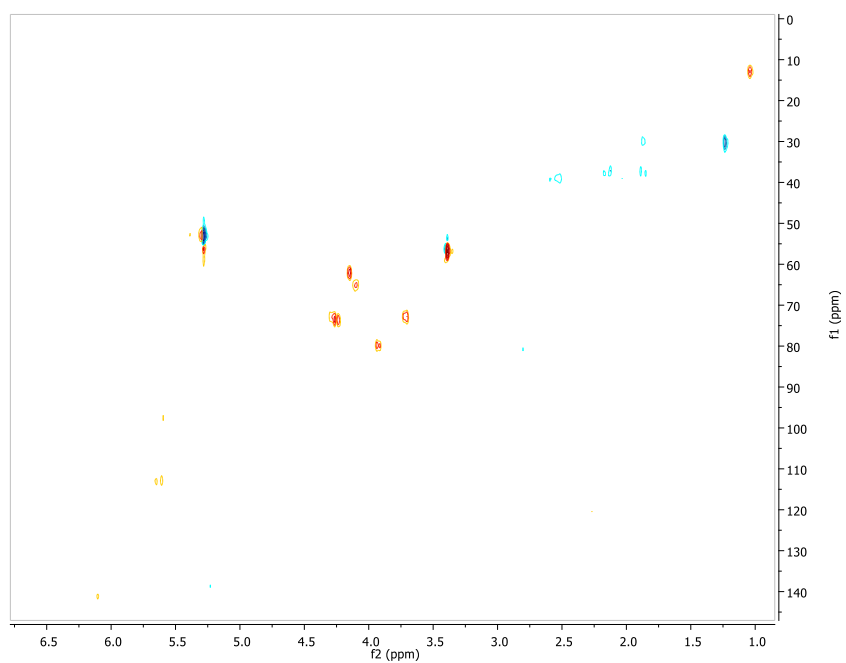


Εικόνα 121 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **20**.

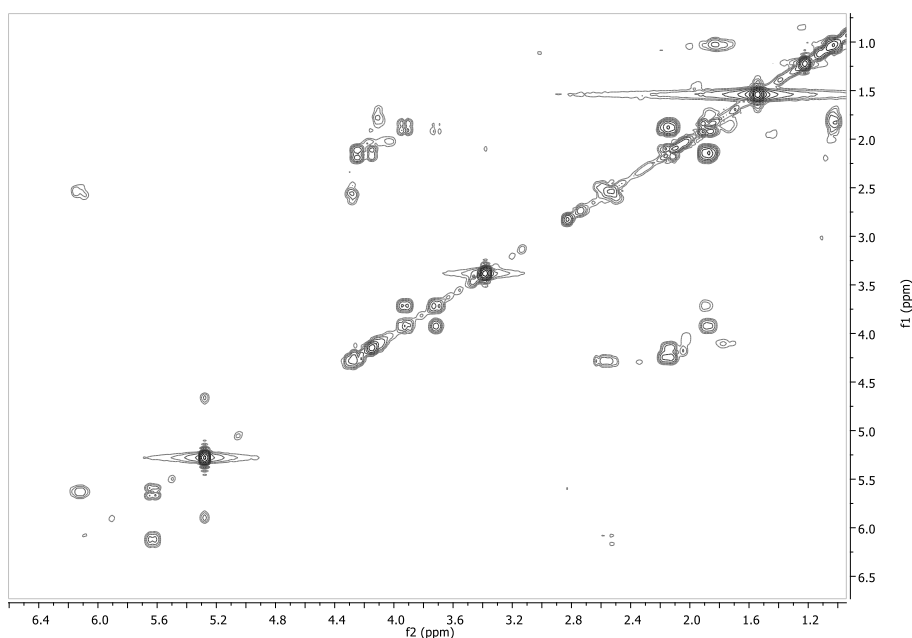
Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 16 ανθράκων και πιο συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **20** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.122,123,124,125).



Εικόνα 122 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **20**.

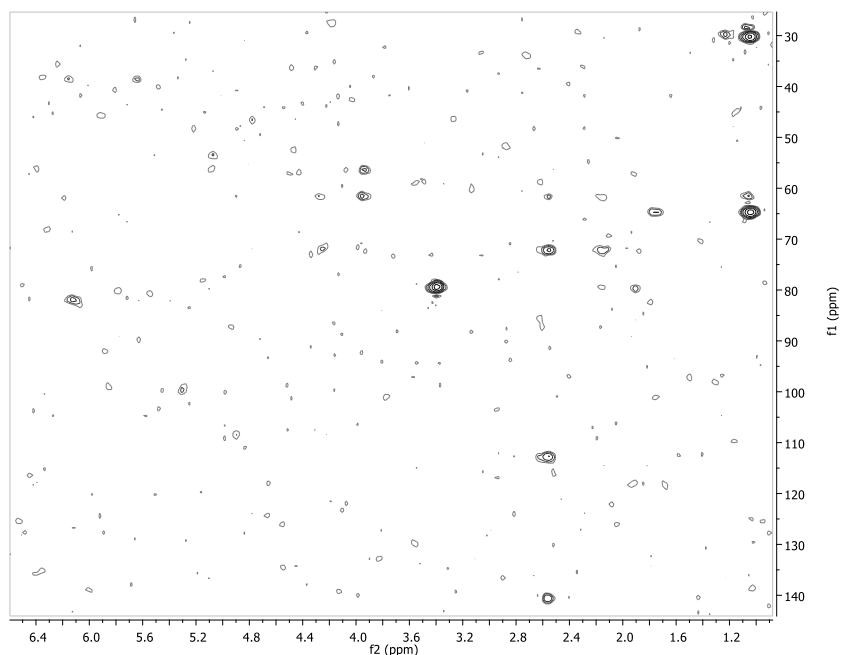


Εικόνα 123 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **20**.



Εικόνα 124 - Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 20.

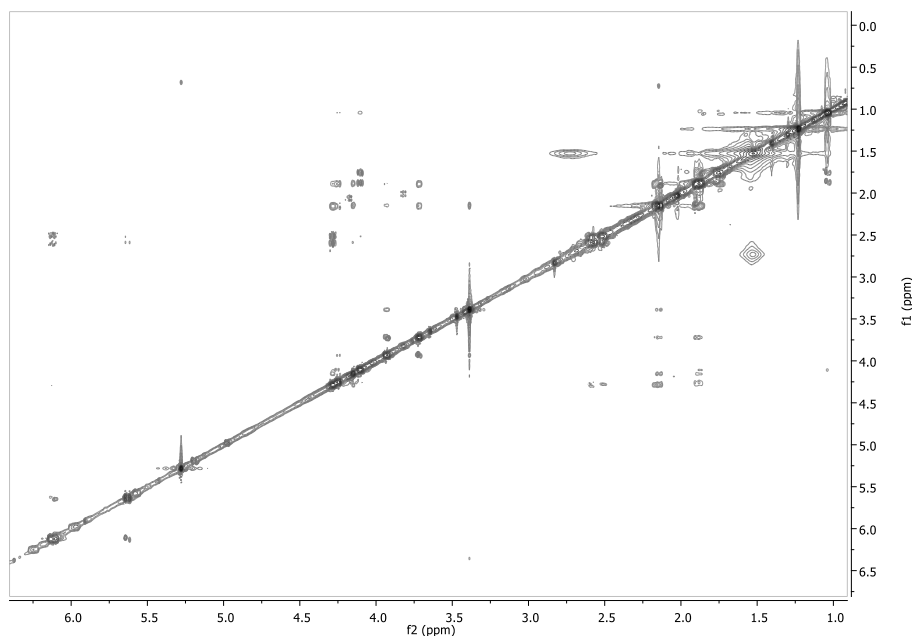
Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-6 και H-7 – H-15. Στο φάσμα HMBC η συσχέτιση του τριτοταγούς χλωριωμένου άνθρακα C-7 με το πρωτόνιο H-6 καθώς και του οξυγονωμένου τριτοταγούς άνθρακα C-6 με τα πρωτόνια H<sub>2</sub>-8 υπέδειξαν την σύνδεση των δύο συστημάτων spin. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση HMBC του οξυγονωμένου τριτοταγούς άνθρακα C-6 με το πρωτόνιο H-12 υπέδειξε την παρουσία μιας αιθερικής γέφυρας μεταξύ



Εικόνα 125 - Φάσμα HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 20.

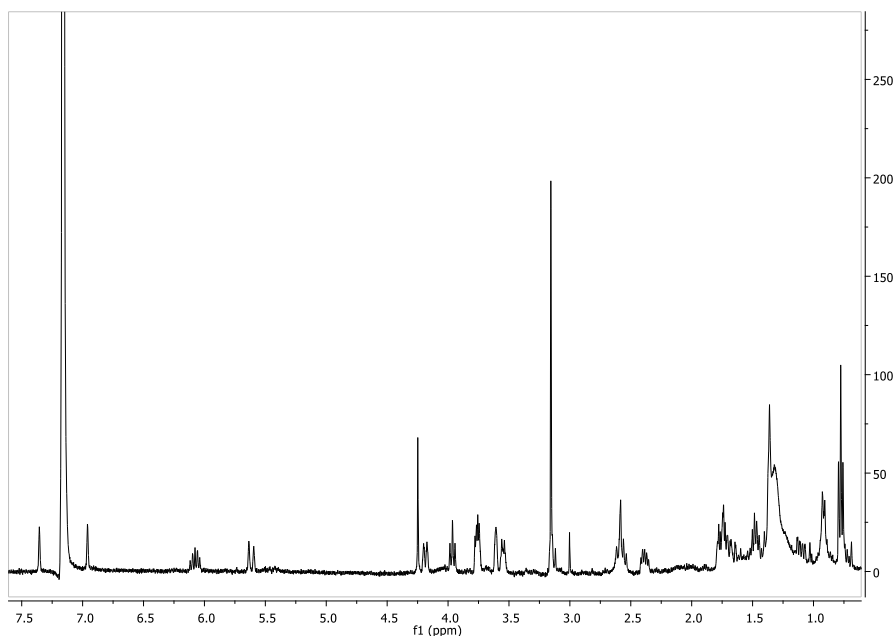
των ανθράκων C-6 και C-12. Τέλος η HBMC συσχέτιση του οξυγονωμένου τριτοταγούς άνθρακα C-9 με τα μεθυλικά πρωτόνια H<sub>3</sub>-16, καθώς και του πρωτοταγούς άνθρακα C-16 με το πρωτόνιο H-9 υπέδειξε την θέση της μεθόξυ ομάδας στον άνθρακα C-9 (Εικ.129).

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **20** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, η συσχέτιση του H-9 με το H-12 σε συνδυασμό με τη σταθερά σύζευξης ανάμεσα στα H-9 και H-10 ( $J_{9-10} = 9.0$  Hz), η οποία διατηρείται στις ίδιες τιμές με την αντίστοιχη των μεταβολίτων **10-19** υπέδειξαν την διατήρηση της σχετικής στερεοχημείας στα ασύμμετρα κέντρα C-9, C-10 και C-12, όπως και στους μεταβολίτες **10-19**. Σε σειρά πειραμάτων 1D-NOE (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>), η ακτινοβολήση του H-8β οδήγησε στην ενίσχυση των κορυφών των H-6, H-7 και H-10 καταδεικνύοντας την ομοεπίπεδη διαμόρφωσή τους. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ των H-6 και H-7 στο φάσμα COSY είναι ενδεικτική της ύπαρξης διέδρης γωνίας περίπου 90° μεταξύ των H-6 και H-7 στον άξονα C-6 και C-7, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί μόνο στην περίπτωση ομοεπίπεδης διευθέτησης των H-6 και H-7 (Εικ.126,127,128,129).

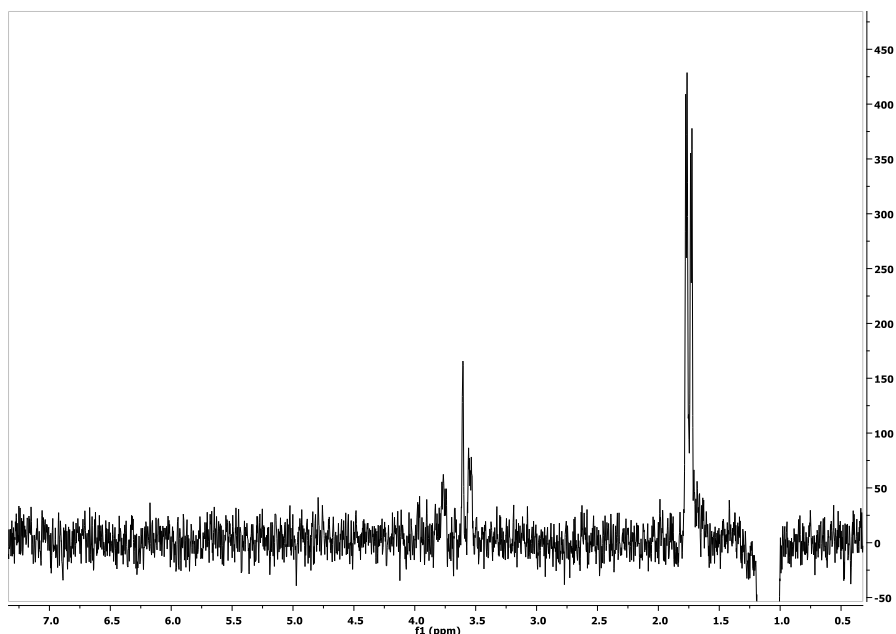


Εικόνα 126 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **20**.





Εικόνα 127 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη **20**.



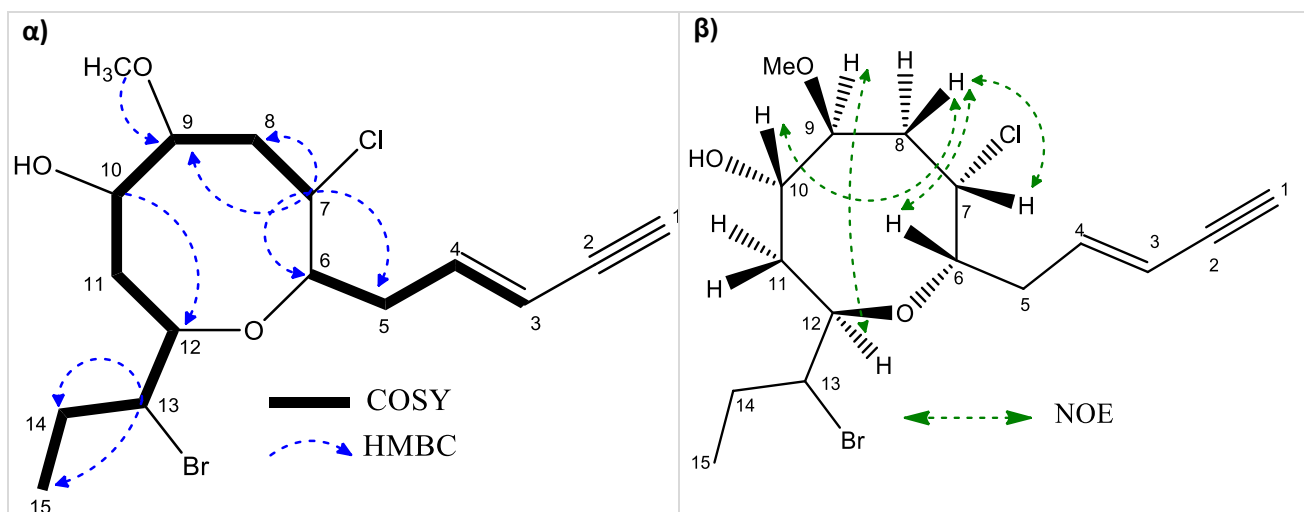
Εικόνα 128 – Φάσμα 1D NOE ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη **20**. Ακτινοβολήση πρωτονίου H-8β ( $\delta$  1.11ppm).

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **20** ως νέο φυσικό προϊόν, μετά και από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **20** παρατίθενται στον Πίνακα 134.

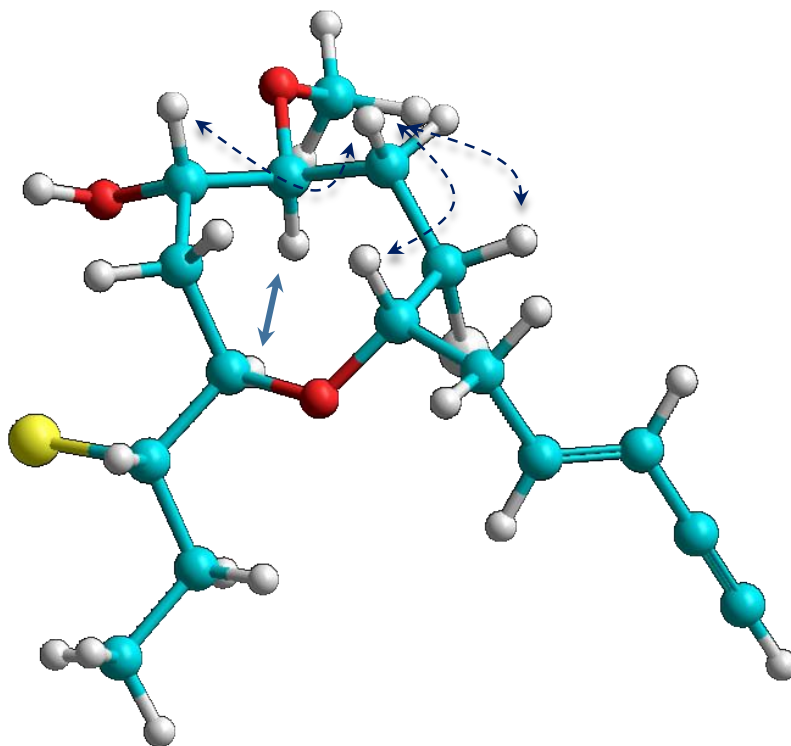
Πίνακας 134 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $\text{CDCl}_3$  και  $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη 20.

#	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{C}_6\text{D}_6$ )	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	HMBC
1	2.83 d (2.2)	2.58 m	82.1	H-4
2			77.2	
3	5.63 br d (16.2)	5.62 br d (15.6)	112.6	H-5a, H-5b
4	6.12 ddd (16.2, 8.7, 7.2)	6.07 ddd (15.6, 8.6, 7.4)	140.4	H-5a, H-5b
5a	2.59 m	2.55 m	38.8	
5b	2.51 m	2.39 m		
6	4.28 m	3.78 m	72.2	H-5a, H-5b, H-8, H-12
7	4.15 m	3.62	61.7	H-5a, H-5b, H-6, H-8, H-9
8a	2.18 m	1.74 m	37.9	
8b	1.87 m	1.11 ddd (16.1, 8.0, 2.4)		
9	3.93 m	3.96 m	79.9	H-16
10	3.72 ddd (9.0, 3.3, 3.2)	3.56 ddd (8.8, 3.2, 3.1)	73.3	H-12
11a	2.15 m	1.76 m	37.0	
11b	1.87 m			
12	4.25 m	4.18 ddd (10.1, 3.0, 2.7)	72.3	
13	4.10 ddd (9.3, 5.0, 3.0)	3.78 m	64.7	H-14b, H-15
14a	1.86 m			
14b	1.74 ddd (14.6, 7.3, 3.0)	1.49 m	30.2	
15	1.04 t (7.3)	0.78 t (7.2)	12.5	
16	3.39 s	3.22 s	56.4	H-9

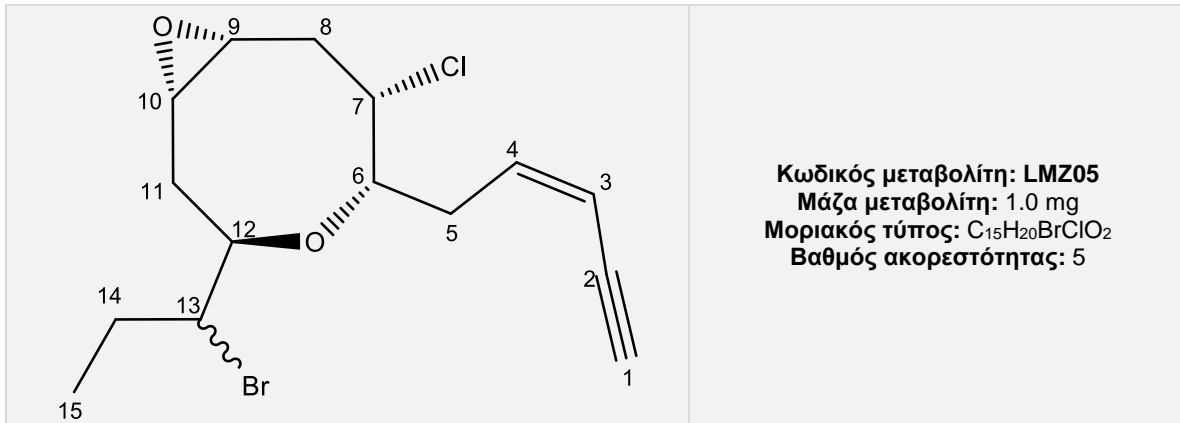
Εικόνα 129 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 20.



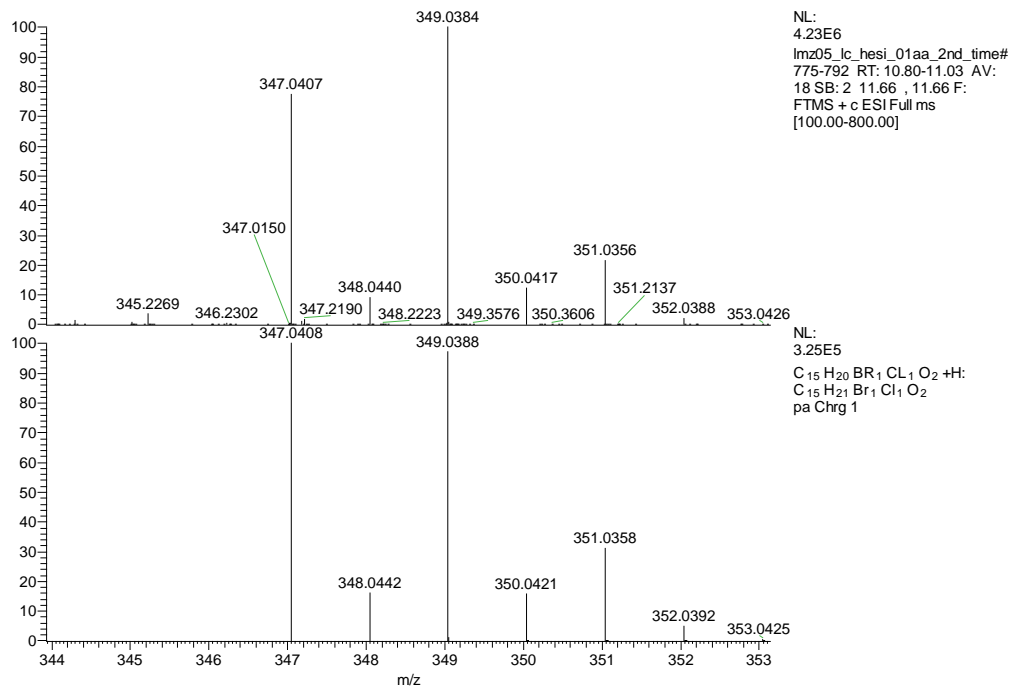
v)



## Μεταβολίτης 21



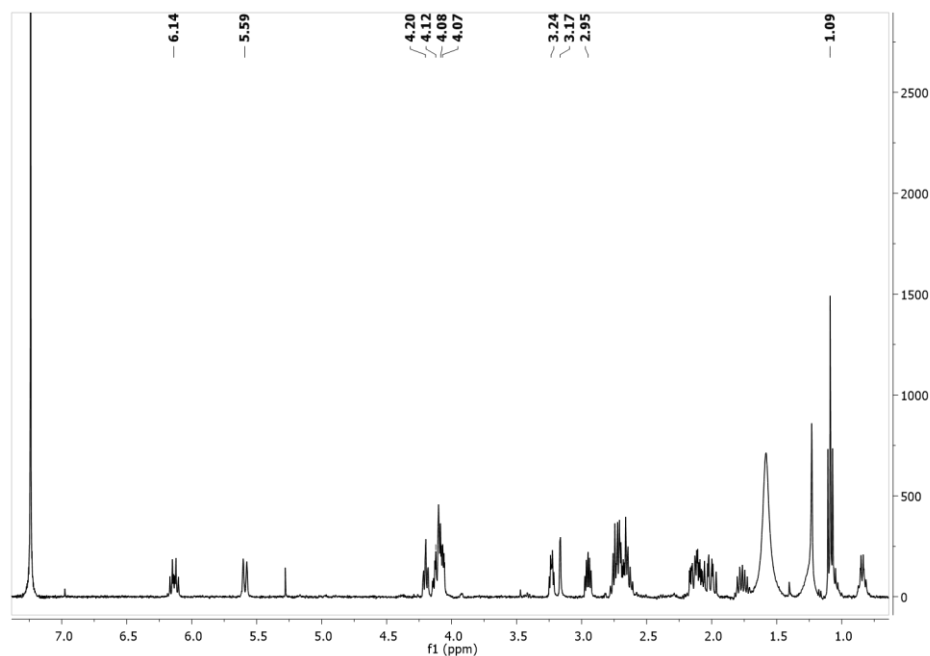
Ο μεταβολίτης **21** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.130) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  347 και ισοτοπικές κορυφές σε 349 και 351 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



Εικόνα 130 - Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **21**.

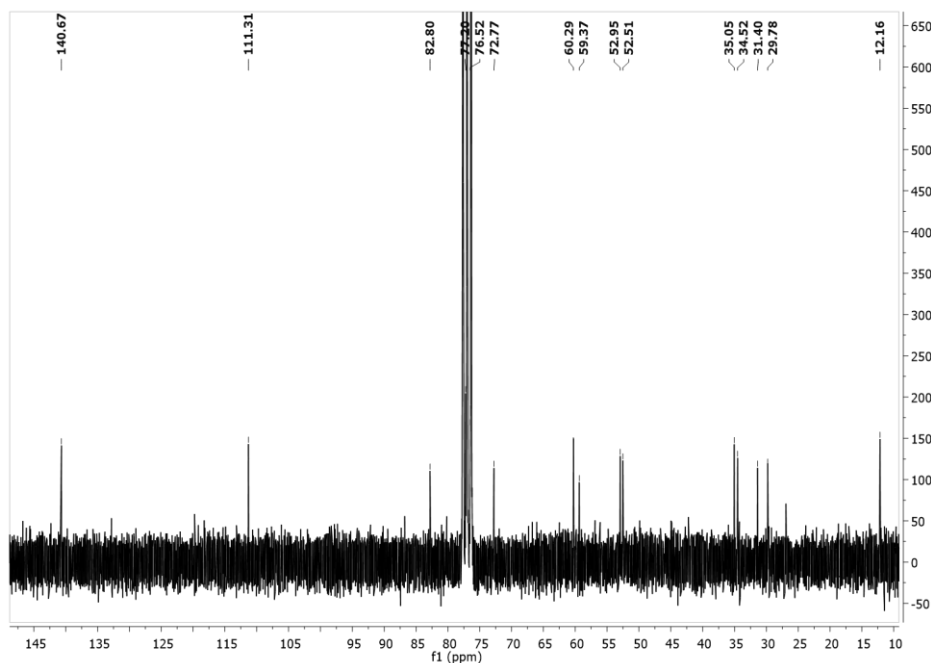
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.131) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  1.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.17, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  6.14, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία τριπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.20 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  2.95 και μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  3.24, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.07, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.12, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

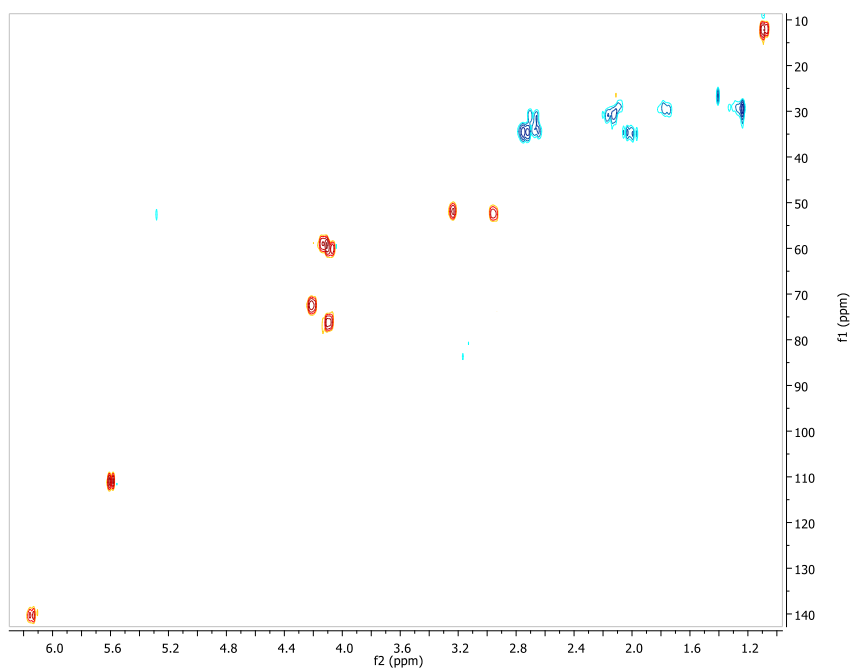


Εικόνα 131 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **21**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **21** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα, HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.132,133,134,135).



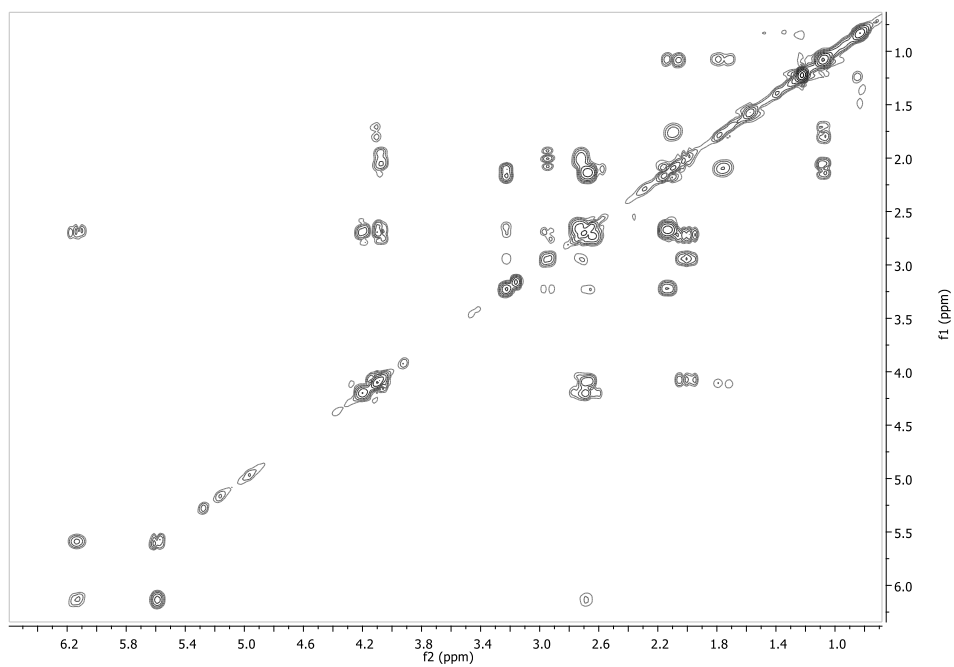
Εικόνα 132 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **21**.



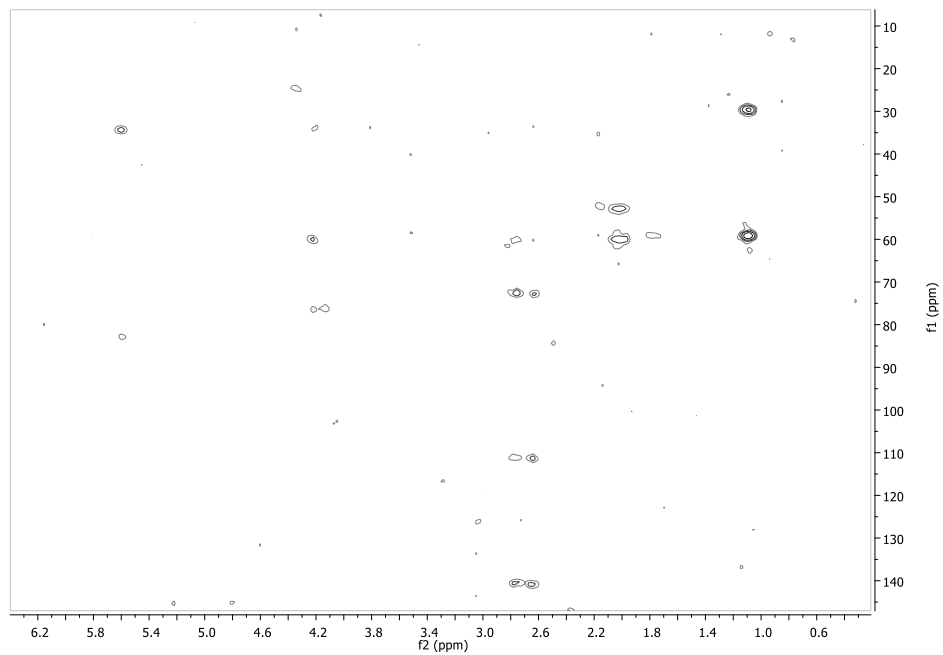
Εικόνα 133 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **21**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-6 και H-7 – H-15. Στο φάσμα HMBC η συσχέτιση του τριτοταγούς χλωριωμένου άνθρακα C-7 με το H-6 υπέδειξε τη σύνδεση των δύο συστημάτων spin. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του τριτοταγούς άνθρακα C-

6 με το H-12 στο φάσμα HMBC υπέδειξε την παρουσία μιας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των ανθράκων C-6 και C-12 (Εικ.137).

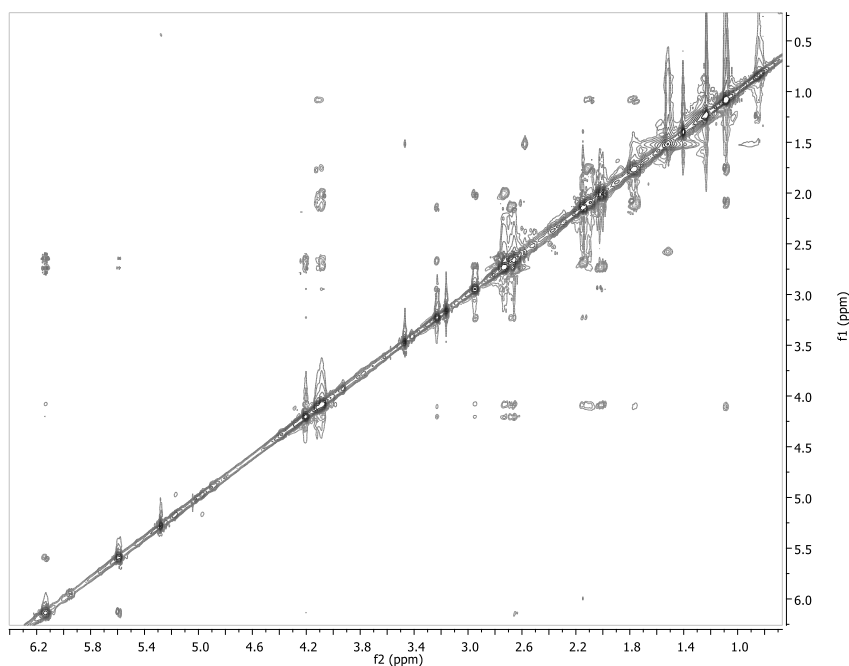


Εικόνα 134 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 21.



Εικόνα 135 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 21.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **21** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις του (i) του H-6 με τα H-9 και H-10 και (ii) του H-9 με το H-7 υπέδειξαν ότι τα πρωτόνια H-6, H-7, H-9 και H-10 είναι ομοεπίπεδα. Το H-12 εμφανίζεται στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Η απουσία συσχέτισης μεταξύ των H-6 και H-7 στο φάσμα COSY είναι ενδεικτική της ύπαρξης διεδρης γωνίας περίπου  $90^\circ$  μεταξύ των H-6 και H-7 στον άξονα C-6 και C-7, γεγονός που μπορεί να δικαιολογηθεί μόνο στην περίπτωση ομοεπίπεδης διευθέτησης των H-6 και H-7 (Εικ.136,137).



Εικόνα 136 – Φάσμα NOESY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **21**.

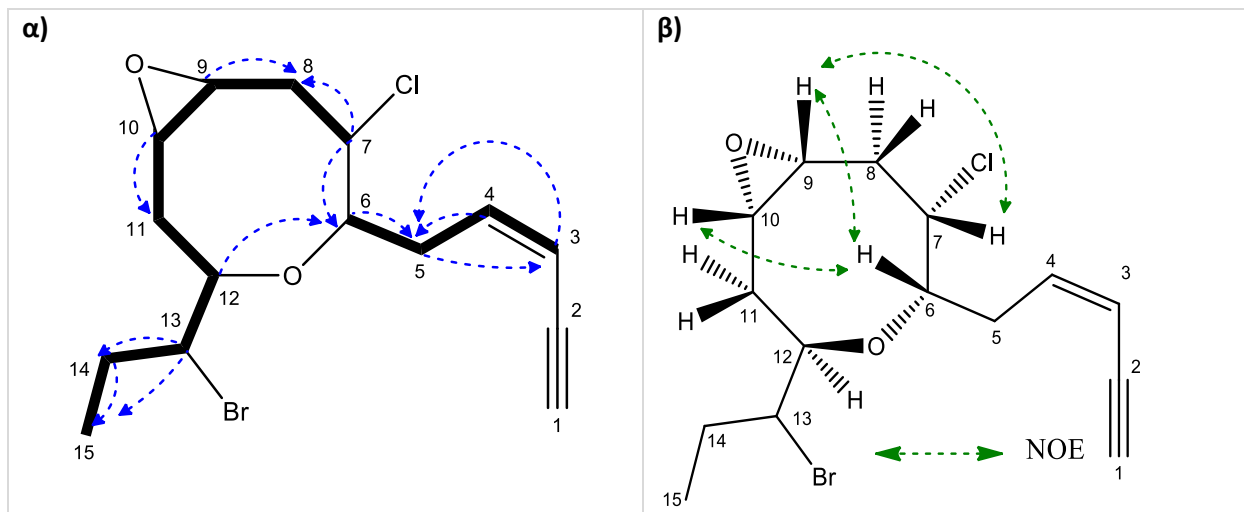
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **21** ως νέο φυσικό προϊόν μετά και από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **21** παρατίθενται στον Πίνακα 135.

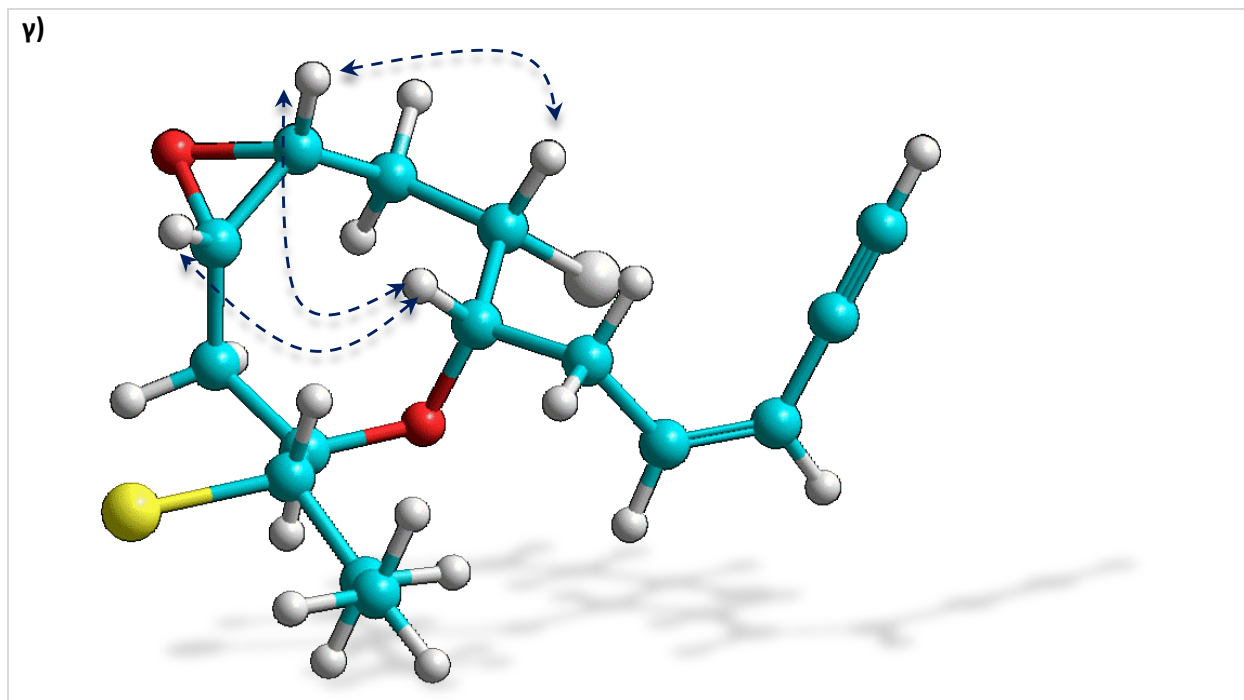


Πίνακας 135 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 21.

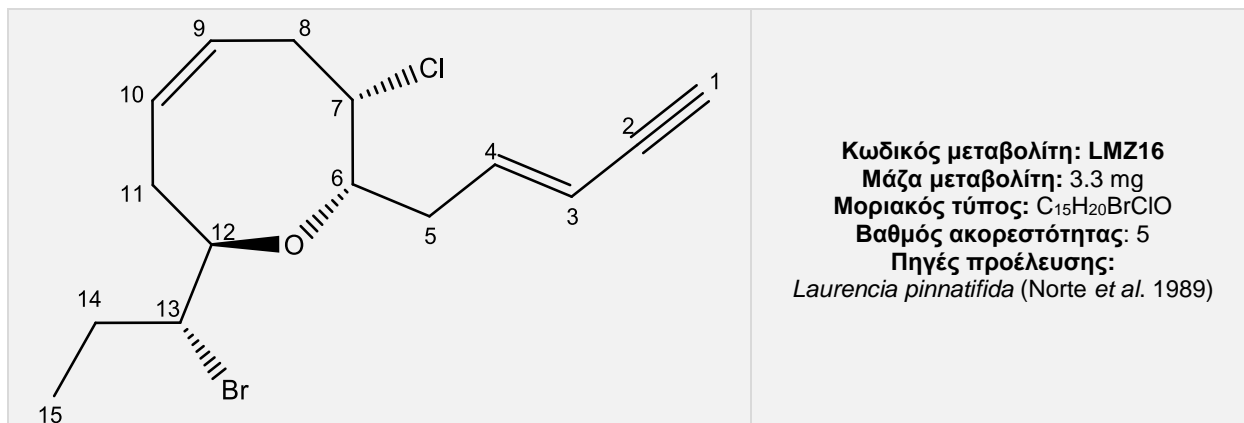
#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1	3.17 d (2.2)	82.8	
2		77.2	
3	5.59 br d (11.1)	111.3	H-5a, H-5b
4	6.14 dt (11.1, 7.4)	140.7	H-5a, H-5b
5a	2.76 m	35.0	H-3
5b	2.64 m		
6	4.20 td (7.0, 1.9)	72.8	H-5a, H-5b
7	4.07 m	60.3	H-6, H-8a, H-8b
8a	2.71 m	34.5	
8b	2.01 m		
9	2.95 ddd (9.0, 6.1, 4.2)	53.0	H-8b
10	3.24 dt (6.1, 4.0)	52.5	H-11b
11a	2.66 m	31.5	
11b	2.14 m		
12	4.08 m	76.8	H-6, H-13
13	4.12 m	59.4	H-14b, H-15,
14a	2.09 m		
14b	1.76 m	30.2	H-15
15	1.09 t (7.2)	12.2	

Εικόνα 137 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 21.

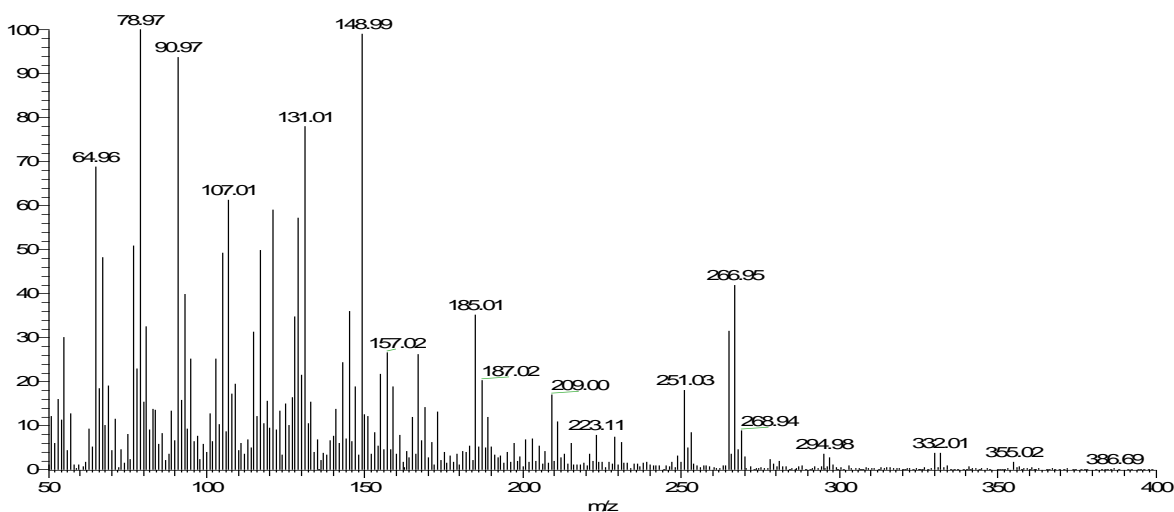




## Μεταβολίτης 22



Ο μεταβολίτης **22** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.138) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  330 και ισοτοπικές κορυφές με  $m/z$  332 και 334 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός ατόμου χλωρίου [M-Cl]<sup>+</sup> σε  $m/z$  295.

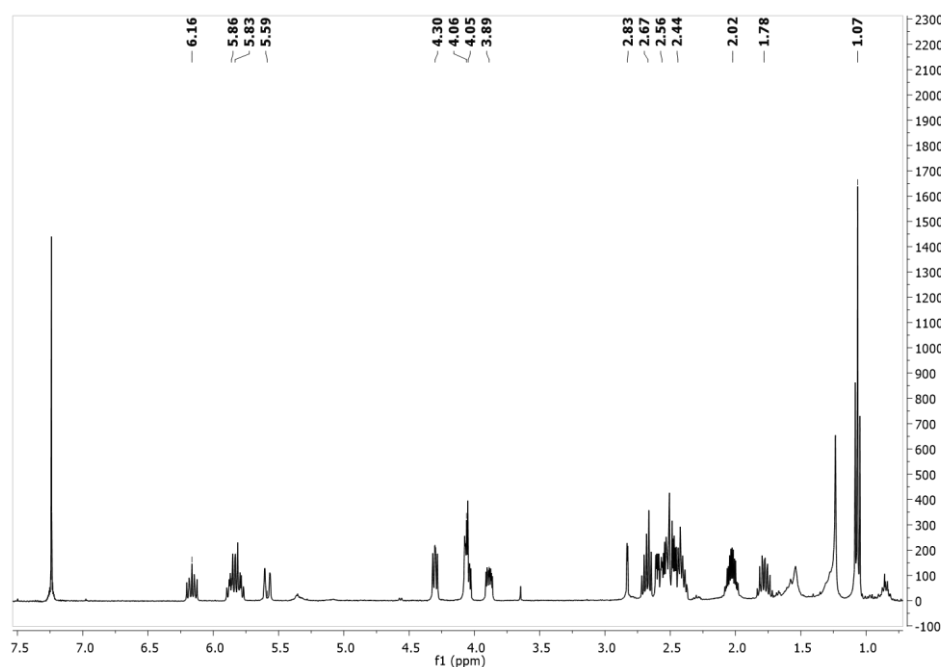


Εικόνα 138 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **22**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.139) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε δ 1.07, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 2.83, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.

- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.59, μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.16 και δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.83 και 5.86, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.30 και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.02-4.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια αλογονωμένων ανθράκων.



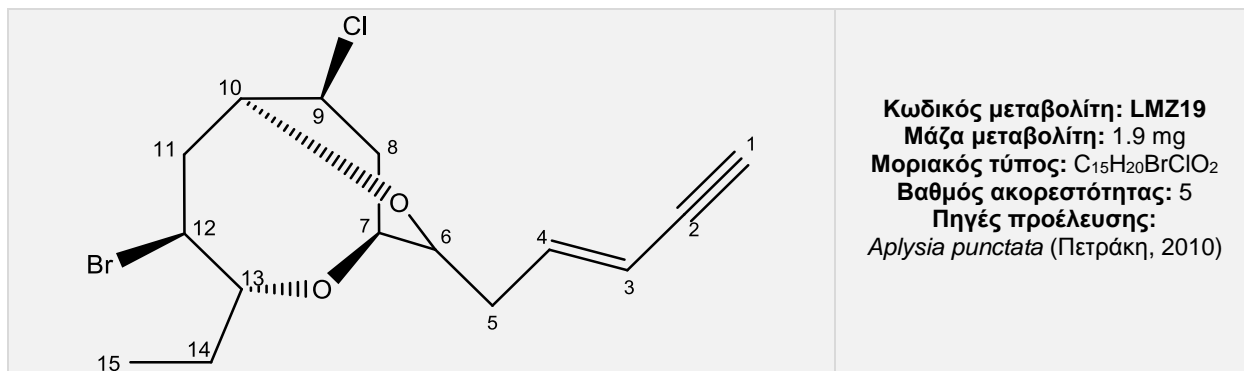
Εικόνα 139 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **22**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **22** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, E-διϋδροροδοφυτίνη (E-dihydrorhodophytin) (Norte *et al.* 1989). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 136.

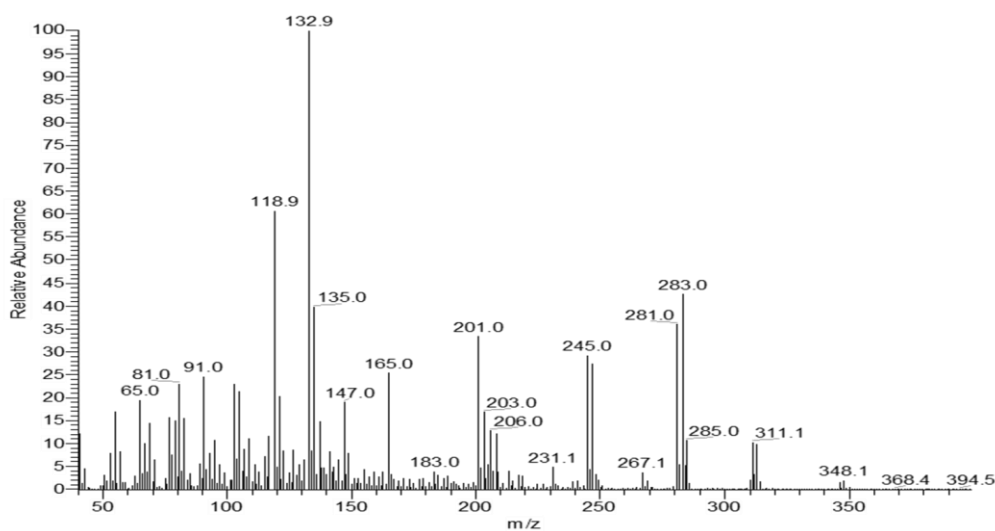
Πίνακας 136 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 22.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.83 d (2.1)	2.83 d (2.2)
3	5.59 dd (15.9, 2.1)	5.59 dd (16.1, 2.5)
4	6.16 ddd (15.9, 8.5, 7.2)	6.18 dt (16.0, 7.8)
5	2.44 m	2.43 m
6	4.30 dd (8.1, 5.9)	4.30 dd (8.0, 5.9)
7	4.02-4.08 m	4.02-4.08 m
8	2.67 m	2.65 m
9	5.83 m	5.82 m
10	5.86 m	5.87 m
11	2.56 m	2.58 m
12	3.89 m	3.89 m
13	4.02-4.08 m	4.02-4.08 m
14a	2.02 m	2.02 ddq (14.5, 7.2, 3.6)
14b	1.78 m	1.82 ddq (14.5, 7.2, 2.0)
15	1.07 t (7.2)	1.06 (t, 7.3)

## Μεταβολίτης 23



Ο μεταβολίτης **23** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.140) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  346 και ισοτοπική κορυφή σε  $m/z$  348 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός ατόμου χλωρίου [M-Cl]<sup>+</sup> σε  $m/z$  313.

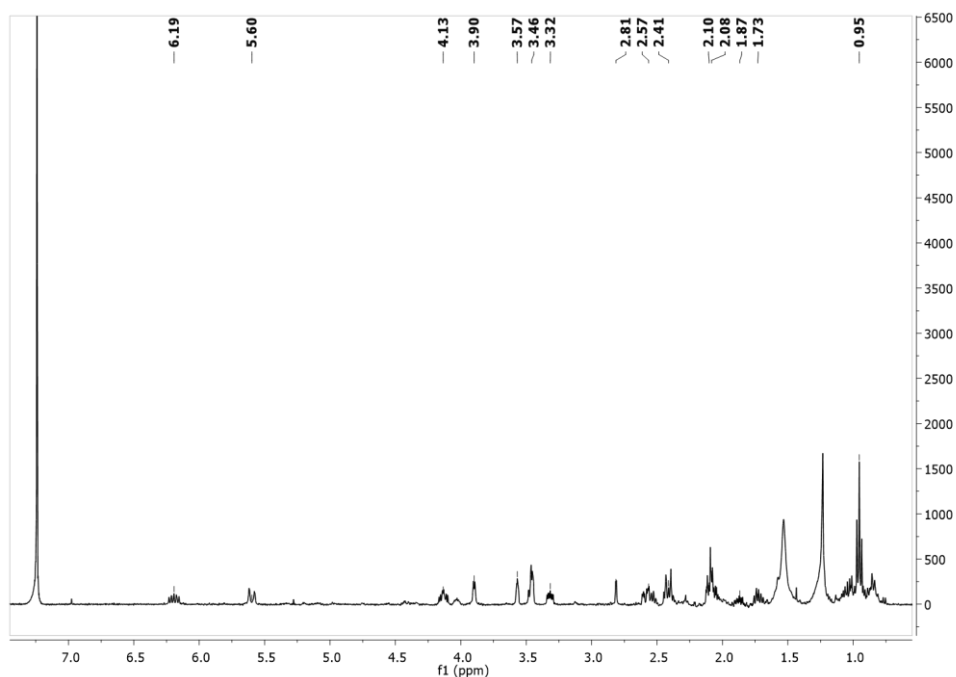


Εικόνα 140 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **23**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.141) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή σε  $\delta$  0.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή σε  $\delta$  2.81, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Μία ευρεία διπλή σε  $\delta$  5.60 και μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  6.19, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Τρεις πολλαπλές σε  $\delta$  3.46, 3.57, 3.46 και μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  3.32, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή σε  $\delta$  3.90, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  4.13, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 141 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **23**.

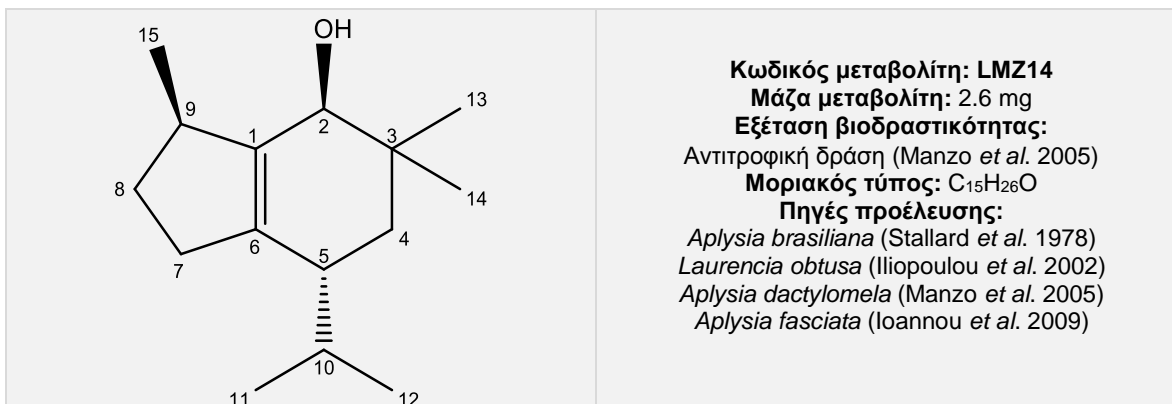
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **23** ως μία γνωστή  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου (Πετράκη, 2010). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 137.

Πίνακας 137 - Φασματοσκοπικά δεδομένα <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 23.

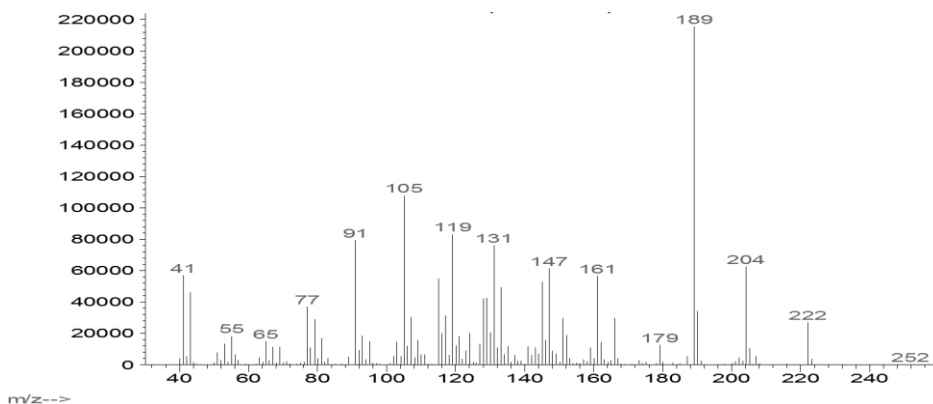
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.81 d (2.3)	2.82 d (1.8)
3	5.60 d (15.1)	5.60 d (15.6)
4	6.19 ddd (15.1, 8.3, 6.9)	6.19 ddd (15.6, 7.3, 6.6)
5a	2.57 m	2.53 m
5b	2.41 m	2.41 m
6	3.46 m	3.45 m
7	3.57 m	3.57 m
8a	2.41 m	2.41 m
8b	2.10 m	2.10 m
9	3.90 m	3.90 m
10	3.46 m	3.45 m
11a	2.56 m	2.56 m
11b	2.08 m	2.08 m
12	4.13 ddd (12.3, 9.6, 4.4)	4.13 ddd (12.1, 9.6, 4.4)
13	3.32 ddd (9.6, 6.0, 2.5)	3.31 ddd (9.6, 5.9, 2.3)
14a	1.87 m	1.85 m
14b	1.73 m	1.75 m
15	0.95 t (7.4)	0.95 t (7.3)



## Μεταβολίτης 24



Ο μεταβολίτης **24** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.142) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  204.

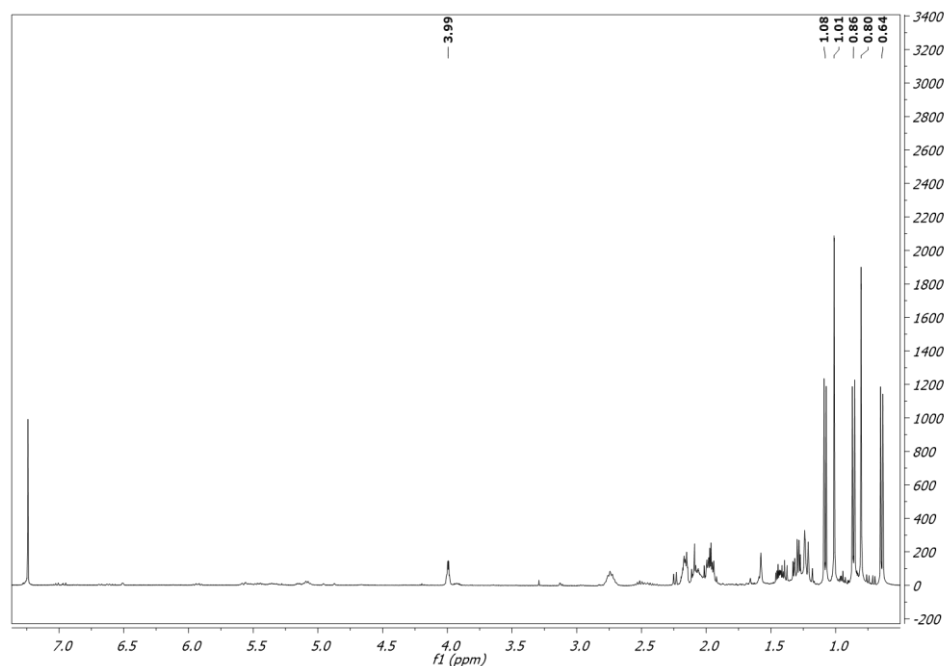


Εικόνα 142 – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη 24.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.143) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Πέντε κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια πέντε μεθυλίων.
  - Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  1.01 και 0.80, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.86 και 1.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια των μεθυλίων μίας ισοπρόπουλο ομάδας.
  - Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  0.64, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.99, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



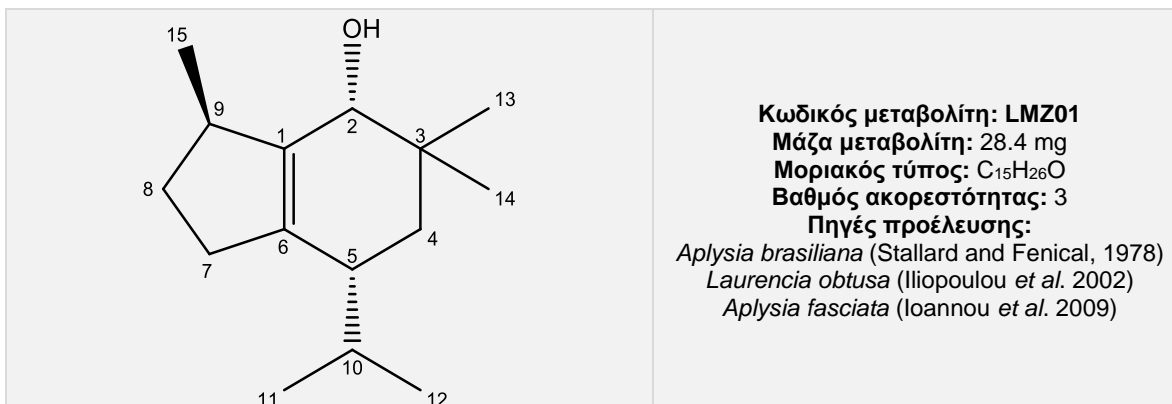
Εικόνα 143 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **24**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **24** ως το γνωστό σεσκιτερπένιο τύπου μπρασιλιανίου, μπρασιλενόλη (brasilenol) (Manzo *et al.* 2005). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 138.

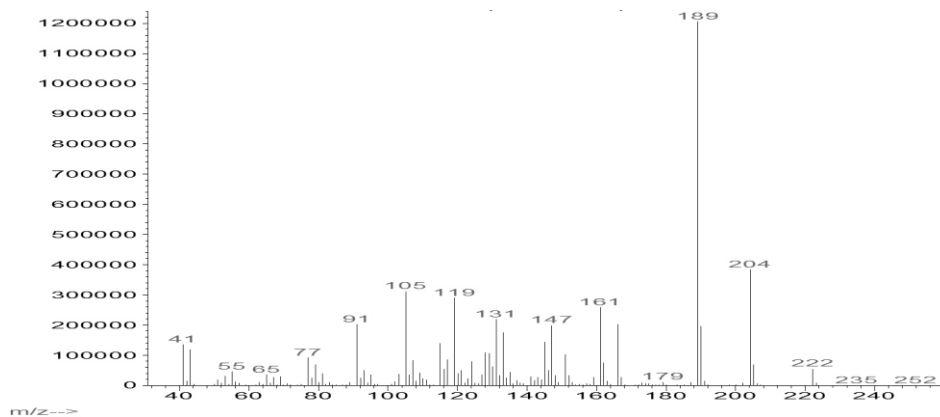
Πίνακας 138 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **24**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
<b>2</b>	3.99 m	4.01 dddd (3.0, 3.0, 3.0, 1.0)
<b>4a</b>	1.29 m	2.20 dd (11.0, 3.0)
<b>4b</b>	1.19 m	2.20 dd (11.0, 11.0)
<b>5</b>	2.07 m	2.00 dddd (11.0, 3.5, 3.0, 3.0)
<b>7a</b>	2.16 m	2.20 dddd (15.0, 7.0, 2.6, 3.0)
<b>7b</b>	1.31 m	2.20 dddd (15.0, 6.5, 6.5, 3.0)
<b>8a</b>	1.96 m	2.00 dddd (10.5, 7.0, 6.5, 6.5)
<b>8b</b>	1.40 m	1.41 dddd (10.5, 6.5, 2.6, 2.6)
<b>9</b>	2.74 m	2.76 qddd (6.8, 6.5, 2.6, 1.0)
<b>10</b>	1.98 m	2.10 qqd (6.7, 6.7, 3.0)
<b>11</b>	0.86 d (7.2)	0.87 d (6.7)
<b>12</b>	0.64 d (7.2)	0.67 d (6.7)
<b>13</b>	0.80 s	0.82 s
<b>14</b>	1.01 s	1.02 s
<b>15</b>	1.08 d (7.2)	1.10 d (6.8)

## Μεταβολίτης 25



Ο μεταβολίτης **25** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.144) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> σε *m/z* 204.

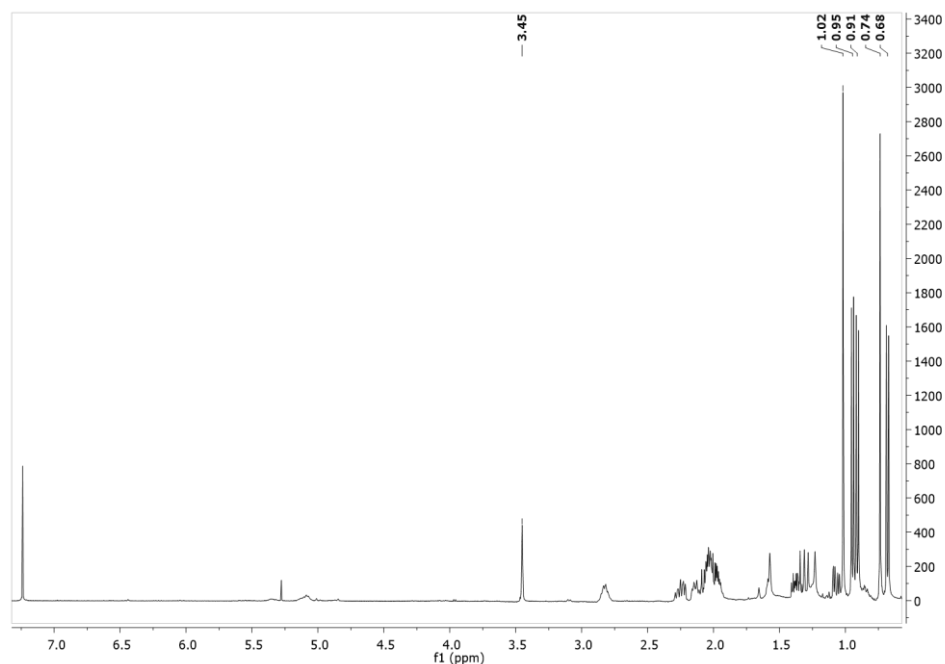


Εικόνα 144 – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη 25.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.145) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Πέντε κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια πέντε μεθυλίων.
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 1.02 και 0.74, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Δύο διπλές κορυφές σε δ 0.91 και 0.67, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια των μεθυλίων μίας ισοπρόπυλο ομάδας.
  - Μία διπλή κορυφή σε δ 0.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.45, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



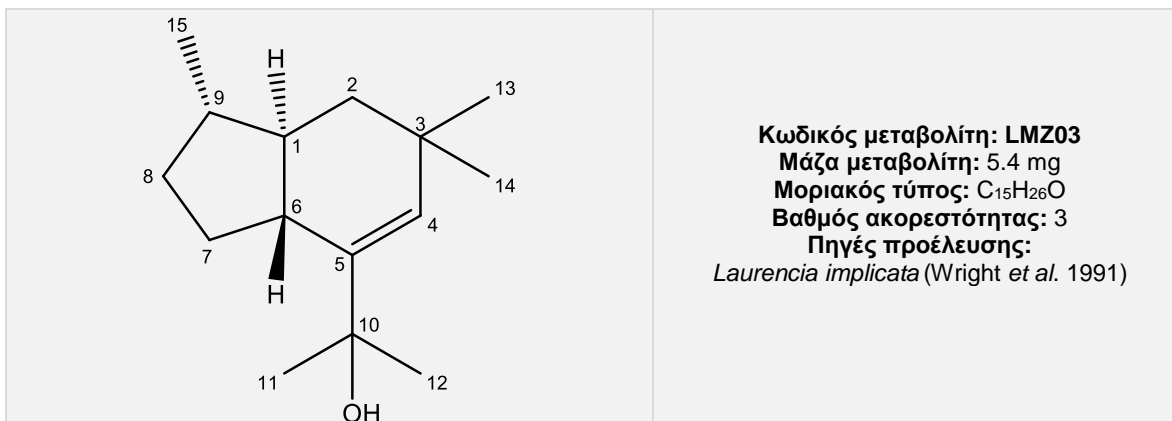
Εικόνα 145 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **25**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **25** ως το γνωστό σεσκιτερπένιο τύπου μπρασιλανίου, επιμπρασιλενόλη (epibrasilenol) (Stallard & Fenical, 1978). Ο μεταβολίτης **25** αποτελεί επιμερές του μεταβολίτη **24** ως προς την σχετική στερεοχημεία του C-2. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **25** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 139.

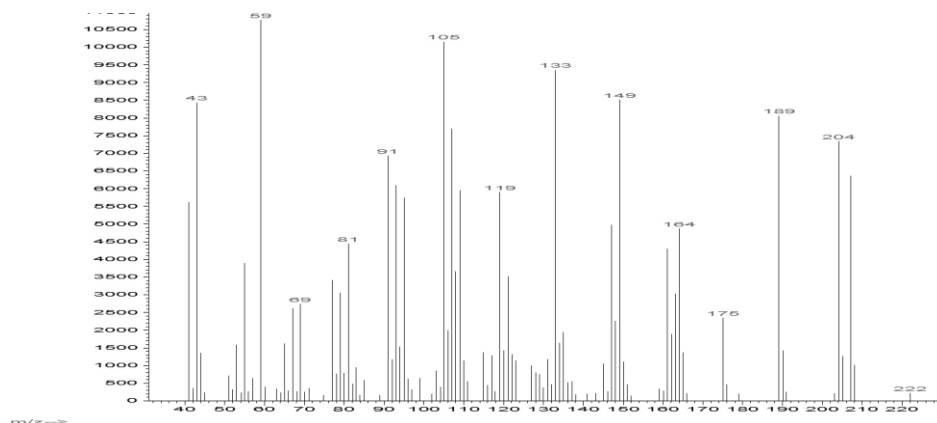
Πίνακας 139 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **25**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
<b>2</b>	3.45 s	3.47 s
<b>4a</b>	1.31 m	
<b>4b</b>	1.07 dd (12.9, 5.8)	
<b>5</b>	2.03 m	1.97-2.28
<b>7a</b>	2.24 m	1.97-2.28
<b>7b</b>	2.14 m	
<b>8a</b>	2.04 m	1.97-2.28
<b>8b</b>	1.37 m	1.00-1.50
<b>9</b>	2.83 m	2.86 m
<b>10</b>	2.02 m	1.97-2.28
<b>11</b>	0.91 d (6.8)	0.93 d (6.7)
<b>12</b>	0.67 d (6.8)	0.70 d (6.7)
<b>13</b>	1.02 s	1.04 (s)
<b>14</b>	0.74 s	0.76 (s)
<b>15</b>	0.95 d (7.0)	0.97 d (6.8)

## Μεταβολίτης 26



Ο μεταβολίτης **26** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.146) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  204.

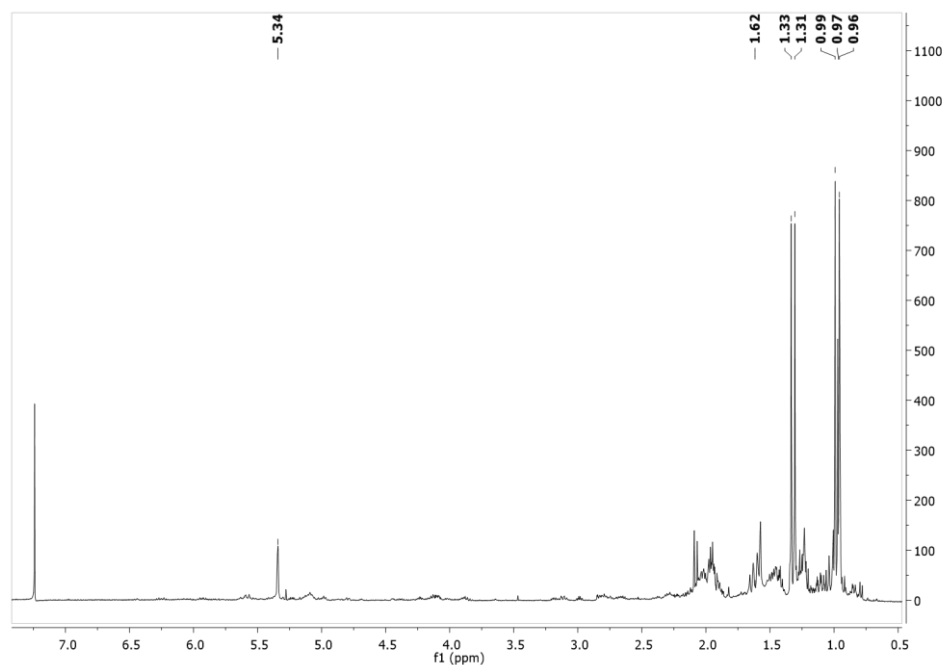


**Εικόνα 146** – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη **26**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.147) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Πέντε κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια πέντε μεθυλίων.
  - Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.99 και 0.96, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Δύο απλές σε  $\delta$  1.31 και 1.33, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια των μεθυλίων μίας ισοπρότυλο ομάδας σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Μία διπλή σε  $\delta$  0.96, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Μία απλή σε  $\delta$  5.34, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.



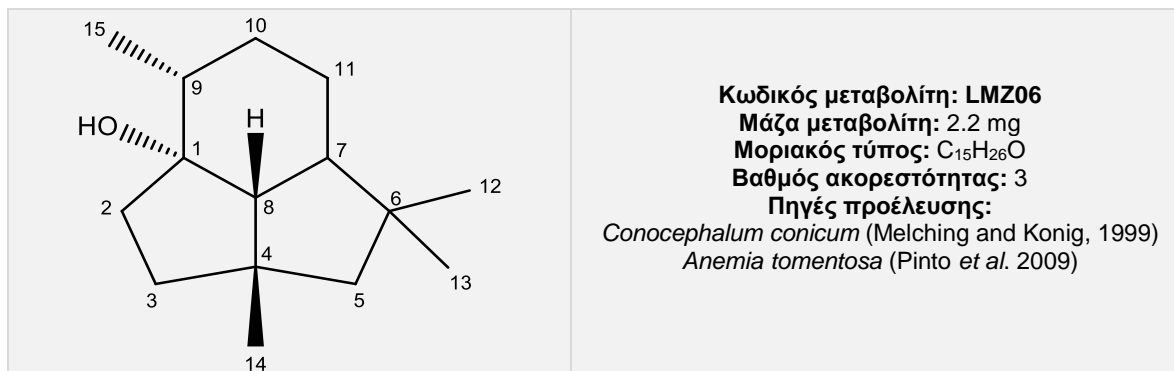
Εικόνα 147 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **26**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **26** ως το γνωστό σεσκιτερπένιο τύπου μπρασιλανίου ( $1\text{R}^*$ ,  $4\text{E}$ ,  $6\text{R}^*$ ,  $9\text{S}^*$ )-5-(1'-μεθυλεθαν-1'-ολ)-3,3,9-τριμεθυλοδίκυκλο[4.3.0]νονα-4-ένιο [( $1\text{R}^*$ ,  $4\text{E}$ ,  $6\text{R}^*$ ,  $9\text{S}^*$ )-5-(1'-Methylethan-1'-ol)-3,3,9-trimethylbicyclo[4.3.0]nona-4-ene] (Tori *et al.* 1994). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 140.

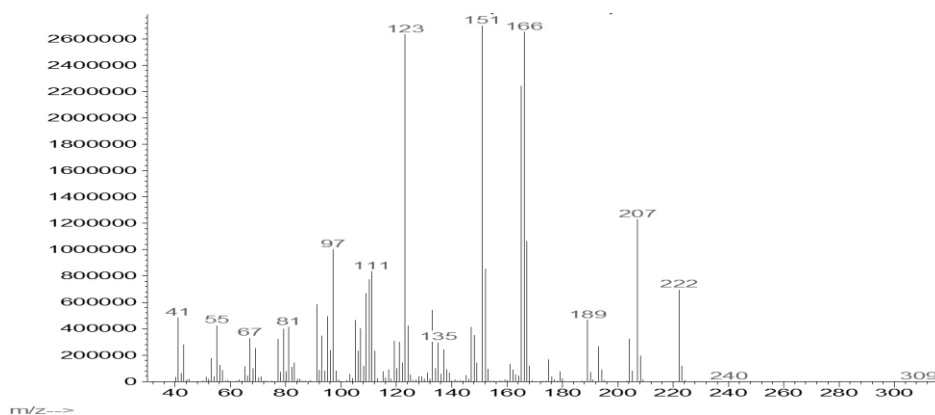
Πίνακας 140 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **26**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	1.10 m	1.12 m
2	1.62 m	1.63 q (10.3)
4	5.34 s	5.36 s
6	1.40 m	1.42–1.44 m
7	1.90 m	1.92-1.96 m
8	1.22 m	1.25 m
9	1.42 m	1.42-1.44 m
11	1.31 s	1.31 s
12	1.33 s	1.33 s
13	0.99 s	0.99 s
14	0.96 s	0.95 s
15	0.96 d (6.6)	0.96 d (6.5)

## Μεταβολίτης 27



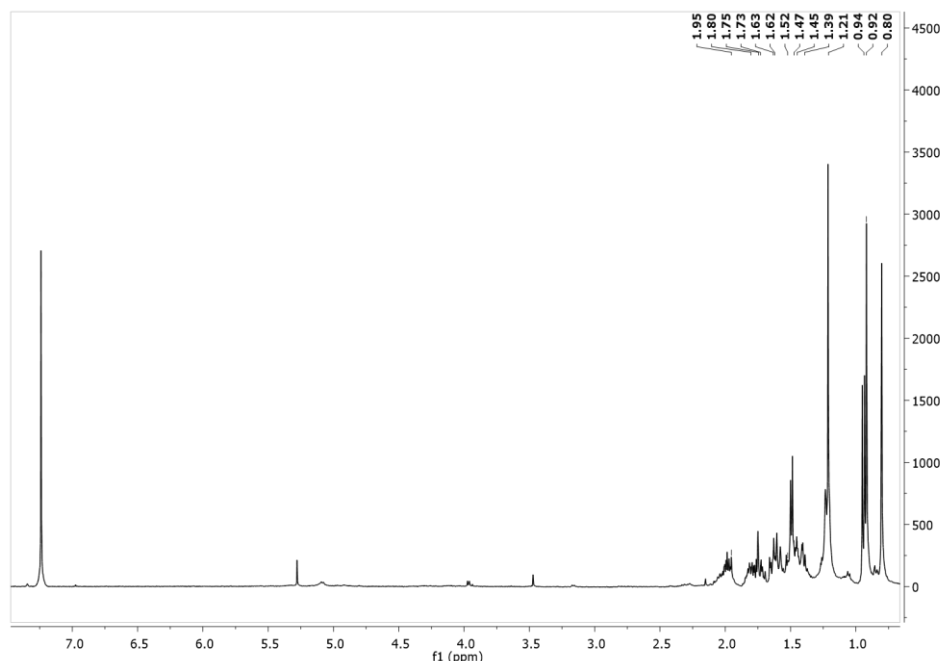
Ο μεταβολίτης **27** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.148) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  204.



Εικόνα 148 – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη **27**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.149) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με χαρακτηριστικές χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  0.80, 0.92, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μια απλή κορυφή σε  $\delta$  1.21, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  0.94, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.



Εικόνα 149 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **27**.

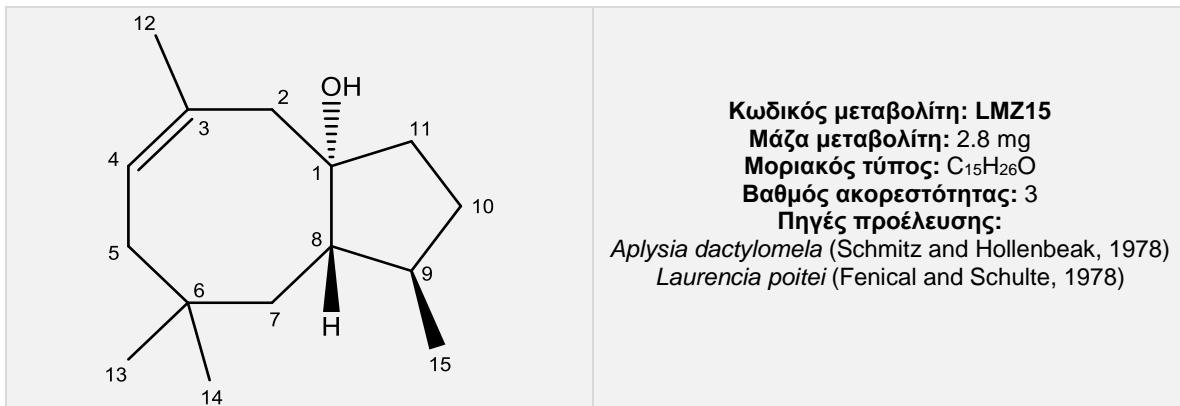
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **27** ως το σεσκιτερπένιο τύπου πρεσιλπιπερφολανίου, επι-πρεσιλπιπερφολαν-1-όλη (epi-presilphiperfolan-1-ol) (Pinto *et al.* 2009). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 141.

Πίνακας 141 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **27**.

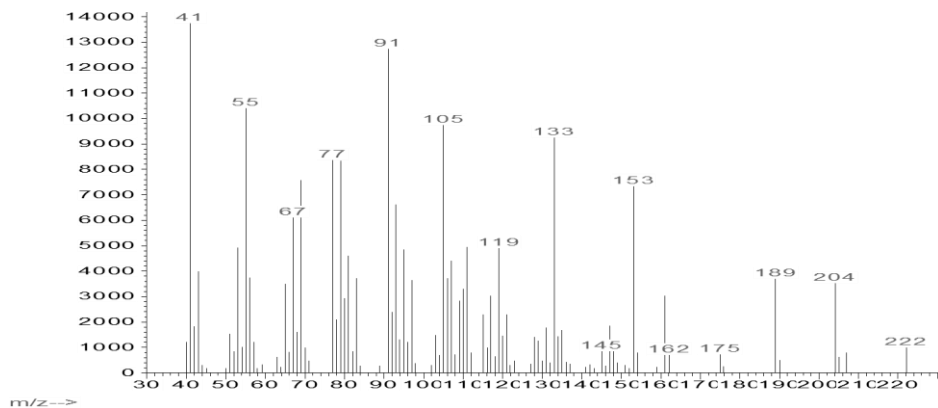
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
<b>2a</b>	1.95 m	1.76-2.02 m
<b>2b</b>	1.73 m	
<b>3a</b>	1.75 m	1.65-1.82 m
<b>3b</b>	1.63 m	
<b>5</b>	1.45-1.49 m	1.48-1.52 m
<b>7</b>	1.20 m	1.24-1.26 m
<b>8</b>	1.62 m	1.64-1.66 m
<b>9</b>	1.80 m	1.85 m
<b>10a</b>	1.52 m	1.45-1.53 m
<b>10b</b>	1.45 m	
<b>11a</b>	1.39 m	1.24-1.44 m
<b>11b</b>	1.20 m	
<b>12</b>	0.80 s	0.83 s
<b>13</b>	0.92 s	0.95 s
<b>14</b>	1.21 s	1.25 s
<b>15</b>	0.94 d (7.0)	0.96-0.98 d (6.9)



## Μεταβολίτης 28



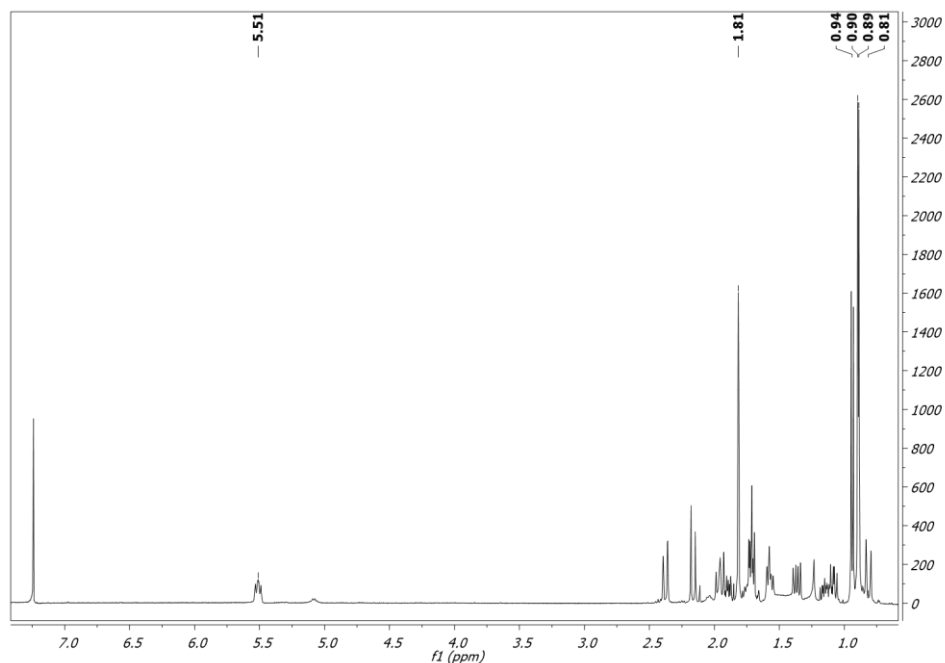
Ο μεταβολίτης **28** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.150) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> σε *m/z* 204.



Εικόνα 150 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **28**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.151) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 0.89 και 0.90, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή σε δ 0.94, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή σε δ 1.81, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία πολλαπλή σε δ 5.51, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.



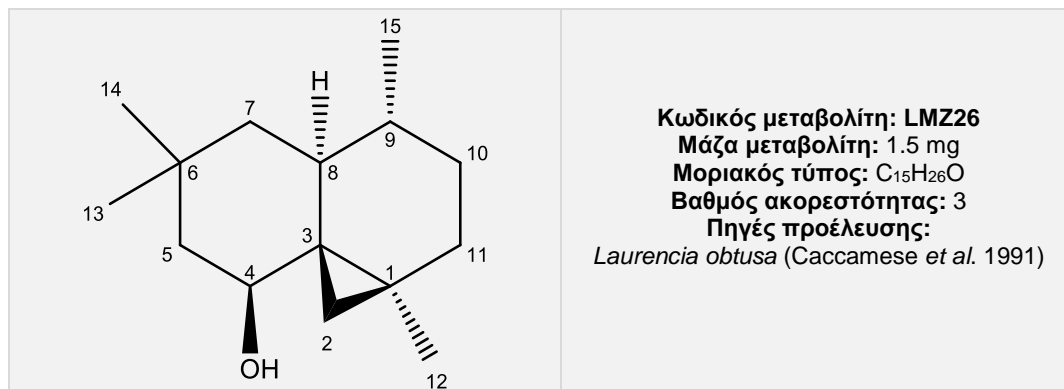
Εικόνα 151 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **28**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **28** ως το σεσκιτερπένιο δακτυλόλη (dactylol) (Furstner & Langemann, 1996). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 142.

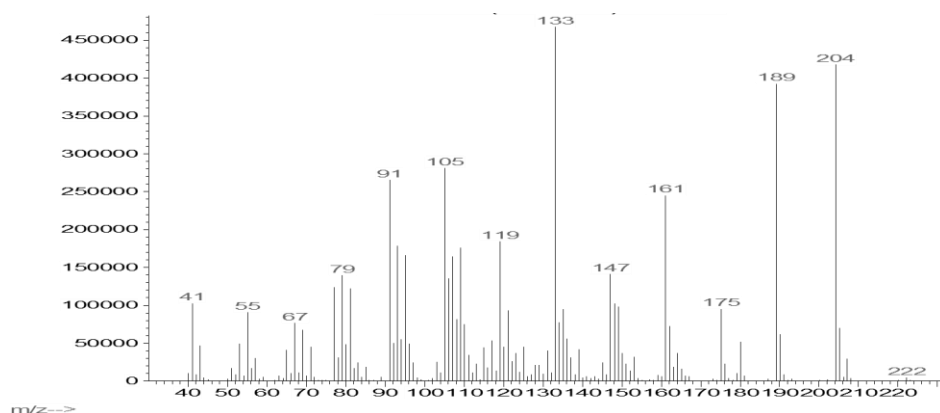
Πίνακας 142 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **28**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2	2.38 d (13.6)	2.40 d (13.5)
	2.16 d (13.6)	2.19 d (13.5)
4	5.51 m	5.53 t (8.6)
12	1.81 s	1.84 s
13	0.89 s	0.91 s
14	0.90 s	0.92 s
15	0.94 d (6.7)	0.96 d (6.6)

## Μεταβολίτης 29



Ο μεταβολίτης **29** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.152) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 222 και θραύσμα προϊόν απόσπασης ενός μορίου νερού [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> σε *m/z* 204.

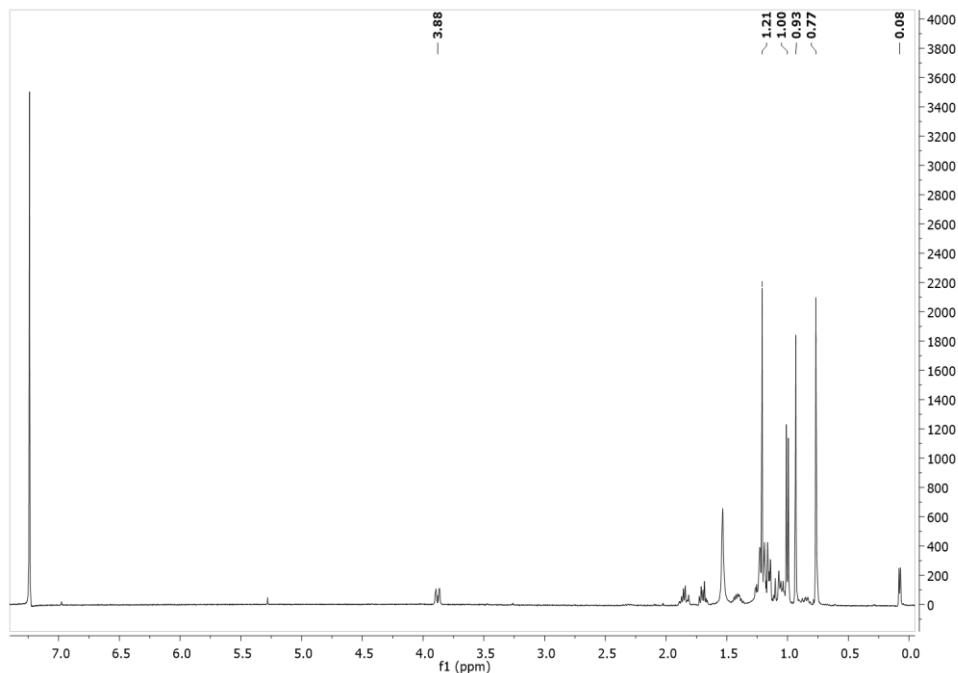


Εικόνα 152 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 29.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.153) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τέσσερις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τεσσάρων μεθυλιών:
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 0.77 και 0.93, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλιών σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Μία απλή κορυφή σε δ 1.21, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Μία διπλή κορυφή σε δ 1.00, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.08 και 0.77, οι οποίες αντιστοιχούν σε μεθυλениκά πρωτόνιο μίας κυκλοπρόπυλο-ομάδας.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.88, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



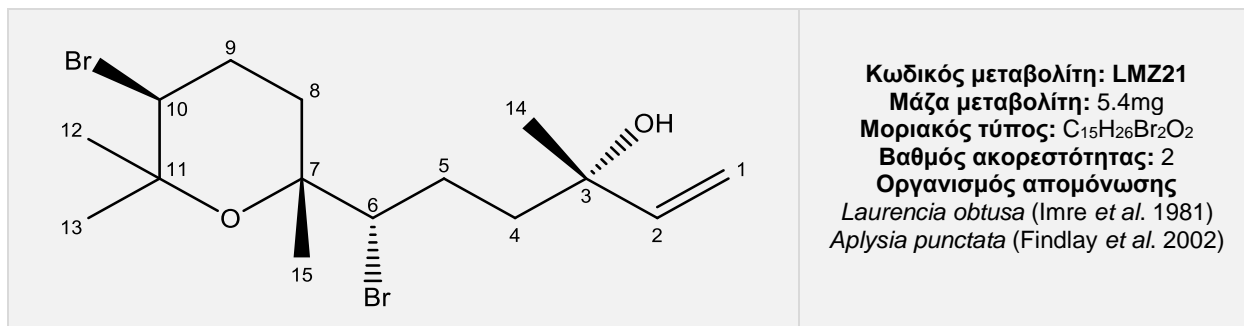
Εικόνα 153 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **29**

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **29** ως το σεσκιτερπένιο με σκελετό  $\alpha$ -χουμουλενίου, λαουρομπουσόλη (Laurobtusol) (Caccamese *et al*, 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 143.

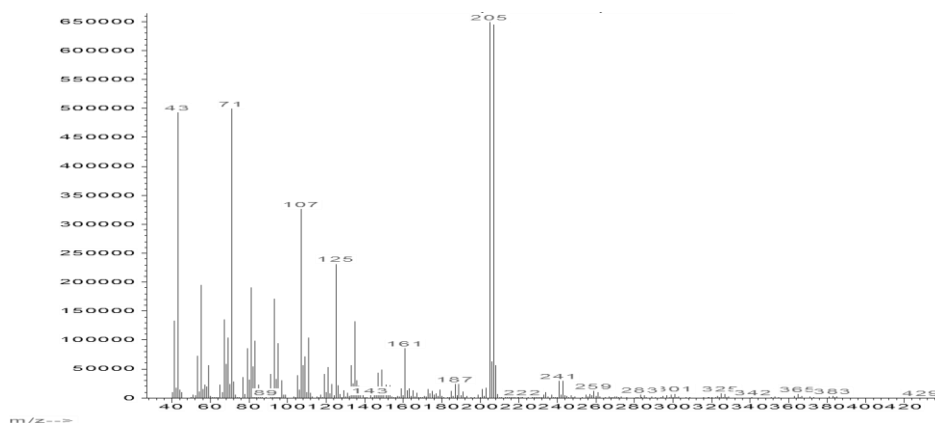
Πίνακας 143 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 29.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2a	0.77 d (4.4)	0.79 d (4.5)
2b	0.08 d (4.4)	0.10 d (4.5)
4	3.88 dd (12.0, 2.0)	3.90 dd (11.4, 2.5)
5a	1.16 m	1.16 m
5b	1.04 m	1.05 m
7a	1.19 m	1.23 m
7b	1.07 m	1.10 m
8	1.18 m	1.18 m
9	1.41 m	1.44 m
10a	1.69 m	1.70 m
10b	1.23 m	1.25 m
11a	1.86 m	1.86 m
11b	1.18 m	1.20 m
12	1.21 s	1.23 s
13	0.77 s	0.80 s
14	0.93 s	0.96 s
15	1.00 d (6.3)	1.08 d (6.5)

## Μεταβολίτης 30



Ο μεταβολίτης **30** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.154) εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 381 με ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 383 και 385 σε σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου.

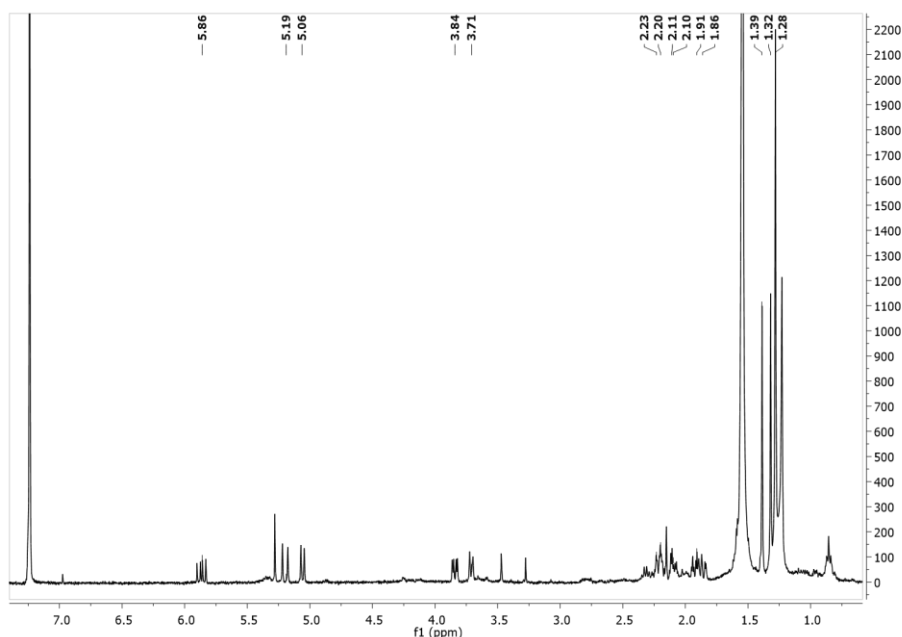


Εικόνα 154 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **30**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.155) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.32 και 1.28, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.29 και 1.32, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Δύο διπλές κορυφές σε δ 5.19, 5.06 και μία διπλή διπλών σε δ 5.86, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  3.71 και 3.84, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βρωμιωμένων ανθράκων.



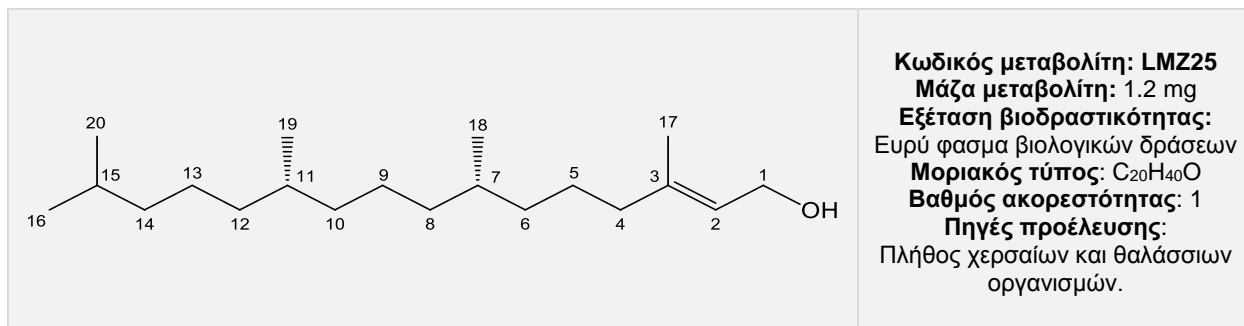
Εικόνα 155 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) μεταβολίτη **30**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **30** ως το σεσκιτερπένιο ομπουσενόλη (Obtusenol) (Imre *et al.* 1981). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 144.

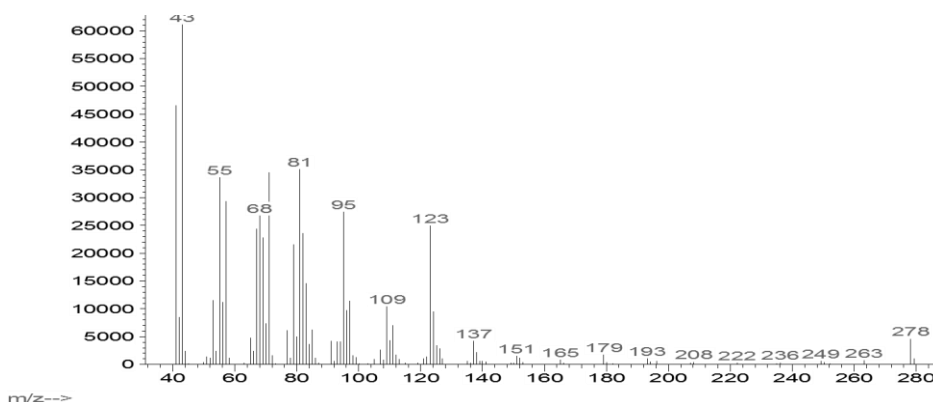
Πίνακας 144 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **30**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1a	5.19 d (16.9)	5.21 (dd, 17.3, 0.9)
1b	5.06 d (11.2)	5.07 (dd, 10.8, 0.9)
2	5.86 dd (16.9, 11.2)	5.87 (dd, 17.4, 10.8)
4a	1.86 m	1.87 m
4b	1.56 m	1.56 m
5a	2.23 m	2.24 m
5b	1.53 m	1.54 m
6	3.71 dd (9.1, 1.9)	3.72 dd (8.9, 1.7)
8a	2.11 m	2.11 dq (13.8, 4.1)
8b	1.91 dt (13.8, 3.9)	1.93 dt (13.7, 3.8)
9a	2.20 m	2.21 dddd (13.8, 13.3, 12.3, 3.8)
9b	2.10 m	2.11 dq (13.8, 4.1)
10	3.84 dd (12.3, 4.3)	3.85 dd (12.3, 4.1)
12	1.39 s	1.40 s
13	1.29 s	1.30 s
14	1.28 s	1.29 s
15	1.32 s	1.33 s

## Μεταβολίτης 31



Ο μεταβολίτης **31** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.156) εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης  $[M-H_2O]^+$  σε  $m/z$  278.

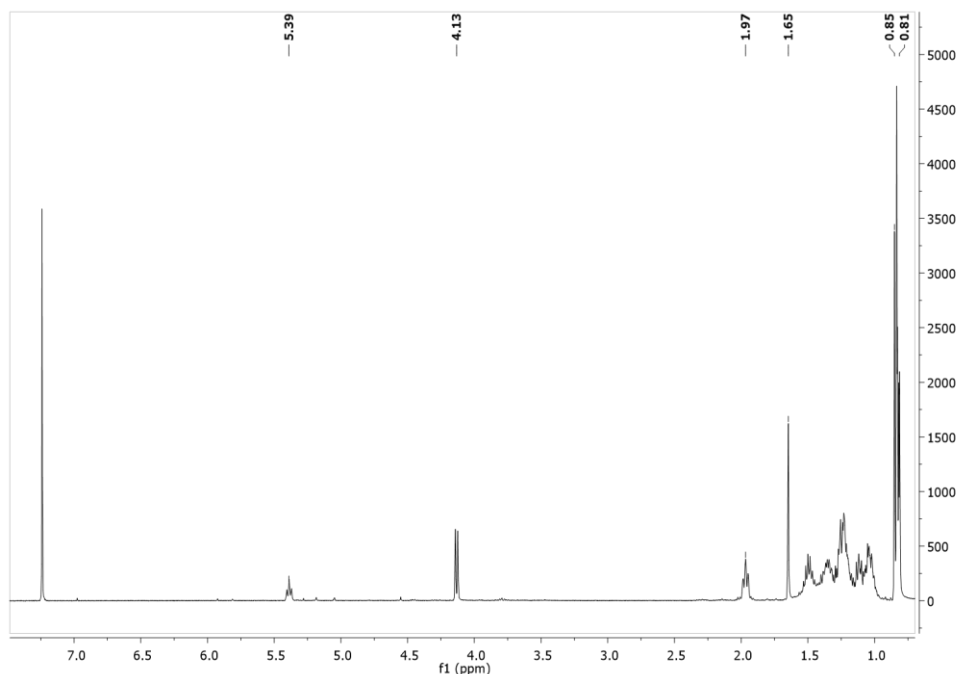


Εικόνα 156 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **31**.

Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.157) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις διπλές κορυφές σε  $\delta$  0.82, 0.83 και 0.84, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τεσσάρων μεθυλίων σε τριτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  1.65, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  4.13, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός αλλυλικού οξυγονωμένου μεθυλενικού άνθρακα.
- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  5.39, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.





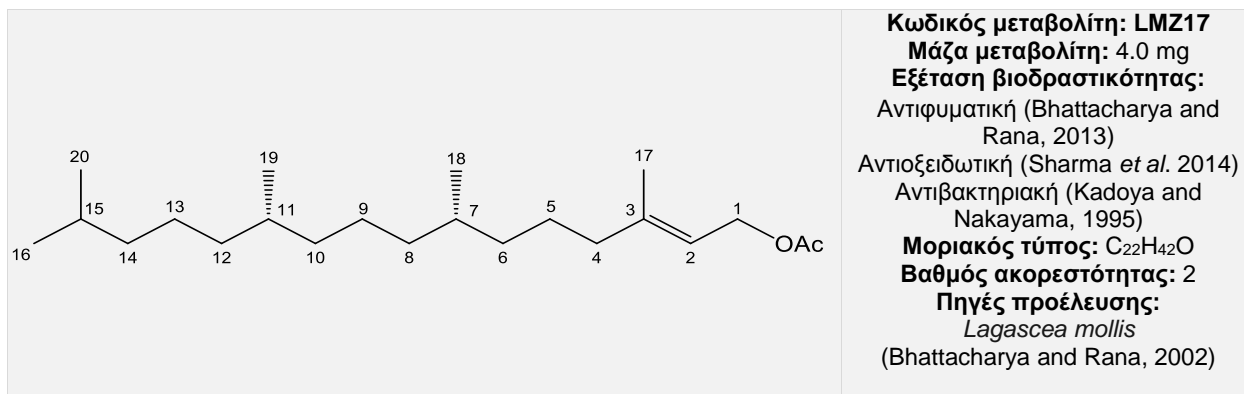
Εικόνα 157 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **31**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **31** ως το διτερπένιο με σκελετού φυτανίου, *trans*-φυτόλη (*trans*-phytol) (Wong and Brown, 2002). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 145.

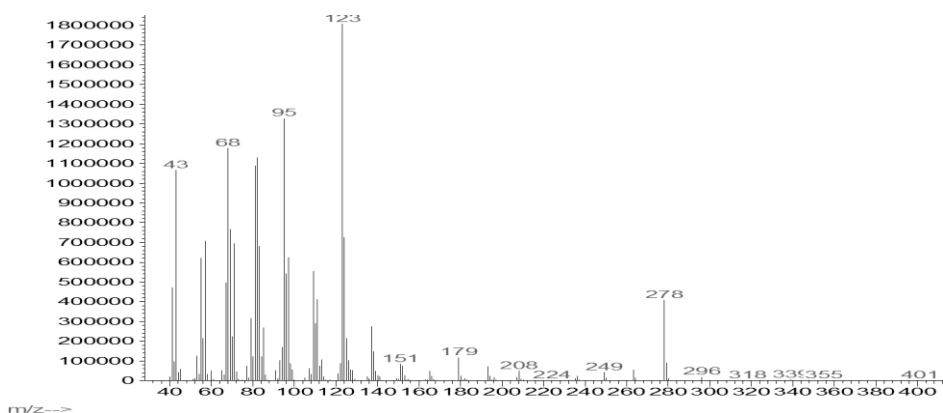
Πίνακας 145 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **31**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	4.13 d (7.0)	4.15 d (6.9)
2	5.39 t (7.0)	5.40 t (6.9)
4	1.97 t (7.9)	1.96 t (7.4)
5		1.41 m
6a		1.40 m
6b		1.32 m
7		1.39 m
8a		1.25 m
8b		1.08 m
9		1.28 m
10a	1.01-1.54 m	1.25 m
10b		1.08 m
11		1.39 m
12a		1.25 m
12b		1.08 m
13		1.28 m
14		1.14 m
15		1.52 m
16	0.84 d (6.6)	0.87 m
17	1.65 s	1.67 s
18	0.83 d (6.4)	0.86 m
19	0.82 d (6.4)	0.85 m
20	0.84 d (6.6)	0.87 m

## Μεταβολίτης 32



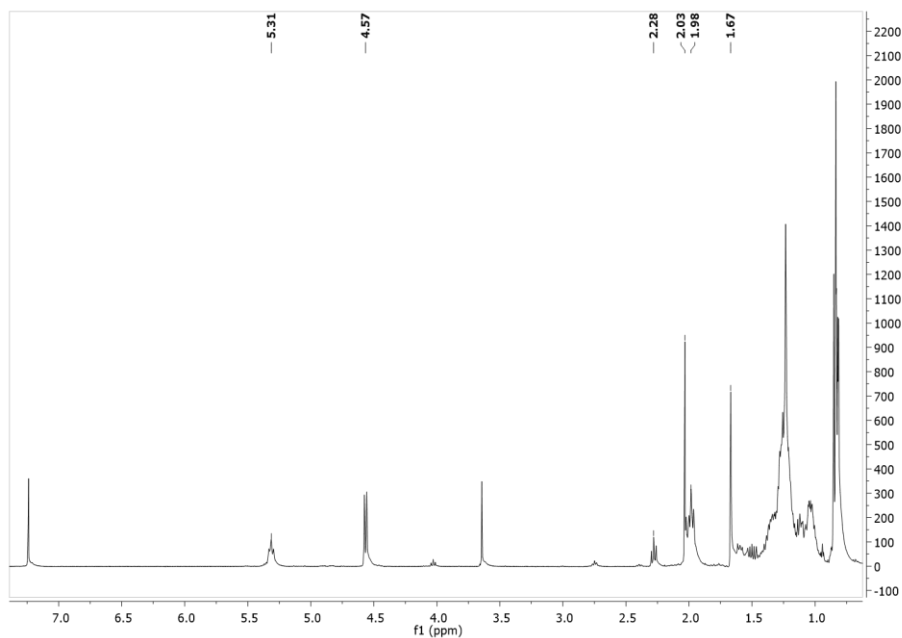
Ο μεταβολίτης **32** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.158) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 338 και θραύσμα προϊόν απόσπασης [M-AcOH]<sup>+</sup> σε *m/z* 278.



Εικόνα 158 – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη **32**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.159) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις διπλές κορυφές σε δ 0.82, 0.83 και 0.84, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τεσσάρων μεθυλιών σε τριτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 1.67, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.03, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε δ 5.31, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 4.57, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αλληλικού οξυγονωμένου μεθυλενικού άνθρακα.



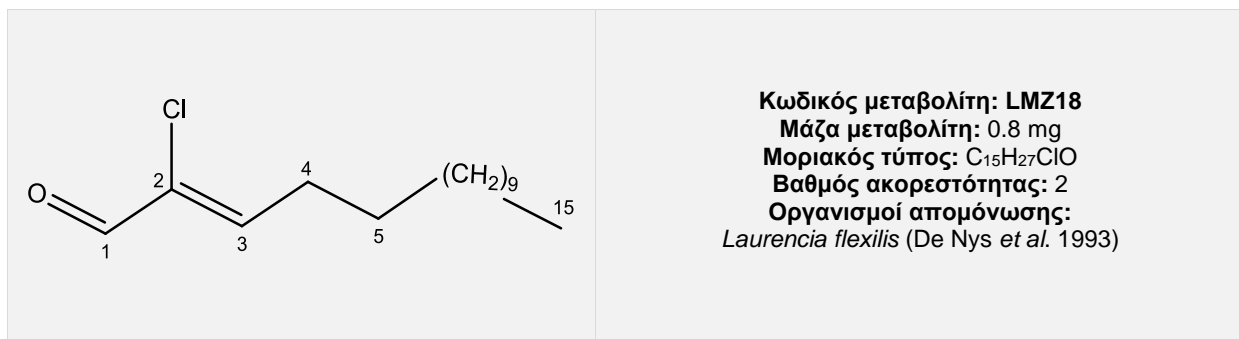
Εικόνα 159 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **32**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **32** ως το διτερπένιο σκελετού φυτανίου, ακέτυλο-*trans*-φυτόλη (*trans*-phytol acetate) (Bhattacharya and Rana, 2002). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 146.

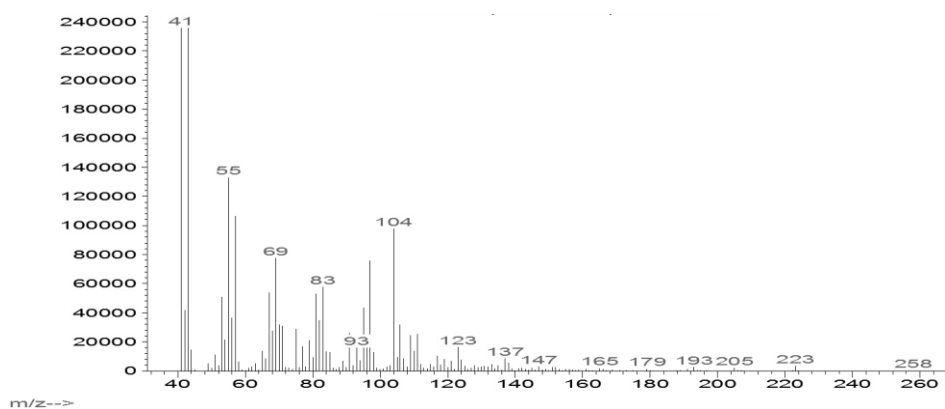
Πίνακας 146 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 32.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	4.57 d (7.0)	4.58 d (7.1)
2	5.31 m	5.34 m
4	1.98 t (6.6)	2.00 t (7.3)
5		
6a		
6b		
7		
8a		
8b		
9		
10a	0.99-1.41 m	1.02-1.40 m
10b		
11		
12a		
12b		
13		
14		
15		
16	0.84 d (6.6)	0.83 – 0.86 m
17	1.67 s	1.65 s
18	0.84 d (6.4)	0.83 – 0.86 m
19	0.83 d (6.4)	0.83 – 0.86 m
20	0.82 d (6.6)	0.83 – 0.86 m
22	2.03 s	2.05 s

## Μεταβολίτης 33



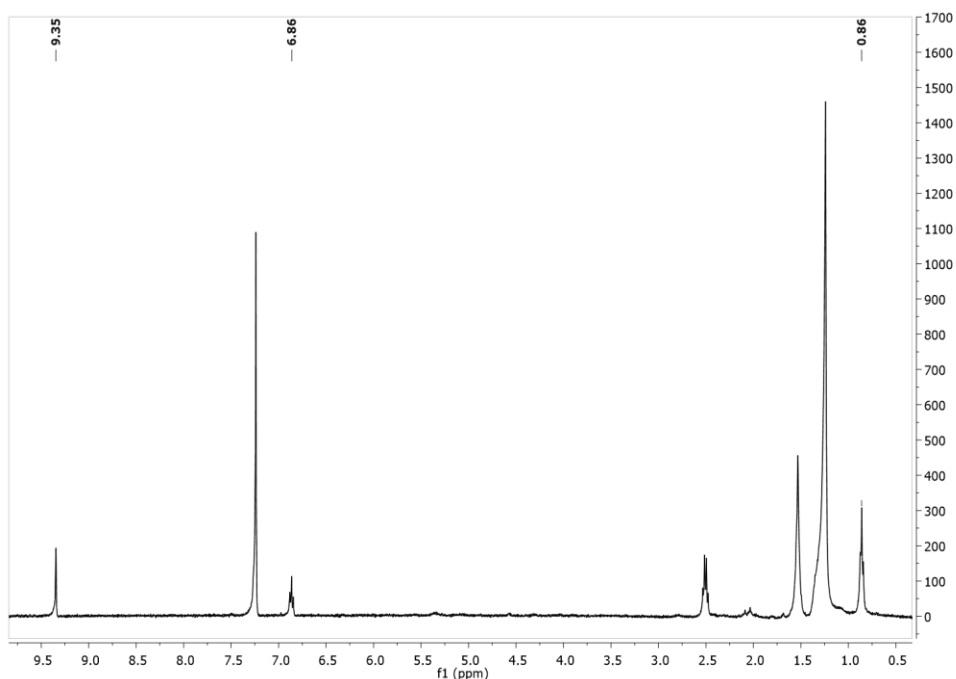
Ο μεταβολίτης **33** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.160) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 258 και θραύσμα προϊόν απόσπασης [M-Cl]<sup>+</sup> σε *m/z* 223.



Εικόνα 160 – Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη **33**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.161) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές, με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε δ 0.86, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε δ 6.86, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 9.35, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός αλδεϋδικού άνθρακα.



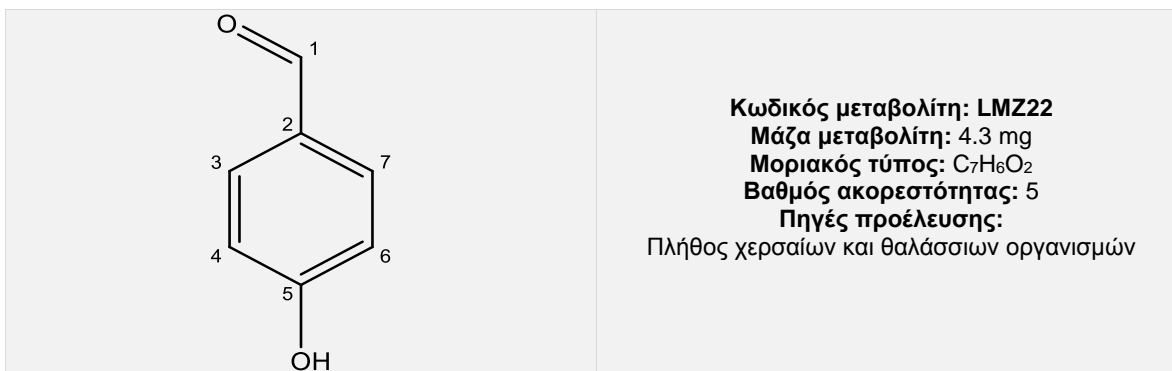
Εικόνα 161 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **33**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **33** ως την (*Z*)-2-χλωροπενταδεκ-2-ενάλη (*Z*-2-chloropentadec-2-enal) (De Nys *et al.* 1993). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 147.

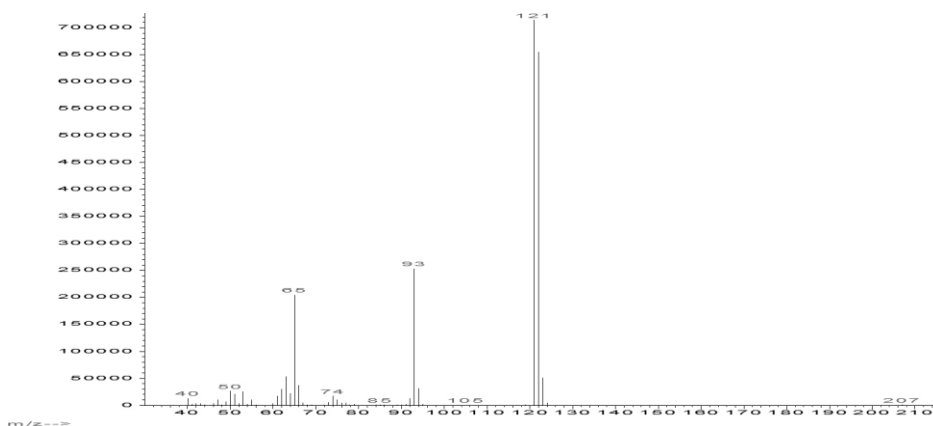
Πίνακας 147 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **33**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	9.35 s	9.36 s
3	6.86 dd (7.3, 7.2)	6.89 dd (7.2, 7.2)
4	2.51 m	2.52 (ddd, 7.2, 7.3, 7.3)
5	1.53 m	1.55 (m)
6		
7		
8		
9		
10	1.24 m	1.26 (br s)
11		
12		
13		
14		
15	0.86 t (7.0)	0.88 m

## Μεταβολίτης 34



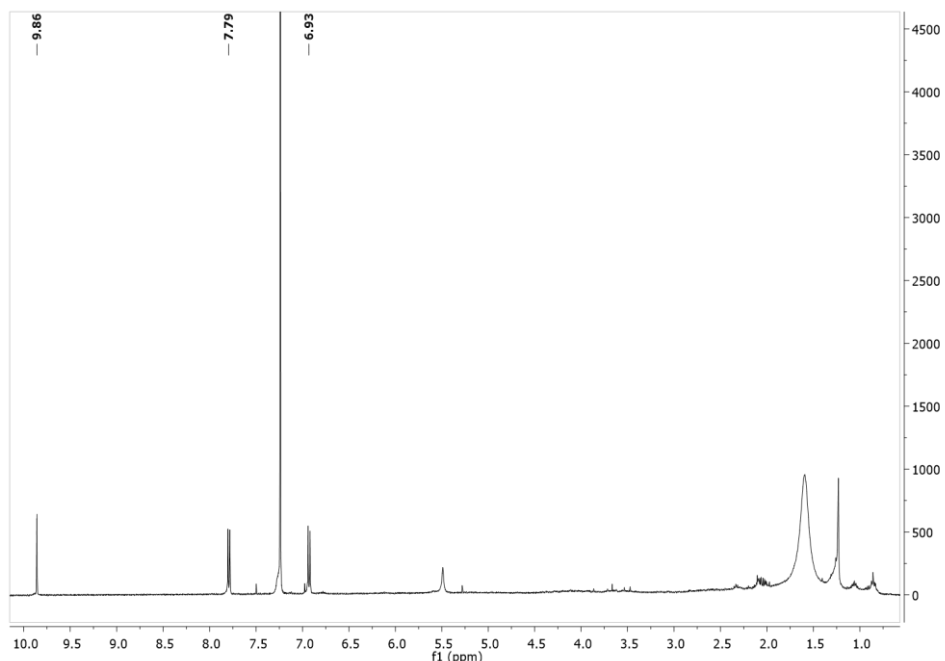
Ο μεταβολίτης **34** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.162) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  122.



Εικόνα 162 - Φάσμα μάζας EI-MS του μεταβολίτη **34**.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Εικ.163) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  7.79, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  6.93, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  9.86, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός αλδεϋδικού άνθρακα.



Εικόνα 163 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **34**.

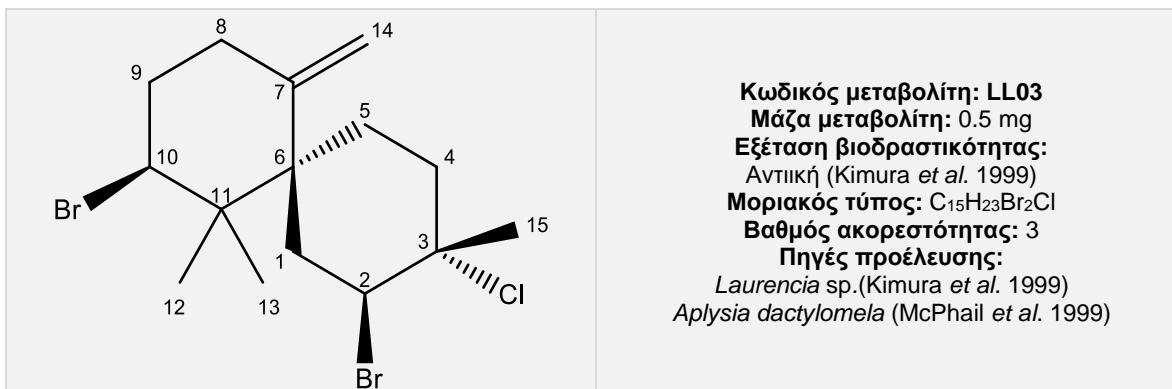
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **34** ως την  $\pi$ -υδροξύ-βενζαλδεΐδη (*p*-hydroxy-benzaldehyde). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 148.

Πίνακας 148 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **34**.

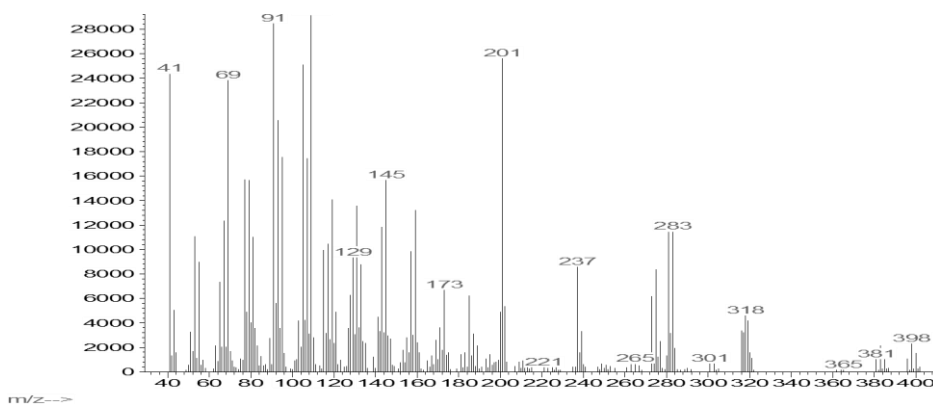
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	9.86 s	9.85 s
3	7.79 d (8.6)	7.83 d (8.6)
4	6.93 d (8.6)	7.00 d (8.3)
6	6.93 d (8.6)	7.00 d (8.3)
7	7.79 d (8.6)	7.83 d (8.6)
-OH	6.88 br s	6.90 br s



## Μεταβολίτης 35



Ο μεταβολίτης **35** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.164) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 396 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 398, 400, 402 και 404 σε σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.

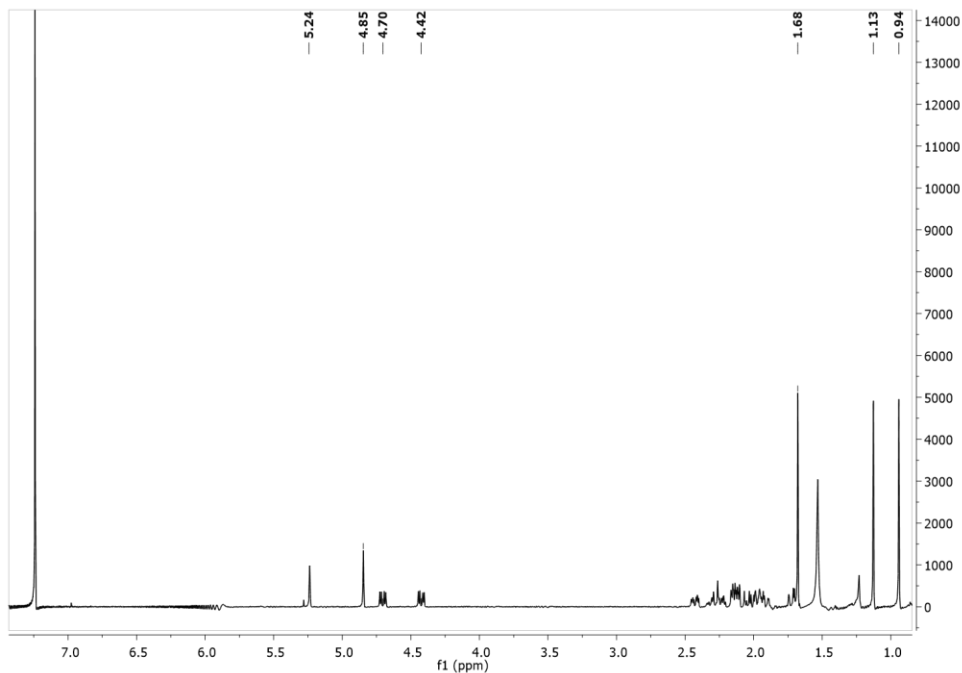


Εικόνα 164 –Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **35**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.165) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια τριών μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες:
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 0.94 και 1.13, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλιών.
  - Μία απλή κορυφή σε δ 1.68, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή αλογονωμένο άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  4.85 και 5.24, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  4.70 και 4.42, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο βρωμιωμένων ανθράκων.



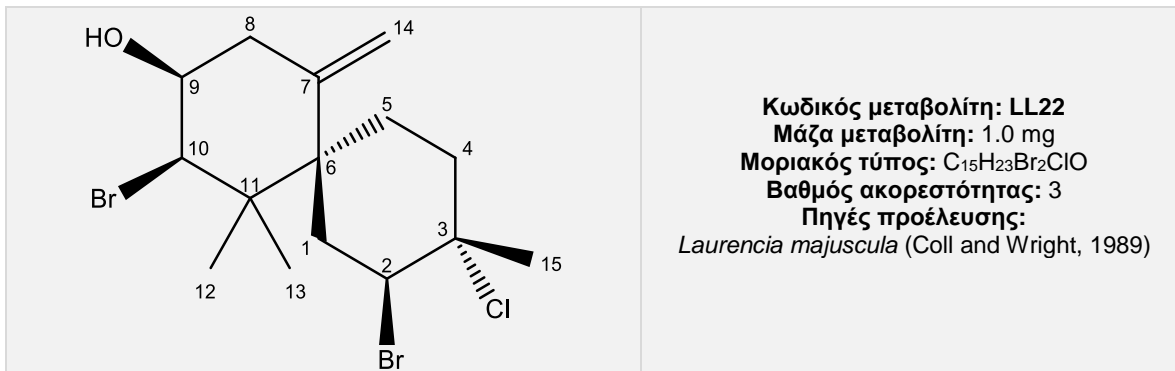
Εικόνα 165 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **35**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **35** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού τσαμγκρανίου νιδιφισένιο (Nidificene) (McPhail *et al.* 1999). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 149.

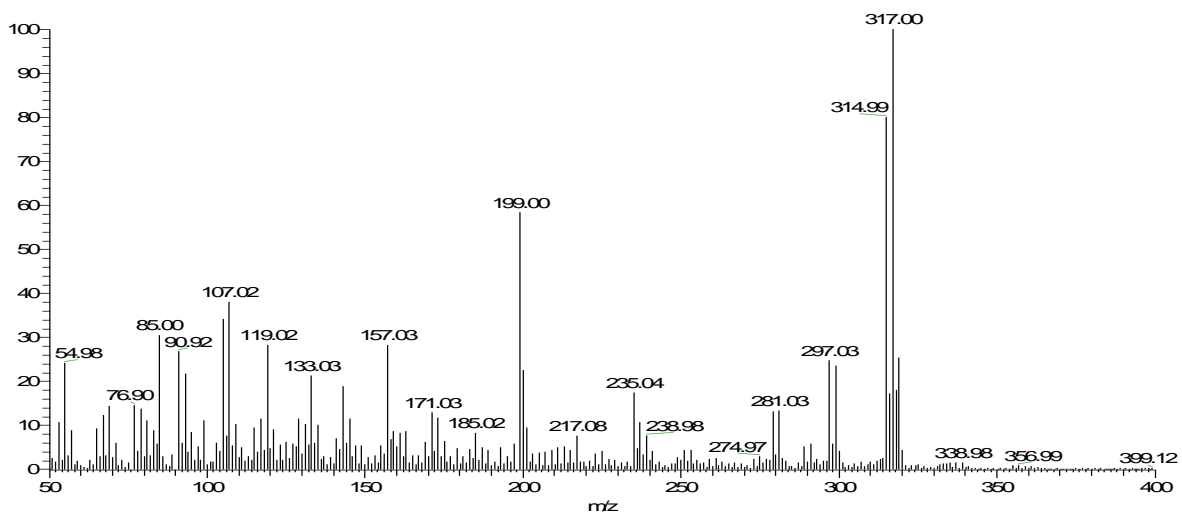
Πίνακας 149 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 35.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1a	1.95 m	1.97 m
1b	1.71 m	1.72 m
2	4.70 dd (12.9, 4.6)	4.71 dd (13.0, 5.0)
4	2.42 m 2.14 m	2.44 m 2.14 m
5	1.95 m 1.71 m	1.97 m 1.72 m
8	2.32 m 2.12 m	2.31 m 2.14 m
9	2.20 m 2.00 m	2.25 m 2.02 m
10	4.42 dd (12.9, 4.6)	4.43 dd (13.0, 5.0)
12	1.13 s	1.14 s
13	0.94 s	0.95 s
14a	4.85 s	4.86 s
14b	5.24 s	5.25 s
15	1.68 s	1.69 s

## Μεταβολίτης 36



Ο μεταβολίτης **36** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.166) εμφανίζεται θραύσμα προϊόν απόσπασης [M-Br-OH]<sup>+</sup> σε  $m/z$  315 με ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  317 και 319 σε σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.

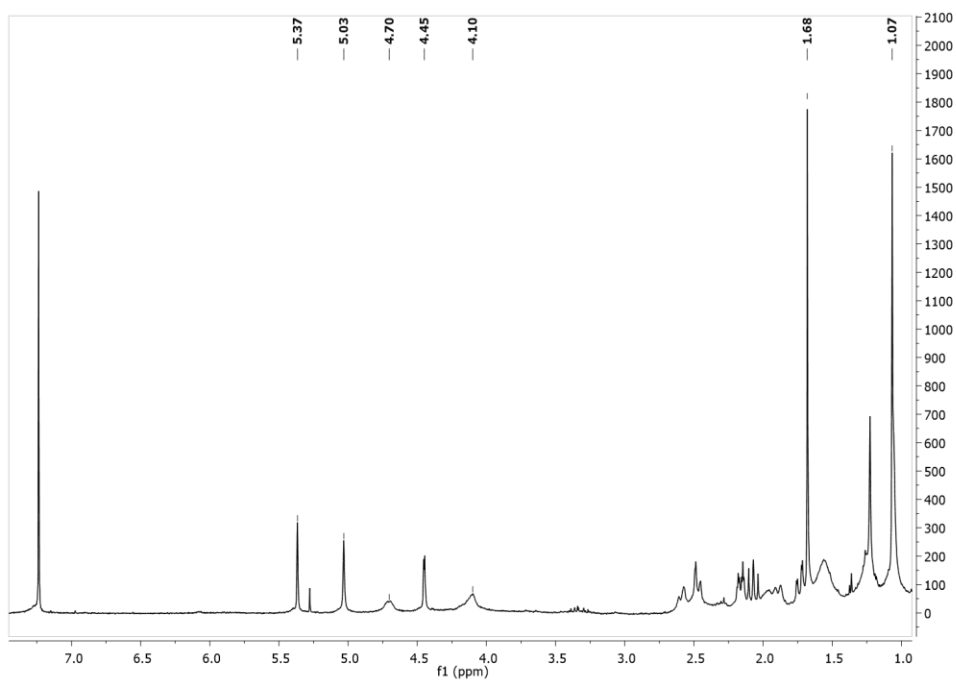


Εικόνα 166 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 36.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.167) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
  - Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  1.07, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων.
  - Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  1.68, η οποία αντιστοιχεί σε μεθυλικά πρωτόνια ενός τεταρτοταγούς χλωριωμένου άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  5.03 και 5.37, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.70 και μια διπλή κορυφή σε  $\delta$  4.45, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο βρωμιωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.10, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.



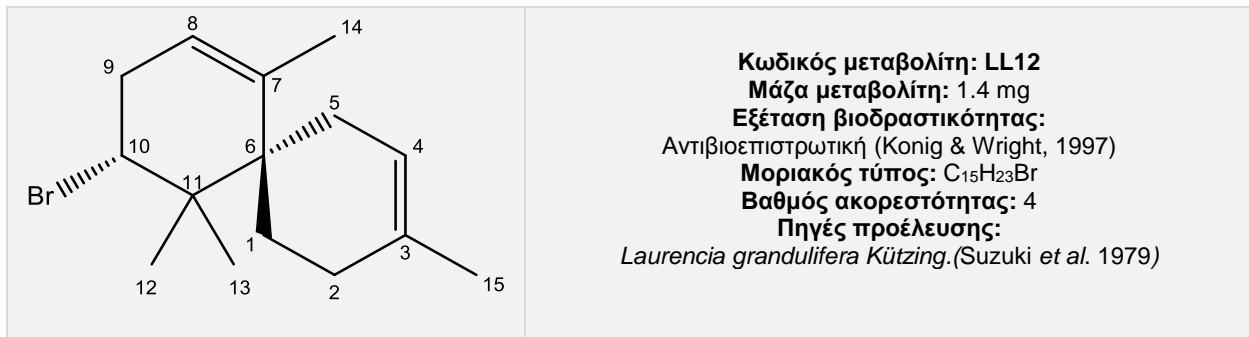
Εικόνα 167 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **36**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **36** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού τσαμιγκρανίου, (1*S*, 2*S*, 4*R*, 8*R*, 9*S*)-2,8-δίβρωμο-1-χλωροτσαμιγκρ-11(12)-εν-9-ολη [(1*S*, 2*S*, 4*R*, 8*R*, 9*S*)-2,8-dibromo-1-chlorochamigr-11(12)-en-9-ol] (Coll and Wright, 1989). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 150.

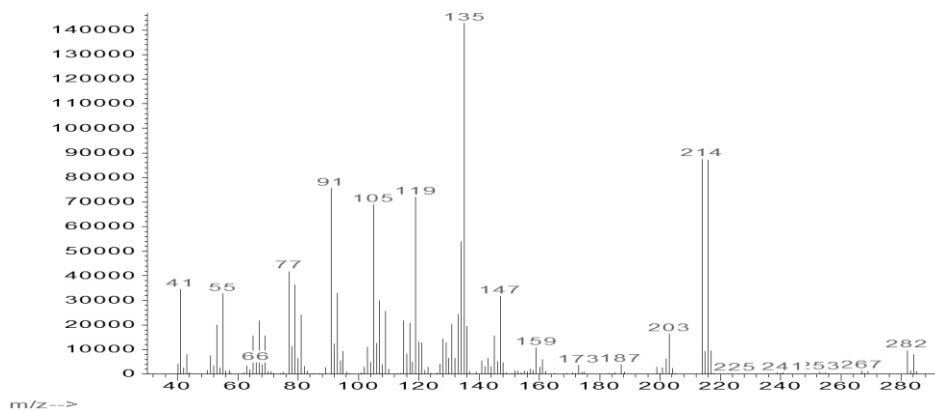
Πίνακας 150 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 36.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1a	2.07 dd (13.4, 12.6)	2.09 dd (14.2, 12.9)
1b	1.94 m	1.94 m
2	4.70 m	4.72 br d (9.1)
4a	2.16 dt (13.2, 3.3, 3.2)	2.18 ddd (13.2, 3.4, 3.2)
4b	1.94 m	1.94 m
5a	1.94 m	1.94 m
5b	1.74 dd (14.2, 2.8)	1.74 ddd (14.3, 14.2, 3.2)
8a	2.61 m	2.61 br d (14.2)
8b	2.47 dd (14.2, 14.1, 2.3)	2.48 dd (14.2, 2.9)
9	4.10 m	4.09 br s
10	4.45 d (2.9)	4.46 d (3.1)
12	1.07 s	1.08 s
13	1.07 s	1.07 s
14	5.03 s	5.03 s
	5.37 s	5.37 s
15	1.68 s	1.69 s

## Μεταβολίτης 37



Ο μεταβολίτης **37** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.168) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 282 και ισοτοπική κορυφή σε *m/z* 284 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης, εμφανίζεται θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 203.

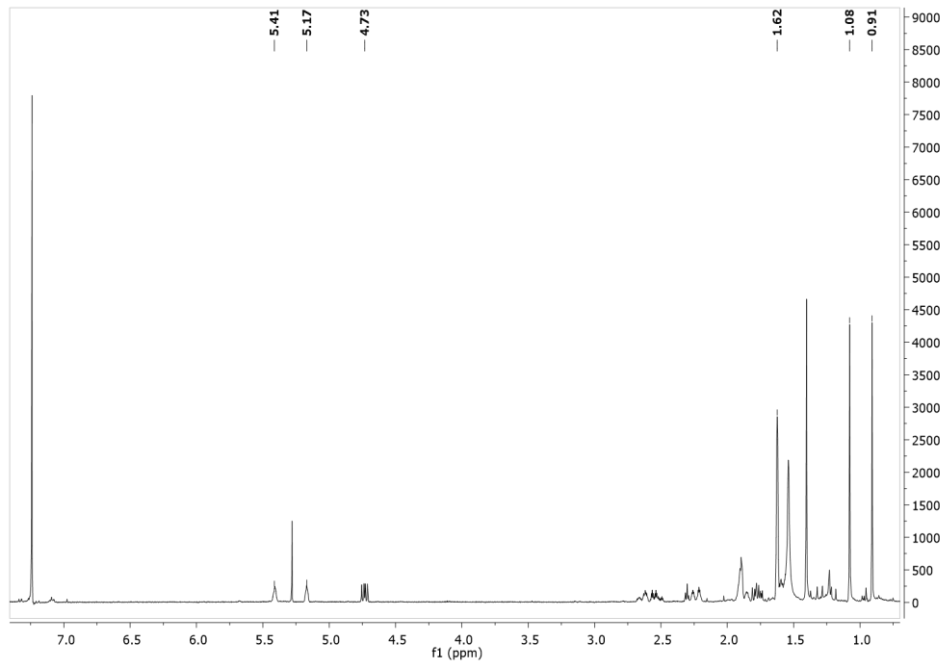


Εικόνα 168 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **37**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.169) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τέσσερις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια τεσσάρων μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 0.91 και 1.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλιών.
  - Μία απλή κορυφή σε δ 1.62, η οποία αντιστοιχεί σε έξι πρωτόνια δύο μεθυλιών σε βινυλικούς άνθρακες.

- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.41 και 5.17, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.73, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 169 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **37**.

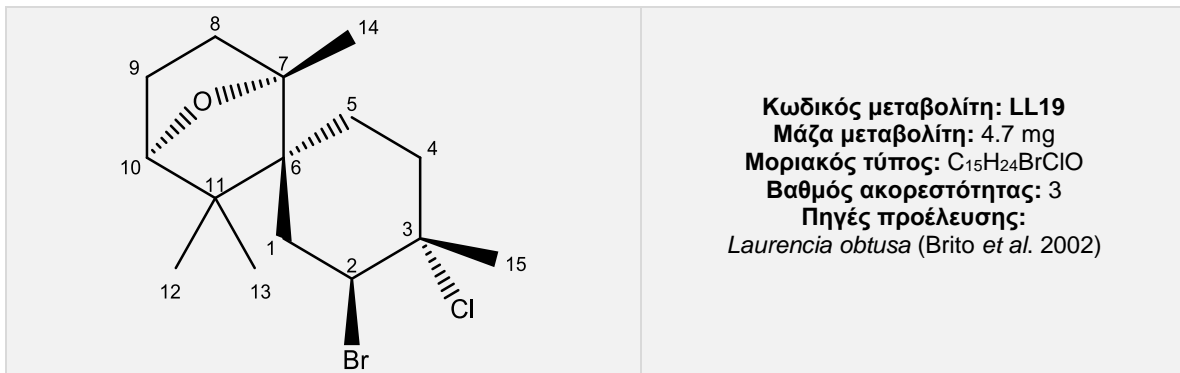
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **37** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού τσαμιγκρανίου, 10-Br- $\alpha$ -τσαμιγκρένιο (10-Br- $\alpha$ -chamigrene) (Suzuki *et al.* 1979). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **37** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 151.

Πίνακας 151 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **37**.

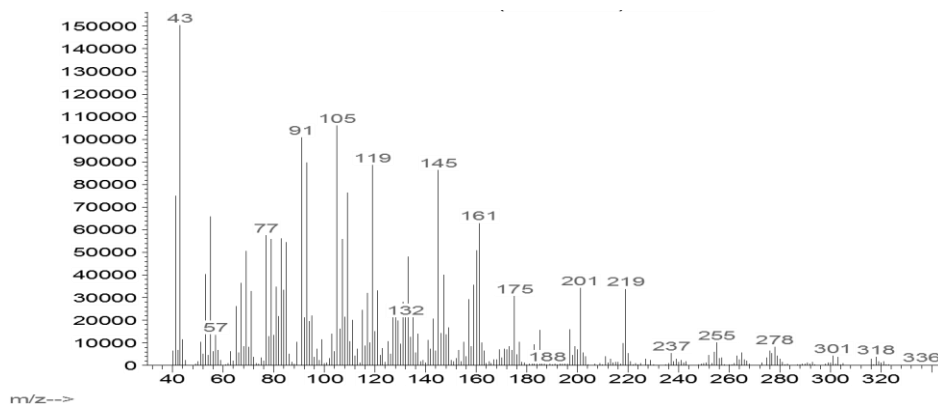
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
4	5.41 m	5.38 m
8	5.17 m	5.18 m
10	4.73 dd (10.9, 6.9)	4.64 dd (9.0, 7.5)
12	0.91 s	0.92 s
13	1.08 s	1.10 s
14	1.62 s	1.64 s
15	1.62 s	1.64 s



## Μεταβολίτης 38



Ο μεταβολίτης **38** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.170) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 336 και θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 255.

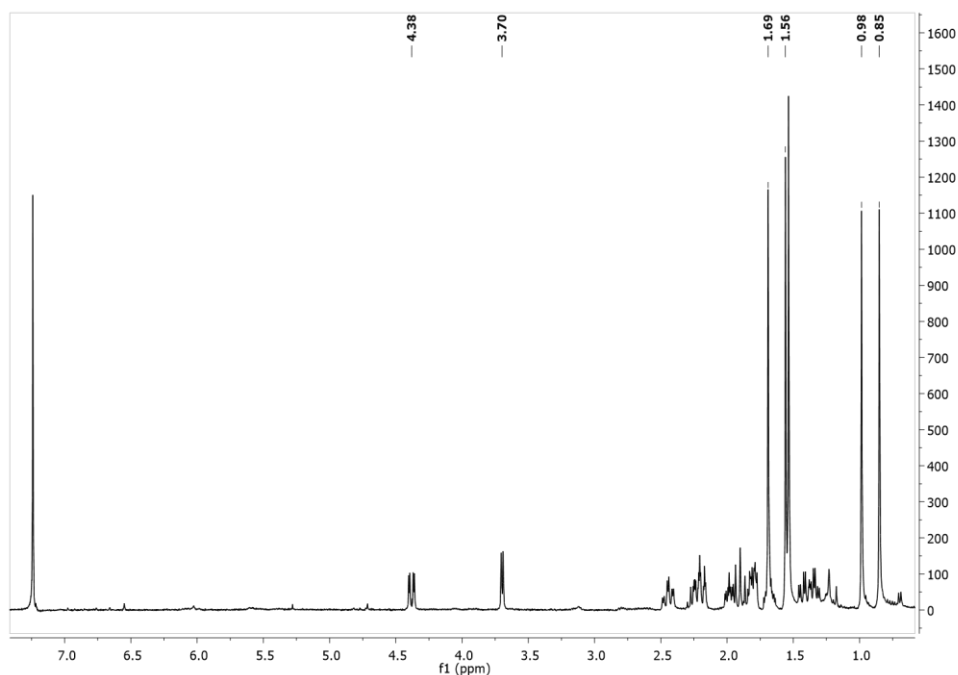


Εικόνα 170 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **38**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.171) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τέσσερις κορυφές οι οποίες αντιστοιχούν στα πρωτόνια τεσσάρων μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
  - Δύο απλές κορυφές σε δ 0.85 και 0.98, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο δίδυμων μεθυλίων.
  - Μία απλή κορυφή σε δ 1.56, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε οξυγονωμένο τεταρτοταγή άνθρακα.
  - Μία απλή κορυφή σε δ 1.69, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε χλωριωμένο τεταρτοταγή άνθρακα.

- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.38, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.70, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός οξυγονωμένου άνθρακα.



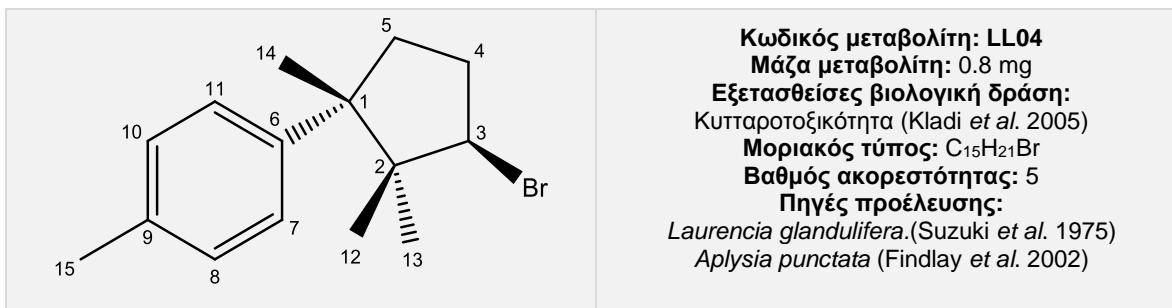
Εικόνα 171 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **38**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **38** ως το γνωστό σεσκιτερπένιο σκελετού τσαμιγκρανίου, οξοτσαμιγκρένιο (oxochamigrene) (Brito *et al.* 2002). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 152.

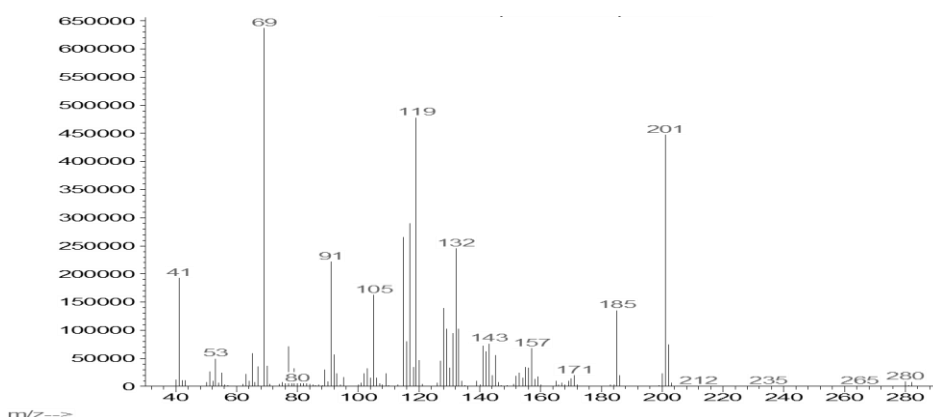
Πίνακας 152 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 38.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1a	2.19 dt (14.6, 3.3)	2.19 dt (14.7, 3.6)
1b	1.90 t (14.6)	1.90 t (13.7)
2	4.38 dd (14.6, 3.3)	4.38 dd (13.7, 3.6)
4a	2.45 dt (14.6, 4.1)	2.45 dt (14.3, 4.6)
4b	2.24 m	2.23 ddd (14.3, 4.6, 2.5)
5a	1.82 m	1.82 m
5b	1.41 dt (14.6, 5.2)	1.41 dt (14.7, 5.1)
8a	1.98 ddd (12.3, 8.7, 3.5)	1.98 ddd (12.2, 9.0, 3.8)
8b	1.35 dt (12.3, 5.5)	1.35 dt (12.7, 5.6)
9a	1.82 m	1.82 m
9b	1.67 m	1.67 m
10	3.70 d (5.6)	3.70 d (5.6)
12	0.85 s	0.85 s
13	0.98 s	0.99 s
14	1.56 s	1.56 s
15	1.69 s	1.69 s

## Μεταβολίτης 39



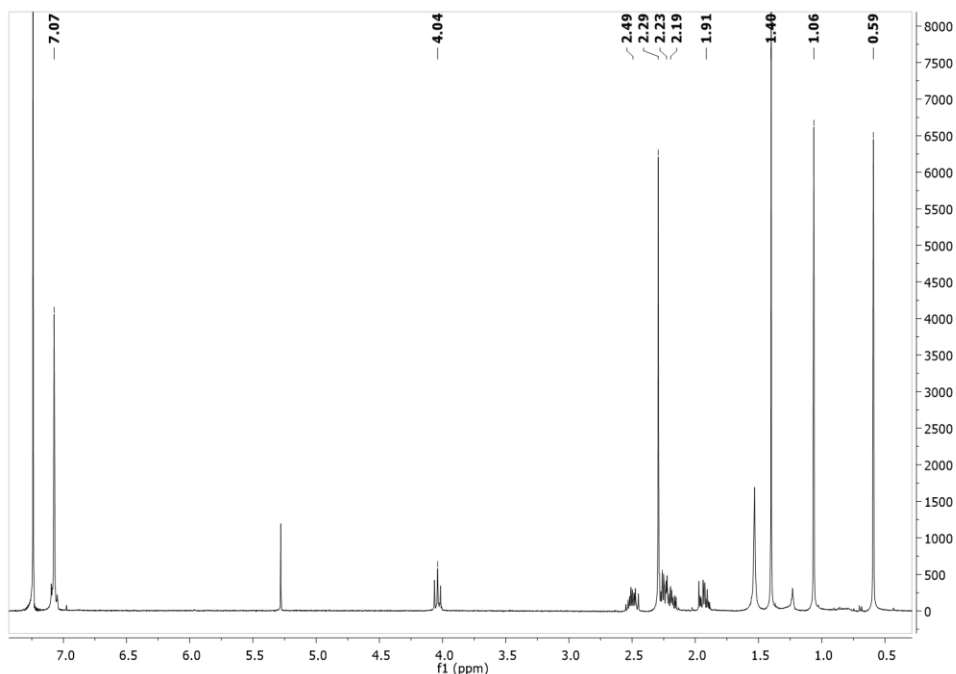
Ο μεταβολίτης **39** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.172) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 280 και ισοτοπική κορυφή *m/z* 282 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου καθώς και θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 201.



Εικόνα 172 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **39**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.173) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 0.59, 1.06 και 1.40, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.29, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε δ 4.04, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε δ 7.07, η οποία αντιστοιχεί σε τέσσερα πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.



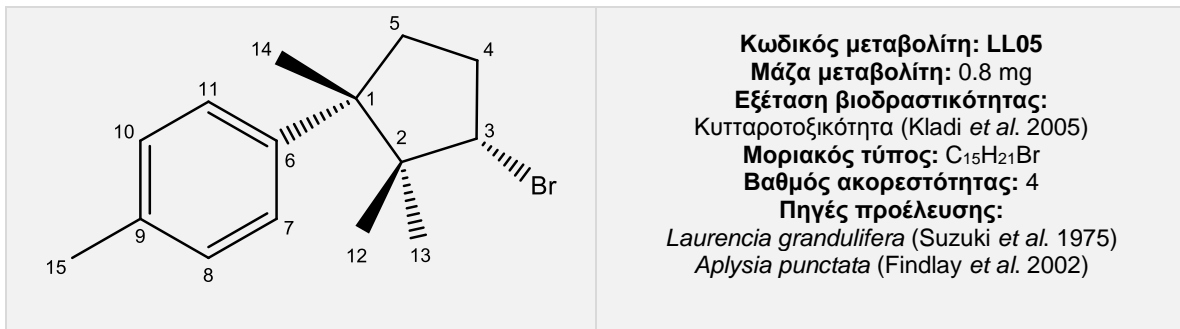
Εικόνα 173 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **39**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **39** ως το γνωστό σεσκιτερπένιο σκελετού κουπαρενίου,  $\alpha$ -βρωμοκουπαρένιο ( $\alpha$ -bromocuparene) (Kladi *et al.* 2005). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 153.

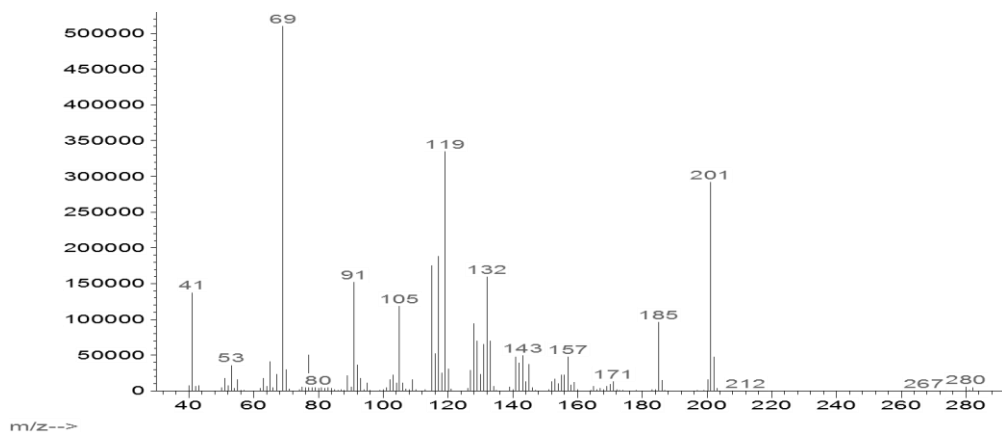
Πίνακας 153 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **39**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
3	4.04 dd (9.8, 8.8)	4.04 dd (9.9, 8.9)
4a	2.49 m	2.49 m
4b	2.19 m	2.18 m
5a	2.23 m	2.26 m
5b	1.91 m	1.94 m
7	7.07 br s	7.07 s
8	7.07 br s	7.07 s
10	7.07 br s	7.07 s
11	7.07 br s	7.07 s
12	0.59 s	0.59 s
13	1.06 s	1.06 s
14	1.40 s	1.40 s
15	2.29 s	2.29 s

## Μεταβολίτης 40



Ο μεταβολίτης **40** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.174) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 280 και ισοτοπική κορυφή *m/z* 282 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου καθώς και θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 201.

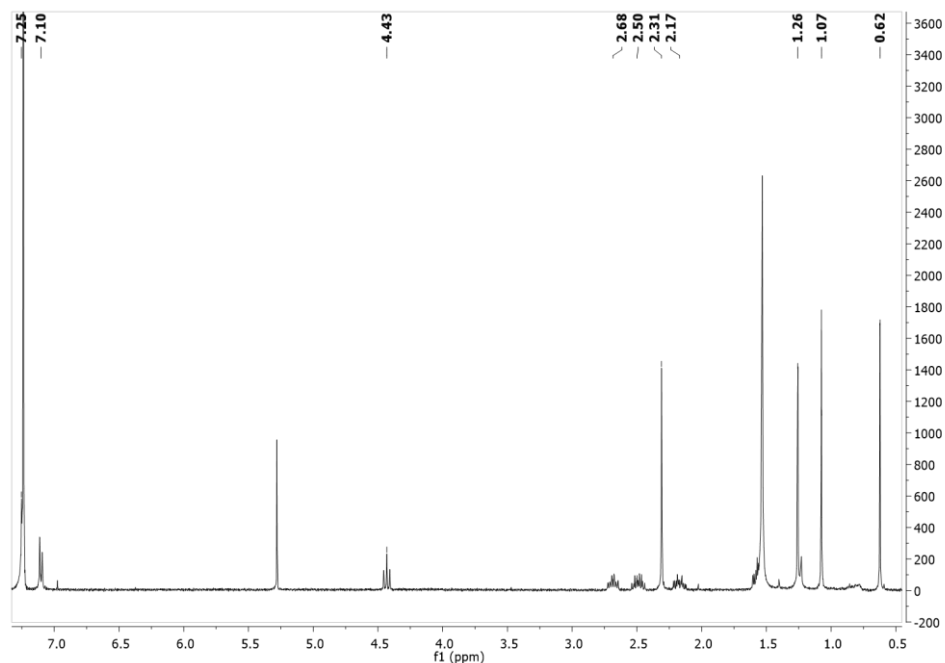


Εικόνα 174 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **40**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.175) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 0.62, 1.07, 1.26, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.31, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 7.10, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 7.25, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.

- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.43, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



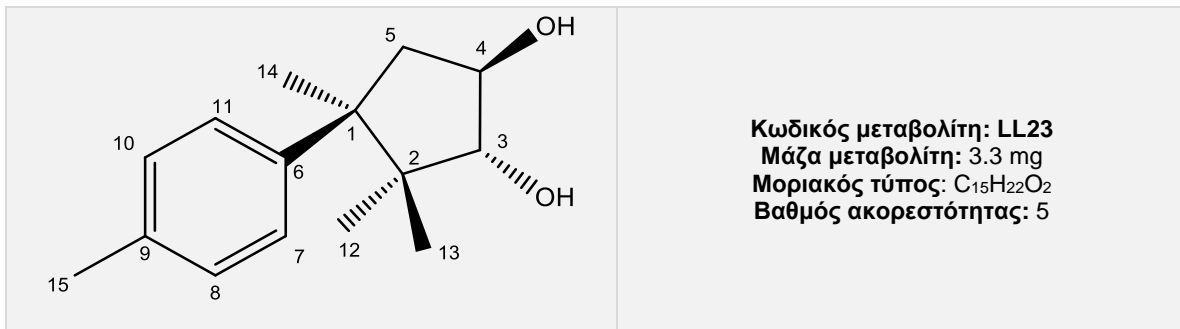
Εικόνα 175 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **40**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **40** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού κουπαρενίου,  $\alpha$ -ισοβρωμοκουπαρένιο ( $\alpha$ -isobromocurparene) (Kladi *et al.* 2005). Ο μεταβολίτης **40** αποτελεί επιμερές του μεταβολίτη **39** ως προς τη σχετική στεreoχημεία στον άνθρακα C-3. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 154.

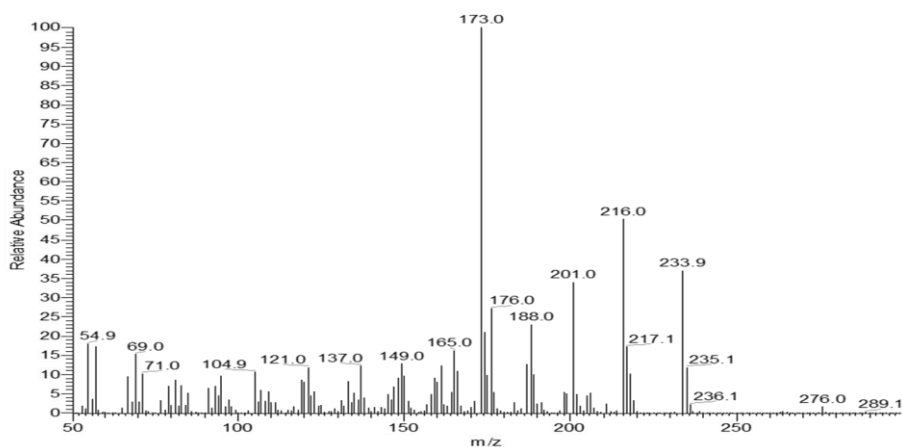
Πίνακας 154 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **40**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
3	4.43 dd (9.4, 9.4)	4.44 (dd, 9.2, 9.2)
4a	2.50 m	2.50 m
4b	2.17 m	2.18 m
5a	2.68 m	2.69 m
5b	1.60 m	1.58 m
7	7.25 d (8.0)	7.25 d (8.2)
8	7.10 d (8.0)	7.11 d (8.2)
10	7.10 d (8.0)	7.11 d (8.2)
11	7.25 d (8.0)	7.25 d (8.2)
12	0.62 s	0.63 s
13	1.07 s	1.08 s
14	1.26 s	1.27 s
15	2.31 s	2.32 s

## Μεταβολίτης 41



Ο μεταβολίτης **41** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 234 και θραύσμα [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> σε *m/z* 216.



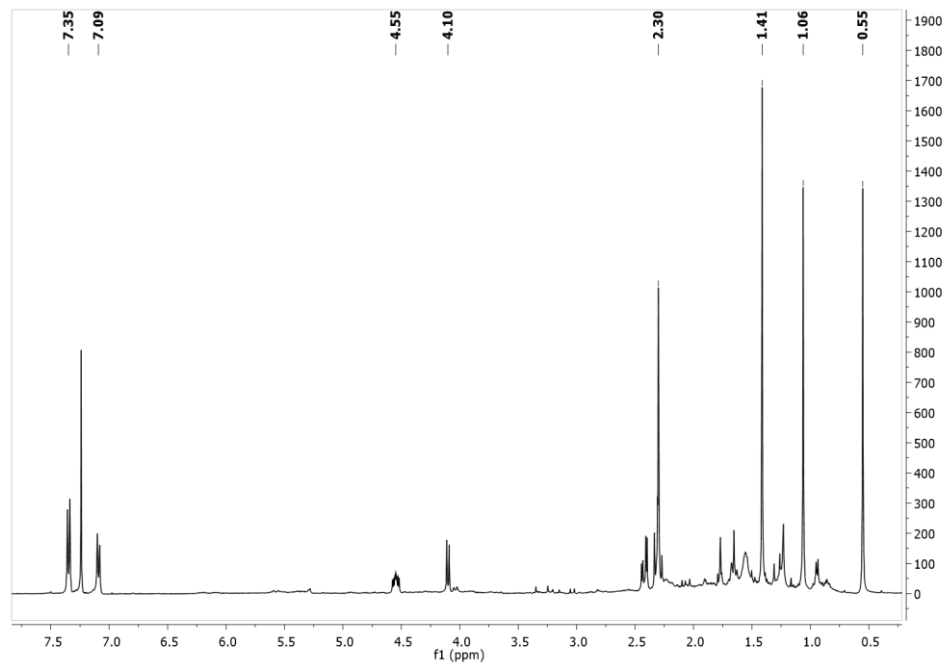
Εικόνα 176 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **40**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.177) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές σε δ 1.06, 0.55 και 1.41, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.30, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή αρωματικό άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 4.10 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε δ 4.55, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.

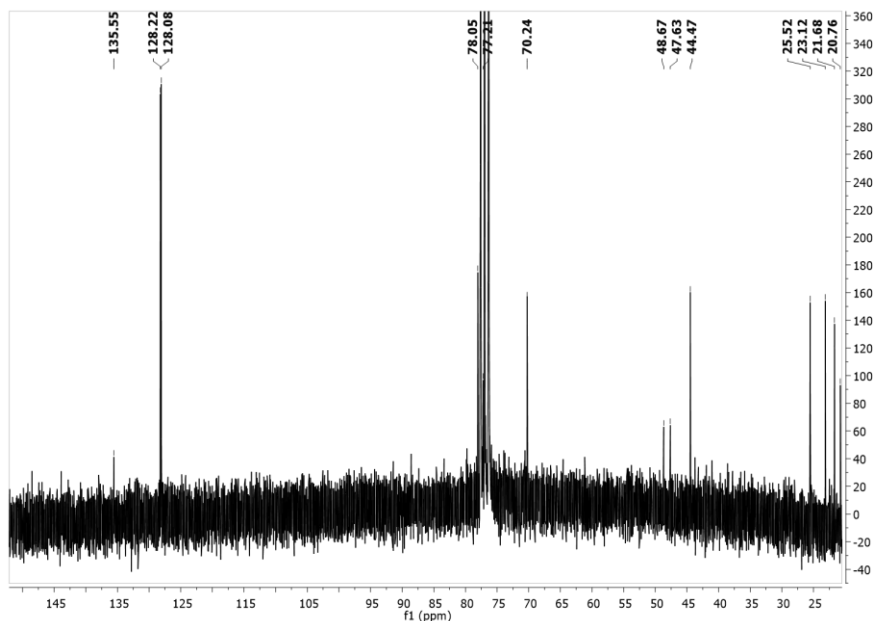


- Δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  7.35, 7.09, 7.09 και 7.35, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τεσσάρων αρωματικών ανθράκων.

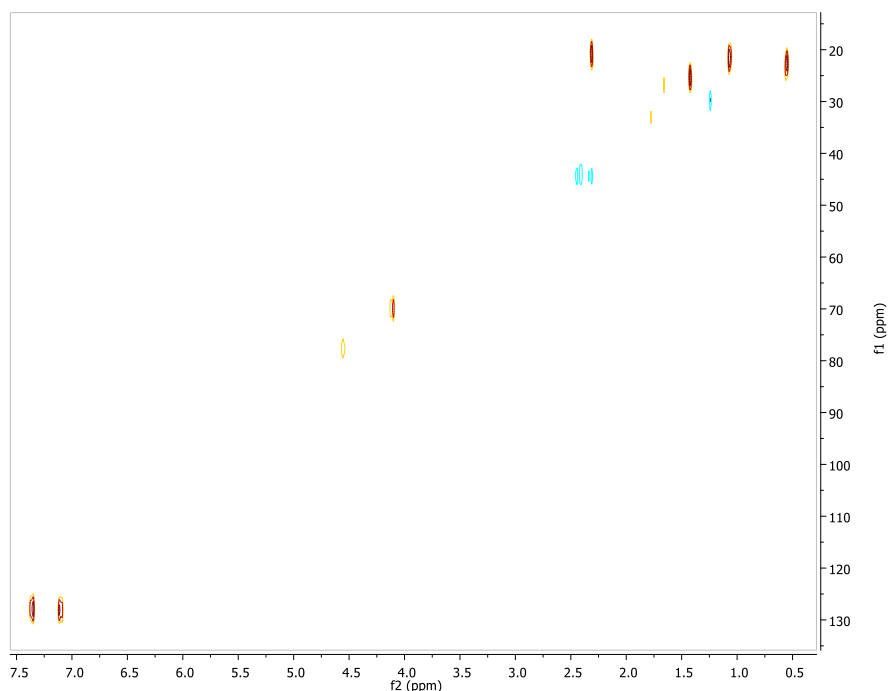


Εικόνα 177 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **41**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 4 τεταρτοταγών, 6 τριτοταγών, 1 τριτοταγούς και 4 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **41** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.178,179,180,181).

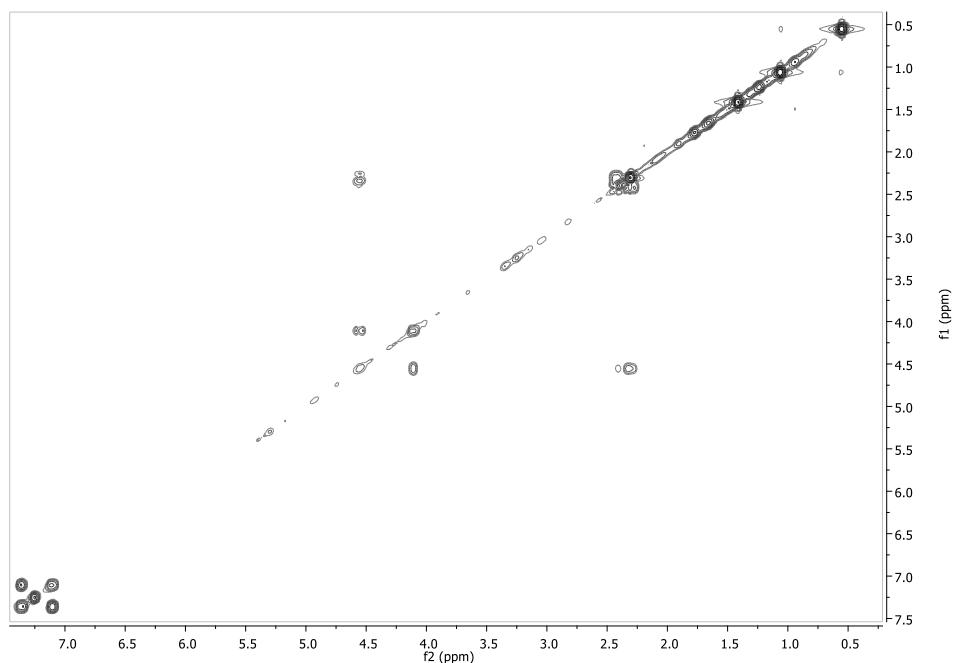


Εικόνα 178 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **41**.

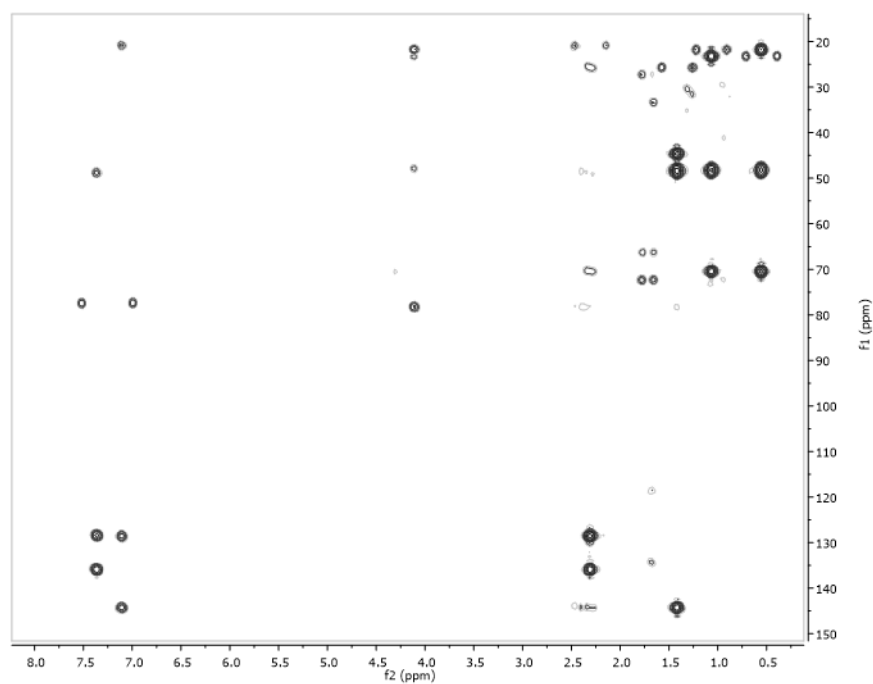


**Εικόνα 179** – Φάσμα HSQC-DEPT (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **41**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών συστημάτων spin H-3 – H-5, H-7 – H-8 και H-10 – H-11. Τα συστήματα spin H-7 – H-8 και H-10 – H-11 αποτελούν μέρος ενός εξαμελούς αρωματικού δακτυλίου, ο οποίος συμπληρώνεται από τους τεταρτοταγείς άνθρακες C-6, C-9 (ένας εκ των οποίων φέρει τα H<sub>3</sub>-15). Οι συσχετίσεις HMBC του τεταρτοταγούς αρωματικού άνθρακα C-6 με τα αρωματικά πρωτόνια H-8 και H-10, καθώς και του τεταρτοταγούς αρωματικού άνθρακα C-9 με τα μεθυλικά πρωτόνια H<sub>3</sub>-15 καθόρισαν τη δομή του εξαμελούς δακτυλίου. Το σύστημα spin H-3 – H<sub>2</sub>-5 αποτελεί μέρος ενός πενταμελούς δακτυλίου, το οποίο συμπληρώνεται από τους τεταρτοταγείς C-1 και C-2, οι οποίοι φέρουν τα μεθύλια H<sub>3</sub>-12, H<sub>3</sub>-13 και H<sub>3</sub>-14. Η δομή του πενταμελούς δακτυλίου και η σύνδεσή του με τον εξαμελή αρωματικό δακτύλιο διευθετήθηκε μέσω των συσχετίσεων HMBC του C-5 με τα μεθυλικά πρωτόνια H<sub>3</sub>-14, του C-3 με τα μεθυλικά πρωτόνια H<sub>3</sub>-12 και H<sub>3</sub>-13 και του C-1 με τα H-7 και H-11 (Εικ.183).



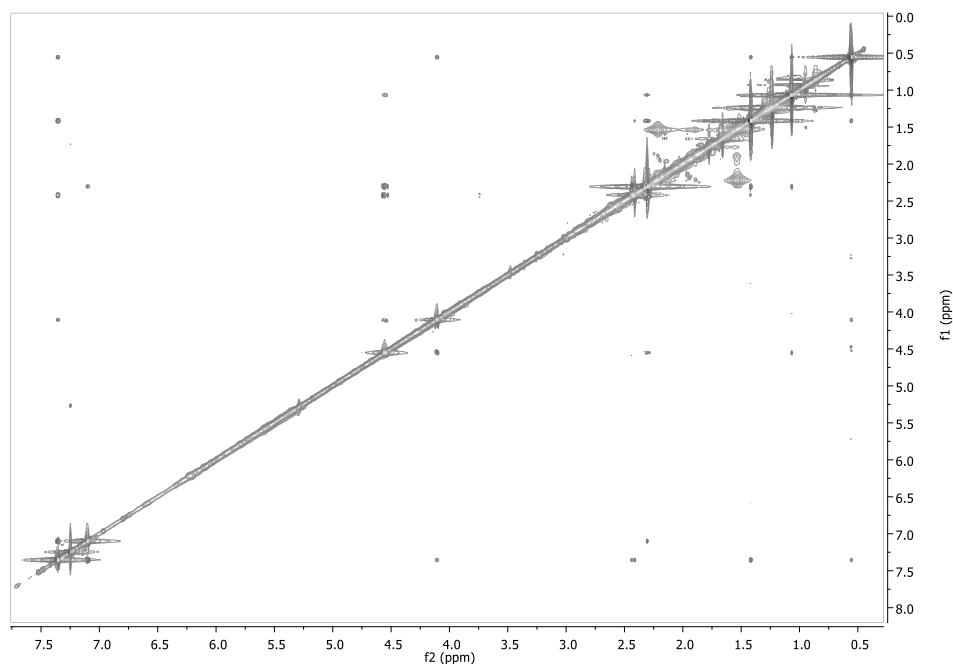
Εικόνα 180 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 41.



Εικόνα 181 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 41.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη 41 βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις του (i) του H-4 με τα H<sub>3</sub>-12 (ii) του H-3 με τα H-11 και H<sub>3</sub>-13 και (iii) του H-11 με το H-5β και (iv) του H-5α με τα H<sub>3</sub>-14 υπέδειξαν

ότι τα πρωτόνια H-3, H-5β και H<sub>3</sub>-13 είναι ομοεπίπεδα. Αντίστοιχα, τα πρωτόνια H-4, H-5α, H<sub>3</sub>-12 και H<sub>3</sub>-14 είναι ομοεπίπεδα στην αντίθετη πλευρά του μορίου (Εικ.182).



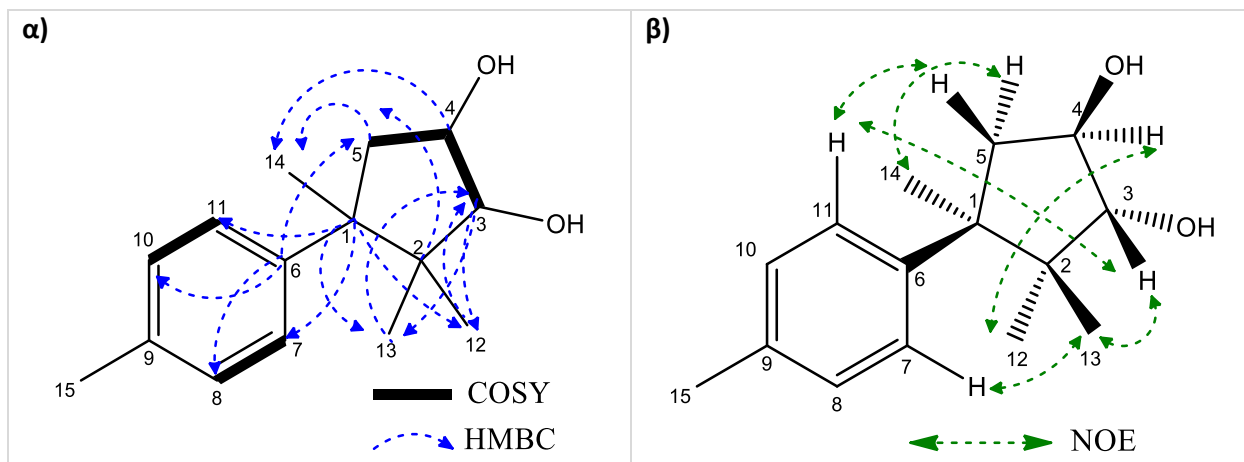
Εικόνα 182 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **41**.

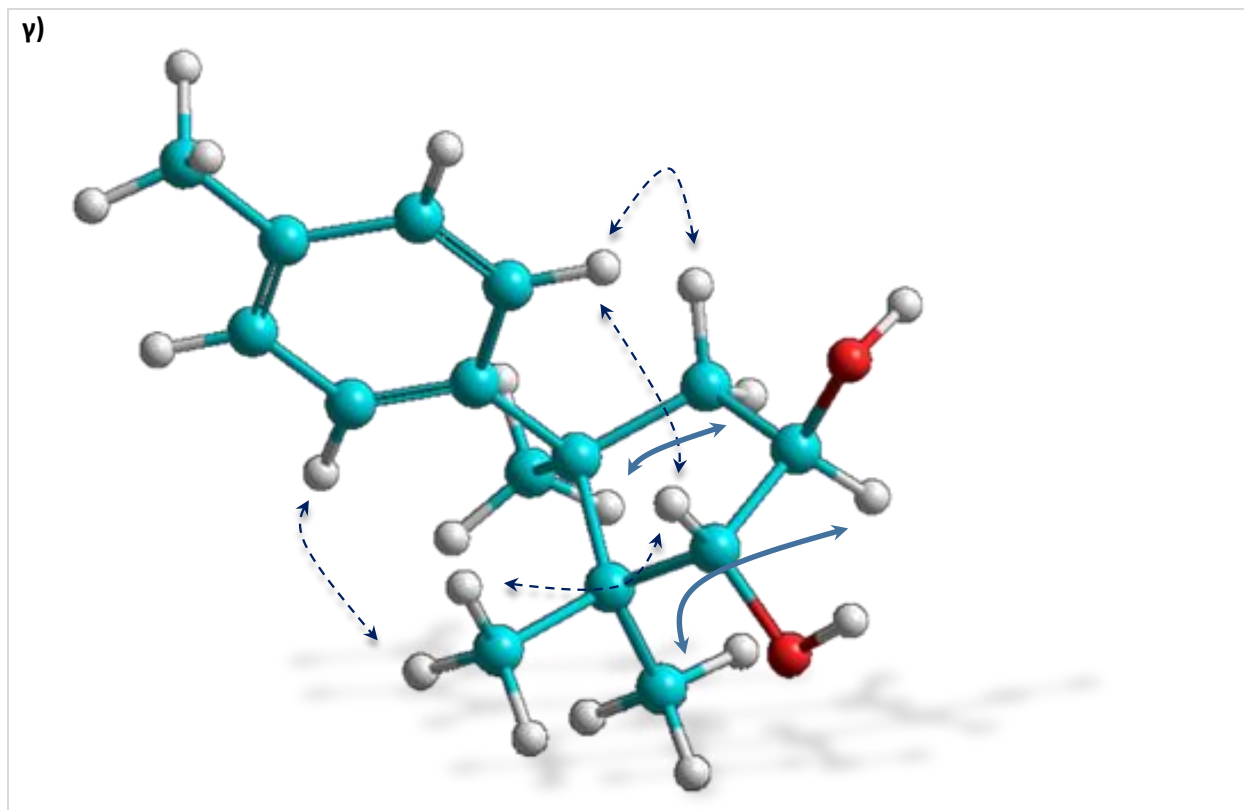
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **41** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **41** με τα αντίστοιχα του μεταβολίτη **39** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά την υποκατάσταση των ανθράκων C-3 και C-4 από υδρόξυ ομάδες. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **41** παρατίθενται στον πίνακα 155.

Πίνακας 155 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 41.

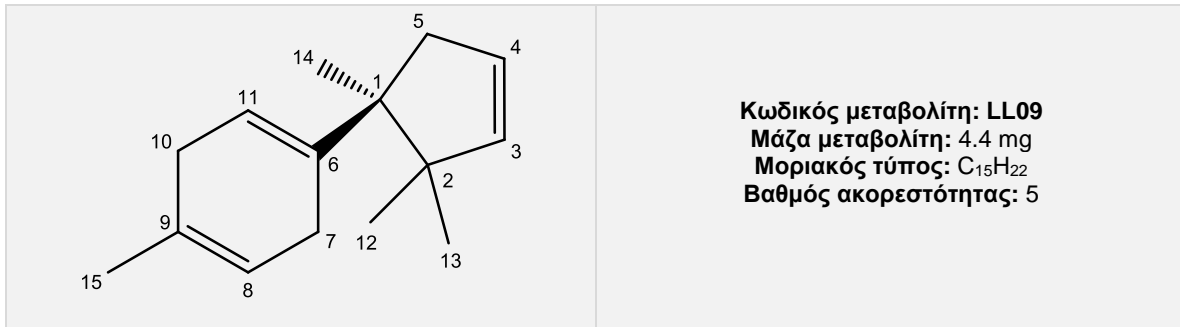
#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1		48.7	H-7, H-11, H-12, H-13, H-14
2		47.6	H-3, H-5β
3	4.10 d (8.2)	70.2	H-12, H-13
4	4.55 ddd (12.3, 8.2, 4.3)	78.1	H-3, H-4, H-14
5α	2.32 m	44.5	H-14
5β	2.42 dd (14.9, 4.3)		
6		144.3	H-5α, H-8, H-10
7	7.35 d (8.3)	128.1	H-15
8	7.09 d (8.0)	128.2	H-15
9		135.6	H-15
10	7.09 d (8.0)	128.2	H-15
11	7.35 d (8.3)	128.1	H-15
12	1.06 s	21.7	H-3
13	0.55 s	23.1	H-3
14	1.41 s	25.5	
15	2.30 s	20.8	

Εικόνα 183 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 41.

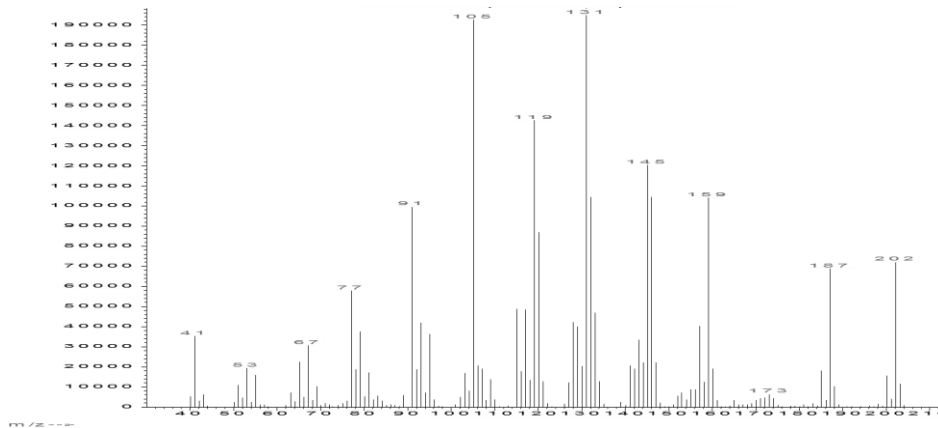




## Μεταβολίτης 42



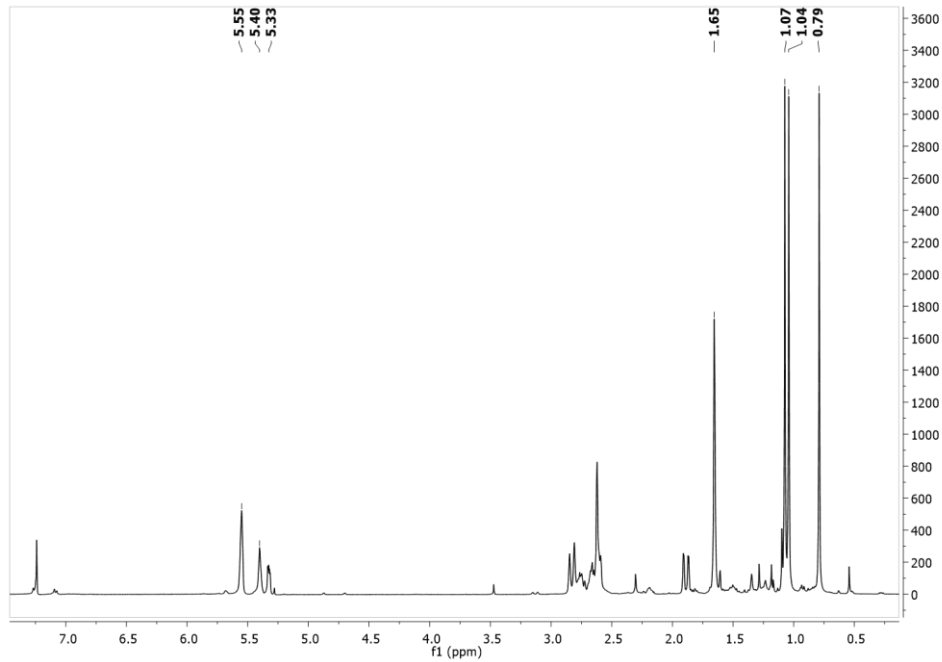
Ο μεταβολίτης **42** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.184) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 202 και θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 187.



**Εικόνα 184-** Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **42**.

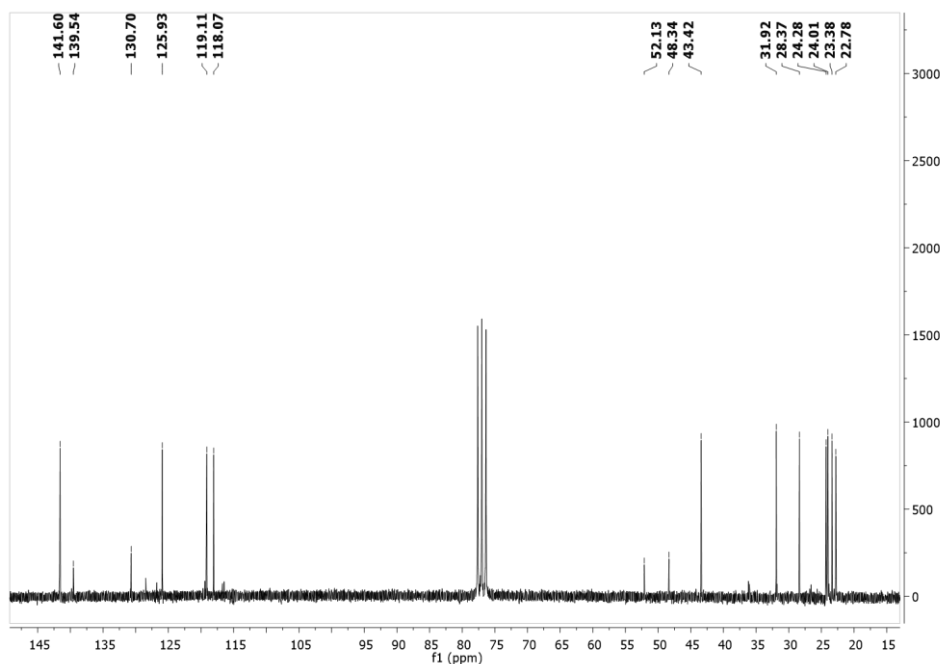
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.185) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 1.04, 0.79 και 1.07, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε δ 1.65, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή βινυλικό άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε δ 5.33 και δύο πολλαπλές κορυφές σε δ 5.55, 5.40 και 5.55, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.



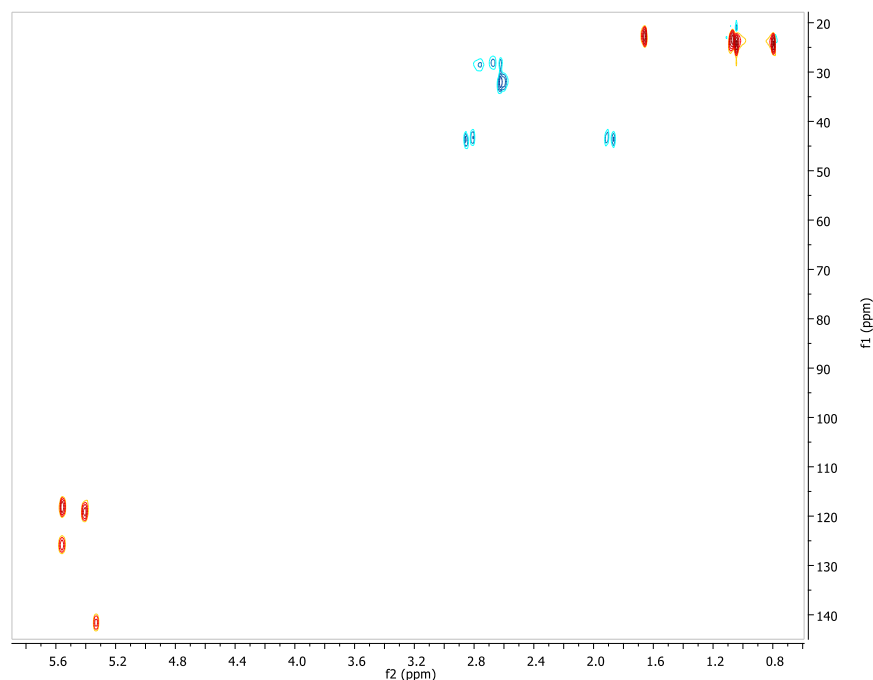
Εικόνα 185 – Φάσμα <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **42**.

Συνδυασμός των φασμάτων <sup>13</sup>C NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 4 τεταρτοταγών, 4 τριτοταγών, 3 δευτεροταγών και 4 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **42** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.186,187,188,189).



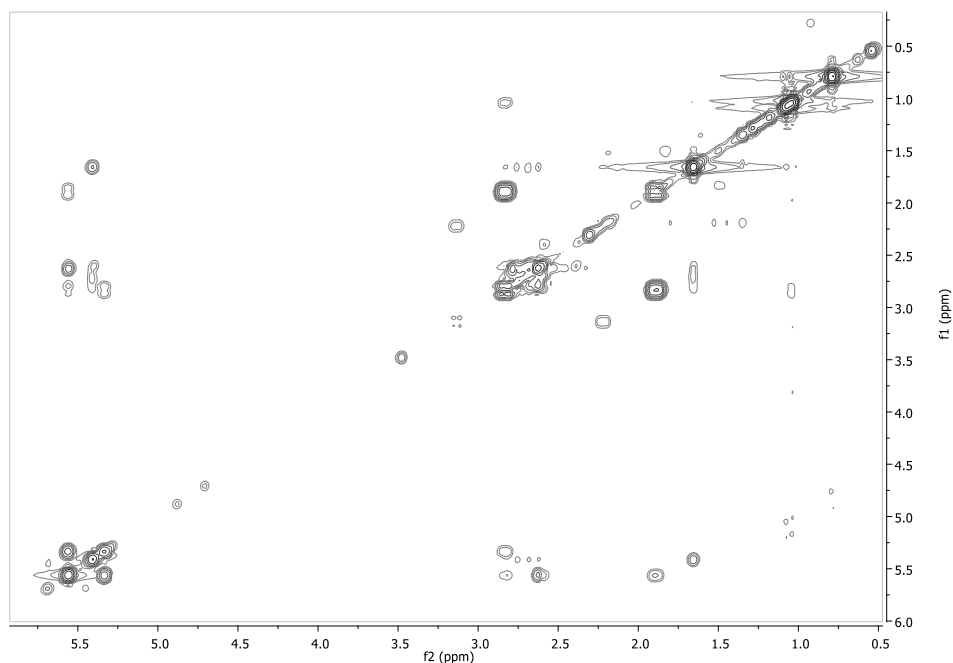
Εικόνα 186 – Φάσμα <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **42**.



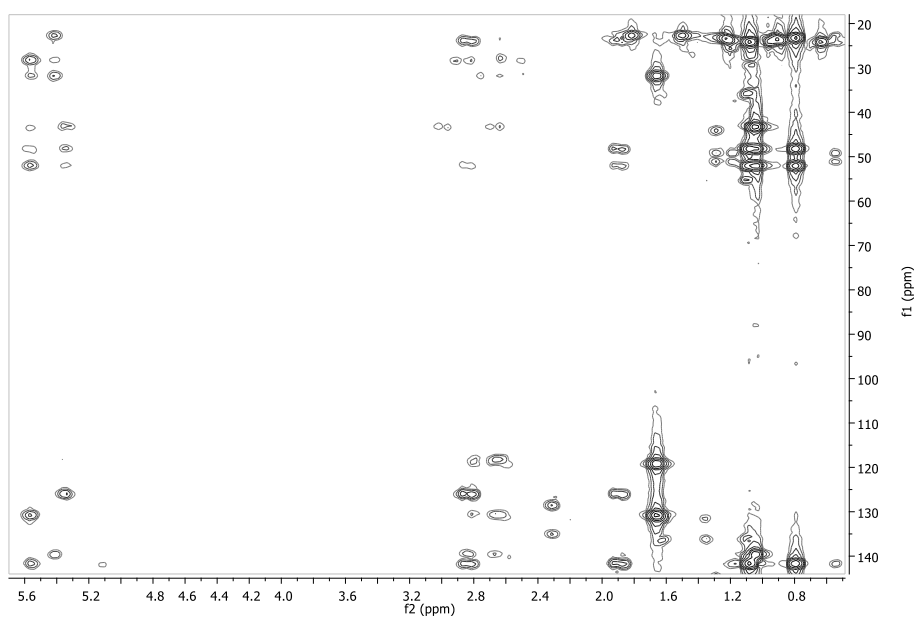


Εικόνα 187 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **42**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών spin συστημάτων H-3 – H<sub>2</sub>-5, H<sub>2</sub>-7 – H-8 και H<sub>2</sub>-10 – H-11. Τα συστήματα spin H<sub>2</sub>-7 – H-8 και H<sub>2</sub>-10 – H-11 αποτελούν μέρος ενός εξαμελούς δακτυλίου, ο οποίος συμπληρώνεται από τους τεταρτοταγείς άνθρακες C-6, C-9 (ενας εκ των οποίων φέρει τα H<sub>3</sub>-15). Οι συσχετίσεις HMBC του τεταρτοταγούς άνθρακα C-6 με το H-7a, του τριτοταγούς βινυλικού άνθρακα C-11 με τα H<sub>2</sub>-7 και του τεταρτοταγούς βινυλικού άνθρακα C-9 με τα H<sub>2</sub>-7, H-11 και H<sub>3</sub>-15 προσδιόρισαν την δομή του εξαμελούς δακτυλίου. Το σύστημα spin H-3 – H<sub>2</sub>-5 αποτελεί μέρος ενός πενταμελούς δακτυλίου, το οποίο συμπληρώνεται από τους τεταρτοταγείς άνθρακες C-1 και C-2, οι οποίοι φέρουν τα μεθύλια H<sub>3</sub>-12, H<sub>3</sub>-13 και H<sub>3</sub>-14. Η δομή του πενταμελούς δακτυλίου και η σύνδεσή του με τον εξαμελή δακτύλιο διευθετήθηκε από τις συσχετίσεις HMBC του C-1 με το H<sub>2</sub>-7 και του C-6 με τα μεθυλικά πρωτόνια H<sub>3</sub>-14 (Εικ.190).



Εικόνα 188 - Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 42.



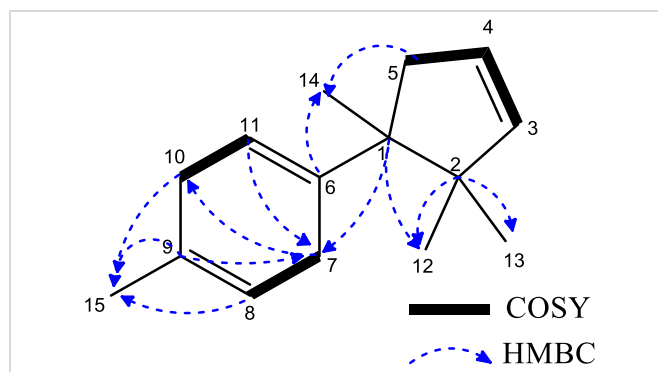
Εικόνα 189 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 42.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **42** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **42**, παρατίθενται στον πίνακα 156.

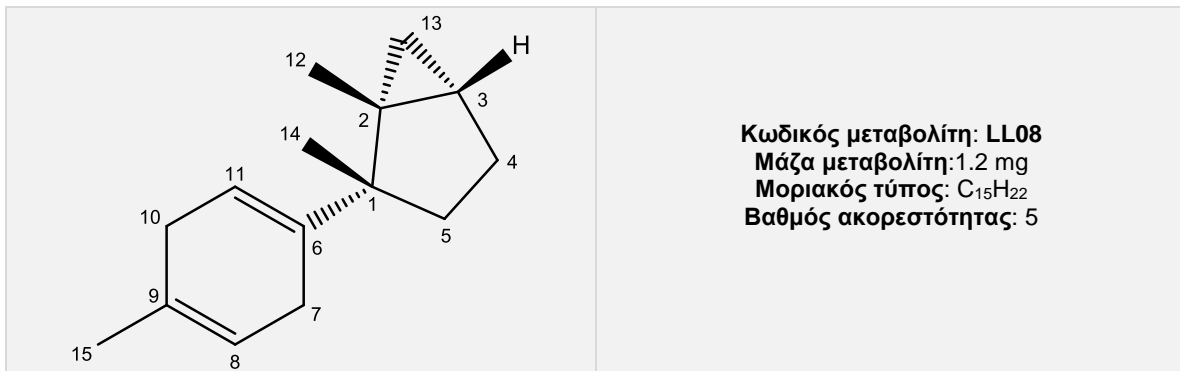
Πίνακας 156 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 42.

#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1		52.1	H-7a, H-12, H-13, H-14
2		48.3	H-12, H-13, H-14
3	5.55 m	125.9	H-5b
4	5.33 dd (5.6, 2.8)	141.6	H-3, H-5b
5	2.83 m 1.89 dd (15.8, 2.8)	43.4	H-3, H-14
6		139.5	H-7a, H-8, H-14
7	2.79 m 2.63 m	28.4	H-11
8	5.40 m	119.1	H-15
9		130.7	H-7b, H-11, H-15
10	2.60 m	31.9	H-8, H-15
11	5.55 m	118.1	H-7a, H-7b
12	1.04 s	24.0	
13	0.79 s	24.3	H-12
14	1.07 s	23.4	
15	1.65 s	22.8	H-8

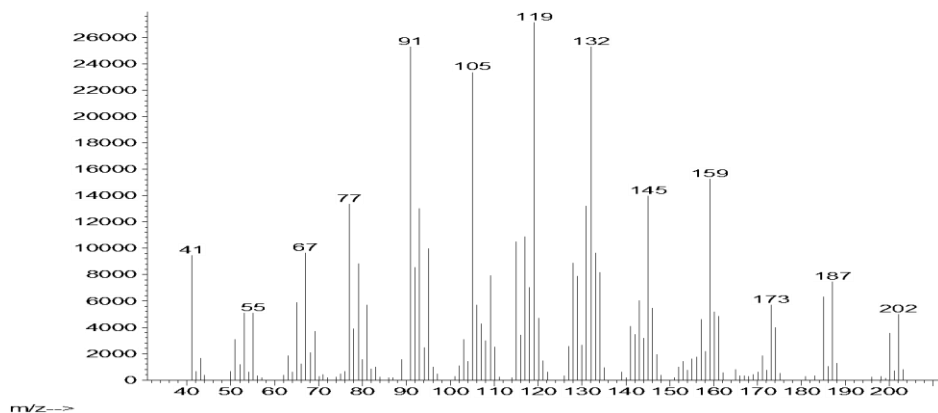
Εικόνα 190 – Συσχετίσεις COSY και HMBC του μεταβολίτη 42.



## Μεταβολίτης 43



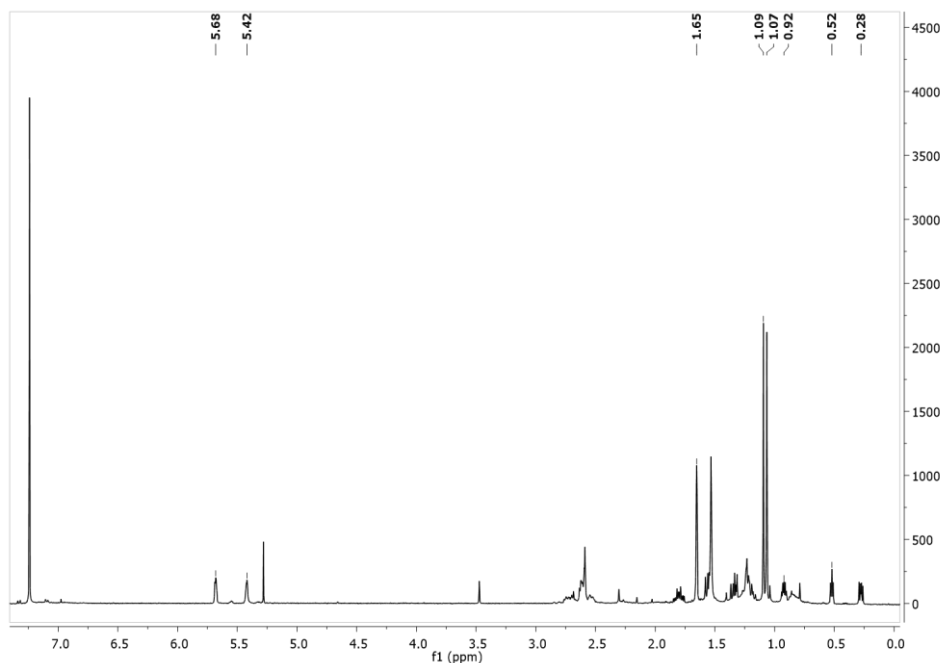
Ο μεταβολίτης **43** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.191) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 202 και θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 187.



Εικόνα 191- Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **43**.

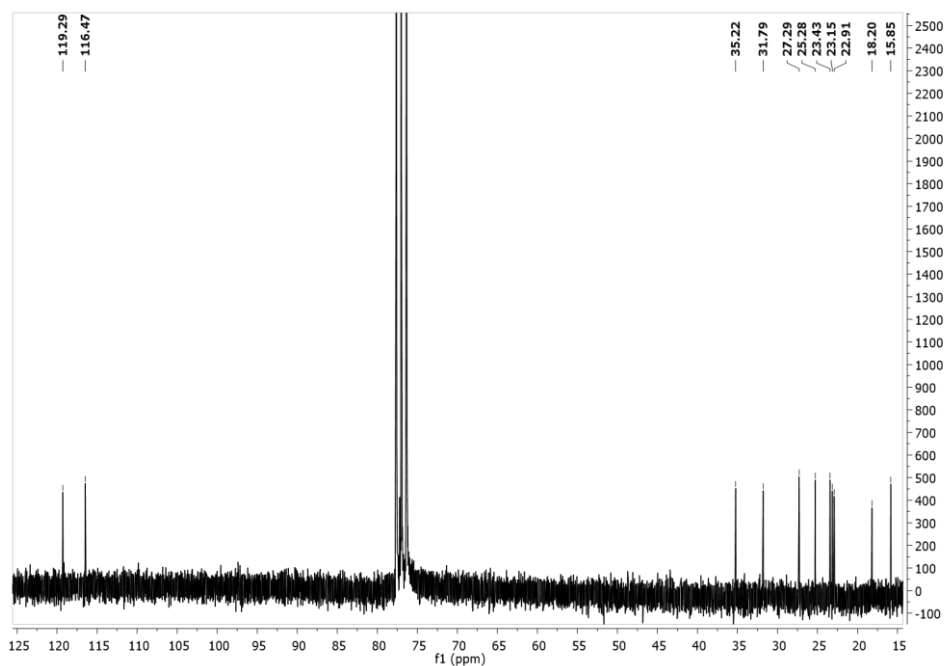
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.192) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές σε δ 1.07 και 1.09, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία απλή σε δ 1.65, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή βινυλικό άνθρακα.
- Δύο πολλαπλές σε δ 5.42 και 5.68, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία τριπλή σε δ 0.52 και μία διπλή διπλών σε δ 0.28, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο μεθυλενικά πρωτόνια μίας κυκλοπρόπυλο ομάδας.

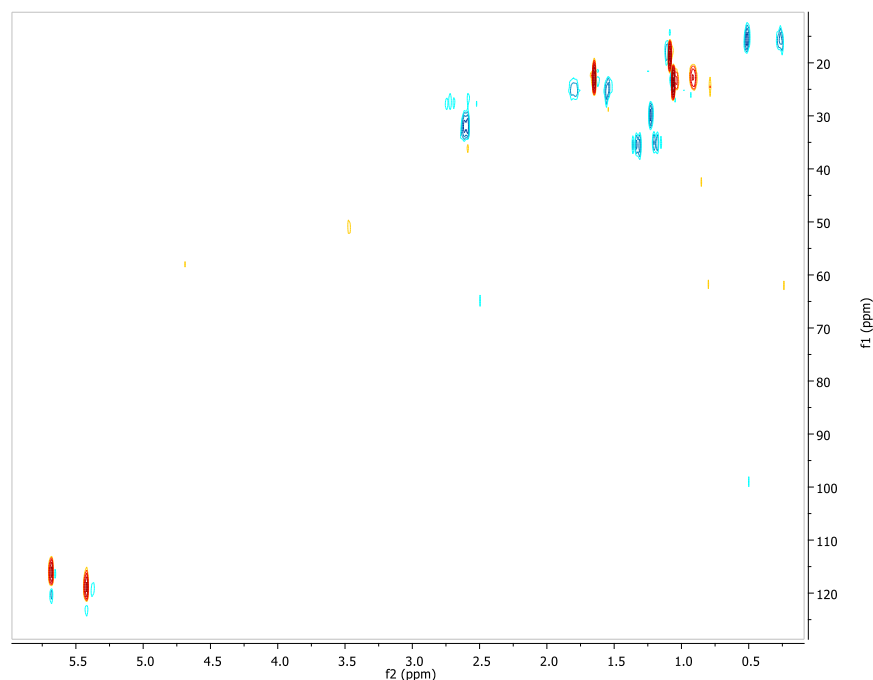


Εικόνα 192 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **43**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 4 τεταρτοταγών, 3 τριτοταγών, 5 δευτεροταγών και 3 πρωτοταγών ατόμων ανθράκα. Η διαδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **43** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.193,194,195,196).

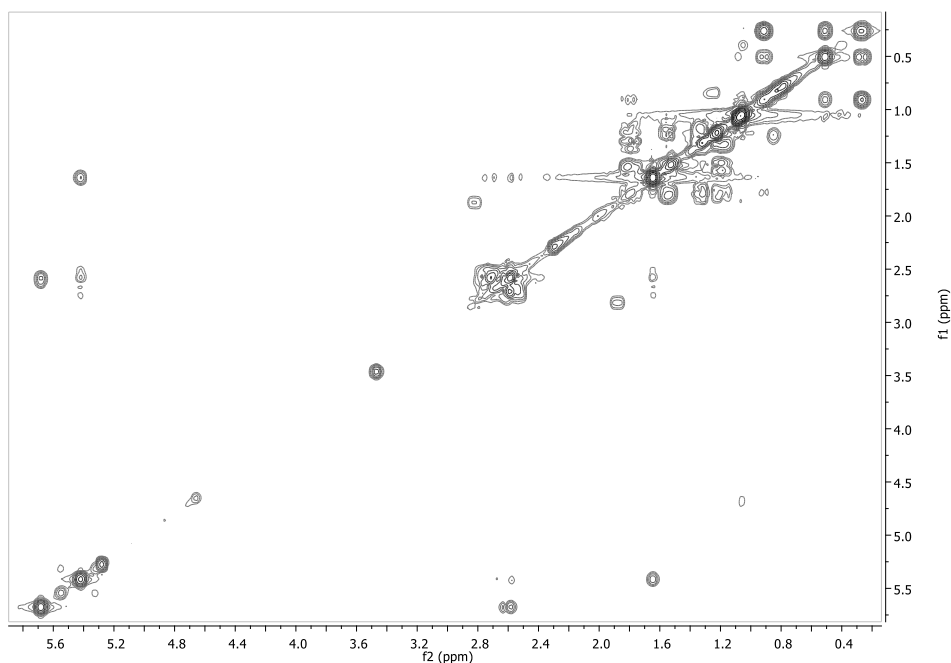


Εικόνα 193 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **43**.

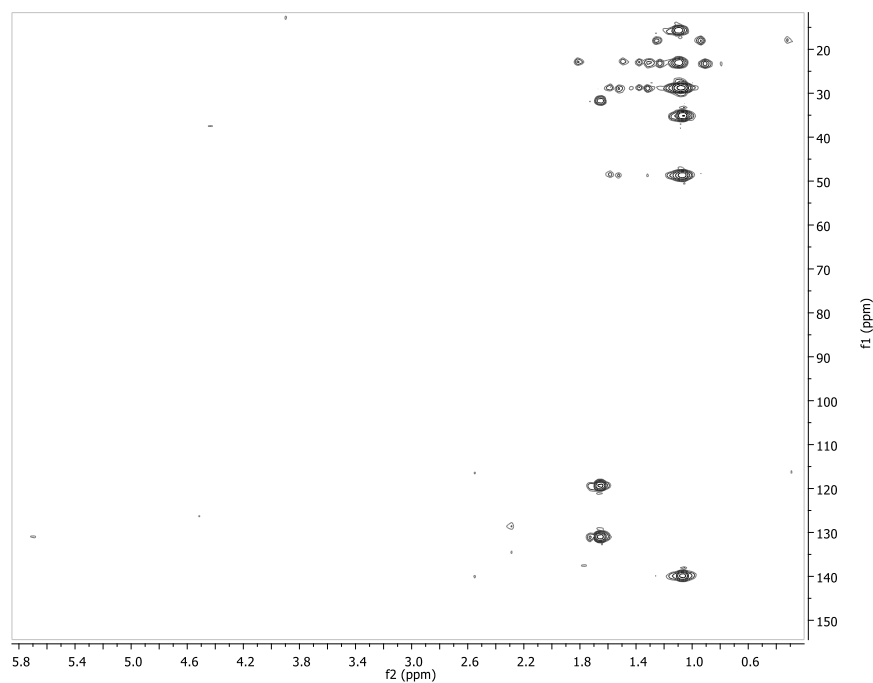


Εικόνα 194 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **43**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών συστημάτων spin,  $\text{H}_2$ -13  $\text{H}$ -3–  $\text{H}_2$ -4–  $\text{H}_2$ -5,  $\text{H}$ -7 –  $\text{H}$ -8 και  $\text{H}_2$ -10 –  $\text{H}$ -11. Τα συστήματα spin  $\text{H}$ -7 –  $\text{H}$ -8 και  $\text{H}$ -10 –  $\text{H}$ -11 αποτελούν μέρος ένας εξαμελούς δακτυλίου όπως υπεδείχθη και στον μεταβολίτη **42**. Το σύστημα spin  $\text{H}$ -3–  $\text{H}_2$ -4–  $\text{H}_2$ -5 ανήκει σε ένα πενταμελή δακτύλιο, ο οποίος συμπληρώνεται από τους τεταρτοταγείς άνθρακες C-1 και C-2, οι οποίοι φέρουν τα μεθύλια  $\text{H}_3$ -12,  $\text{H}_3$ -14. Η χαρακτηριστική χημική μετατόπιση των μεθυλενικών πρωτονίων  $\text{H}_2$ -13 (που συμπληρώνουν το σύστημα spin  $\text{H}_2$ -13– $\text{H}$ -3–  $\text{H}_2$ -4–  $\text{H}_2$ -5) σε χαρακτηριστικώς ισχυρά πεδία, σε συνδυασμό με τις HMBC συσχετίσεις του μεθυλικού C-12 με το μεθινικό πρωτόνιο  $\text{H}$ -3 και του αρωματικού άνθρακα C-6 με το  $\text{H}_3$ -14 διευθέτησαν τη δομή του πενταμελούς δακτυλίου (ως υποκατεστημένου από την κυκλοπρότυλο ομάδα C-2–C-3–C-13), καθώς και τη σύνδεσή του με τον εξαμελή δακτύλιο (Εικ.200).



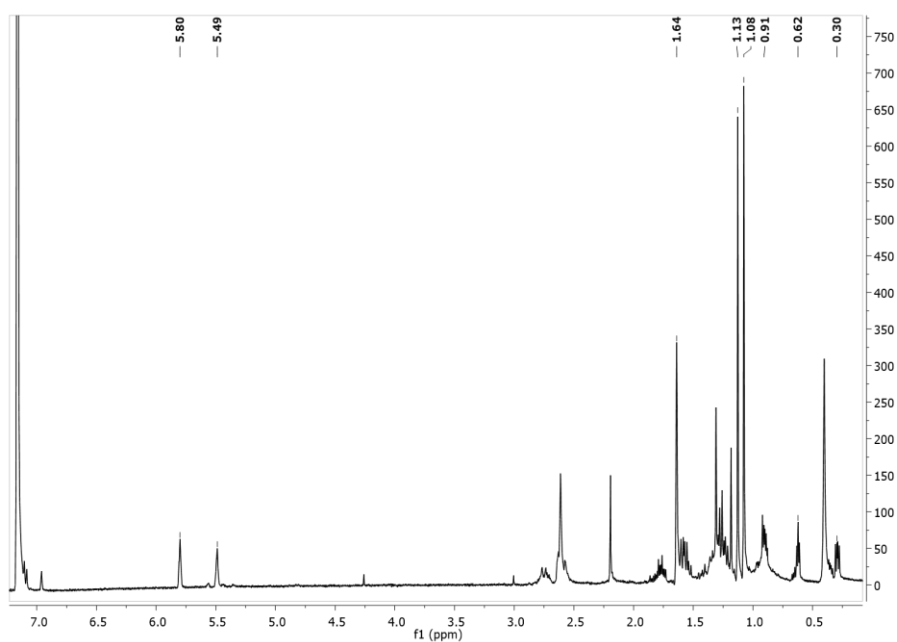
Εικόνα 195 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 43.



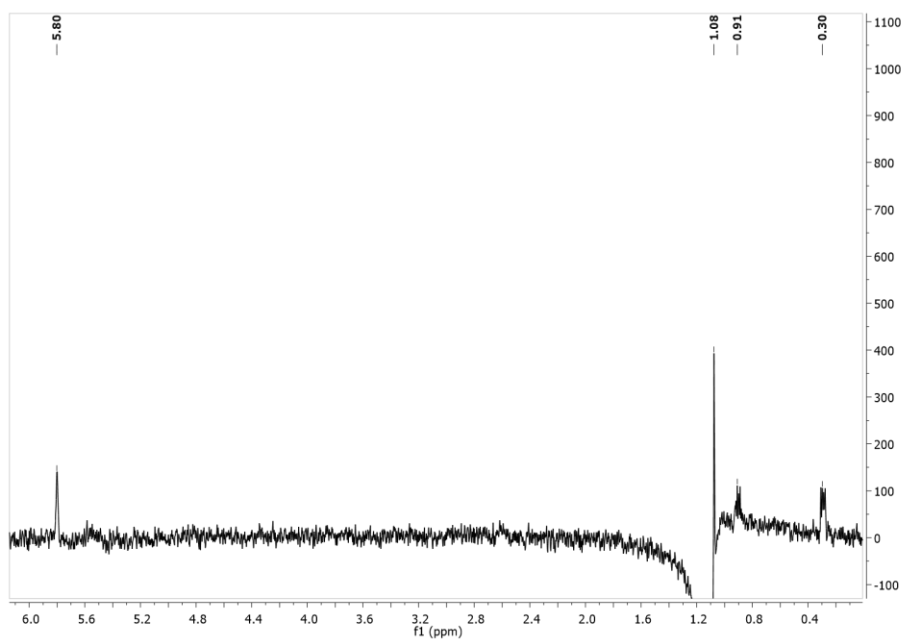
Εικόνα 196 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 43.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη 43 βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων των φασμάτων 1D-NOE, τα οποία ελήφθησαν σε διαλύτη C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> λόγω της καλύτερης διάκρισης των χημικών μετατοπίσεων των πρωτονίων σε σχέση με διαλύτη CDCl<sub>3</sub>.

Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις (i) του H<sub>3</sub>-12 με τα H-3, H-11, H-13β και H<sub>3</sub>-14 και του (ii) H<sub>3</sub>-14 με το H<sub>3</sub>-12 υπέδειξαν ότι τα H-3, H-11, H<sub>3</sub>-12, H-13β και H<sub>3</sub>-14 είναι ομοεπίπεδα (Εικ.197,198,199).

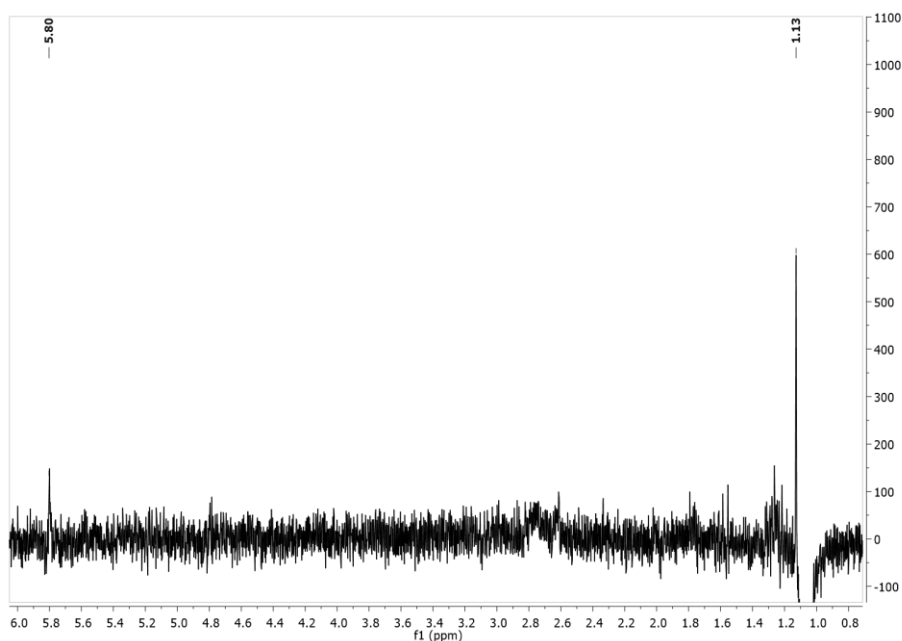


Εικόνα 197 – Φάσμα <sup>1</sup>H NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη 43.



Εικόνα 198 – Φάσμα 1D-NOE (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη 43. Ακτινοβολήση πρωτονίου H-12 (δ 1.13)





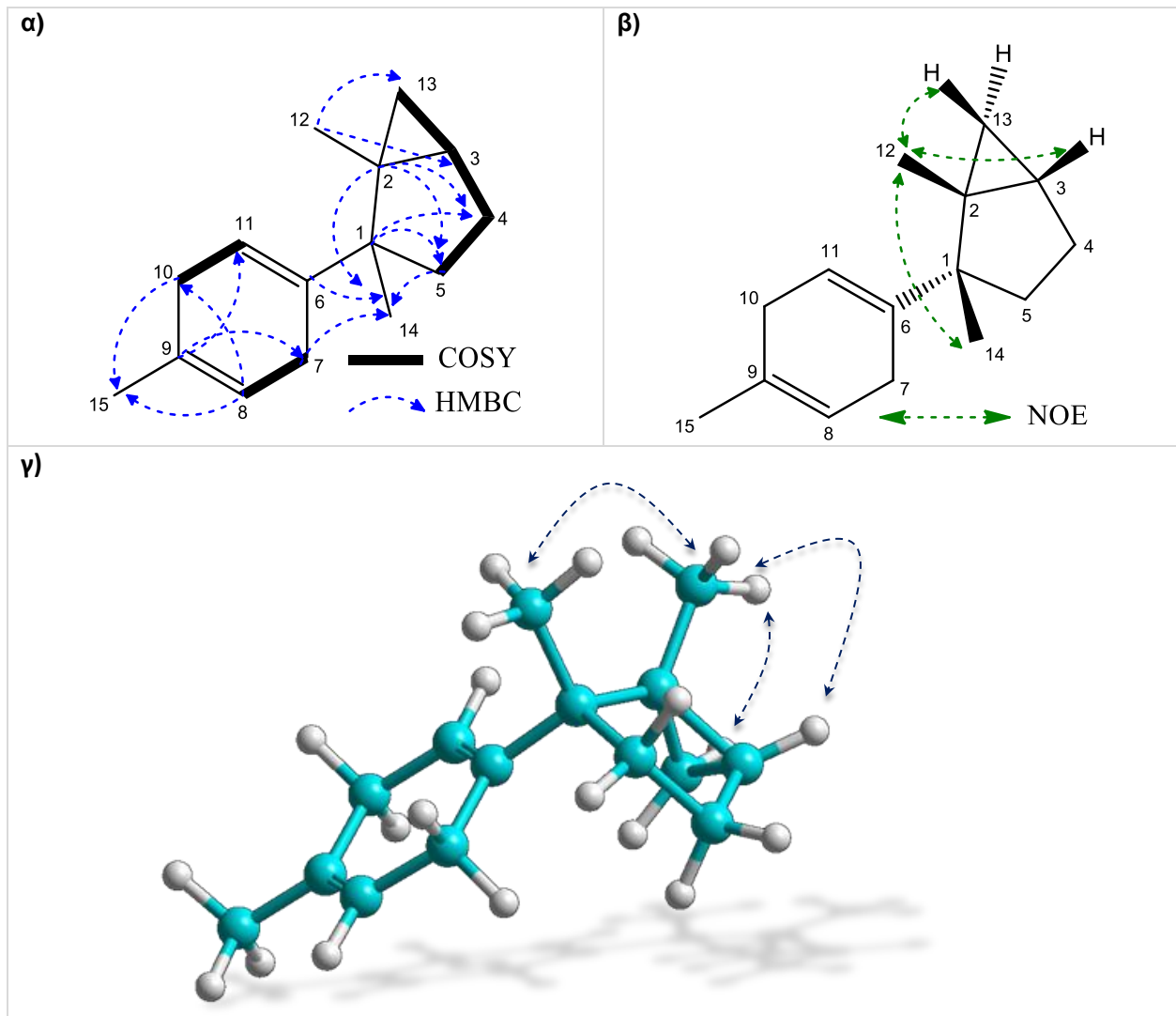
Εικόνα 199 – Φάσμα 1D-NOE του μεταβολίτη **43**. Ακτινοβολήση πρωτονίου H<sub>3</sub>-14 (δ 1.08)

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **43** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **43** παρατίθενται στον πίνακα 157.

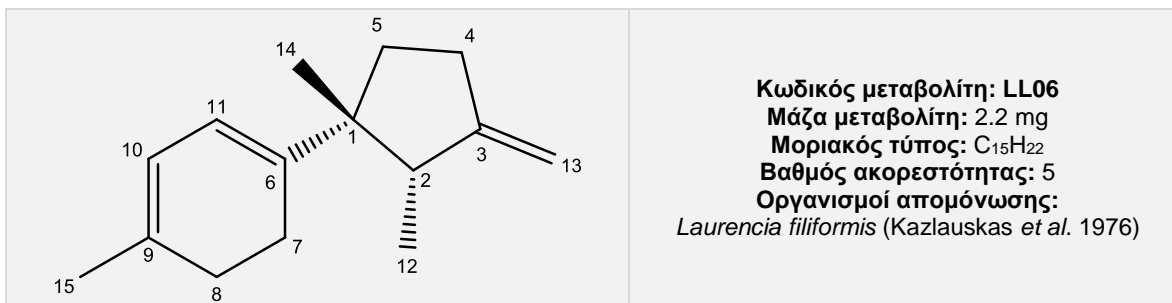
Πίνακας 157 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub> και C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη **43**.

#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>1</sup> H NMR (C <sub>6</sub> D <sub>6</sub> )	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1			49.0	H-4b, H-14
2			28.7	H-4b, H-5b, H-12, H-14
3	0.91 m	0.90 m	22.9	H-4a
4a	1.82 m		25.3	H-5a
4b	1.55 m			
5a	1.33 m		35.2	H-14
5b	1.16 m			
6			140.0	H-14
7a	2.72 m	2.76 m	27.3	
7b	2.53 m	2.61 m		
8	5.42 m	5.49 m	119.3	H-15
9			131.0	H-15
10	2.60 m 2.60 m	2.61 m 2.61 m	31.8	H-15
11	5.68 m	5.80 m	116.5	
12	1.09 s	1.13 s	18.2	H-3, H-13β
13α	0.52 t (4.8)	0.62 t (4.2)	15.9	H-12
13β	0.28 dd (7.8, 4.8)	0.30 dd (7.8, 4.2)		
14	1.07 s	1.08 s	23.4	H-12
15	1.65 s	1.64 s	23.2	

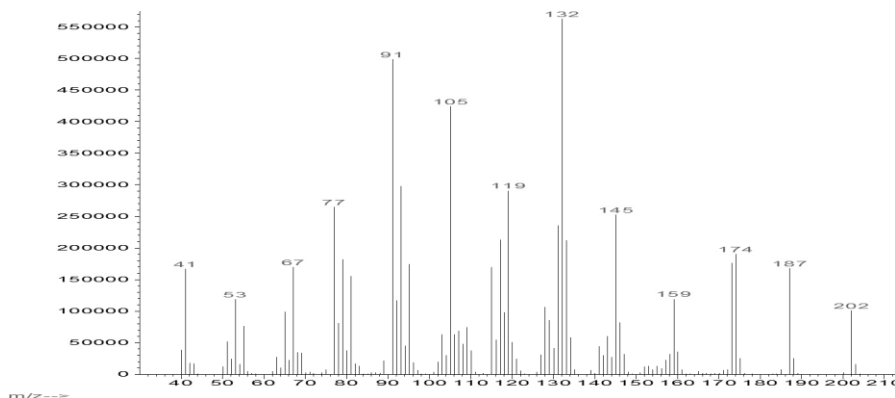
**Εικόνα 200** - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη **43**.



## Μεταβολίτης 44



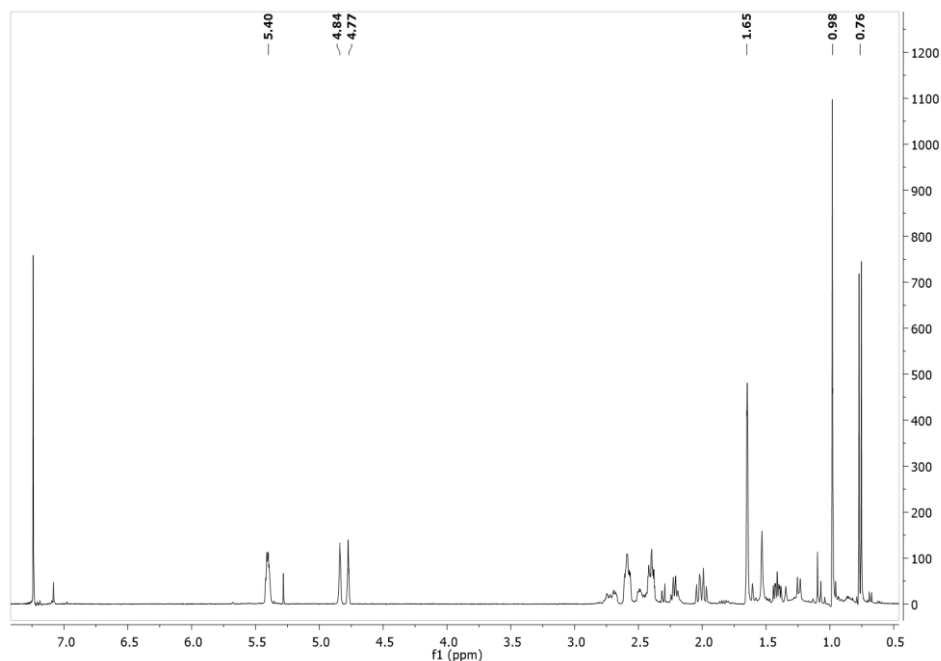
Ο μεταβολίτης **44** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.201) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 202 και θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 187.



Εικόνα 201 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **44**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.202) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία απλή κορυφή σε δ 0.98, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 0.76, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή ανθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 1.65, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε δ 5.40, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε δ 4.84 και 4.77, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.



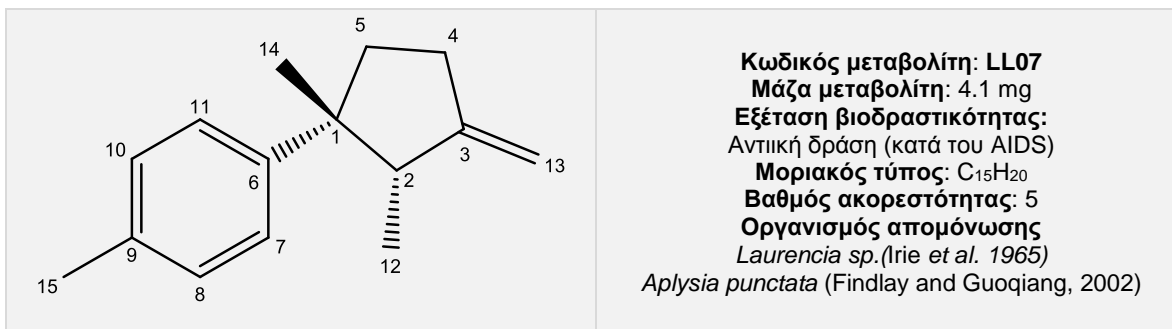
Εικόνα 202 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **44**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **44** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού λαουρενίου, διϋδρολαουρένιο (dihydrolaurene) (Kazlauskas *et al.* 1976). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 158.

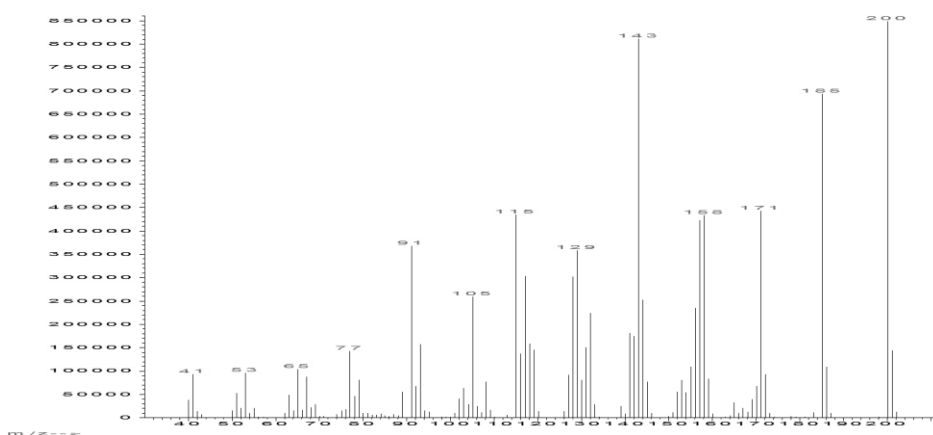
Πίνακας 158 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **44**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
10	5.40 m	5.40 br s
11	5.40 m	5.40 br s
12	0.76 d (7.1)	0.76 d (7.3)
13a	4.84 m	4.83 br s
13b	4.77 m	4.77 br s
14	0.98 s	0.98 s
15	1.65 s	1.64 s

## Μεταβολίτης 45



Ο μεταβολίτης **45** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.203) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 200 και θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 185.

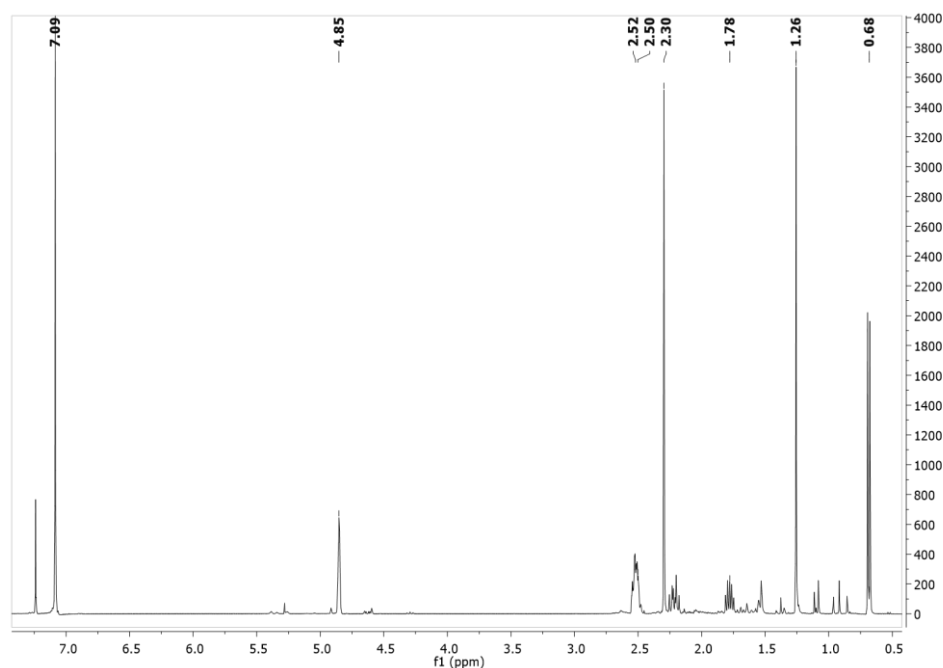


Εικόνα 203 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **45**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.204) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία απλή κορυφή σε δ 1.26, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 0.69, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.30, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.
- Μία ευρεία απλή κορυφή σε δ 4.85, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια ενός εξωμεθυλενικού άνθρακα.

- Μία ευρεία απλή κορυφή σε δ 7.09, η οποία αντιστοιχεί σε τέσσερα πρωτόνια αρωματικών ανθράκων.



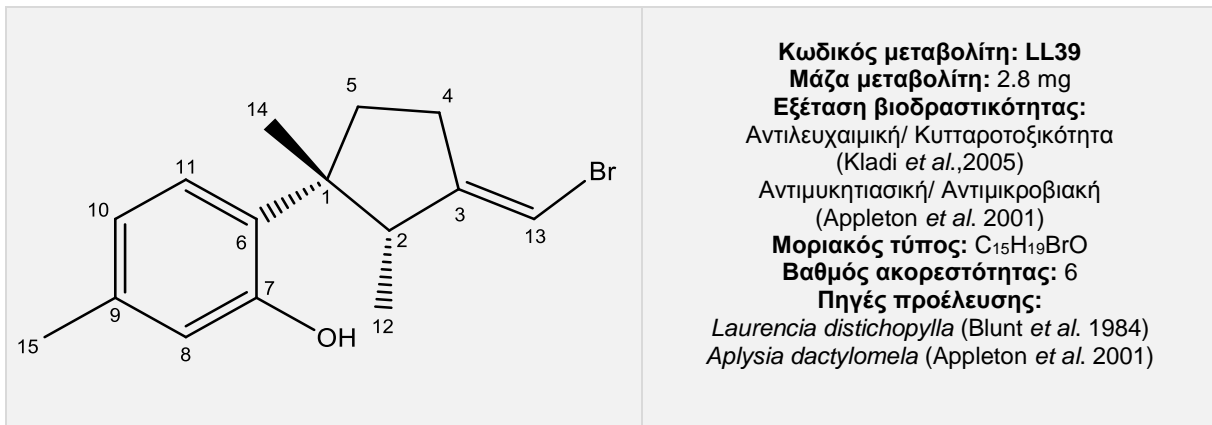
Εικόνα 204 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **45**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **45** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού λαουρενίου, λαουρένιο (Laurene) (Laval *et al.* 1999). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 159.

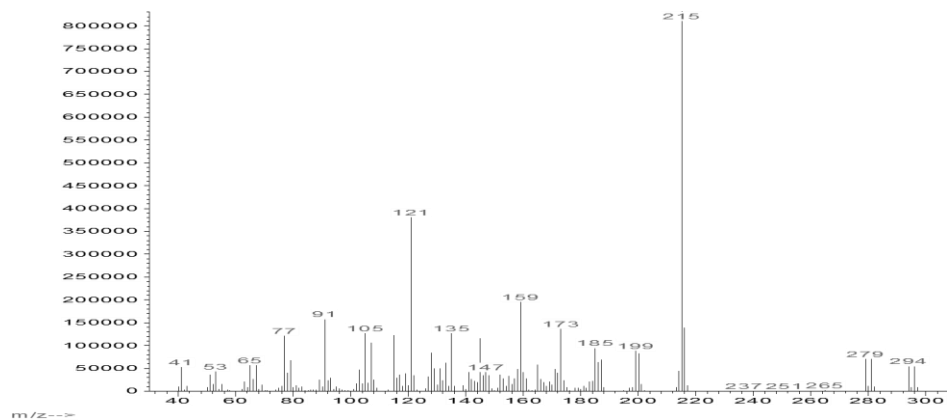
Πίνακας 159 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **45**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2	2.52 m	2.52 m
4	2.50 m	2.50 m
5	1.78 m	1.78 m
7	7.09 br s	7.08 s
8	7.09 br s	7.08 s
10	7.09 br s	7.08 s
11	7.09 br s	7.08 s
12	0.69 d (6.9)	0.68 d (7.0)
13	4.85 br s	4.85 m
14	1.26 s	1.26 s
15	2.30 s	2.29 s

## Μεταβολίτης 46



Ο μεταβολίτης **46** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.205) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  294 με ισοτοπική κορυφή σε  $m/z$  296 και σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης, παρατηρήθηκε θραύσμα προϊόν απόσπασης [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε  $m/z$  279 και ισοτοπική κορυφή σε  $m/z$  281.

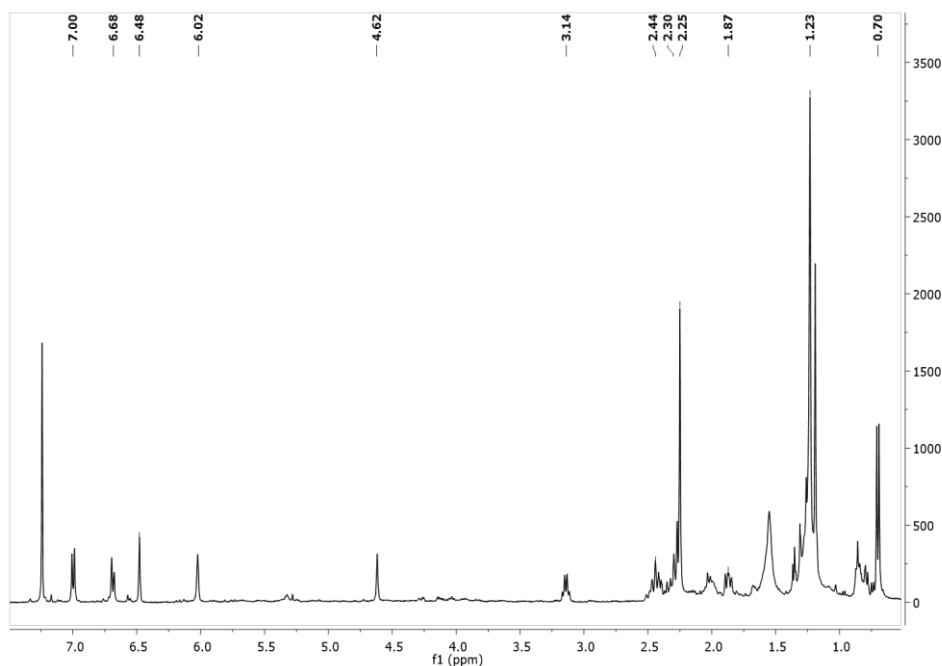


Εικόνα 205 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **46**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.206) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  1.23, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  0.70, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.25, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.02, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  6.48 και δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  6.68 και 7.00, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια ενός 1,2,4 – τριυποκατεστημένου αρωματικού δακτυλίου.



Εικόνα 206 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **46**.

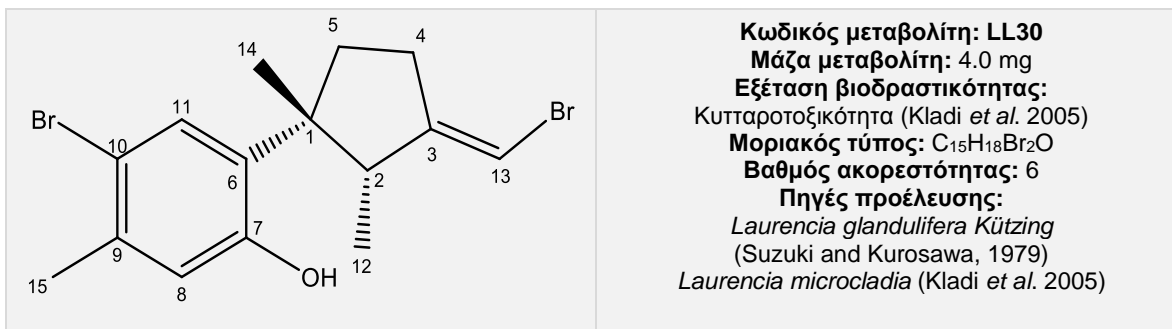
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **46** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού λαουρενίου, ισολαουρενισόλη (isolaurenisol) (Arpleton *et al.* 2001). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 160.

Πίνακας 160 - Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **46**.

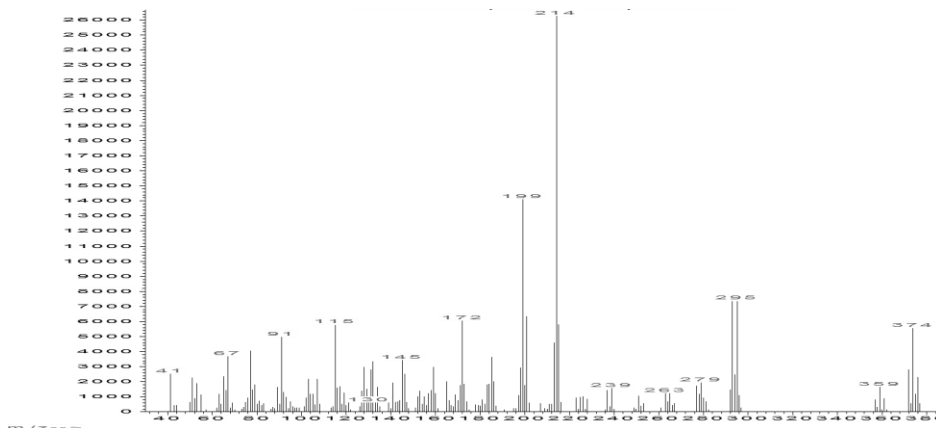
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2	3.14 q (7.1)	3.16 br q (7.4)
4	2.44 m	2.46 m
5a	2.30 m	2.32 br dd (10.6, 10.8)
5b	1.87 m	1.87 m
8	6.48 s	6.50 br s
10	6.68 d (7.8)	6.71 br d (7.8)
11	7.00 d (8.0)	7.02 d (7.8)
12	0.70 d (7.2)	0.73 d (7.4)
13	6.02 s	6.05 br s
14	1.23 s	1.22 br s
15	2.25 s	2.27 s
OH	4.62 s	4.61 s



## Μεταβολίτης 47



Ο μεταβολίτης **47** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.207) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 374 και θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 359.

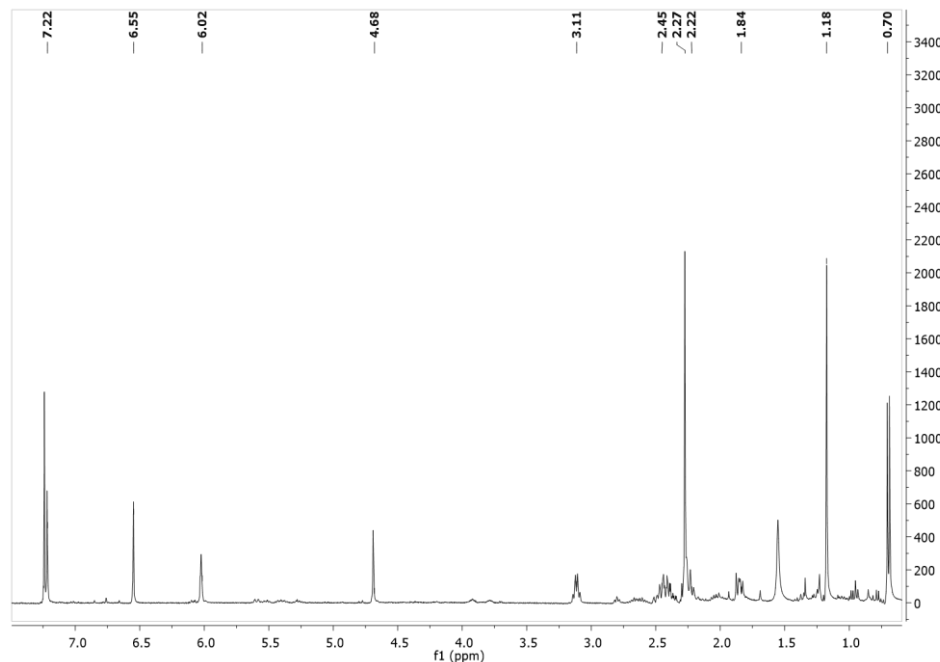


Εικόνα 207 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **47**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.208) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία απλή κορυφή σε δ 1.18, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 0.70, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.27, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 6.02, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  6.55 και 7.22, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια ενός 1,2,4,5-τετραϋποκατεστημένου αρωματικού δακτυλίου.



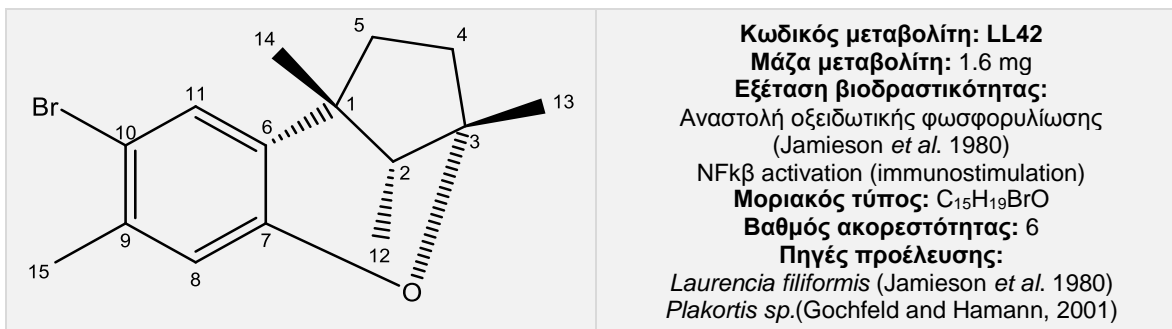
Εικόνα 208 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **47**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **47** ως το σεσκιτερπένιο σκελετου λαουρενίου, βρωμολαουρενισόλη (bromolaurenisol) (Kladi *et al.* 1999). Ο μεταβολίτης **47** αποτελεί το βρωμιωμένο παράγωγο του μεταβολίτη **46** στον C-10. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 161.

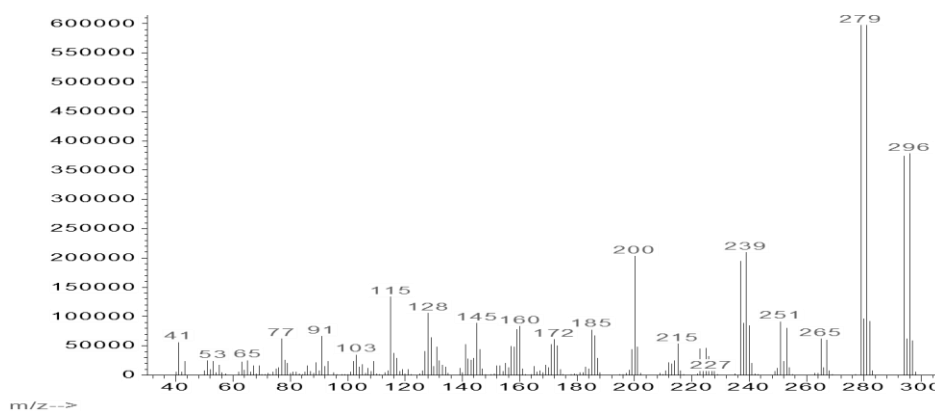
Πίνακας 161 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **47**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2	3.11 q (7.3)	3.11 q (7.2)
4	2.45 m	2.44 m
5a	2.22 m	2.24 m
5b	1.84 m	1.85 m
8	6.55 s	6.55 s
11	7.22 s	7.22 s
12	0.70 d (7.2)	0.69 d (7.2)
13	6.02 s	6.02 br s
14	1.18 s	1.17 s
15	2.27 s	2.27 br s

## Μεταβολίτης 48



Ο μεταβολίτης **48** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.209) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 294 και ισοτοπική κορυφή σε *m/z* 296 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου. Επίσης, παρατηρήθηκε θραύσμα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 279 και ισοτοπική κορυφή σε *m/z* 281.

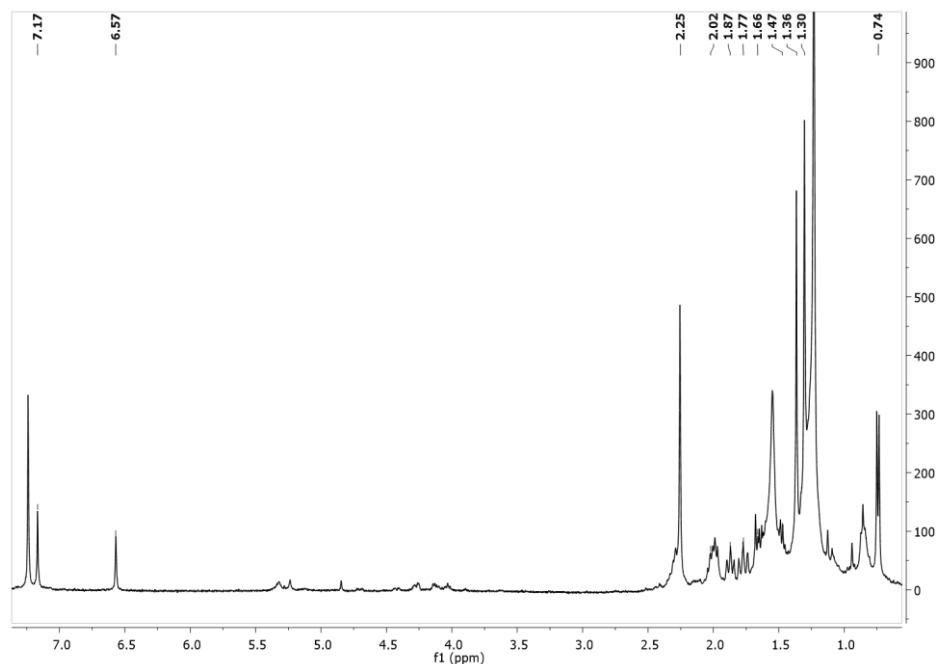


Εικόνα 209 - Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **48**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.210) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.30 και 1.36, οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια δύο μεθυλιών σε τεταρτοταγείς άνθρακες.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 0.74, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε δ 2.25, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε αρωματικό άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε  $\delta$  6.57 και 7.17, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια ενός 1,2,4,5-τετραϋποκατεστημένου αρωματικού δακτυλίου.



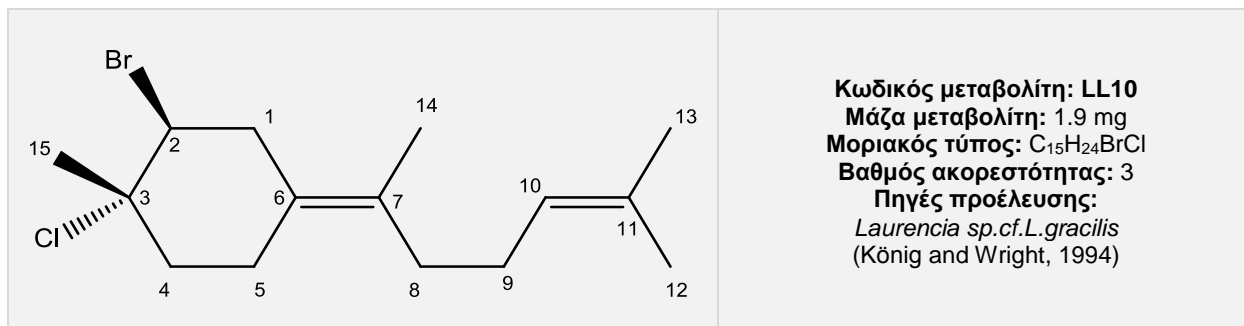
Εικόνα 210 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **48**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **48** ως το σεσκιτερπένιο σκελετού λαουρενίου, φιλιφορμίνη (filiformin) (Gochfeld and Hamann, 1999). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 162.

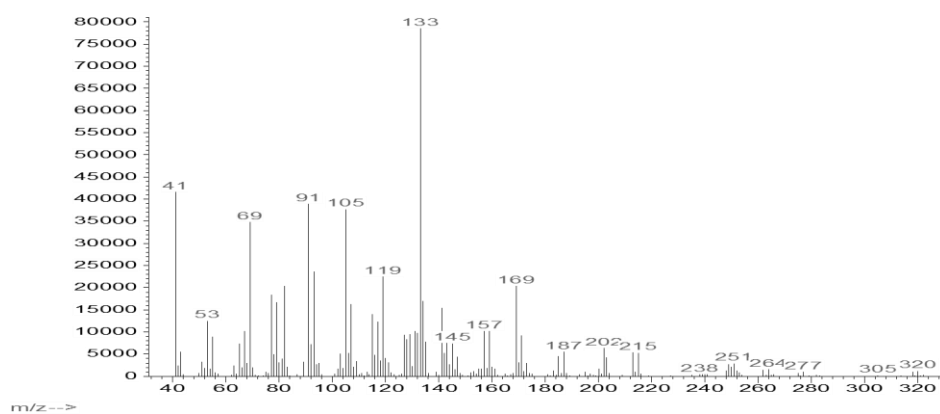
Πίνακας 162 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **48**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
2	1.47 m	1.44 m
4a	2.02 m	1.91 m
4b	1.77 m	1.68 m
5	1.87 m	1.77 m
	1.66 m	1.58 m
8	6.57 s	6.47 s
11	7.17 s	7.11 s
12	0.74 d	0.65 d
13	1.36 s	1.28 s
14	1.30 s	1.23 s
15	2.25 s	2.17 s

## Μεταβολίτης 49



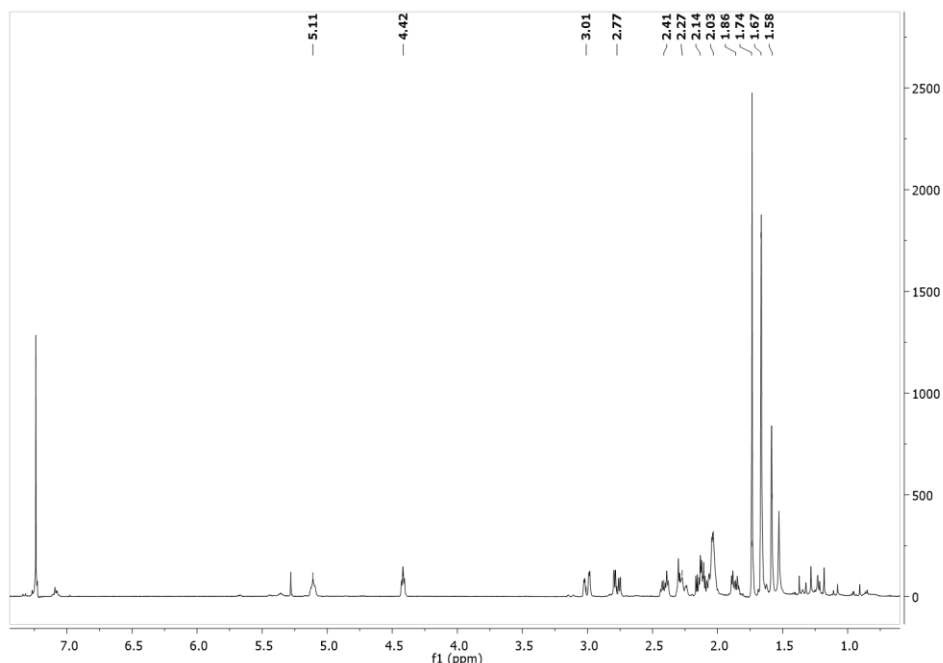
Ο μεταβολίτης **49** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.211) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  318 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  320 και 322 ενδεικτικές της ύπαρξης ενός ατόμου βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.



Εικόνα 211 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **49**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.212) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Τρεις απλές κορυφές σε  $\delta$  1.58, 1.67 και 1.67 , οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια τριών μεθυλίων σε βινυλικούς άνθρακες.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  1.74, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγή χλωριωμένο άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.42, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βινυλικού άνθρακα.



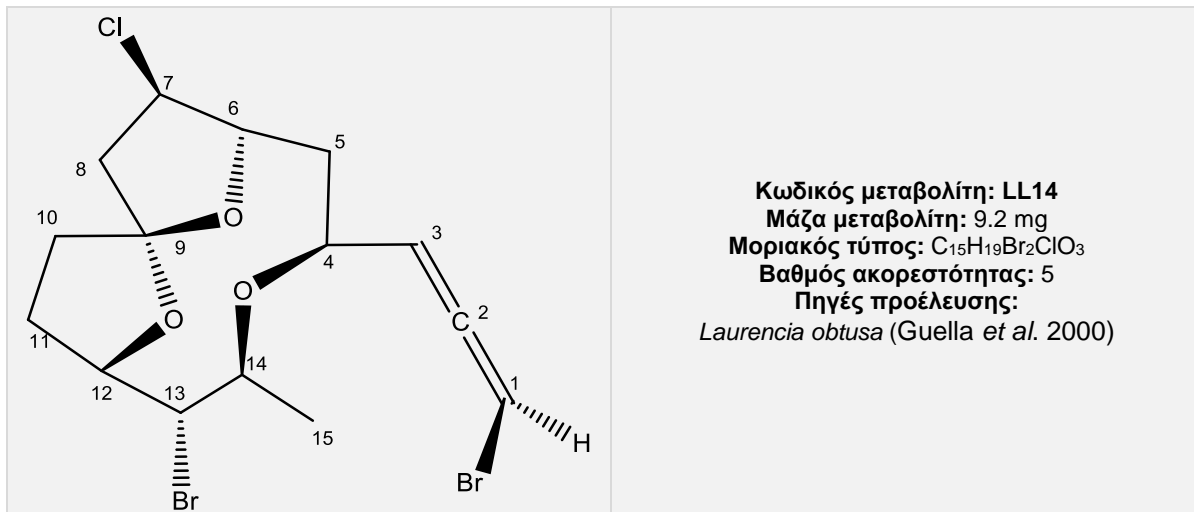
Εικόνα 212 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **49**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **49**, το οποίο αποτελεί γνωστό σεσκιτερπένιο (König and Wright, 1994). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 163.

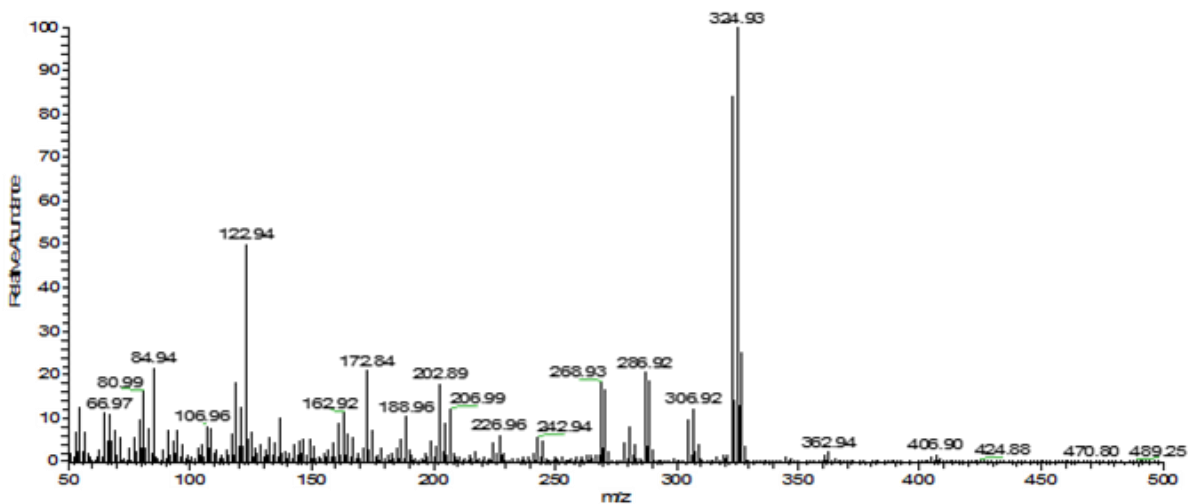
Πίνακας 163 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **49**.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
<b>1a</b>	3.01 dd (15.1, 3.0)	3.03 br dd (15.0, 3.4)
<b>1b</b>	2.77 ddd (15.1, 5.1, 1.3)	2.79 ddd (15.0, 5.2, 1.6)
<b>2</b>	4.42 ddd (5.1, 3.0, 1.3)	4.44 ddd (5.2, 3.4, 1.6)
<b>4a</b>	2.14 m	2.16 m
<b>4b</b>	1.86 m	1.88 m
<b>5a</b>	2.41 m	2.43 m
<b>5b</b>	2.27 m	2.29 m
<b>8</b>	2.03 m	2.05 m
<b>9</b>	2.03 m	2.05 m
<b>10</b>	5.11 m	5.13 br t (6.7)
<b>12</b>	1.58 s	1.60 s
<b>13</b>	1.67 s	1.68 s
<b>14</b>	1.67 s	1.68 s
<b>15</b>	1.74 s	1.75 s

## Μεταβολίτης 50



Ο μεταβολίτης **50** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.213) εμφανίζεται θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 361.

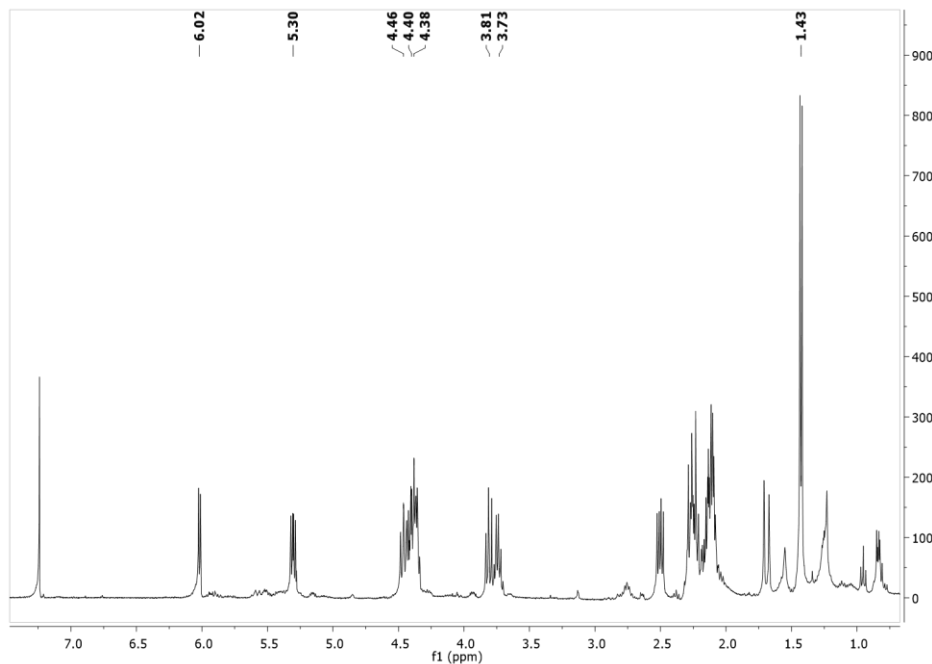


Εικόνα 213 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **50**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.214) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.43, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε δ 6.02 και 5.30, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Τρεις πολλαπλές κορυφές και μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  4.46, 4.40, 4.38 και 3.73, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.81, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.40, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 214- Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **50**.

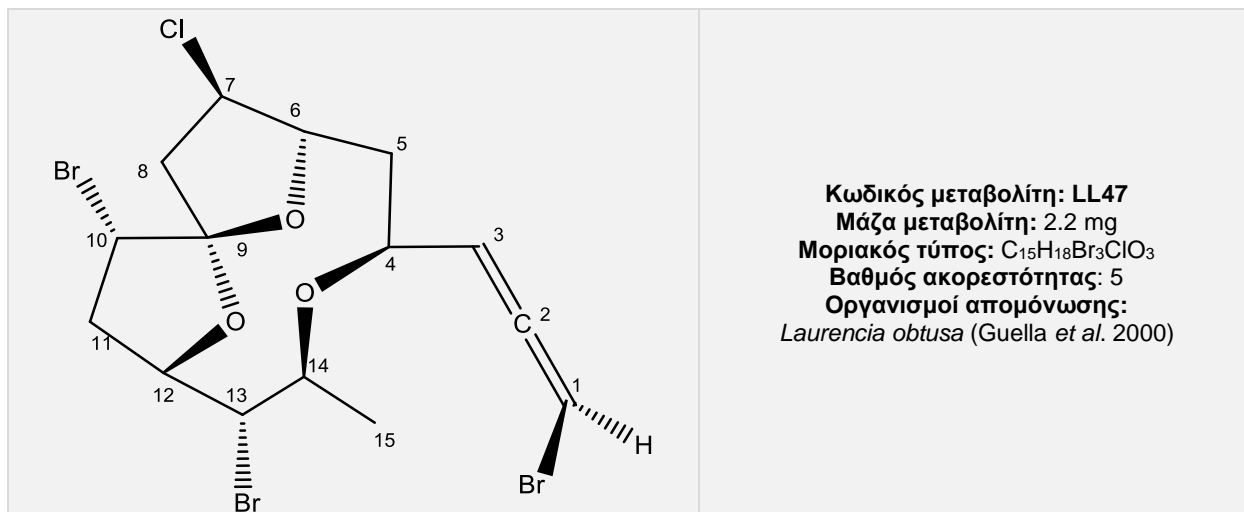
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **50** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη σκελετού ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο VI (obtusallene VI) (Guella *et al.* 2000). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 164.



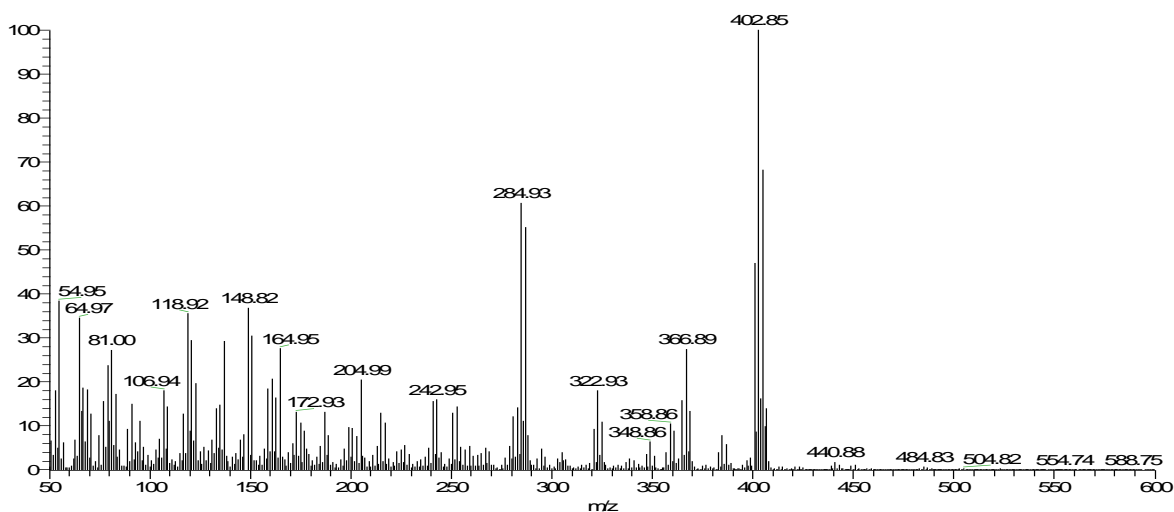
Πίνακας 164 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 50.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.02 d (5.3)	6.01 dd (5.6, 0.5)
3	5.30 dd (8.7, 5.3)	5.30 dd (8.6, 5.6)
4	4.46 m	4.46 m
5a	2.13 m	2.13 m
5b	1.69 m	1.69 m
6	4.38 m	4.38 m
7	4.40 m	4.40 m
8a	2.49 m	2.49 m
8b	2.24 m	2.24 m
10	2.22 m 2.10 m	2.22 m 2.10 m
11	2.26 m 2.09 m	2.26 m 2.09 m
12	4.36 m	4.36 m
13	3.81 dd (9.8, 8.1)	3.80 dd (9.8, 8.2)
14	3.73 dq (8.1, 6.2)	3.73 dd (8.2, 6.3)
15	1.43 d (6.2)	1.43 d (6.3)

## Μεταβολίτης 51



Ο μεταβολίτης **51** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.215) εμφανίζεται το θραύσμα [M-Cl]<sup>+</sup> σε *m/z* 485 και ισοτοπικές κορυφές με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης τριών ατόμων βρωμίου.

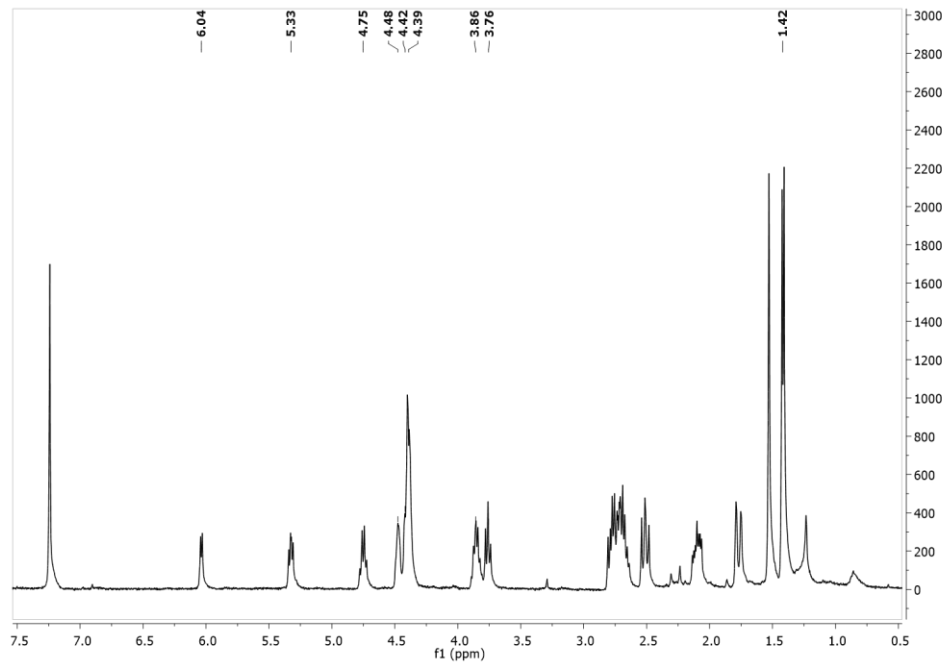


Εικόνα 215 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **51**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.216) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.42, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  6.04 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.33, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Τρεις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.42, 4.48, 3.86 και μία τετραπλή σε  $\delta$  4.75, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.42, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.39 και 3.76, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βρωμιωμένων ανθράκων.



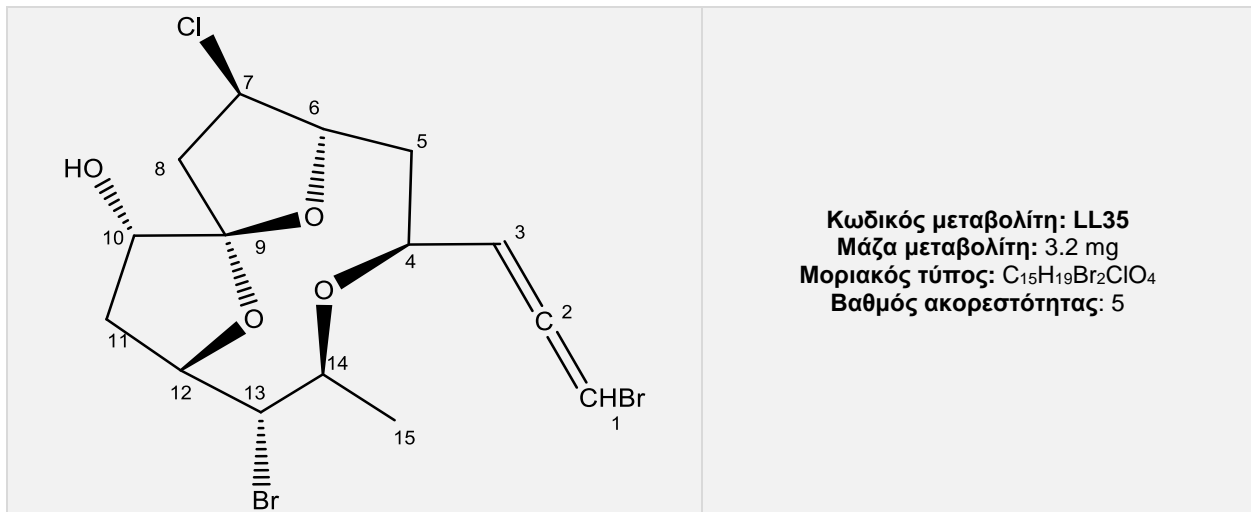
Εικόνα 216 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **51**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **51** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη σκελετού ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο V (*obtusallene V*) (Guella *et al.* 2000). Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **51** με τα αντίστοιχα του μεταβολίτη **50** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά ότι ο μεταβολίτης **51** είναι το βρωμιωμένο παράγωγο του **50** στην θέση 10. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **51** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 165.

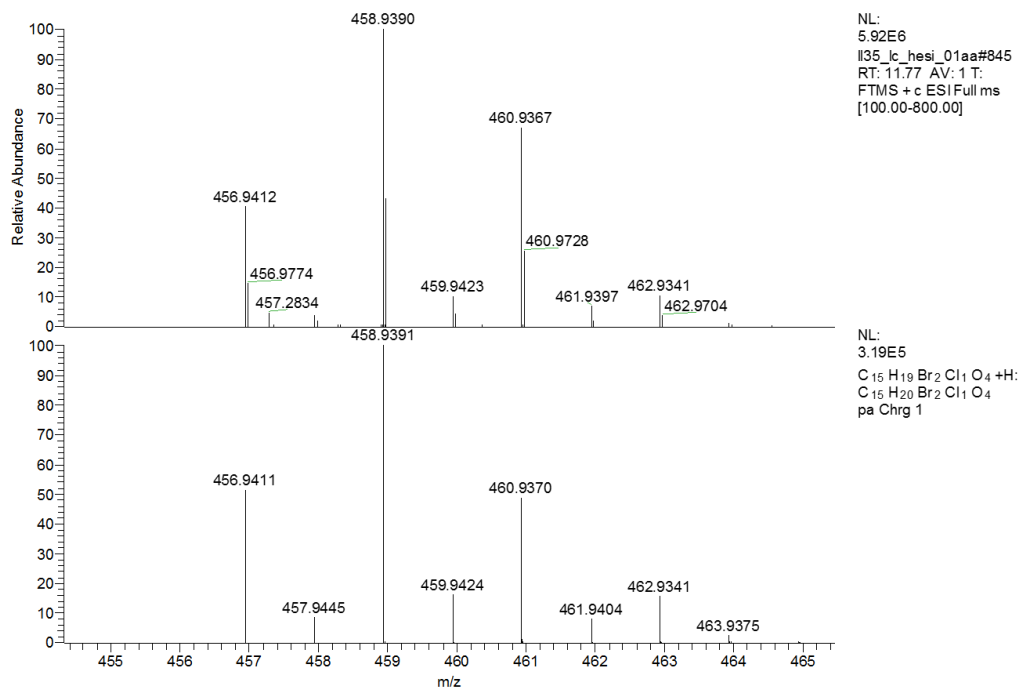
Πίνακας 165 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 51.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.04 d (5.2)	6.04 d (5.6)
3	5.33 dd (7.8, 5.2)	5.33 dd (8.3, 5.6)
4	4.42 m	4.41 dddd (9.5, 8.3, 1.2, 0.9)
5α	1.75 m	1.78 ddd (15.3, 2.8, 1.2)
5β	2.09 ddd (14.7, 9.3, 5.0)	2.11 ddd (15.3, 9.5, 4.8)
6	4.48 m	4.49 ddd (6.4, 4.8, 2.8)
7	4.42 m	4.42 ddd (10.0, 7.3, 6.4)
8α	2.78 dd (13.2, 7.4)	2.79 dd (13.2, 7.3)
8β	2.51 dd (13.2, 10.2)	2.52 dd (13.2, 10.0)
10	4.39 m	4.39 dd (5.8, 3.0)
11α	2.74 m	2.76 ddd (14.5, 7.5, 3.0)
11β	2.66 m	2.68 ddd (14.5, 7.0, 5.8)
12	4.75 q (6.9)	4.76 br q (7.0)
13	3.76 m	3.77 dd (8.5, 7.5)
14	3.86 m	3.87 qd (8.5, 6.2)
15	1.42 d (6.2)	1.42 d (6.2)

## Μεταβολίτης 52



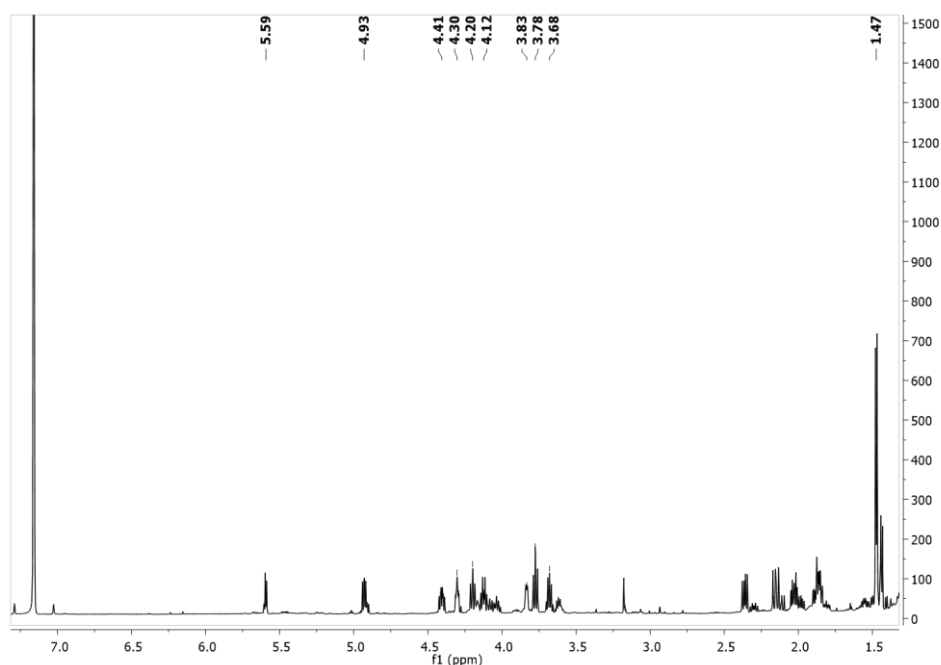
Ο μεταβολίτης **52** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.217) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε  $m/z$  457 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  459 και 461 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και δύο ατόμων βρωμίου στο μόριο.



Εικόνα 217 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη 52.

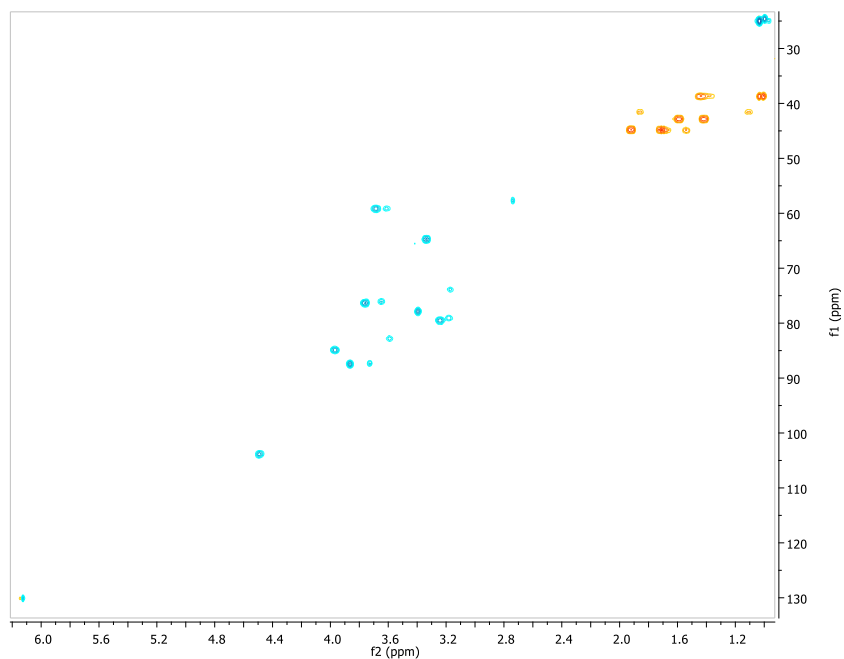
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.218) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή, σε  $\delta$  1.47 η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.93, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.20, δύο διπλές διπλών διπλών κορυφές σε  $\delta$  4.30, 4.41, μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  3.68 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.83, οι οποίες αντιστοιχούν σε πέντε πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.12, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  3.78, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



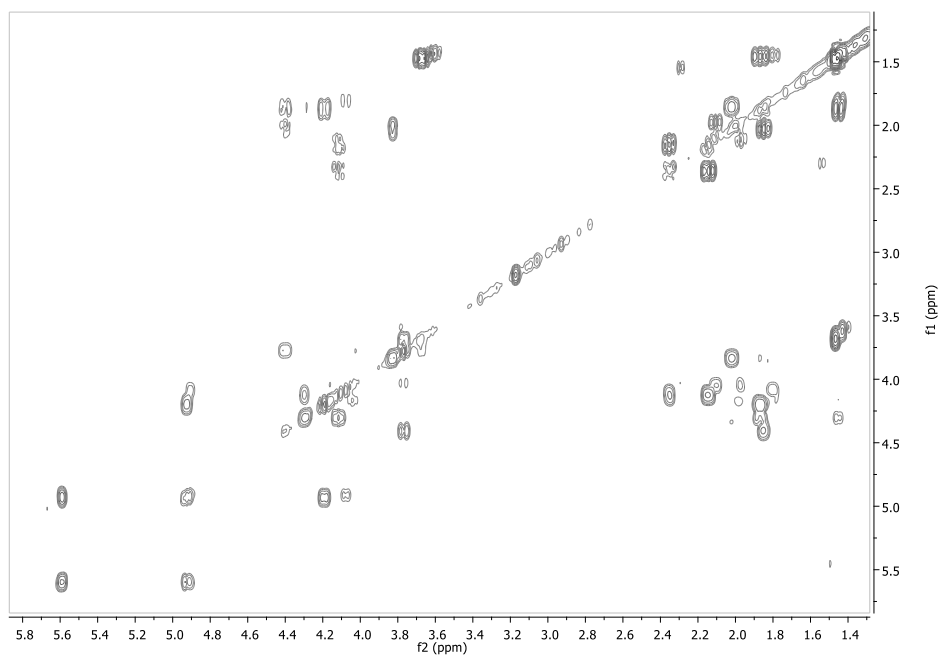
Εικόνα 218 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) του μεταβολίτη 52.

Ο συνδυασμός των φασμάτων HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 3 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη 52 αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.219,220,221).



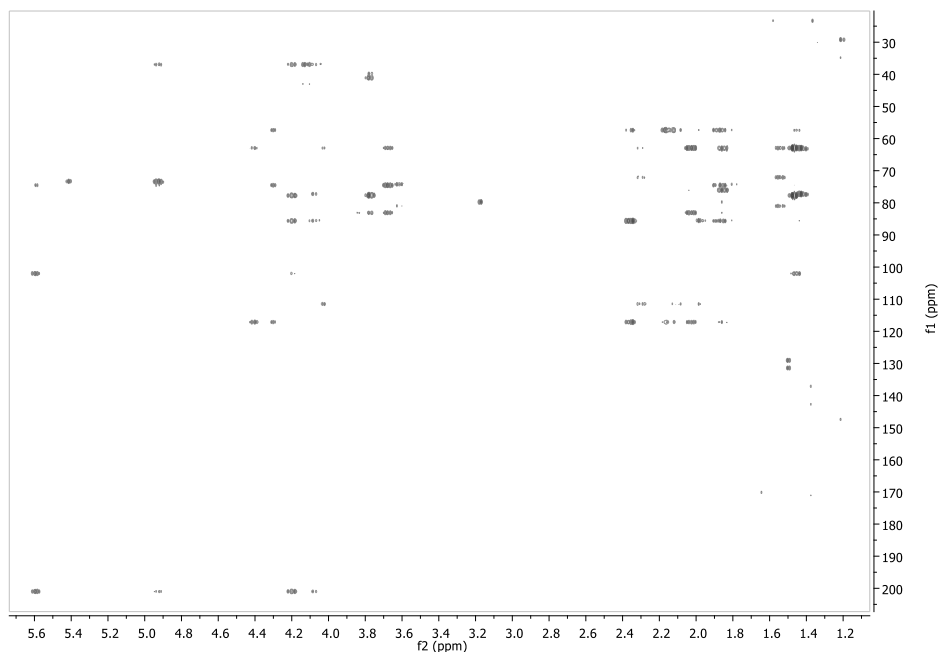
Εικόνα 219 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $C_6D_6$ ) του μεταβολίτη 52.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-8 και H-10 – H-15. Οι συσχετίσεις HMBC του διπλά οξυγονωμένου τεταρτοταγούς άνθρακα C-9 με τα πρωτόνια H-6, H<sub>2</sub>-8, H<sub>2</sub>-11 και H-12 υπέδειξαν την σύνδεση των δύο συστημάτων spin μέσω του C-9, ο



Εικόνα 220 – Φάσμα COSY ( $C_6D_6$ ) του μεταβολίτη 52.

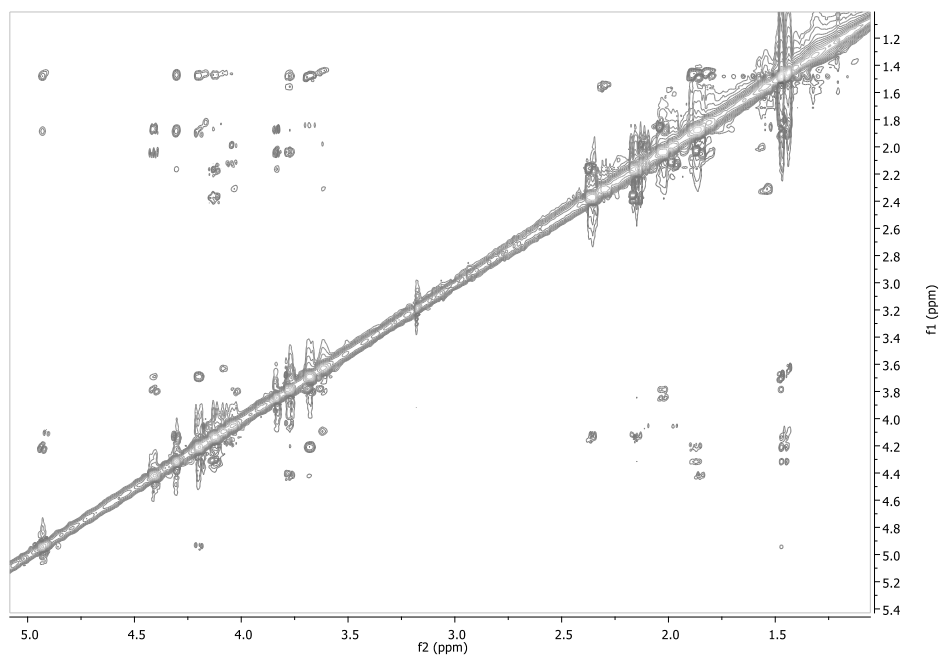
οποίος συνδέεται μέσω αιθερικών γεφυρών με τον C-6 και τον C-12. Η συσχέτιση του C-14 με το H-4 υπέδειξε την παρουσία μίας επιπλέον αιθερικής γέφυρας μεταξύ των C-4 και C-14 (Εικ.223).



Εικόνα 221 – Φάσμα HMBC (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη **52**.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **52** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις (i) του H-13 με το H-11β (ii) του H-10 με το H-8β και (iii) του H-8β με το H-6, σε συνδυασμό με τη σταθερά σύζευξης  $J_{10-11\beta} = 6.2$  Hz (η οποία συμπίπτει με την αντίστοιχη βιβλιογραφική τιμή του μεταβολίτη **51**) υπέδειξαν ότι τα H-6, H-8β, H-10, H-11β και H-13 είναι ομοεπίπεδα. Επιπρόσθετα, οι συσχετίσεις του H-14 με τα H-4 και H-12, σε συνδυασμό με τη σταθερά σύζευξης  $J_{7-8\beta} = 10.1$  Hz, ενδεικτική της trans-διαξονικής διαμόρφωσης των δύο πρωτονίων, υπέδειξαν ότι τα H-4, H-7, H-8α, H-12 και H-14 είναι ομοεπίπεδα στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Η προτεινόμενη τρισδιάστατη δομή του μεταβολίτη **52** εμφανίζεται σχεδόν ταυτόσημη με την αντίστοιχη του μεταβολίτη **51**, όπως αυτή έχει καθοριστεί στο παρελθόν από κρυσταλλογραφικές μελέτες με ακτίνες X (Braddock *et al.* 2008). Η προτεινόμενη σχετική στερεοχημεία υποστηρίζεται από τις σχετικά αμετάβλητες τιμές των χημικών μετατοπίσεων των στερεογονικών κέντρων με εξαίρεση τον C-10 λόγω της υποκατάστασης του (Εικ.222,223).





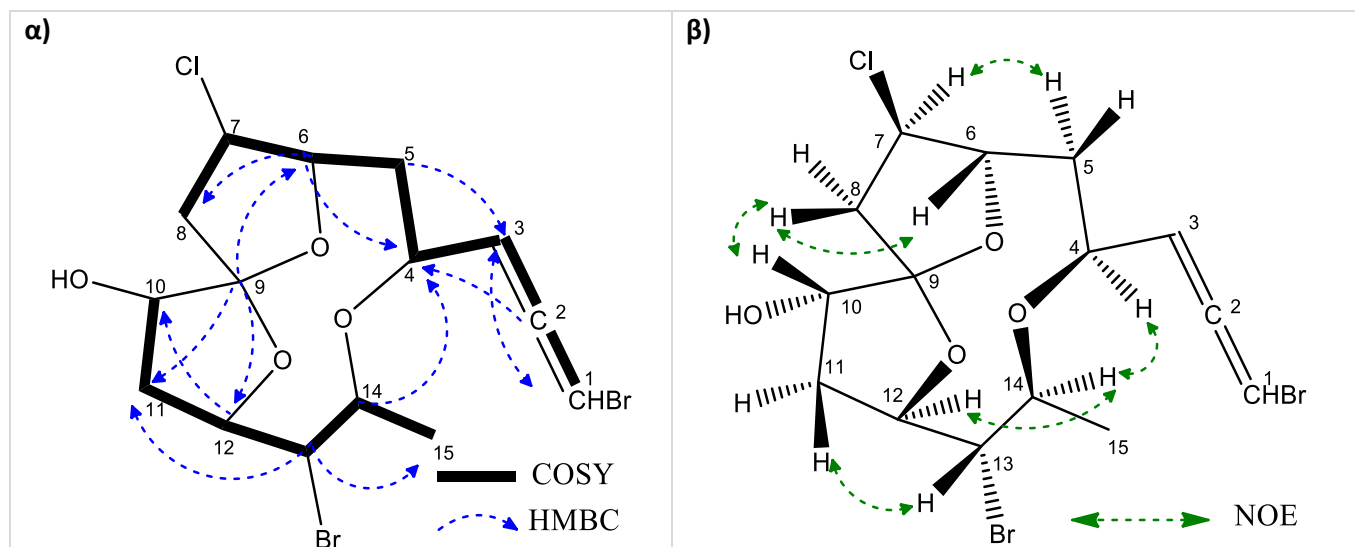
Εικόνα 222 – Φάσμα NOESY (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη **52**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **52** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **52** με τα αντίστοιχα του μεταβολίτη **51** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά την αντικατάσταση του βρωμίου της θέσης 10 στον μεταβολίτη **51** από μία υδρόξυ-ομάδα στον μεταβολίτη **52**. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **52** παρατίθενται στον Πίνακα 166.

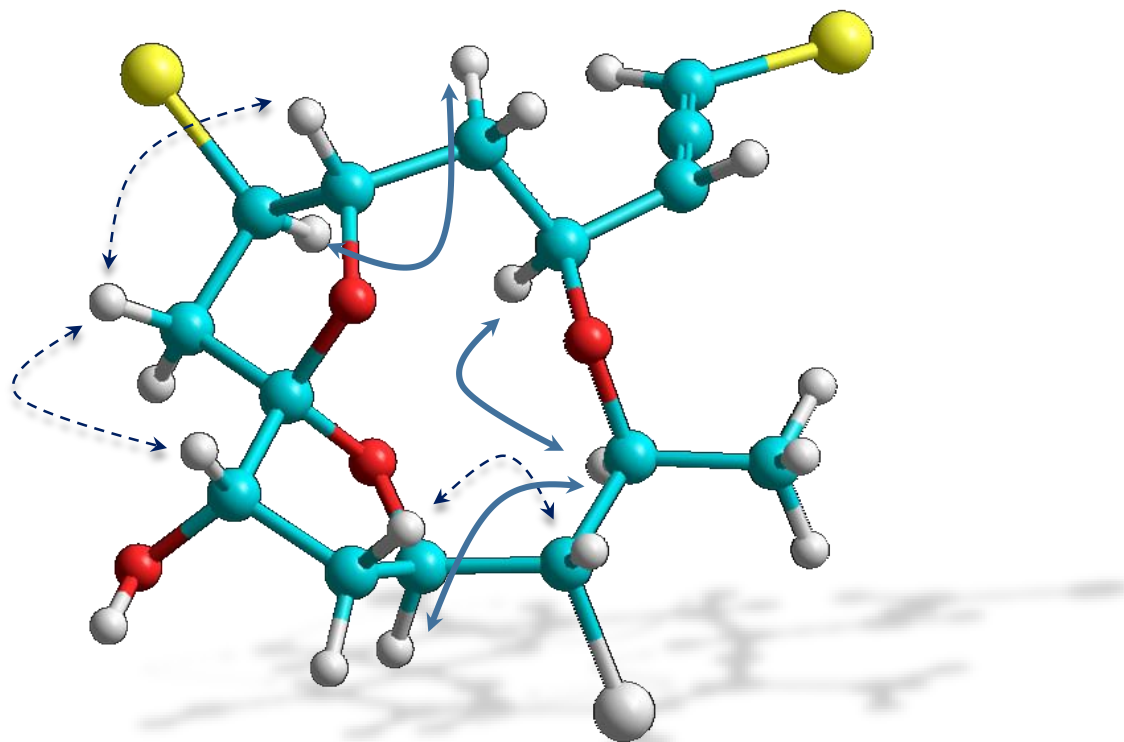
Πίνακας 166 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR ( $C_6D_6$ ) του μεταβολίτη 52.

#	$^1H$ NMR	$^{13}C$ NMR	HMBC
1	5.59 d (5.8)	73.4	H-3
2		201.3	H-1, H-3, H-4
3	4.93 dd (8.0, 5.8)	102.0	H-1, H-4, H-5b
4	4.20 dd (8.0, 7.8)	74.4	
5a	1.88 m	36.8	H-3, H-4, H-7
5b	1.47 m		
6	4.30 ddd (7.2, 5.1, 2.4)	85.6	H-4, H-5a, H-8α
7	4.12 ddd (10.1, 7.2, 7.2)	57.2	H-5a, H-6, H-8α, H-8β
8α	2.36 dd (12.9, 7.2)	42.9	H-7
8β	2.14 dd (12.9, 10.1)		
9		117.0	H-6, H-8α, H-8β, H-11α, H-11β, H-12
10	3.83 dd (6.2, 2.1)	75.9	H-11β
11α	1.85 m	40.9	H-13
11β	2.03 ddd (12.3, 6.2, 5.4)		
12	4.41 ddd (8.5, 8.1, 5.4)	83.0	H-10, H-11α, H-13, H-14
13	3.78 dd (8.1, 8.1)	62.8	H-11α, H-11β, H-12, H-14, H-15
14	3.68 dq (8.1, 6.5)	77.5	H-4, H-13, H-15
15	1.47 d (6.5)	23.1	

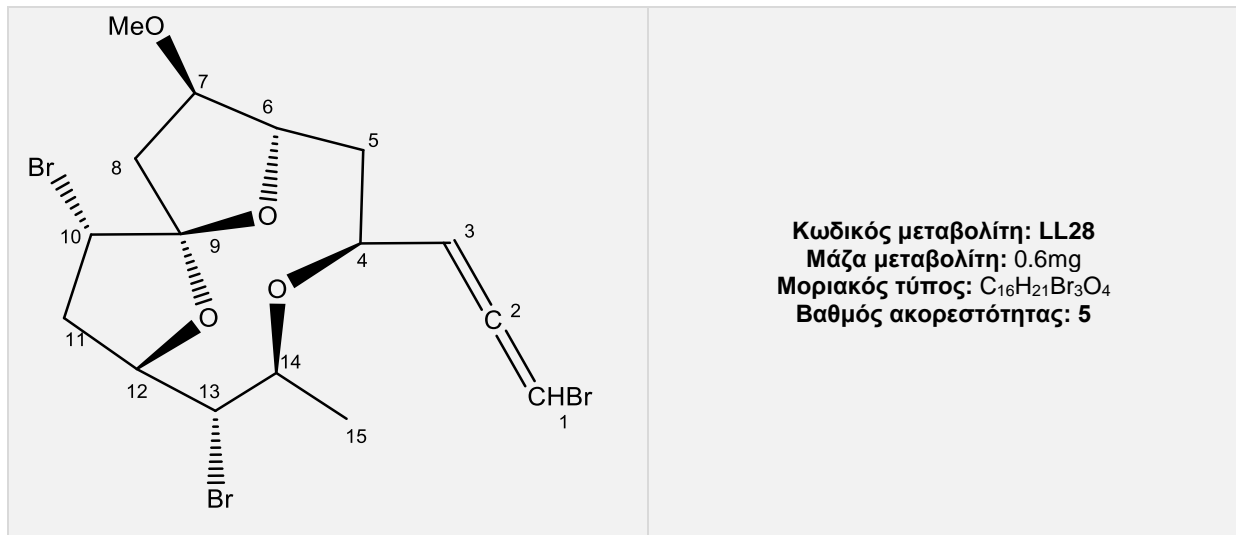
Εικόνα 223 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 52.



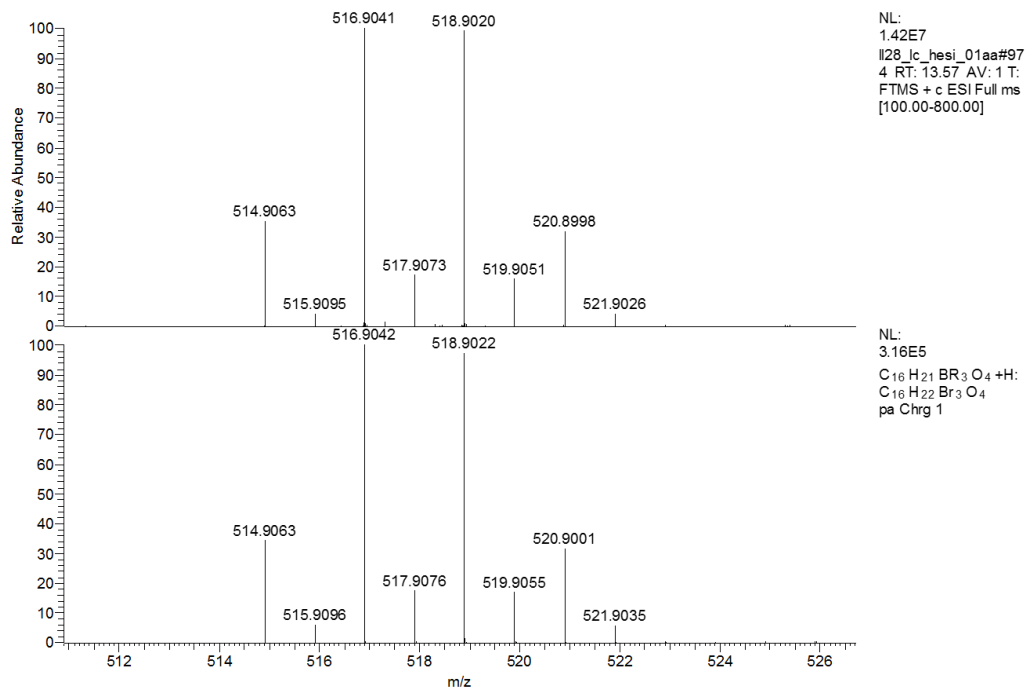
v)



## Μεταβολίτης 53



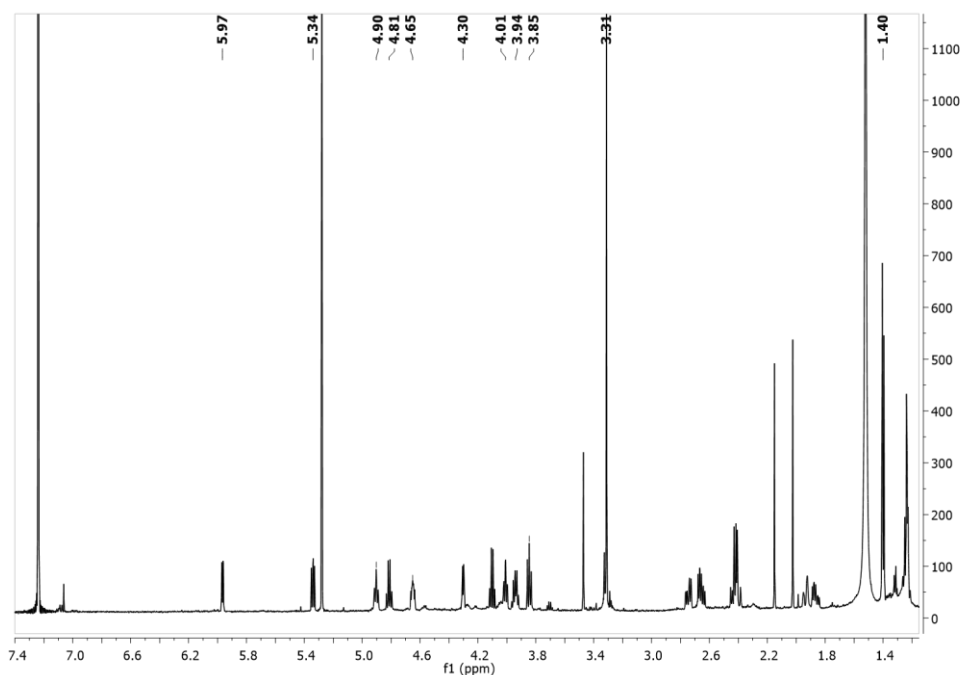
Ο μεταβολίτης **53** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.224) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε *m/z* 515 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 517, 519 και 521 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης τριών ατόμων βρωμίου.



Εικόνα 224 - Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **53**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.225) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

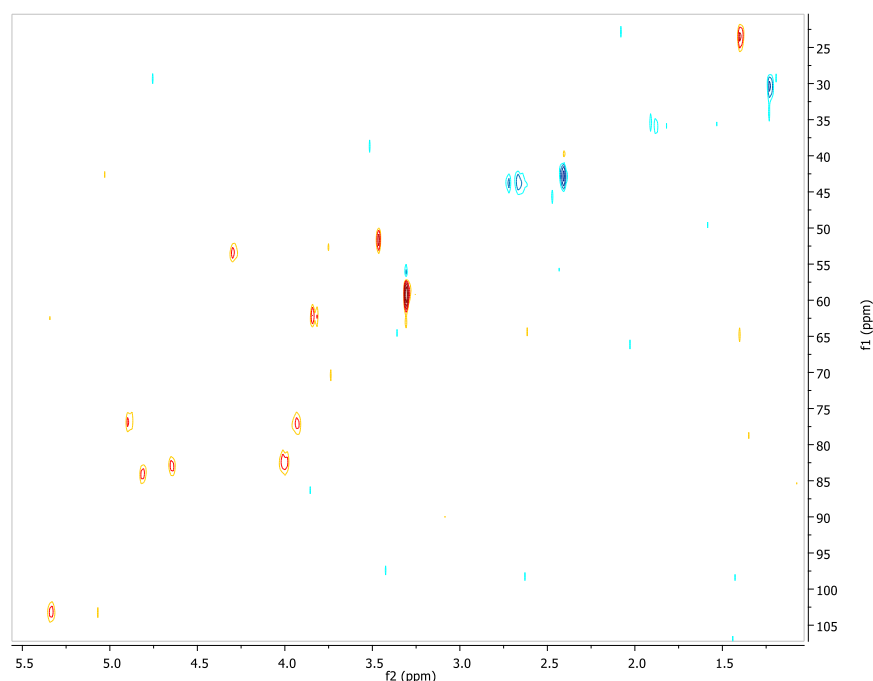
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.39, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.31, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια μίας μεθύξυ-ομάδας.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  5.97 και 5.34, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.90 και 4.81, μία διπλή διπλών διπλών σε  $\delta$  4.65 και μία διπλή τετραπλών σε  $\delta$  3.94, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή και μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.30 και 3.85, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βρωμιωμένων ανθράκων.



Εικόνα 225- Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 53.

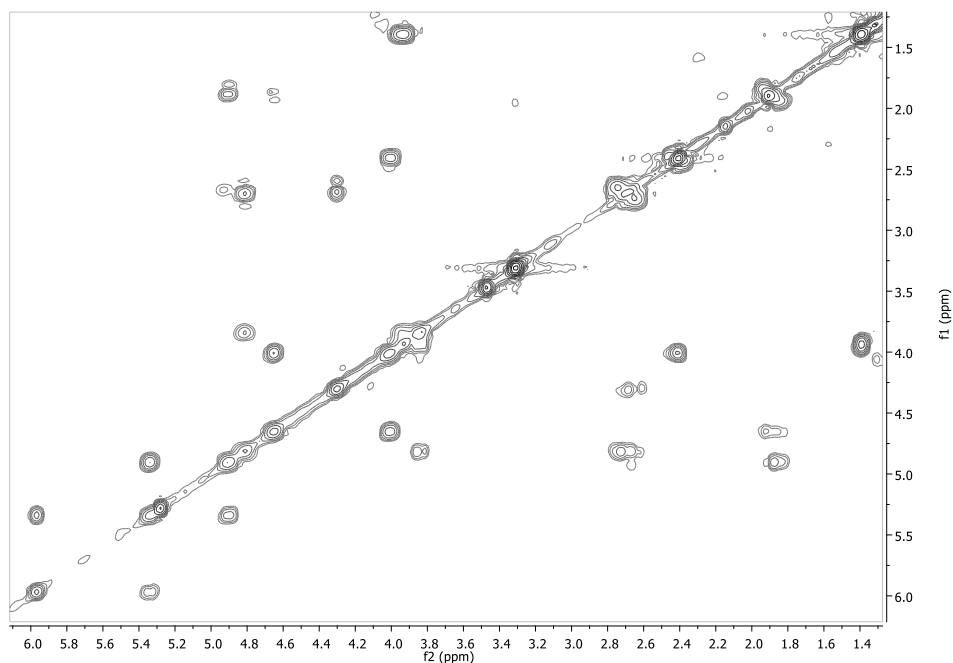
Ο συνδυασμός των φασμάτων HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 16 ανθράκων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 3 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η

δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **53** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.226,227,228).

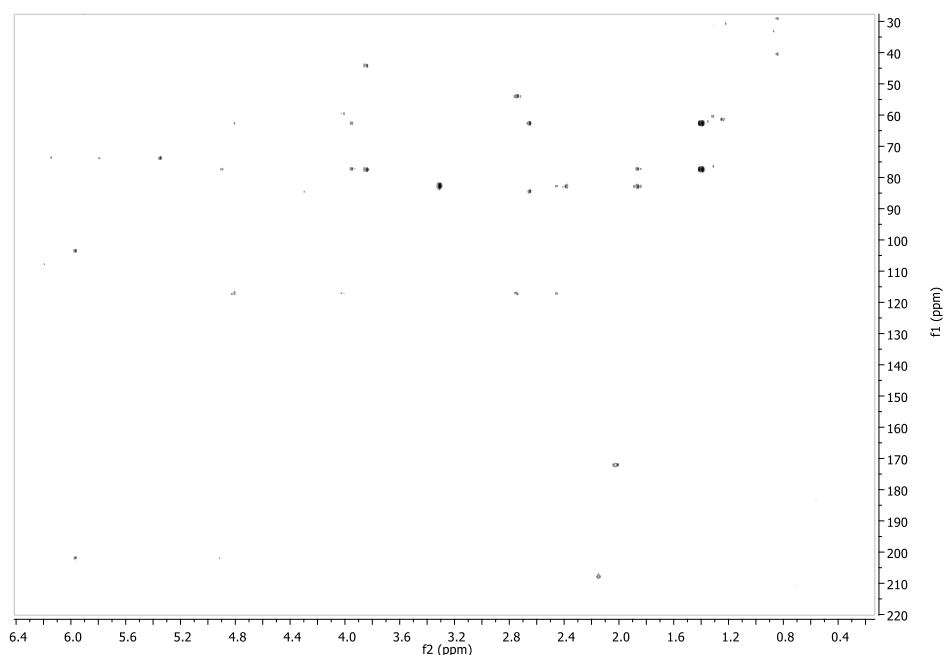


**Εικόνα 226** – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **53**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών συστημάτων spin H-1–H-8, H-10–H-13 και H-14–H-15. Οι συσχετίσεις HMBC του τεταρτοταγούς διπλά οξυγονωμένου άνθρακα C-9 με τα πρωτόνια H-7 και H<sub>2</sub>-8 καθώς και με τα πρωτόνια H<sub>2</sub>-11 και H-12 υπέδειξαν την σύνδεση των συστημάτων spin H-1–H-8 και H-10–H-13 μέσω του C-9. Η συσχέτιση του τριτοταγούς βρωμιωμένου άνθρακα C-13 με τα H-14 και H<sub>3</sub>-15, υπέδειξε την σύνδεση των συστημάτων spin H-10–H-13 και H-14–H-15. Η σύνδεση των συστημάτων spin H-1–H-8 και H-14–H-15 δια μέσου αιθερικής γέφυρας που συνδέει τους άνθρακες C-4 και C-14, καθορίστηκε από την συσχέτιση του μεθινικού οξυγονωμένου άνθρακα C-4 με το H-14. Τέλος οι συσχετίσεις του C-7 με τα H<sub>3</sub>-16 καθώς και του άνθρακα C-16 με το H-7 υπέδειξε την υποκατάσταση του C-7 από μία μεθοξυ ομάδα (Εικ.230).



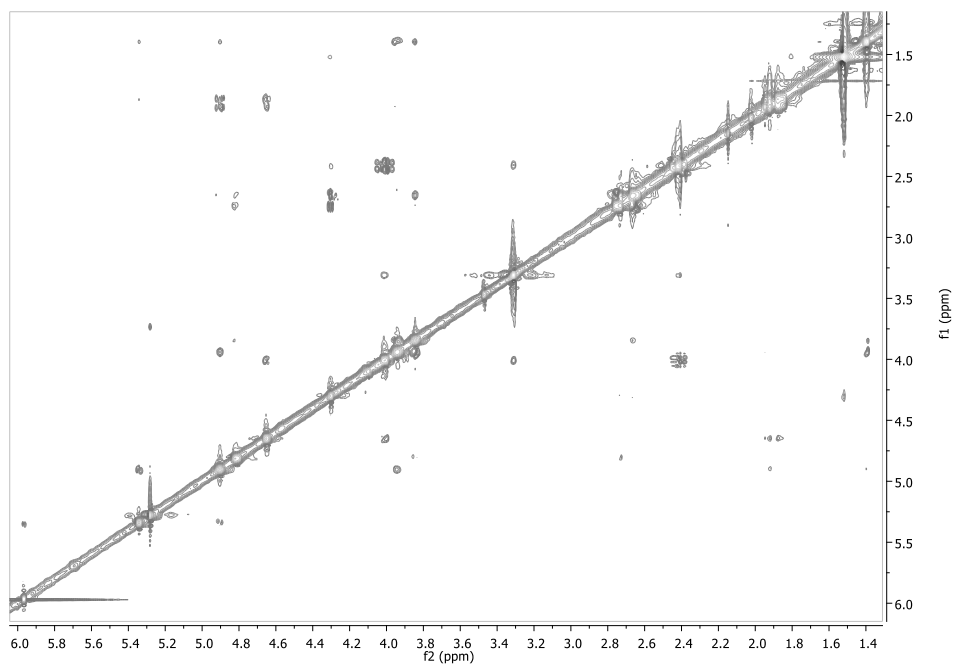
Εικόνα 227 – Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **53**



Εικόνα 228 – Φάσμα HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **53**.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **53** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα: Οι συσχετίσεις (i) του H-13 με το H-11β υπέδειξαν ότι τα H-13 και H-11β είναι ομοεπίπεδα, ενώ οι συσχετίσεις (ii) του H-14 με τα H-4 και H-12 υπέδειξαν ότι τα H-4, H-12 και H-14 είναι ομοεπίπεδα στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Επιπρόσθετα, οι σταθερές σύζευξης ήταν αντίστοιχου μεγέθους με αυτές των μεταβολιτών **51** και **52**,

υποδεικνύοντας την ίδια σχετική στερεοχημεία για τα ασύμμετρα κεντρα C-4, C-6, C-7, C-9, C-10, C-12, C-13 και C-14 (Εικ.229, 230).



Εικόνα 229 - Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **53**.

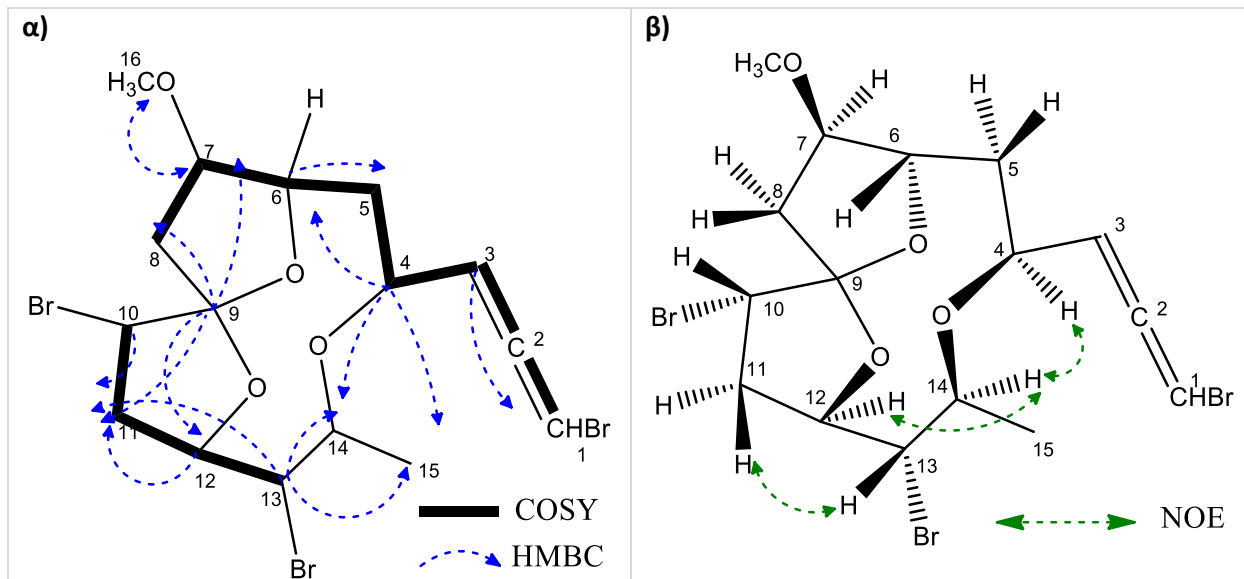
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **53** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **53** παρατίθενται στον Πίνακα 167.

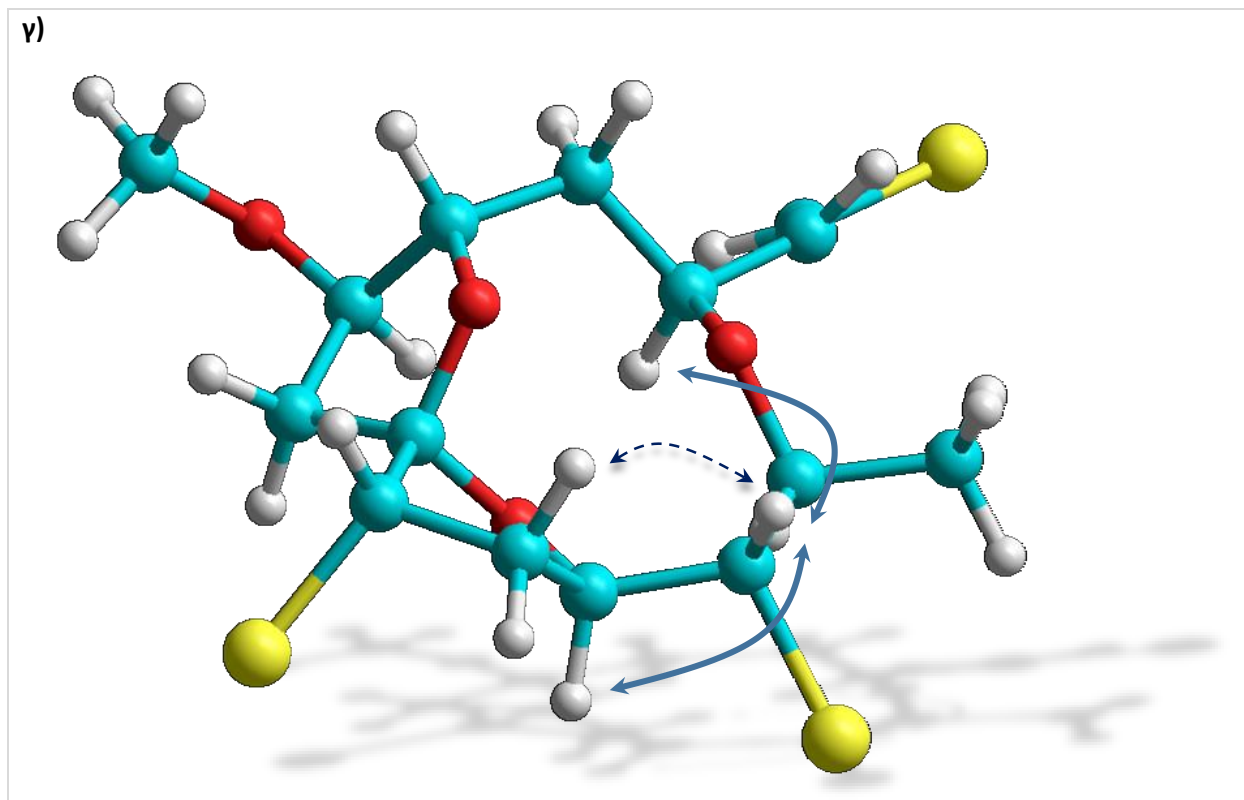


Πίνακας 167 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 53

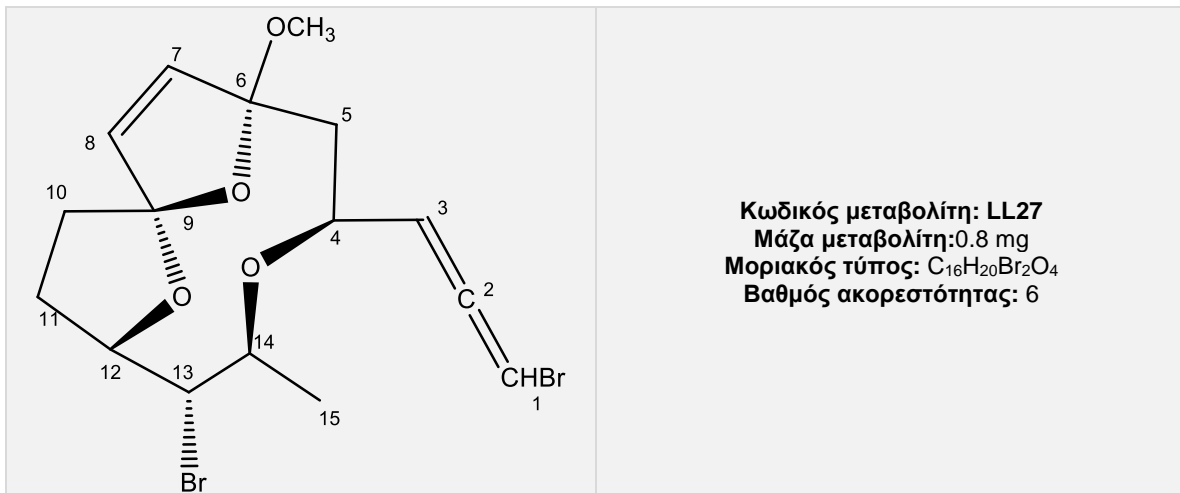
#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1	5.97 dd (5.6, 1.3)	N.D	
2		202.0	H-1
3	5.34 dd (7.5, 5.8)	103.2	H-1
4	4.90 m	77.4	H-5a, H-5b, H-6, H-14
5a	1.88 m	35.9	
5b	1.91 m		
6	4.65 ddd (8.6, 5.5, 1.8)	83.0	H-5a, H-5b
7	4.01 td (7.5, 1.8)	82.5	H-8, H-16
8a	2.41 dd (14.5, 7.5)	43.0	
8b	2.44 dd (14.5, 1.8)		
9		117.7	H-8a, H-8b, H-11a, H-12
10	4.30 dd (6.0, 1.8)	53.5	H-11a
11α	2.72 ddd (14.5, 7.0, 1.8)	43.8	H-13
11β	2.66 (14.5, 7.2, 6.0)		
12	4.81 m	84.5	H-11b
13	3.85 m	62.2	H-11b, H-14, H-15
14	3.94 dq (9.4, 6.4)	77.4	H-13, H-15
15	1.39 d (6.4)	23.6	
16	3.31 s	59.3	H-7

Εικόνα 230 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 53.

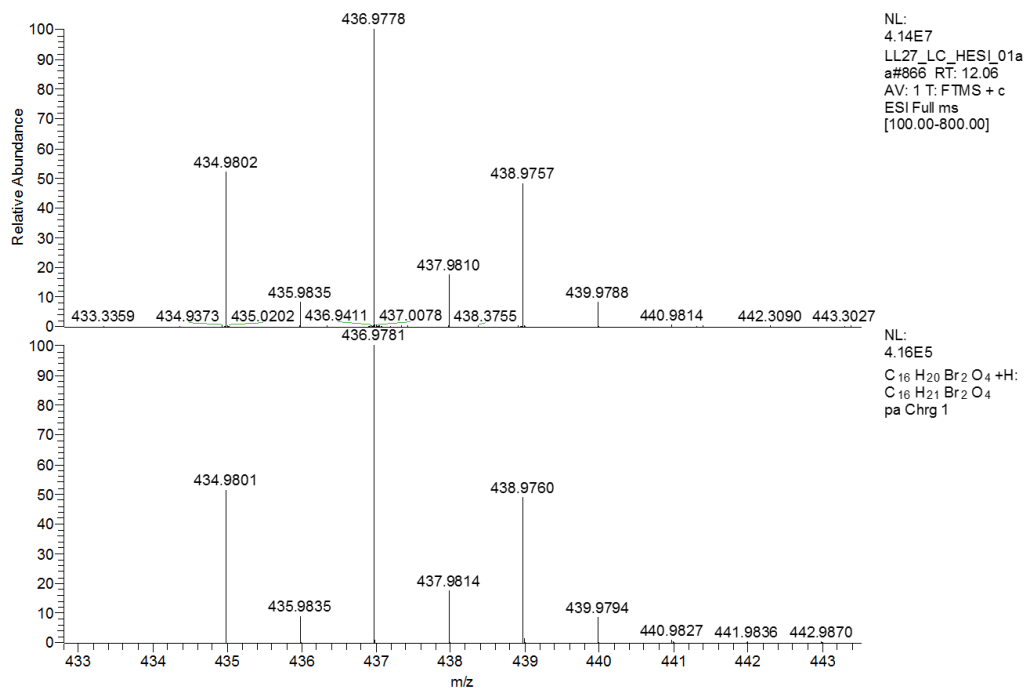




## Μεταβολίτης 54



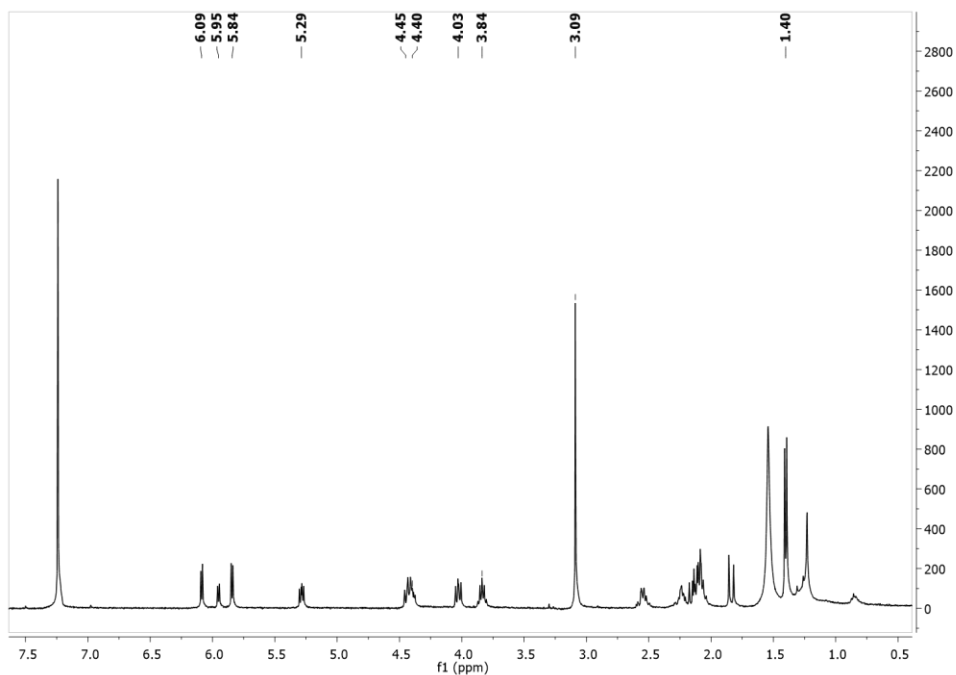
Ο μεταβολίτης **54** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.231) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε *m/z* 435 και ισότοπικές κορυφές σε *m/z* 437 και 439 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου.



**Εικόνα 231** - Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **53**.

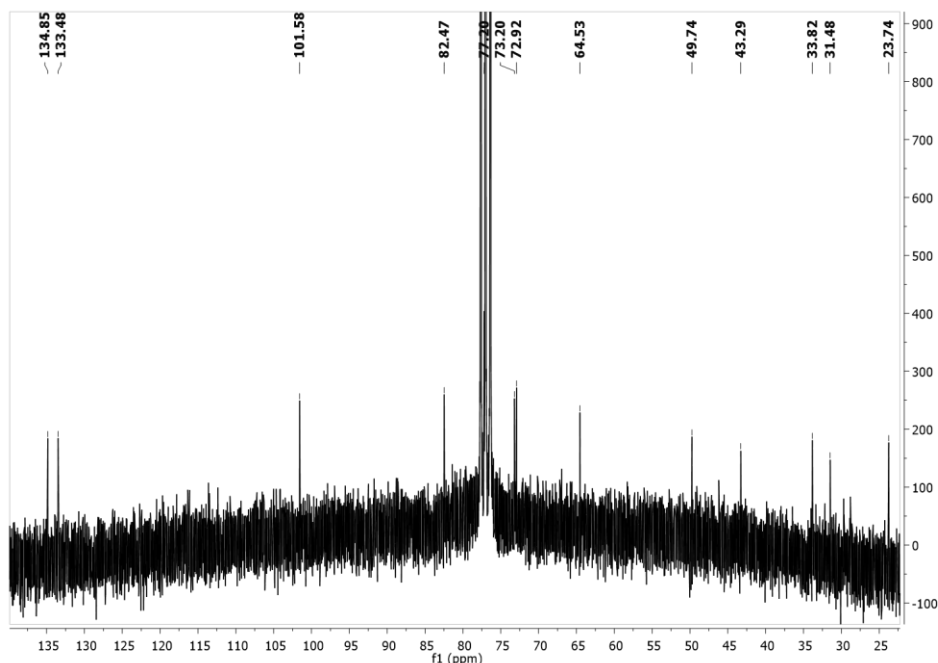
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.232) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.40, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια μίας μεθόξυ ομάδας.
- Τρεις διπλές κορυφές σε  $\delta$  5.95, 6.09, 5.84 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.29, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.45, 4.40 και μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  3.84, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.03, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

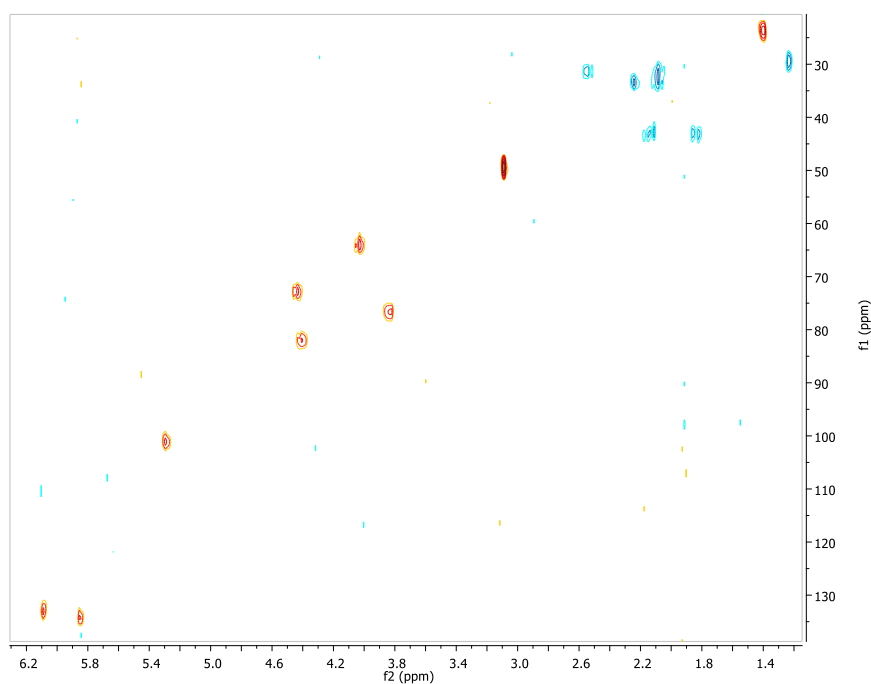


Εικόνα 232 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **54**.

Ο συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC, υπέδειξε την ύπαρξη 16 ανθράκων και συγκεκριμένα 3 τεταρτοταγών, 8 τριτοταγών, 3 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **54** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.233,234,235,236).



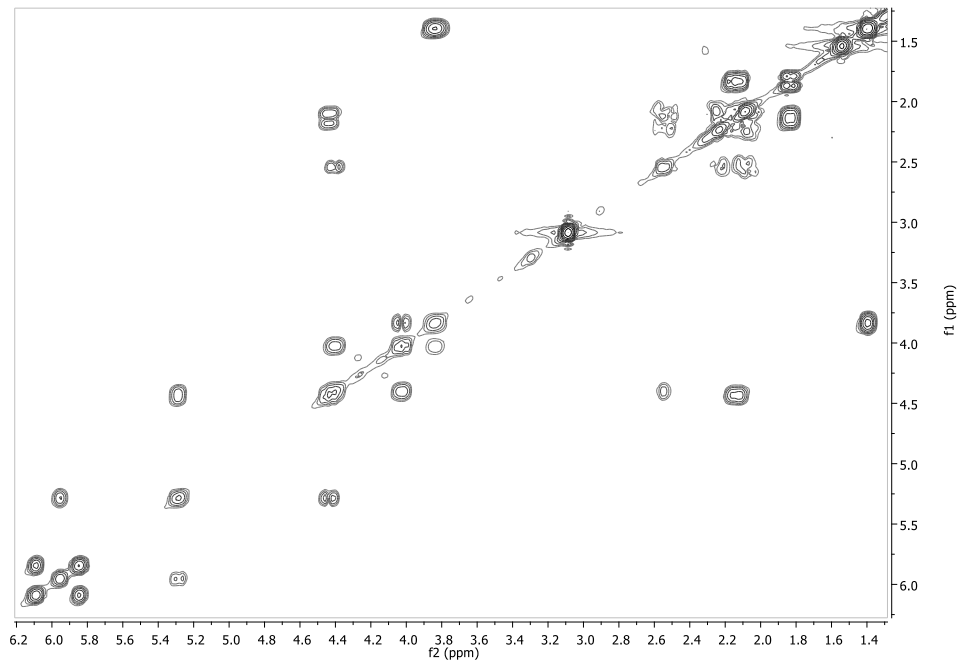
Εικόνα 234 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 54.



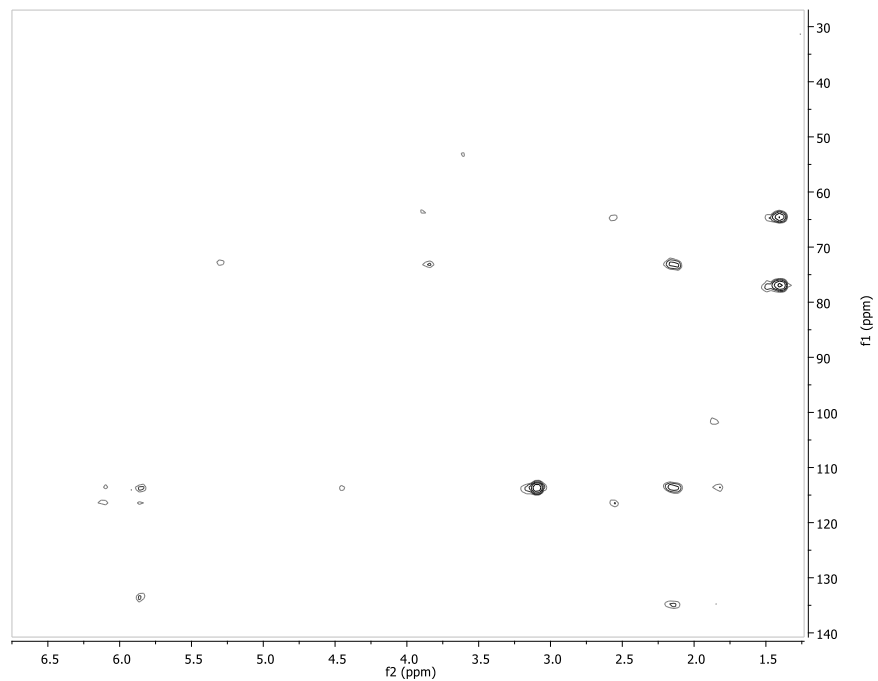
Εικόνα 233 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 54.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών συστημάτων spin H-1–H-5, H-7 – H-8 και H-10 – H-15. Οι συσχετίσεις HMBC του τεταρτοταγούς διπλά οξυγονωμένου άνθρακα C-6 με τα πρωτόνια H<sub>2</sub>-5, H-7 και H-8 και με τα H<sub>3</sub>-16 υπέδειξαν την σύνδεση των spin συστημάτων H-1–H-5 και H-7 – H-8 μέσω του C-6, καθώς και την υποκατάσταση του C-6 με μία μεθόξυ ομάδα. Η συσχέτιση

του τεταρτοταγούς διπλά οξυγονωμένου άνθρακα C-9 με τα H-7, H-8 καθώς και με τα H<sub>2</sub>-11 υπέδειξαν τη σύνδεση των συστημάτων spin H-7 – H-8 και H-10 – H-11 μέσω του C-9. Η σύνδεση των συστημάτων spin H-1– H-5 και H-14 – H-15 δια μέσου αιθερικής γέφυρας που συνδέει τους άνθρακες C-4 και C-14 υπεδείχθη από την συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-4 με το H-14 (Εικ.238).

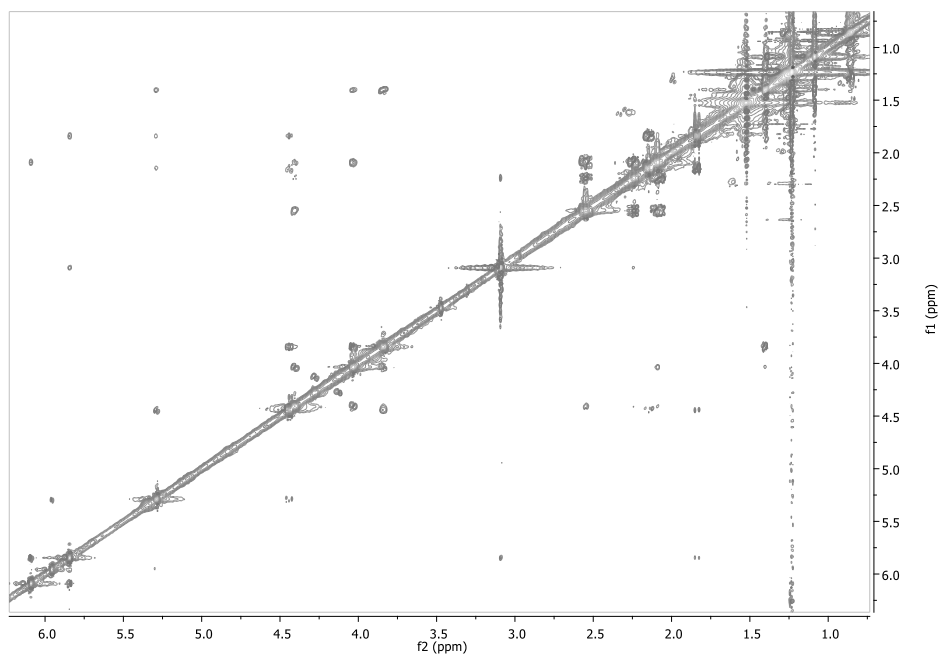


Εικόνα 235 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 54.



Εικόνα 236 - Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 54.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **54** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις (i) του H-14 με τα H-4 και H-12 (ii) του H-12 με το H-11α υπέδειξαν ότι τα H-4, H-11α, H-12 και H-14 είναι ομοεπίεδα, ενώ η συσχέτιση (iii) του H-13 με το H-11β υπέδειξε ότι τα H-13, H-11β είναι ομοεπίεδα στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Επιπρόσθετα, οι συσχετίσεις του H<sub>3</sub>-16 με το H<sub>β</sub>-10, του H-8 με το H-10α και του H-7 με το H-5α προσδιόρισε τον προσανατολισμό του H<sub>3</sub>-16 ως ομοεπίεδο με τα H-13 και H-11β (Εικ.237,238).



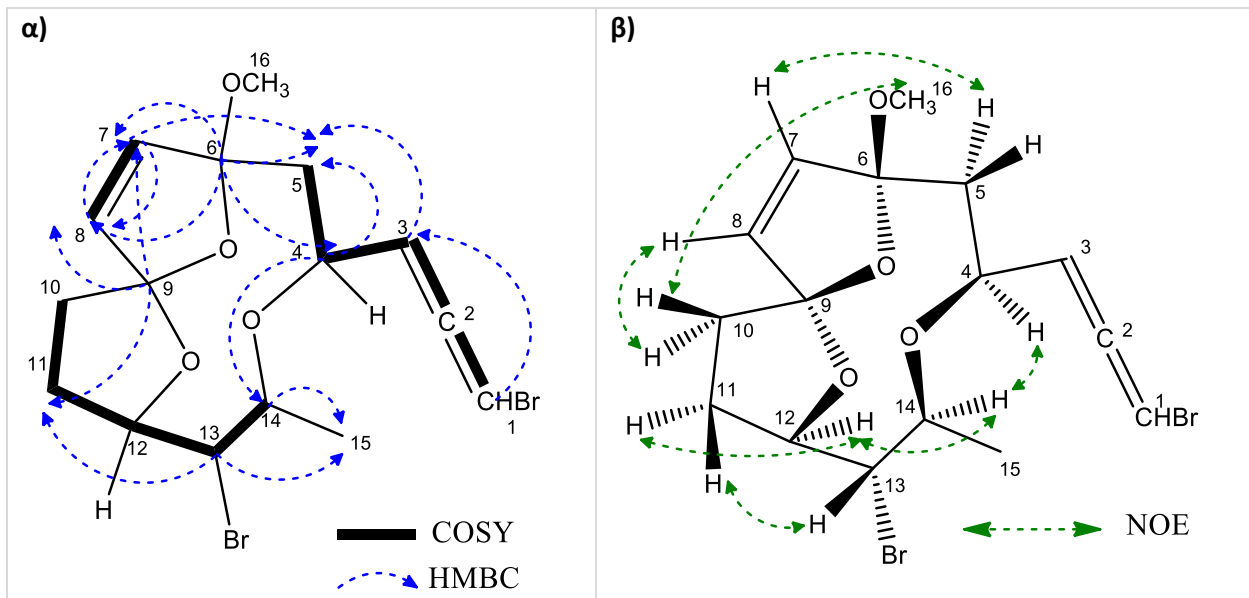
Εικόνα 237 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **54**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **54** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **54** παρατίθενται στον Πίνακα 168.

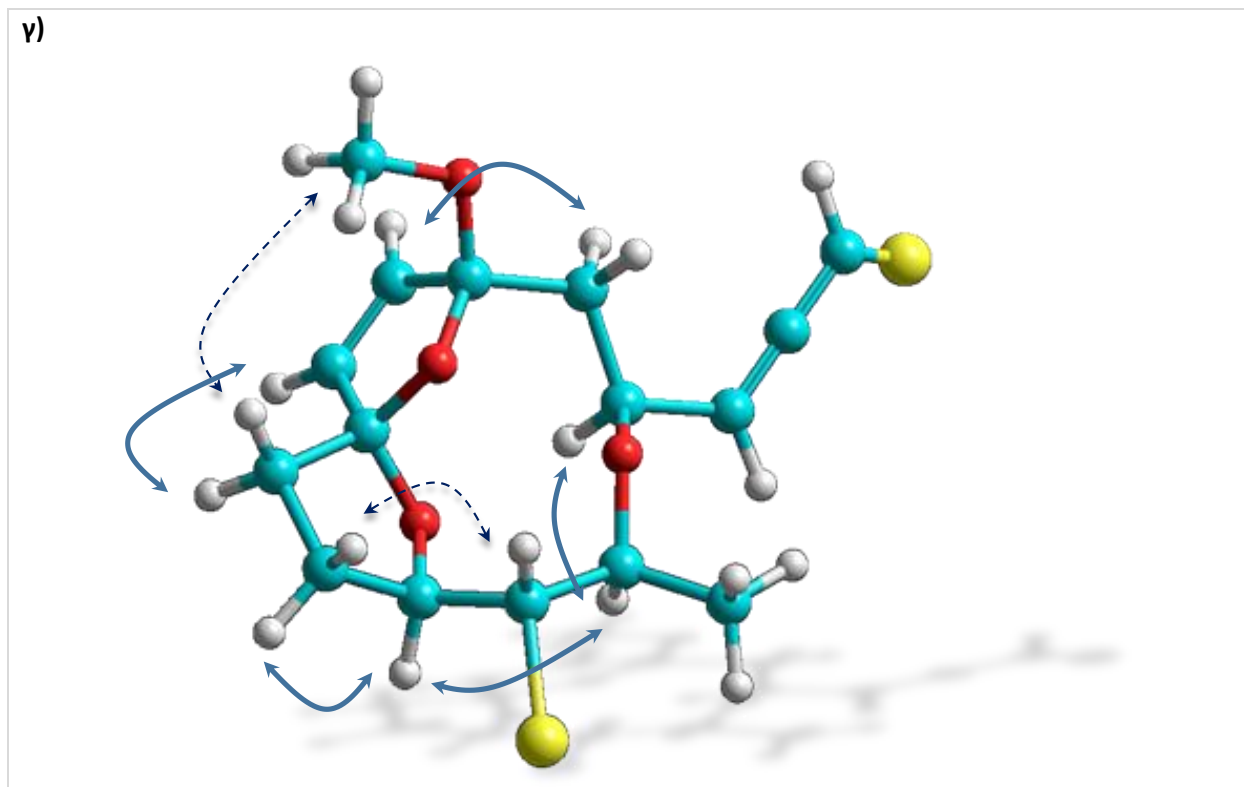
Πίνακας 168 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 54.

#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1	5.95 d (5.6)	72.9	H-3
3	5.29 dd (8.1, 5.6)	101.6	H-5α
4	4.45 m	73.2	H-5β, H-14
5α	1.84 br d (15.0)	43.3	
5β	2.12 m		
6		113.9	H-4, H-5α, H-5β, H-7, H-8, H-16
7	5.84 d (5.6)	134.9	H-5α, H-5β, H-8
8	6.09 d (5.6)	133.5	H-7
9		116.3	H-7, H-8, H-11α
10α	2.08 m	33.8	
10β	2.24 m		
11α	2.55 m	31.5	
11β	2.09 m		
12	4.40 m	82.5	
13	4.03 dd (9.6, 7.6)	64.5	H-11α, H-15
14	3.84 (7.6, 6.7)	77.2	H-15
15	1.40 d (6.7)	23.7	
16	3.09 s	49.7	

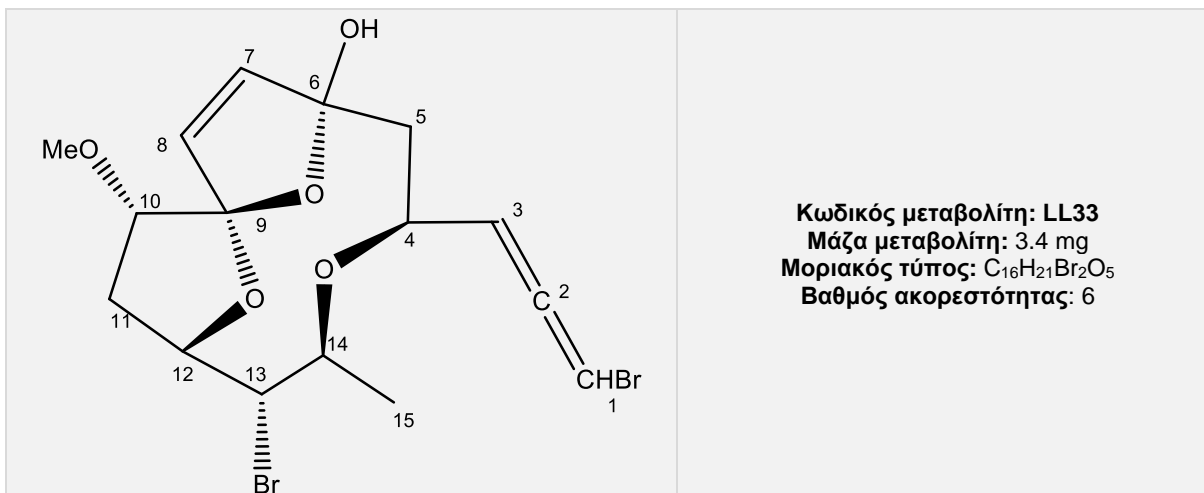
Εικόνα 238 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 54.



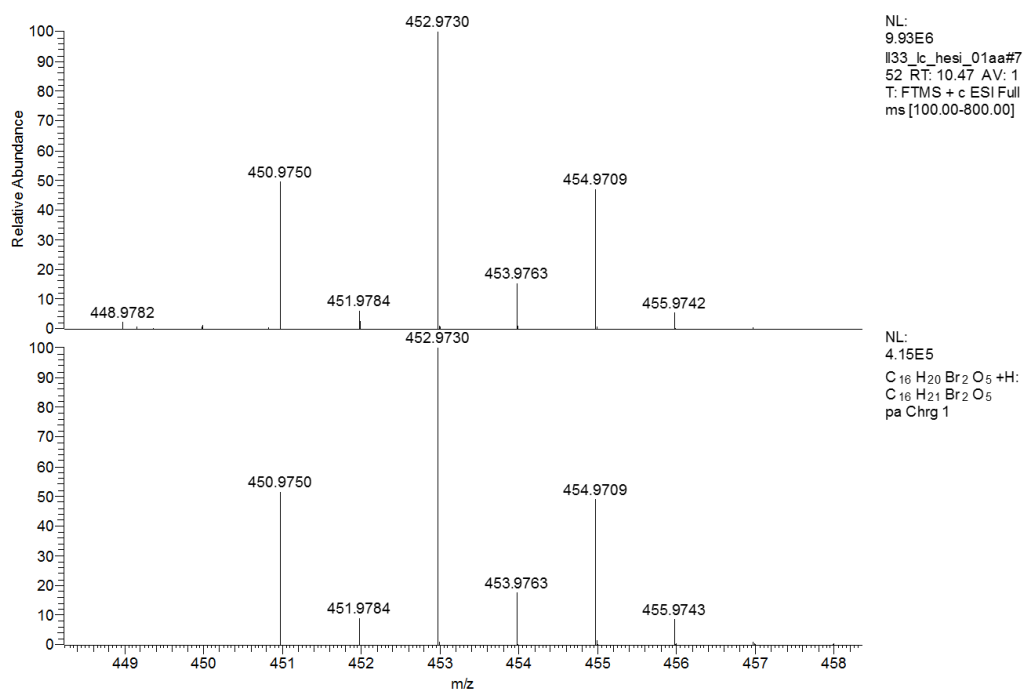




## Μεταβολίτης 55



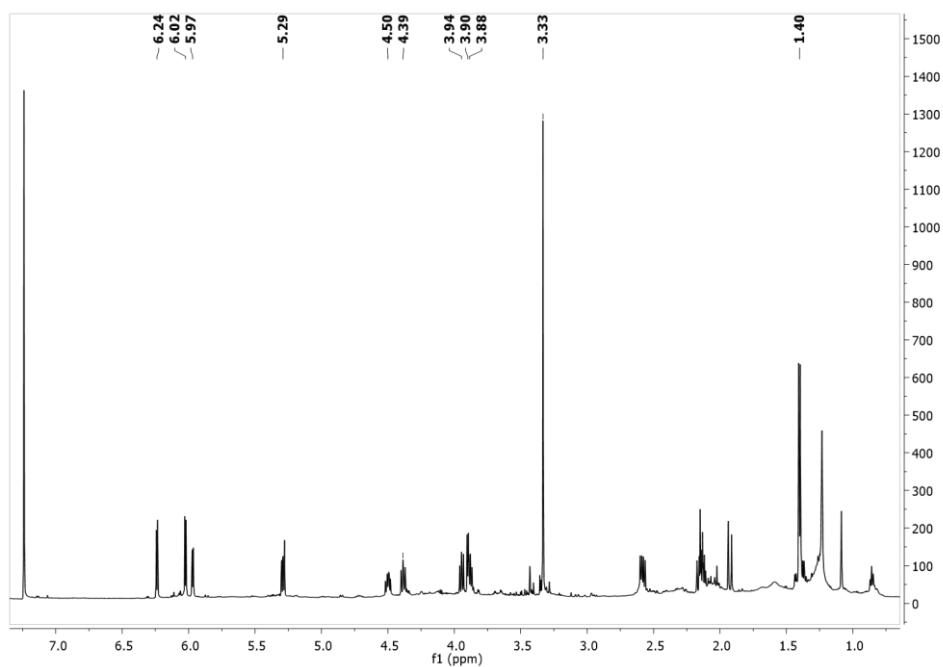
Ο μεταβολίτης **55** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.239) εμφανίζεται το  $[M+H]^+$  σε  $m/z$  451 και ισοτοπικές κορυφές  $m/z$  σε 453 και 455 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου.



Εικόνα 239- Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη **55**.

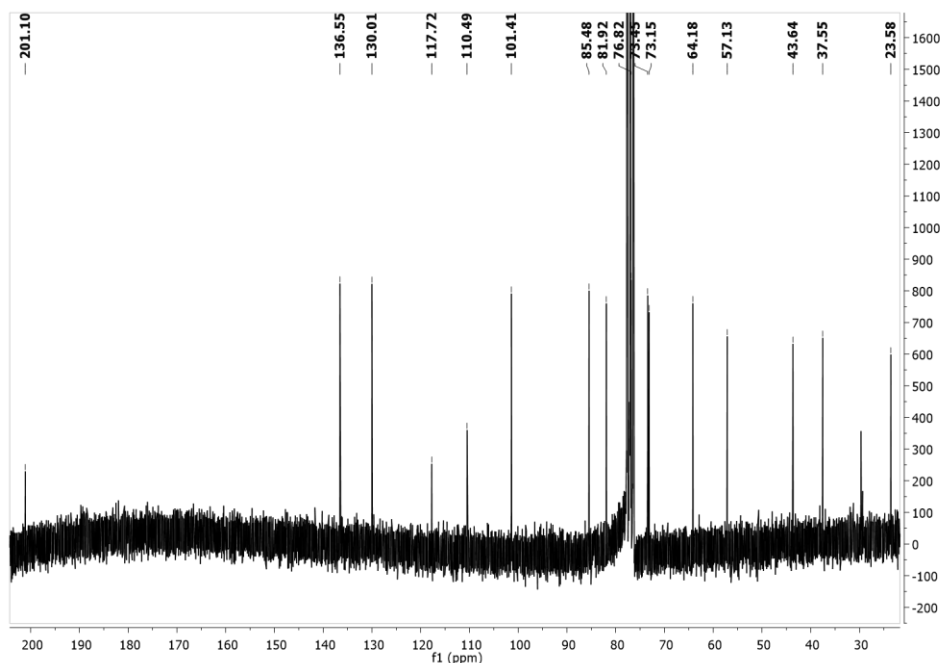
Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Εικ.240) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.40, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  3.33, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια μίας μεθόξυ-ομάδας.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  5.97, 5.29 και δύο διπλές κορυφές σε  $\delta$  6.02 και 6.24, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  4.39, δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  3.90, 3.88 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.50, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.94, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

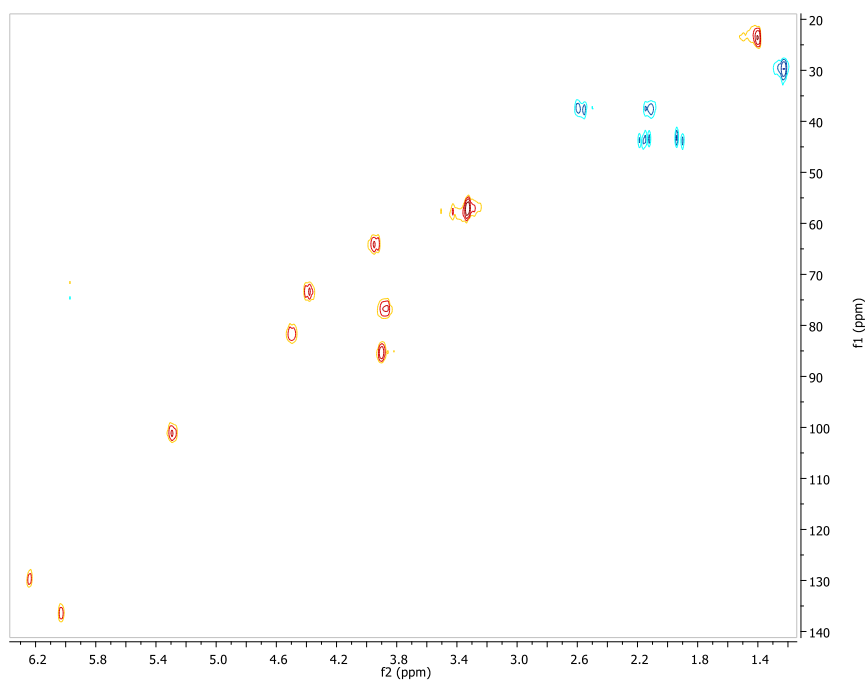


Εικόνα 240 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **55**.

Ο συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 16 ανθράκων και συγκεκριμένα 3 τεταρτοταγών, 9 τριτοταγών, 2 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ανθράκων. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **55** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.241,242,243,244).



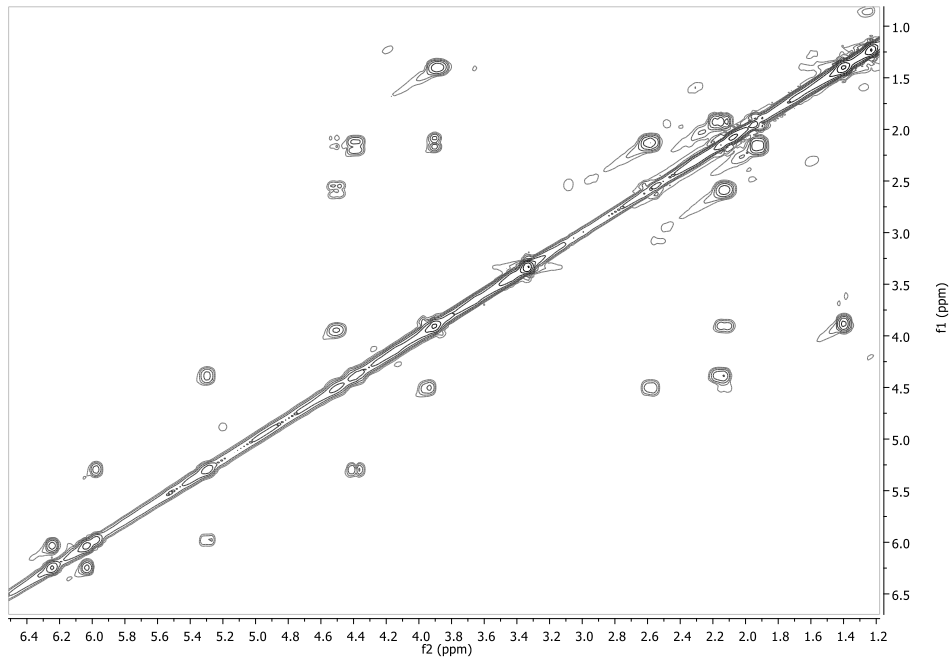
Εικόνα 242 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 55.



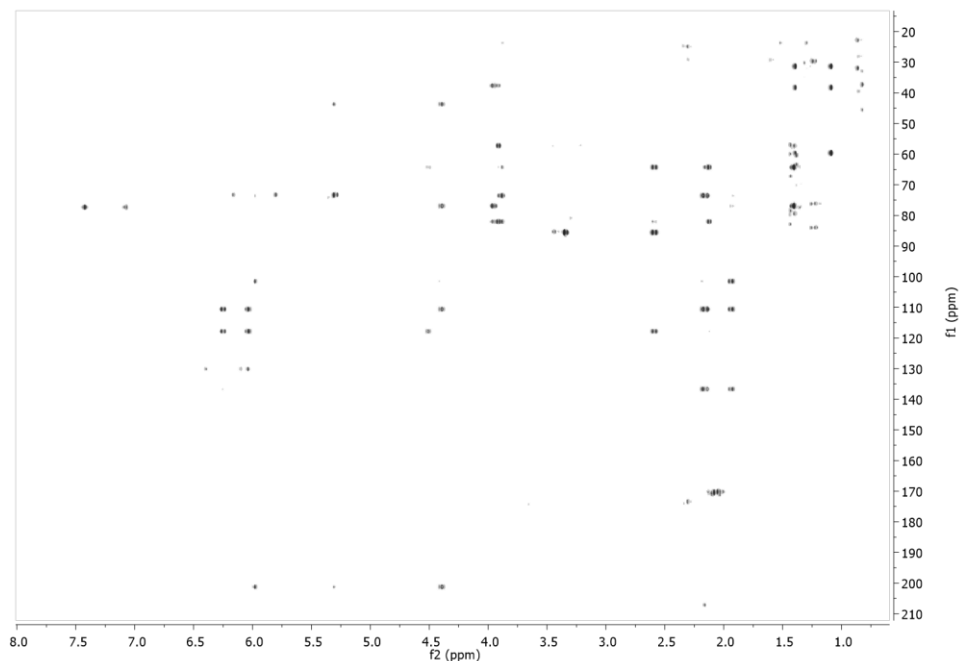
Εικόνα 241 -Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 55.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη τριών διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-5, H-7 – H-8 και H-10 – H-15. Οι συσχετίσεις HMBC του τεταρτοταγούς διπλά οξυγονωμένου άνθρακα C-6 με τα H-4, H<sub>2</sub>-5 καθώς και με τα βινυλικά πρωτόνια H-7 και H-8 υπέδειξαν τη σύνδεση των

συστημάτων spin H-1 – H-5 και H-7 – H-8 μέσω του C-6. Οι συσχετίσεις του διπλά οξυγονωμένου άνθρακα C-9 με το βινυλικά πρωτόνια H-7 και H-8, καθώς και με τα H<sub>2</sub>-11 και H-12 υπέδειξαν τη σύνδεση των συστημάτων spin H-7 – H-8 και H-10 – H-15 μέσω του C-9. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του τριτοταγούς οξυγονωμένου άνθρακα C-4 με το H-14 υπέδειξε τη σύνδεση των συστημάτων spin H-1 – H-5 και H-10 – H-15 μέσω μίας αιθερικής γέφυρας που συνδέει τους άνθρακες C-4 και C-14 (Εικ.246).

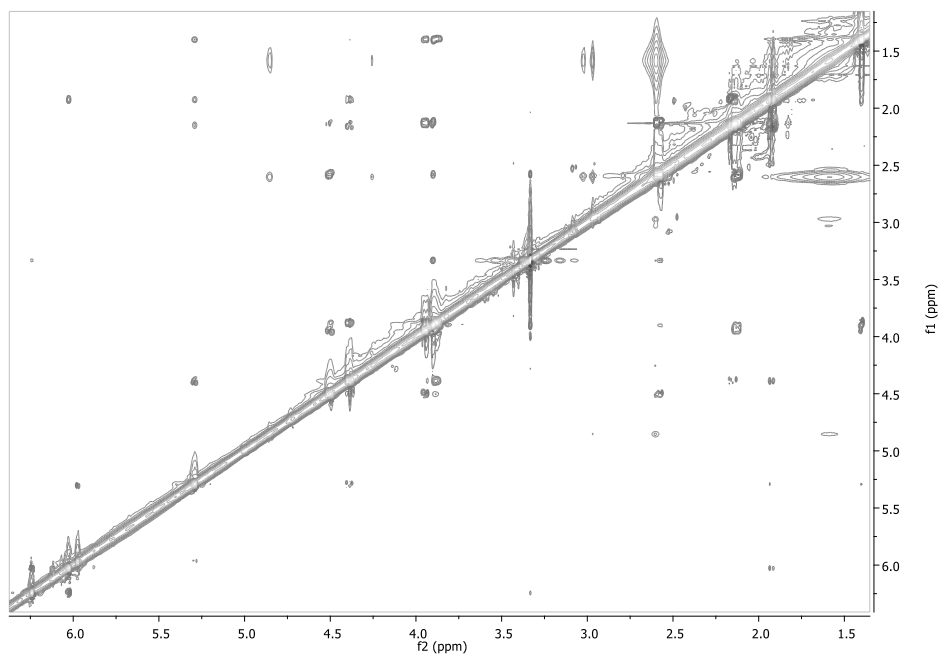


Εικόνα 243 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 55.



Εικόνα 244 – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 55.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **55** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις (i) του H-4 με το H-14 (ii) του H-14 με το H-12 (iii) του H-12 με το H-11α (iv) του H-11α με το H<sub>3</sub>-16 υπέδειξαν ότι τα H-4, H-11α, H-12, H-14 και H-16 είναι ομοεπίπεδα. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του H-13 με το H-11β υπέδειξε ότι τα H-13 με το H-11β είναι ομοεπίπεδα στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Τέλος η συσχέτιση του H-7 με το H-5α υπέδειξε την θέση του υδροξυλίου πάνω από το επίπεδο, καθώς σε αντίθετη στερεοχημεία δεν μπορεί να στοιχειοθετηθεί η συγκεκριμένη NOE συσχέτιση (Εικ.245,246).



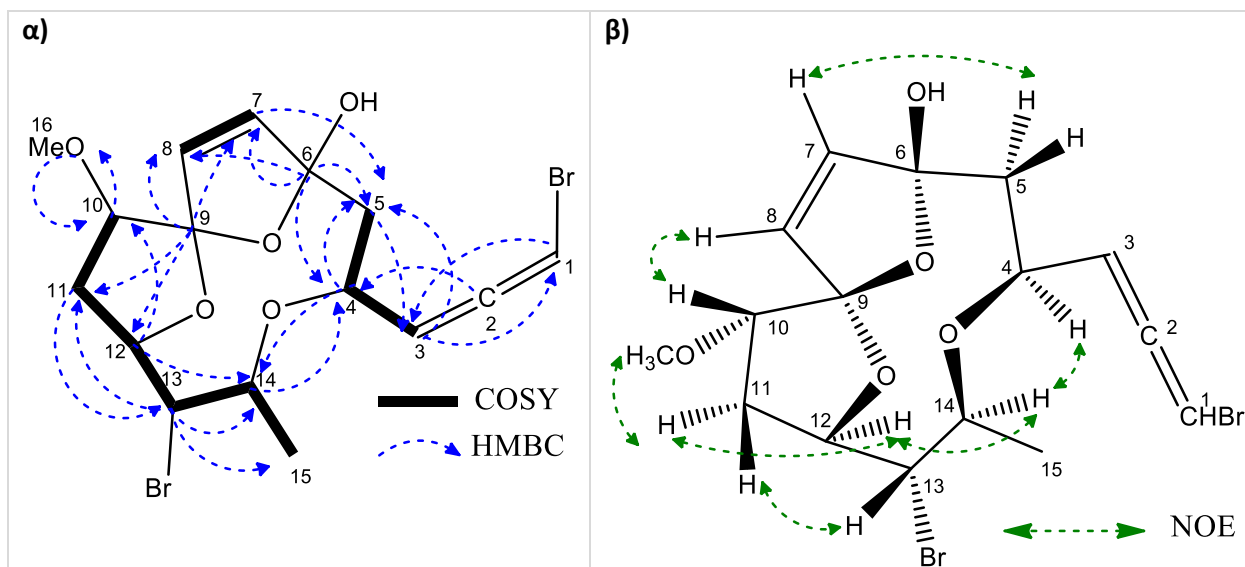
Εικόνα 245 – Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **55**.

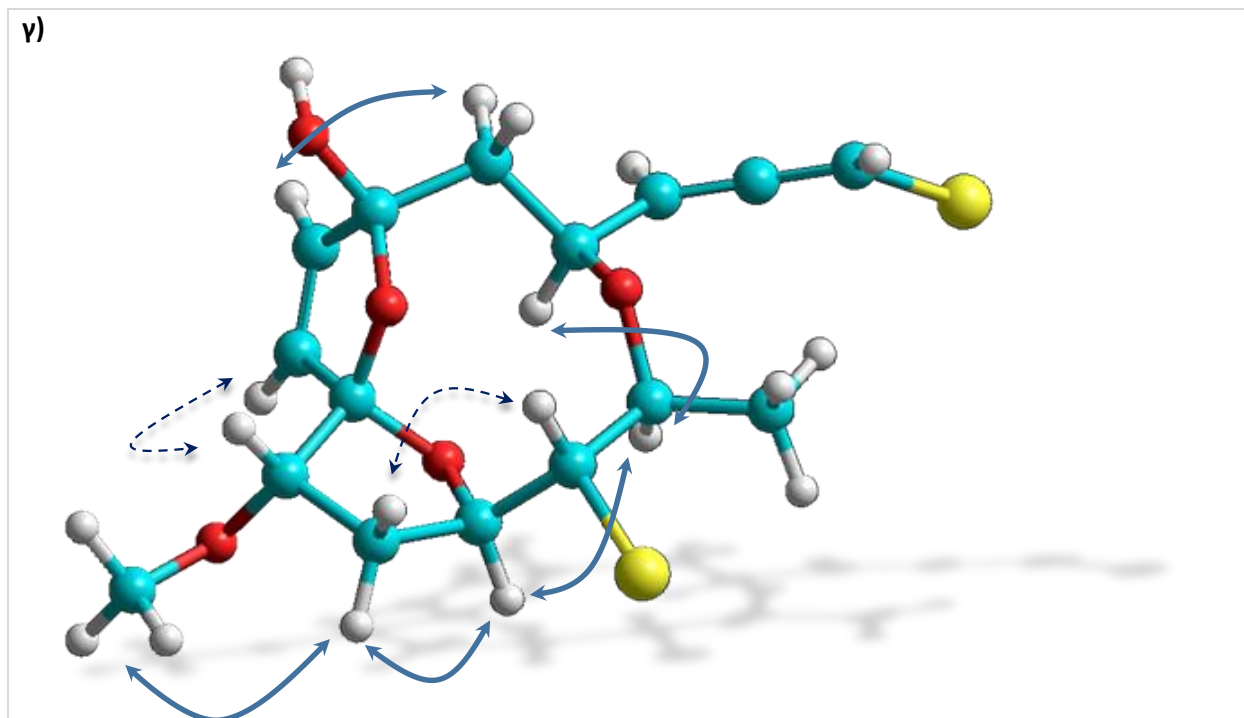
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **55** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **55** παρατίθενται στον Πίνακα 169.

Πίνακας 169 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 55.

#	<sup>1</sup> H NMR	<sup>13</sup> C NMR	HMBC
1	5.97 dd (5.5, 0.9)		H-3
2		201.1	H-1, H-3, H-4
3	5.29 dd (7.9, 5.5)	1014	H-1, H-5α
4	4.39 t (7.9)	73.2	H-1, H-3, H-5β, H-14
5α 5β	1.92 d (14.9) 2.16 m	43.6	H-3, H-4
6		110.5	H-4, H-5α, H-5β, H-7, H-8
7	6.02 d (5.6)	136.6	H-5α, H-5β
8	6.24 d (5.6)	130.0	H-7
9		117.7	H-7, H-8, H-11α, H-12
10	3.90 m	85.5	H-11α, H-16
11α 11β	2.57 dd (14.4, 7.9) 2.11 m	37.6	H-10, H-13
12	4.50 ddd (9.4, 7.9, 5.6)	81.9	H-10, H-11β, H-13, H-14
13	3.94 dd (9.4, 7.9)	64.2	H-11α, H-11β, H-12, H-14, H-15
14	3.88 m	76.8	H-4, H-13, H-15
15	1.40 d (6.6)	23.6	
16	3.33 s	57.1	H-10

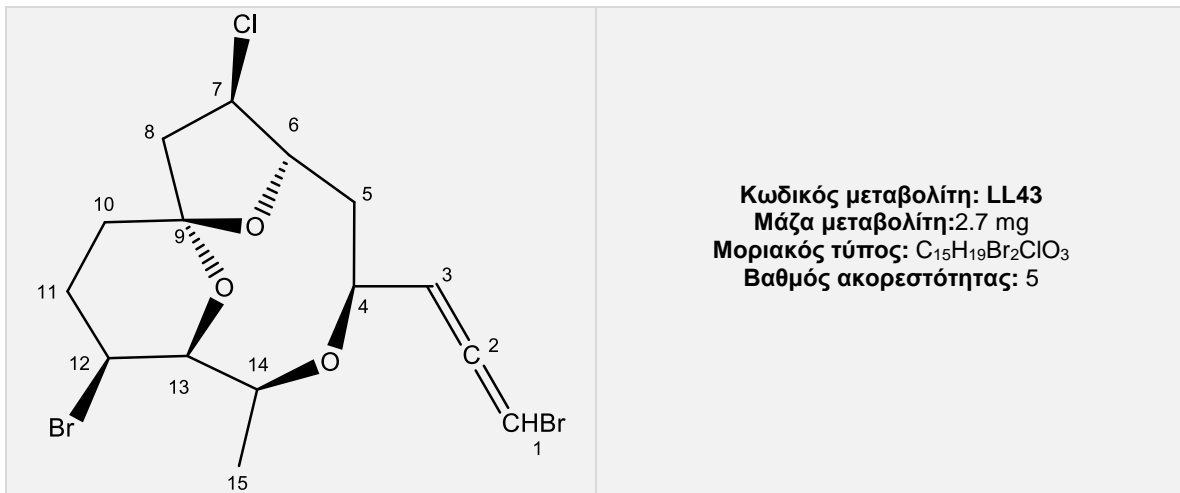
Εικόνα 246 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 55.



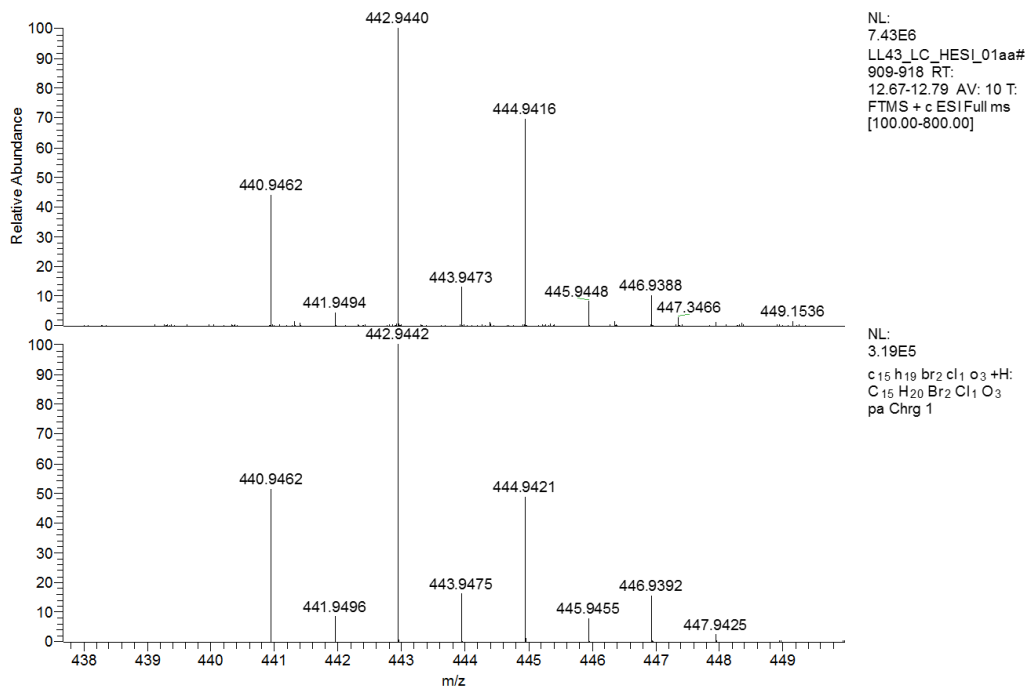




## Μεταβολίτης 56



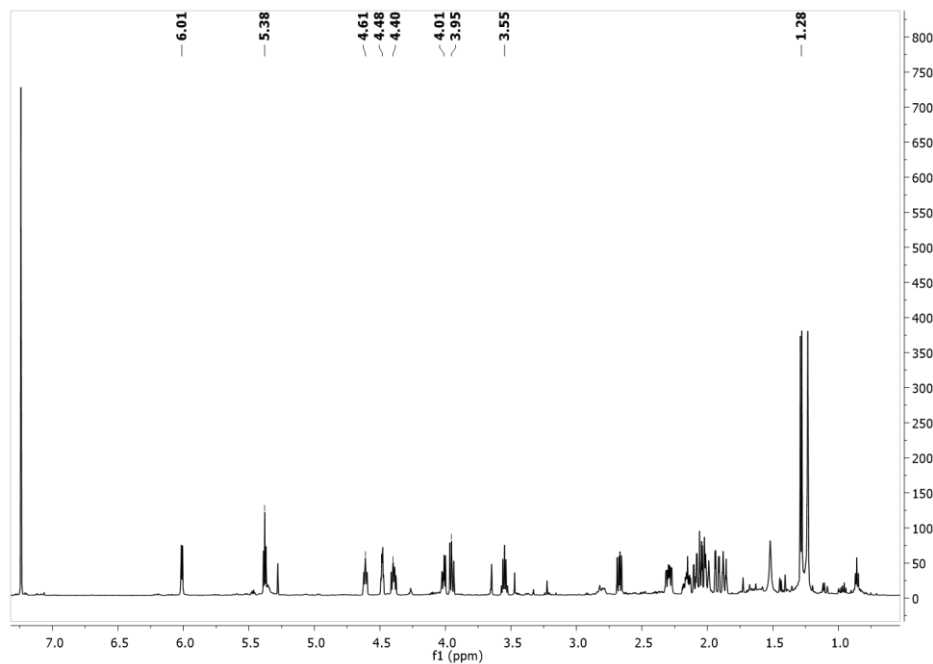
Ο μεταβολίτης **56** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας HR-ESI-MS (Εικ.247) εμφανίζεται το [M+H]<sup>+</sup> σε  $m/z$  441 και ισοτοπικές κορυφές σε  $m/z$  443, 445 και 447 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.



Εικόνα 247 – Φάσμα μάζας (HR-ESI-MS) του μεταβολίτη 56.

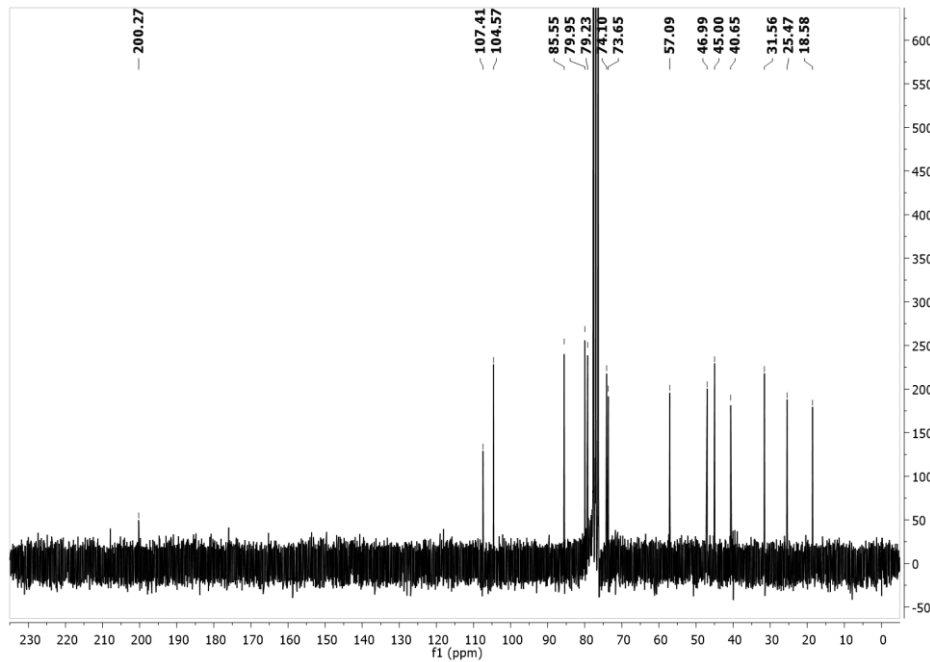
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.248) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλη κορυφή σε  $\delta$  1.28, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.01 και μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  5.38, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.61, 4.48, μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.95 και μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  3.55, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.40, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.01, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.

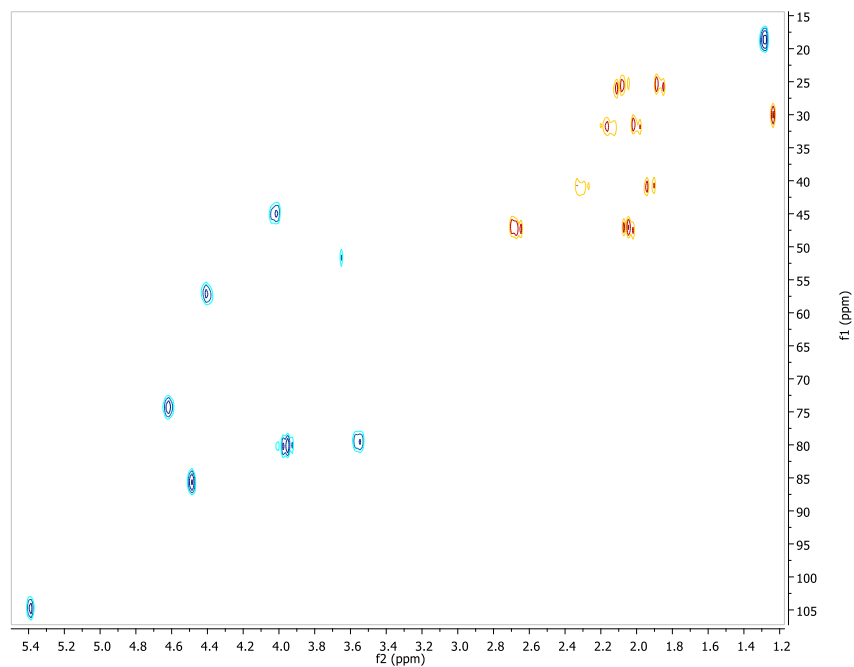


Εικόνα 248 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **56**.

Ο συνδυασμός των φάσματος  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC, υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 2 τεταρτοταγών, 8 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **56** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.249,250,251,252).

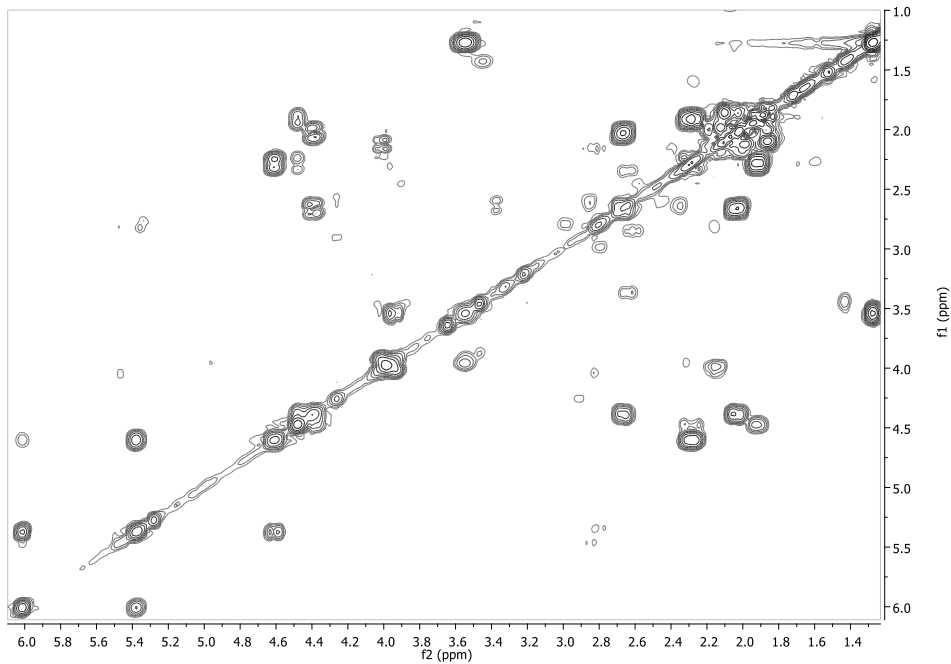
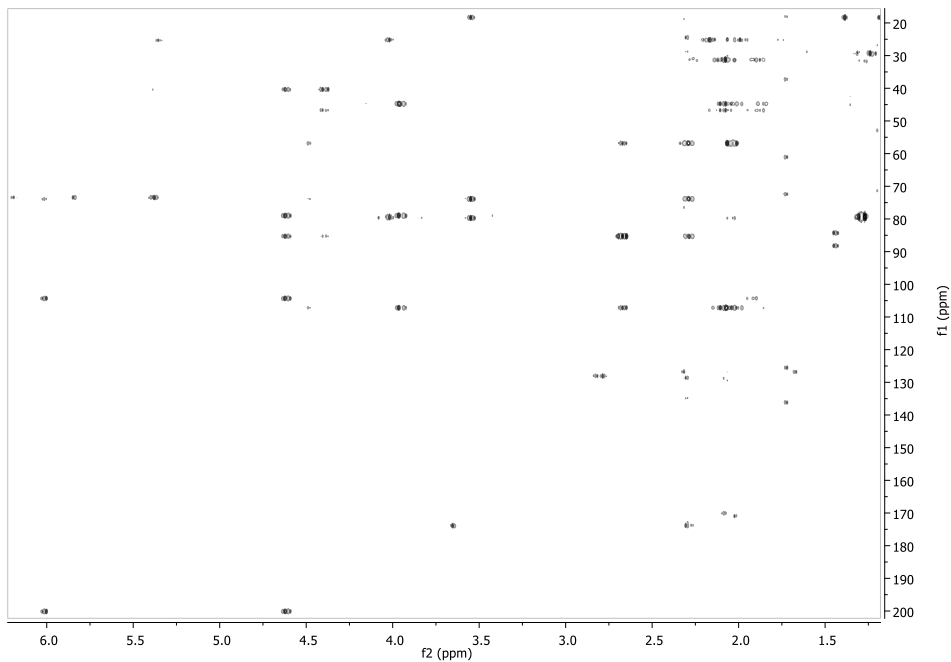


Εικόνα 249 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 56.



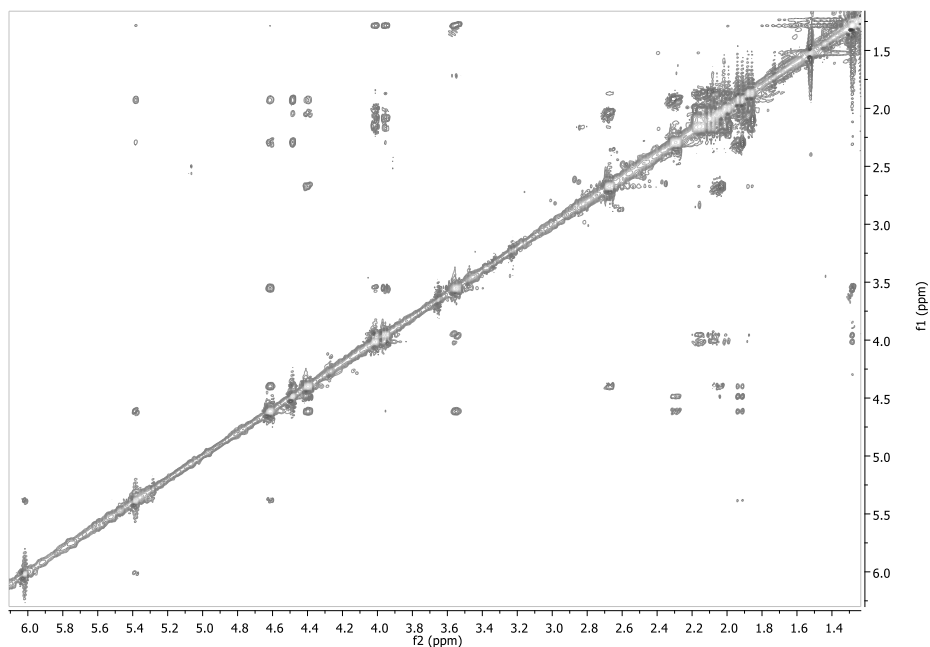
Εικόνα 250 - Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 56.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-8 και H-10 – H-15. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις HMBC του διπλά οξυγονωμένου τεταρτοταγούς άνθρακα C-9 με τα πρωτόνια H-6, H<sub>2</sub>-8 και H-13 υπέδειξαν την σύνδεση των δύο συστημάτων spin μέσω του C-9. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του C-14 με το H-4 υπέδειξε την παρουσία μίας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των C-4 και C-14 (Εικ.254).

Εικόνα 251 – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 56.Εικόνα 252 - Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 56.

Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **56** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Πιο συγκεκριμένα οι συσχετίσεις του (i) H-4 με τα H-7 και H-14 (ii) H-14 με το H-12 (iii) H-7 με τα H-5α και H-8α, υπέδειξαν ότι τα H-4, H-5α, H-7, H-8α, H-12 και H-14 είναι ομοεπίπεδα. Αντίστοιχα, οι συσχετίσεις του H-13 με τα H-10β και H-11β και του H-6 με

το H-8β υπέδειξαν ότι τα H-6, H-8β, H-10β, H-11β και H-13 βρίσκονται στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Η συσχέτιση NOE του H-12 με το H-14 δε θα μπορούσε να παρατηρηθεί στην αντίθετη στερεοχημεία του C-13 (Εικ.253,254).



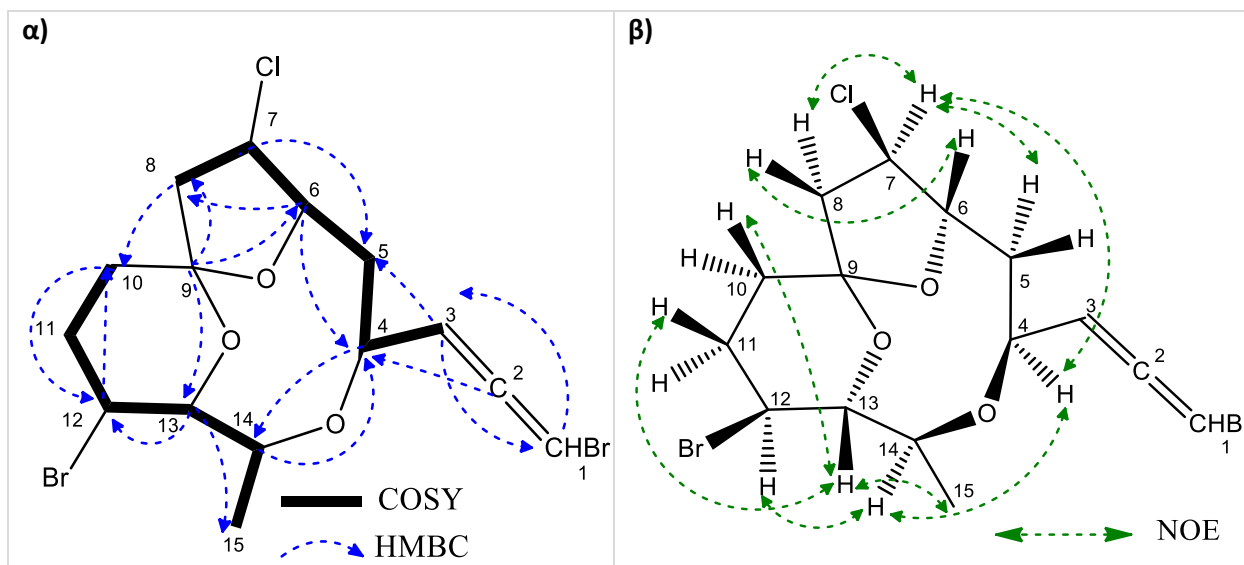
Εικόνα 253- Φάσμα NOESY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **56**.

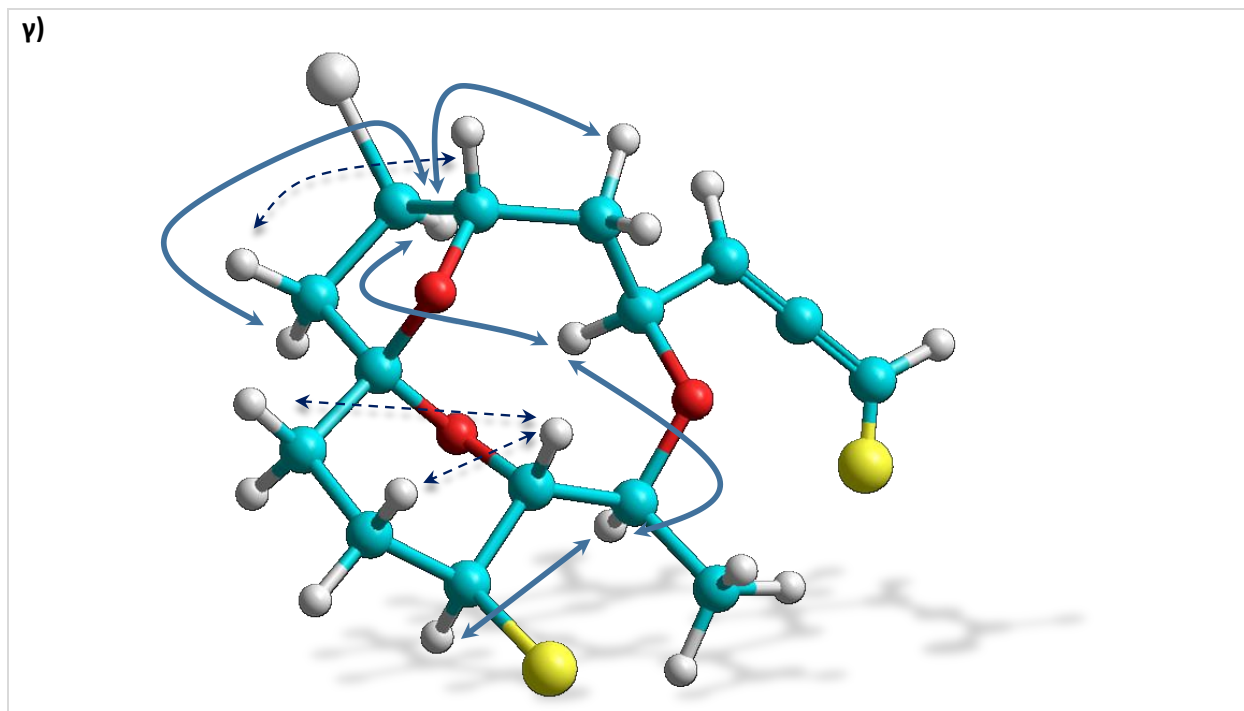
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **56** ως νέο φυσικό προϊόν, μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται στον Πίνακα 170. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **56** με τον μεταβολίτη **50** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά την θέση της αιθερικής γέφυρας, η οποία στον μεταβολίτη **50** συνδέει τους άνθρακες C-9 με C-12 ενώ στον μεταβολίτη **56** συνδέει τους άνθρακες C-9 με C-13.

Πίνακας 170 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 56.

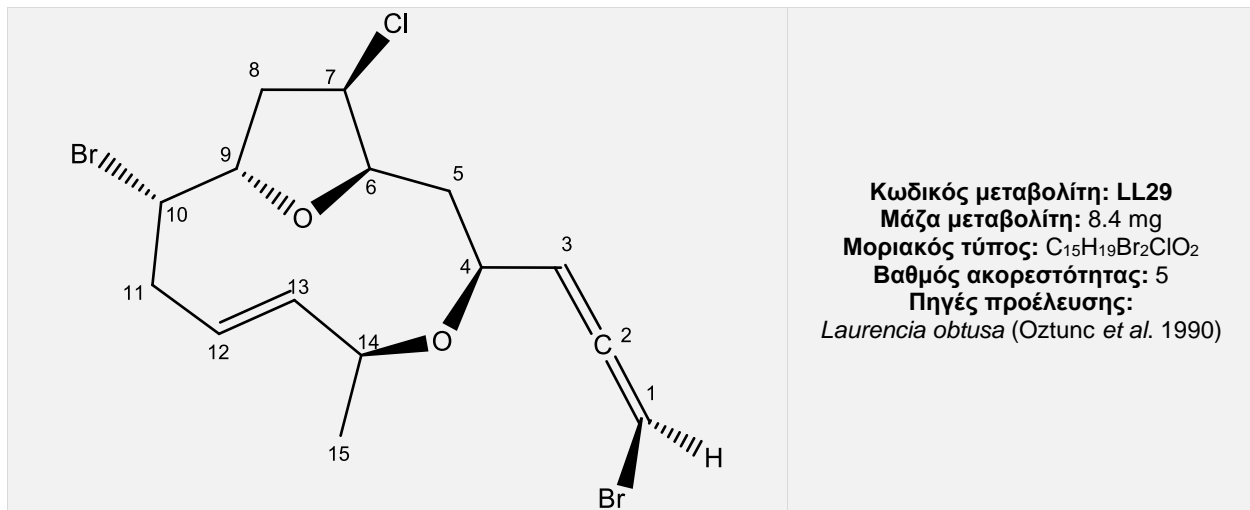
#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1	6.01 dd (5.9, 1.8)	73.7	H-3
3	5.38 dd (5.9, 5.9)	104.6	H-1, H-4, H-5β
4	4.61 m	74.1	H-1, H-5α, H-6, H-14
5α 5β	1.92 m 2.30 ddd (16.4, 9.2, 3.5)	40.7	H-4 H-7
6	4.48 m	85.6	H-4, H-5α, H-7, H-8α
7	4.40 ddd (12.9, 7.6, 5.3)	57.1	H-5α, H-6, H-8α, H-8β
8α 8β	2.67 dd (12.5, 7.6) 2.04 m	47.0	H-7, H-10α, H-10β
9		107.4	H-6, H-8α, H-8β, H-13
10α 10β	1.86 m 2.09 m	25.5	H-11α, H-11β, H-12
11α 11β	1.99 m 2.14 m	31.6	H-10α, H-10β
12	4.01 dd (10.3, 6.0)	45.0	H-10α, H-10β, H-13
13	3.95 dd (10.3, 7.6)	80.0	H-12, H-14, H-15
14	3.55 dq (7.6, 6.7)	79.2	H-4, H-13, H-15
15	1.28 d (6.7)	18.6	H-14

Εικόνα 254 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 56.

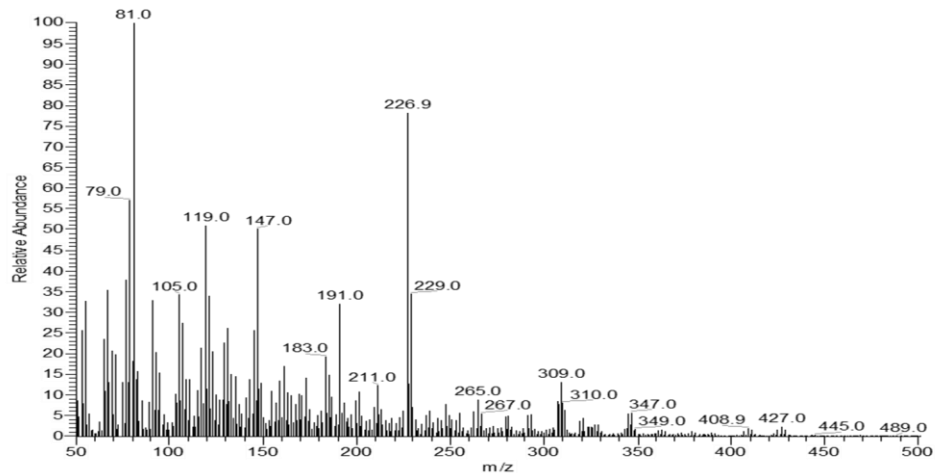




## Μεταβολίτης 57



Ο μεταβολίτης **57** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.255) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 424 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 426, 428 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.



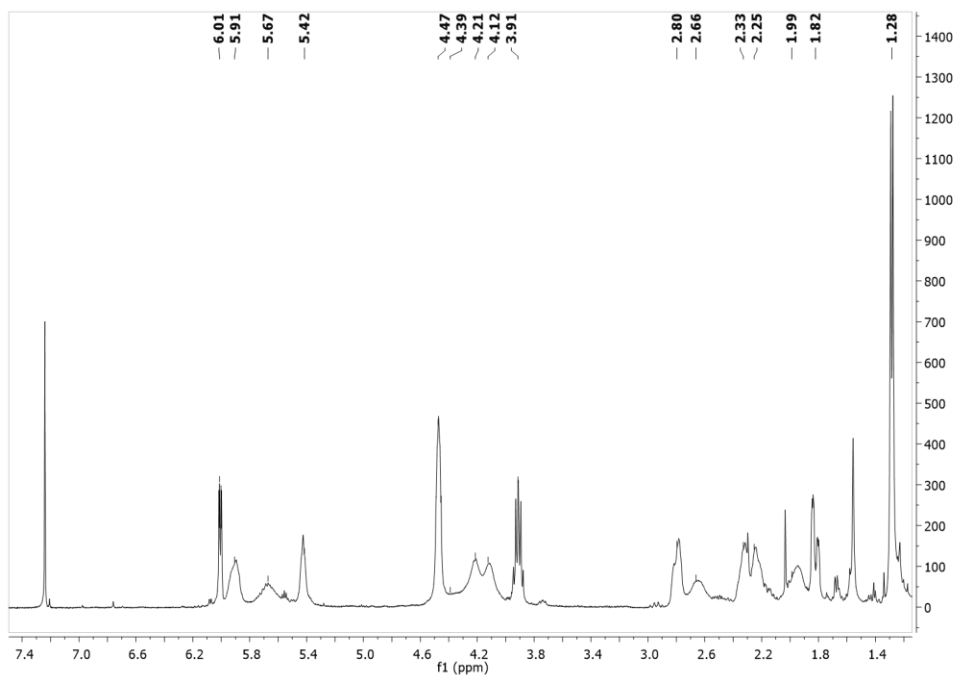
Εικόνα 255 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη 57.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.256) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.28, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.



- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.01 και τρεις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.42, 5.91 και 5.67, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.21, 4.12, 4.39 και 3.91, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.47, η οποία αντιστοιχεί σε δύο πρωτόνια αλογονωμένων ανθράκων.



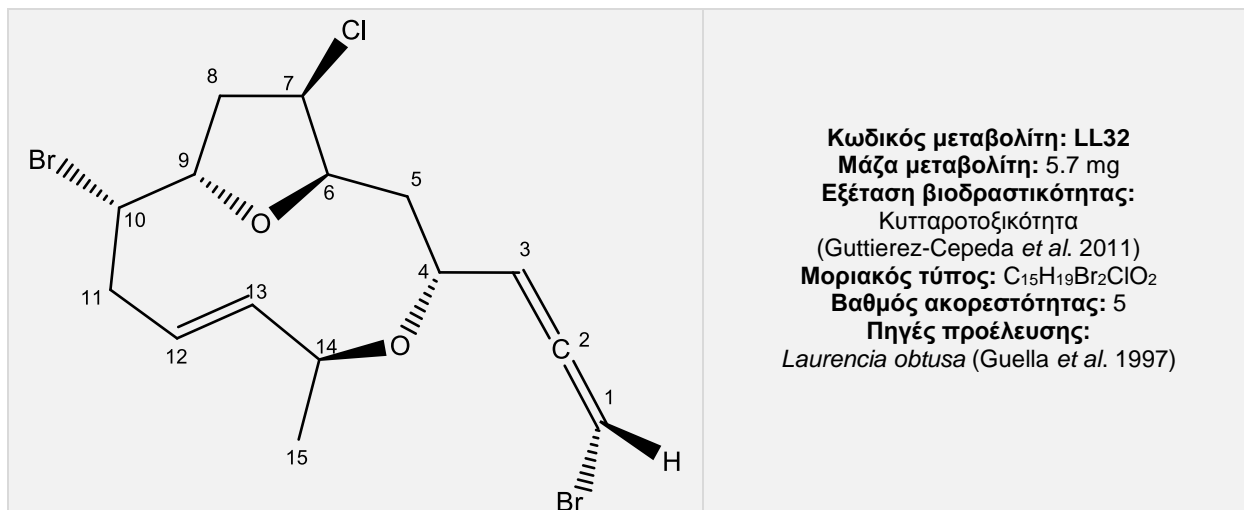
Εικόνα 256 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **57**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **57** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με σκελετό ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο II (obtusallene II) (Oztunc *et al.* 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 171.

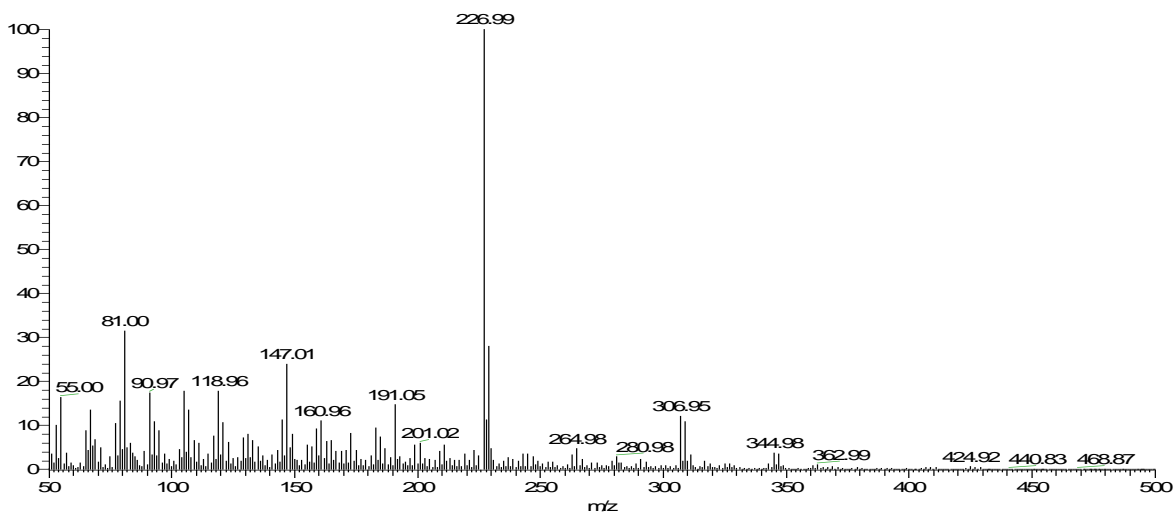
Πίνακας 171 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 57.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.01 dd (5.9, 2.0)	6.01 dd (5.6, 2.0)
3	5.42 m	5.43 dd (5.7, 5.7)
4	4.21 m	4.21 m
5	1.99 m	1.99 ddd (14.7, 9.5, 7.5)
	1.82 m	1.82 ddd (14.7, 3.8, 1.9)
6	4.12 m	4.15 ddd (9.4, 4.3, 1.9)
7	4.47 m	4.45 – 4.50 m
8a	2.33 m	2.37 ddd (13.5, 8.6, 6.0)
8b	2.25 m	2.25 dd (13.5, 6.0)
9	4.39 m	4.38 m
10	4.47 m	4.45-4.50 m
11a	2.80 m	2.83 dddd (15.2, 6.7, 3.7, 1.5)
11b	2.66 m	2.66 ddd (15.4, 6.9, 6.9)
12	5.91 m	5.91 ddd (15.7, 6.7, 6.7)
13	5.67 m	5.68 dd (15.7, 8.2)
14	3.91 m	3.91 dq (8.2, 6.5)
15	1.28 d (6.5)	1.30 d (6.5)

## Μεταβολίτης 58



Ο μεταβολίτης **58** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.257) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 424.

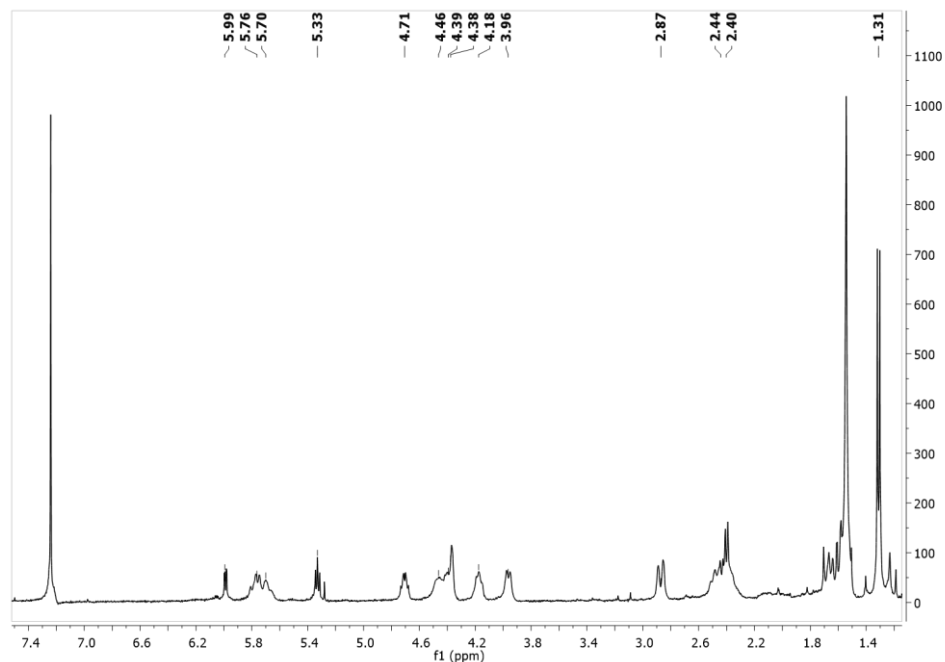


Εικόνα 257 –Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **58**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.258) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.31, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών σε δ 5.99, μία τριπλή κορυφή σε δ 5.33 και δύο πολλαπλές κορυφές σε δ 5.76 και 5.70, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.18, 3.96, 4.71 και 4.39, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.38, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.46, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



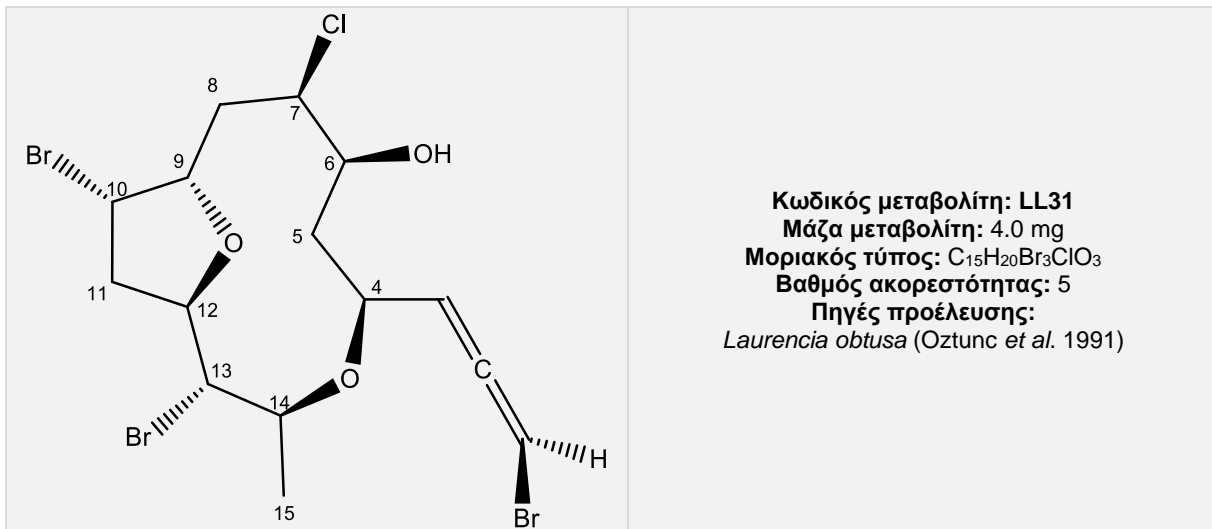
Εικόνα 258 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **58**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **58** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με σκελετό ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο IV (Guella *et al.* 1997). Επιπρόσθετα, ο μεταβολίτης **58** αποτελεί στερεοϊσομερές του μεταβολίτη **57** ως προς την σχετική στερεοχημεία των C-1 και C-4. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **58** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 172.

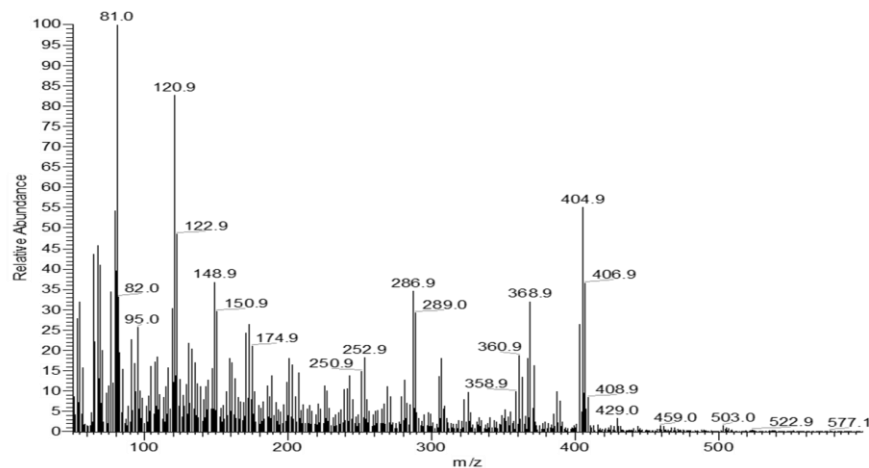
Πίνακας 172 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 59.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	5.99 dd (5.7, 1.6)	6.00 dd (5.6, 1.7)
3	5.33 dd (5.7, 5.6)	5.34 dd (6.6, 5.6)
4	4.18 m	4.18 dddd (9.8, 6.6, 2.0)
5a	1.69 m	1.68 ddd (14.2, 10.5, 2.0)
5b	1.60 m	1.59 ddd (14.2, 10.1, 2.0)
6	3.96 m	3.95 dt (10.5, 2.0)
7	4.38 m	4.38 dt (2.5, 2.0)
8	2.40 m	2.40 m
9	4.71 m	4.70 ddd (8.8, 7.4, 5.5)
10	4.46 m	4.46 ddd (12.0, 5.5, 3.7)
11a	2.87 dd (14.5, 1.8)	2.86 ddd (14.8, 3.6, 1.7)
11b	2.44 m	2.44 ddd (14.8, 12.0, 10.0)
12	5.76 m	5.76 ddd (15.8, 10.0, 1.7)
13	5.70 m	5.67 dd (15.8, 5.1)
14	4.39 m	4.38 qd (6.6, 5.1)
15	1.31 d (6.6)	1.30 d (6.6)

## Μεταβολίτης 59



Ο μεταβολίτης **59** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.259) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 522.

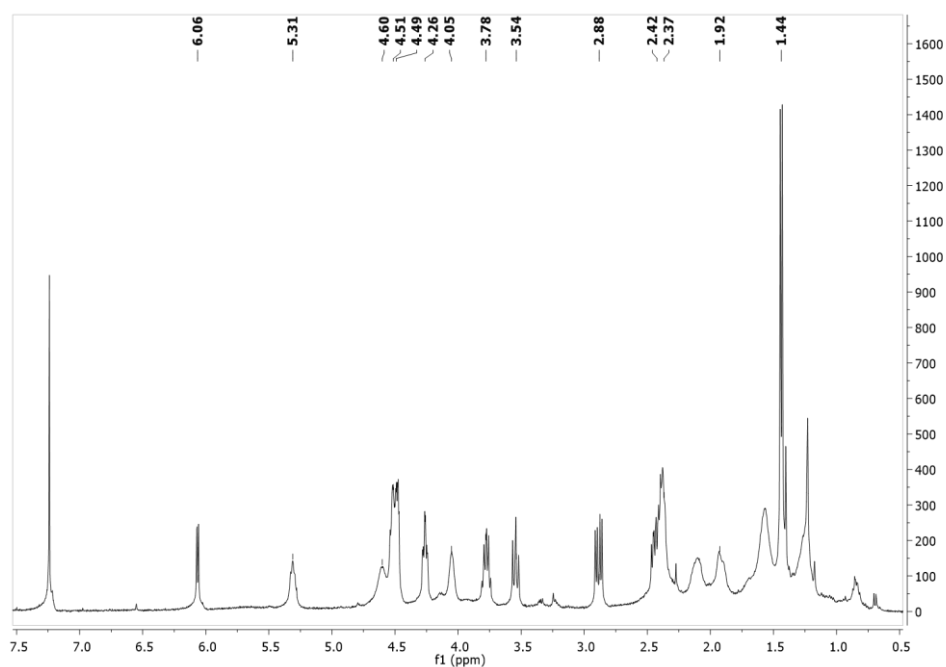


Εικόνα 259 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **59**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.260) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.44, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 6.06 και μία πολλαπλή σε δ 5.31, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Τρεις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.60, 4.05, 4.52, μια τετραπλή διπών κορυφή σε  $\delta$  3.78 και μία διπλή τριπλών σε  $\delta$  4.26, οι οποίες αντιστοιχούν σε πέντε πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.51, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.49 και μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  3.54, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βρωμιωμένων ανθράκων.



Εικόνα 260 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **59**.

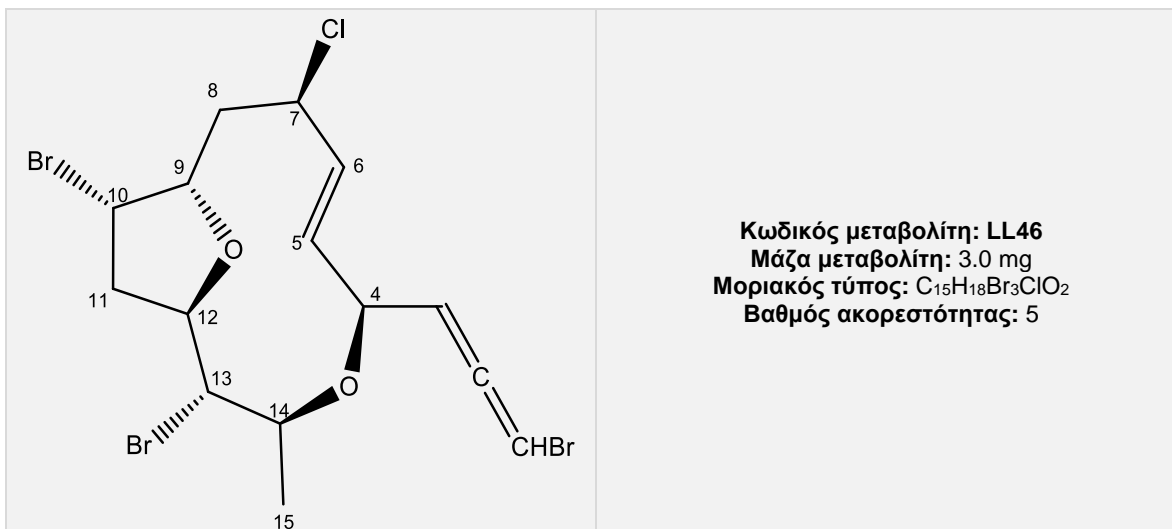
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **59** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με σκελετό ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο VII (obtusallene VII) (Oztunc *et al.* 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 173.

Πίνακας 173 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 59.

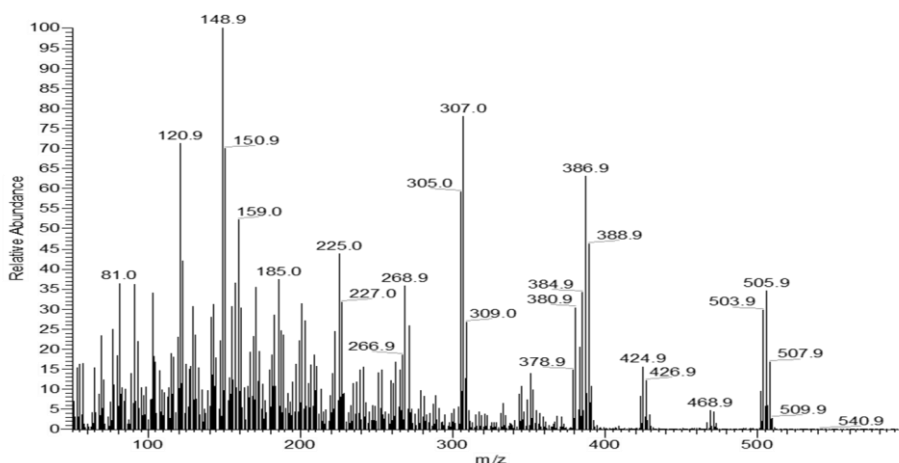
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.06 d (5.6)	6.07 dd (5.6, 1.2)
3	5.31 m	5.32 dd (6.8, 5.6)
4	4.60 m	4.62 m
5a	1.93 m	1.89 br d (15.8)
5b	2.36 m	2.34 br d (15.8)
6	4.05 m	4.06 m
7	4.51 m	4.53 br m
8a 8b	2.37 m	2.38 m
9	4.26 td (7.0, 2.5)	4.27 td (7.0, 2.7)
10	4.49 m	4.49 dtd (5.5, 2.7, 0.6)
11	2.88 dd (15.1, 6.3) 2.42 m	2.90 ddd (14.9, 6.8) 2.44 ddd (14.9, 8.4, 5.5)
12	4.52 m	4.52 dddd (10.4, 8.3, 6.8, 0.6)
13	3.54 dd (9.6, 9.5)	3.55 dd (10.4, 9.0)
14	3.78 qd (9.6, 6.6)	3.79 qd (9.0, 6.3)
15	1.44 d (6.6)	1.47 d (6.3)



## Μεταβολίτης 60



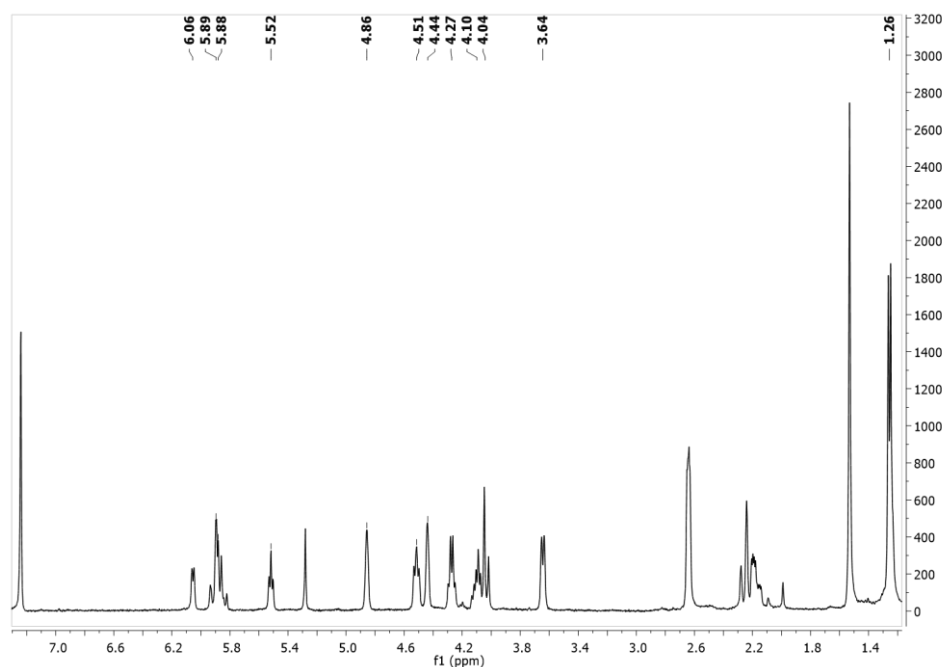
Ο μεταβολίτης **60** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.261) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  504 και ιστοπτικές κορυφές σε  $m/z$  506, 508, 510 με σχετική αναλογία ενδεικτικής της ύπαρξης τριών ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.



Εικόνα 261 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **60**.

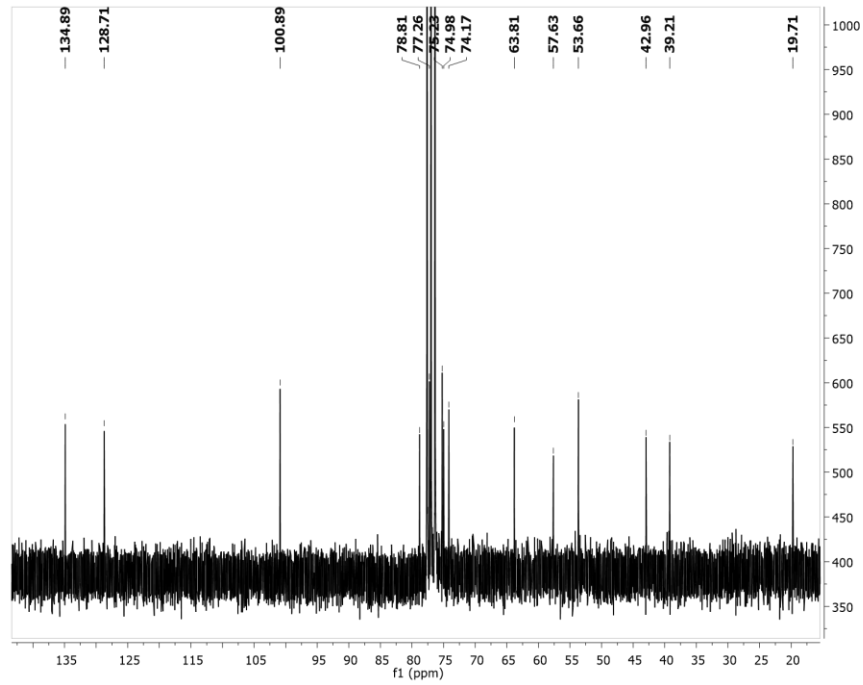
Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.262) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλη κορυφή σε  $\delta$  1.26, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.06, μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.52 και δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.88 και 5.91, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.51, μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.64 και δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.10 και 4.27, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  4.85 και 4.44, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια βρωμιωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.04, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.

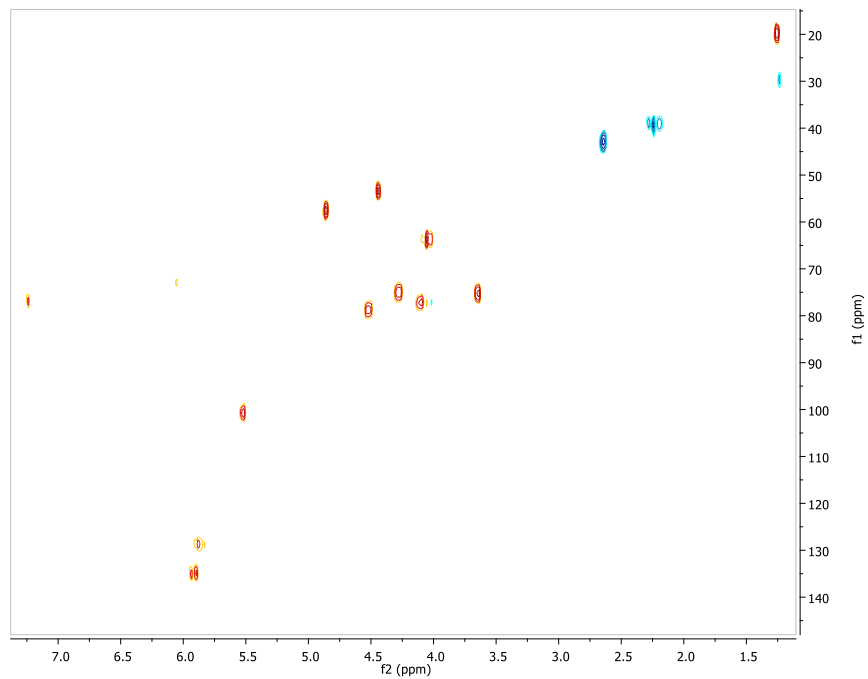


Εικόνα 262 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **60**.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 10 τριτοταγών, 2 δευτεροταγών και 2 πρωτοταγών ατόμων άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **60** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσμα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.263,264,265,266).



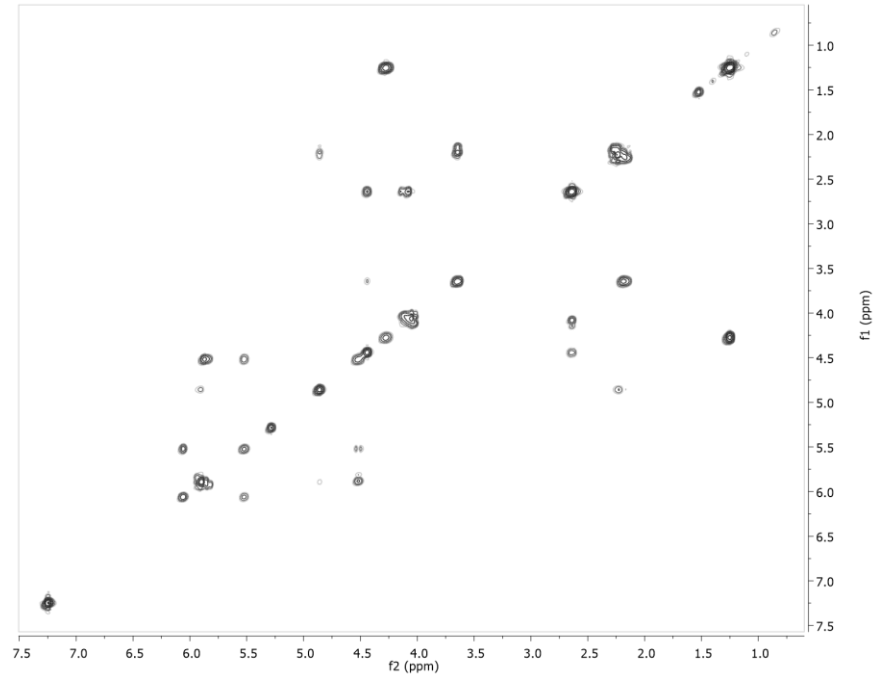
Εικόνα 263 – Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **60**.



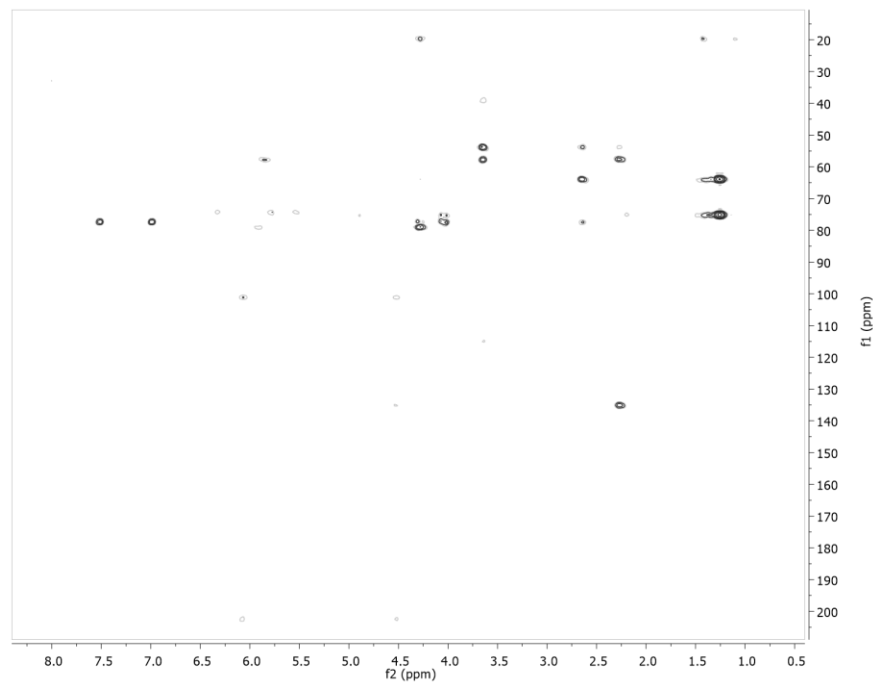
Εικόνα 264 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **60**.

Οι συσχετίσεις στο φάσμα COSY υπέδειξαν την ύπαρξη δύο διακριτών συστημάτων spin H-1 – H-13 και H-14 – H-15. Οι συσχετίσεις HMBC του μεθινικού άνθρακα C-13 με τα πρωτόνια H<sub>3</sub>-15 καθώς του

μεθινικού οξυγονώμενου άνθρακα C-14 με το πρωτόνιο H-13 υπέδειξαν την σύνδεση των δύο spin συστημάτων. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του μεθινικού οξυγονωμένου άνθρακα C-14 με το H-4 υπέδειξε την παρουσία μίας αιθερικής γέφυρας μεταξύ των C-4 και C-14 (Εικ.271).

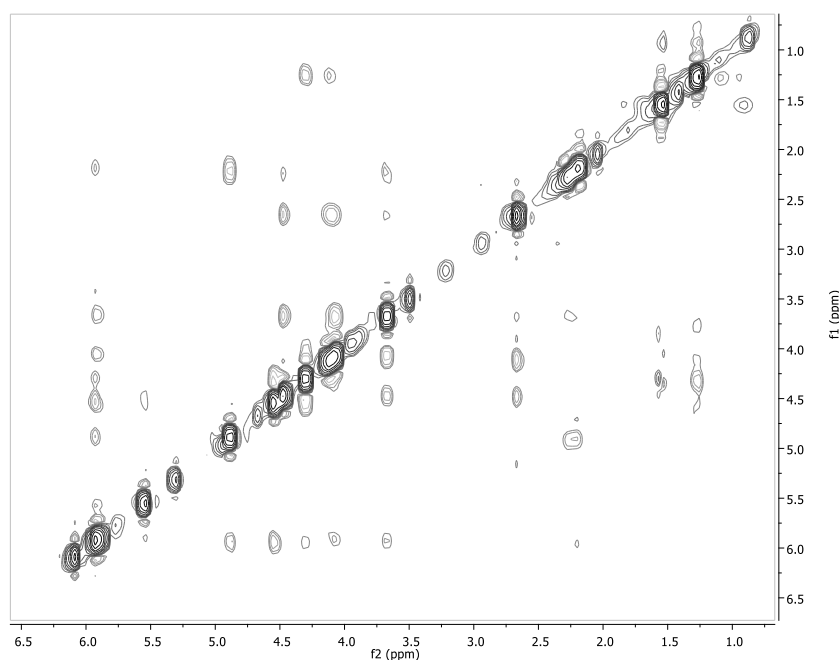


**Εικόνα 265** – Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **60**.

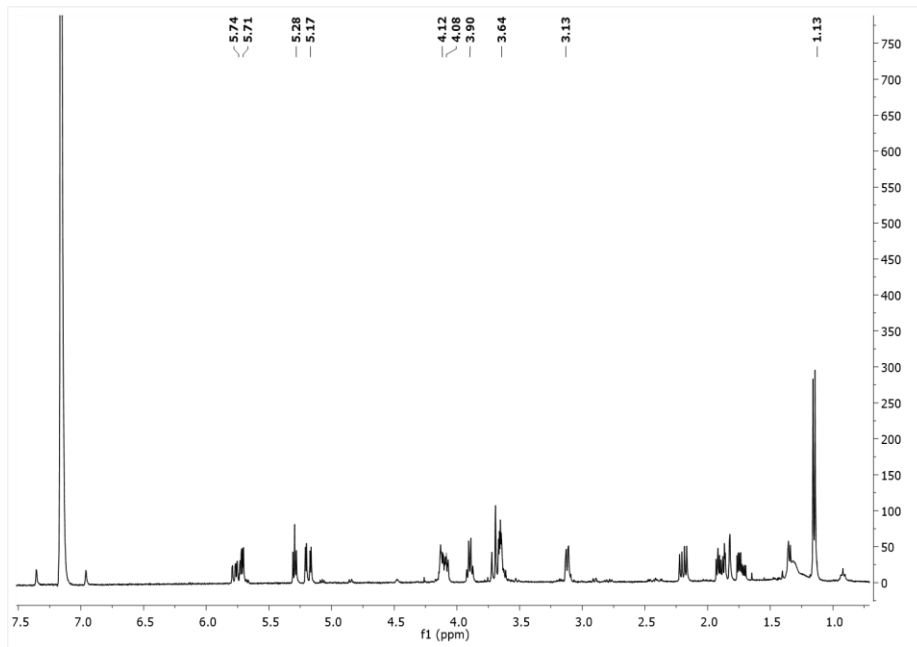


**Εικόνα 266** – Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **60**.

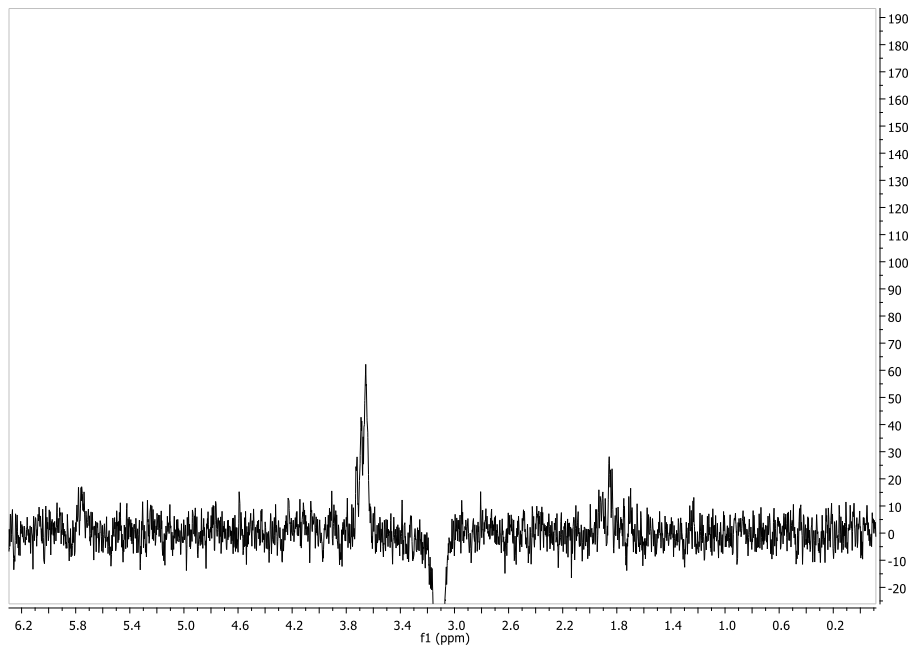
Η απόδοση της σχετικής στερεοχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **60** βασίσθηκε στην ανάλυση των δεδομένων του φάσματος NOESY. Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις του (i) H-4 με τα H-6 και H-14 (ii) H-7 με τα H-6 και H-8α και (iii) H-12 με το H-14 υπέδειξαν ότι τα H-4, H-6, H-7, H-8α, H-12 και H-14 είναι ομοεπίπεδα. Αντίστοιχα, οι συσχετίσεις του H-5 με το H-13, του H-13 με το H-9, του H-9 με το H-8β και του του H-8β με το H-10 υπέδειξαν ότι τα H-5, H-8β, H-9, H-10 και H-13 βρίσκονται στην αντίθετη πλευρά του μορίου. Λόγω σύμπτωσης των χημικών μετατοπίσεων στο φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  σε  $\text{CDCl}_3$  η στοιχειοθέτηση της στερεοχημείας του μεταβολίτη **60** ενισχύθηκε με την λήψη φασμάτων 1D-NOE σε διαλύτη  $\text{C}_6\text{D}_6$  αφού πρώτα αποδόθηκαν οι χημικές μετατοπίσεις μετά από λήψη φάσματος COSY στον ίδιο διαλύτη. Πιο συγκεκριμένα, η ακτινοβολήση του H-6 επιβεβαίωσε τις NOE συσχετίσεις του συγκεκριμένου πρωτονίου με τα H-4, H-7 και H-14, ενώ η ακτινοβολήση του H-9 επιβεβαίωσε την NOE συσχέτιση με το H-5. Επιπλέον, η γεωμετρία του διπλού δεσμού  $\Delta^5$  αποδόθηκε ως *E* με βάση τη σταθερά σύζευξης των H-5/H-6 ( $J=14.7$  Hz) και την απουσία συσχέτισης NOE μεταξύ τους (Εικ.267,268,269,270,271).



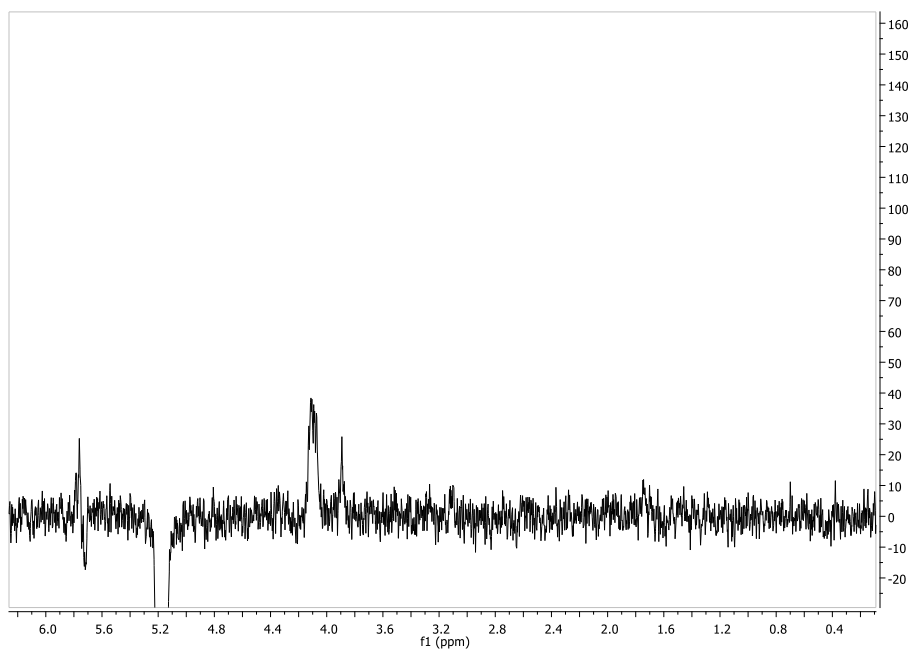
Εικόνα 267 – Φάσμα NOESY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **60**.



Εικόνα 269 - Φάσμα 1H NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη 60.



Εικόνα 268 - Φάσμα 1D-NOE (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>). Ακτινοβόληση του H-9 (δ 3.13).



Εικόνα 270 – Φάσμα 1D-NOE ( $C_6D_6$ ). Ακτινοβόληση του H-6 ( $\delta$  5.17).

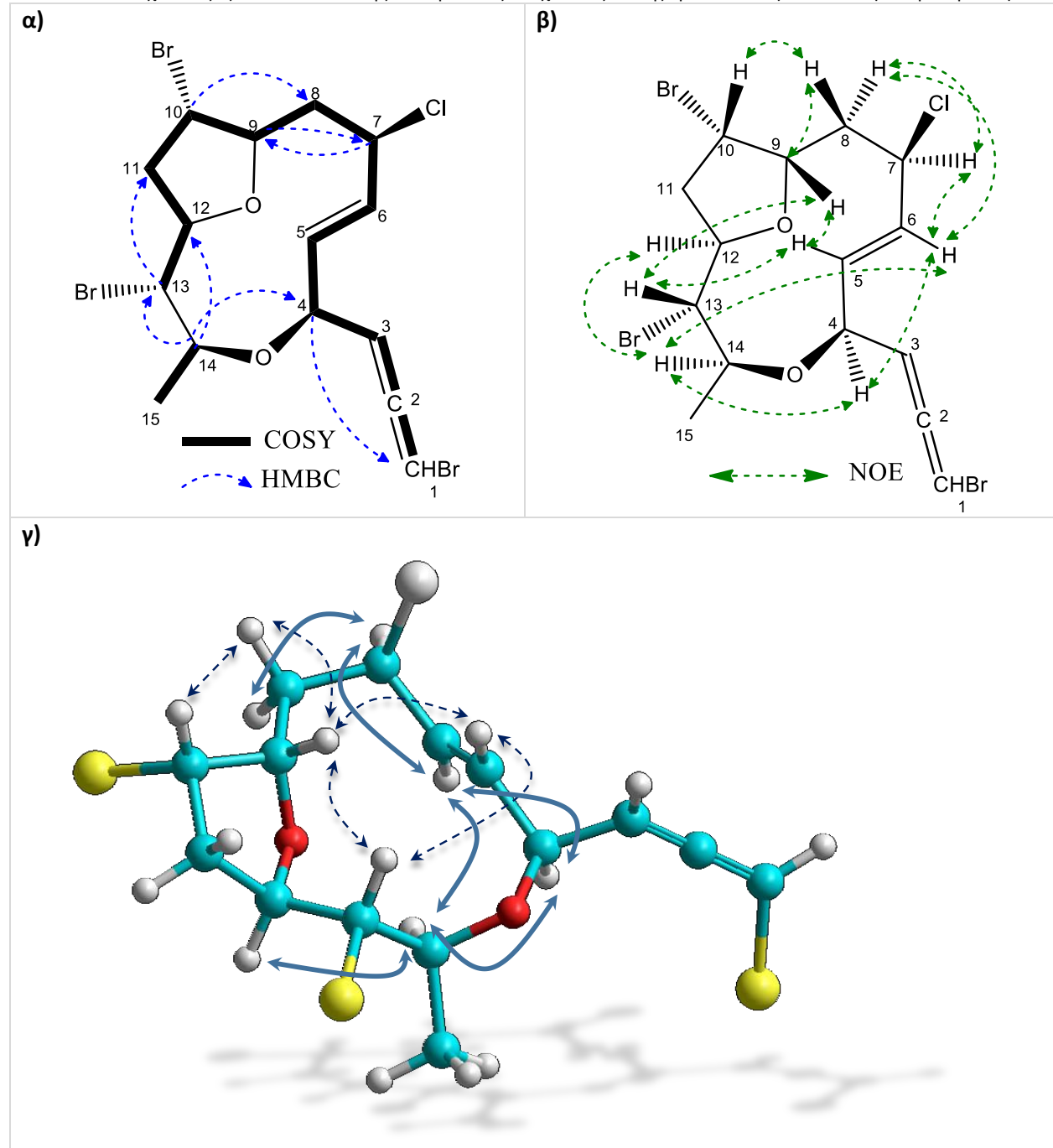
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **60** ως νέο φυσικό προϊόν μετά από αναζήτηση στην βιβλιογραφία μορίων με αντίστοιχα φασματοσκοπικά δεδομένα. Η σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **60** με τα αντίστοιχα του μεταβολίτη **59** υπέδειξε την δομική ομοιότητα των δύο μεταβολιτών με βασική διαφορά ότι ο μεταβολίτης **60** αποτελεί το αφυδατωμένο παράγωγο του μεταβολίτη **59**. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται στον Πίνακα 174.

Πίνακας 174 – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub> και C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) του μεταβολίτη 60.

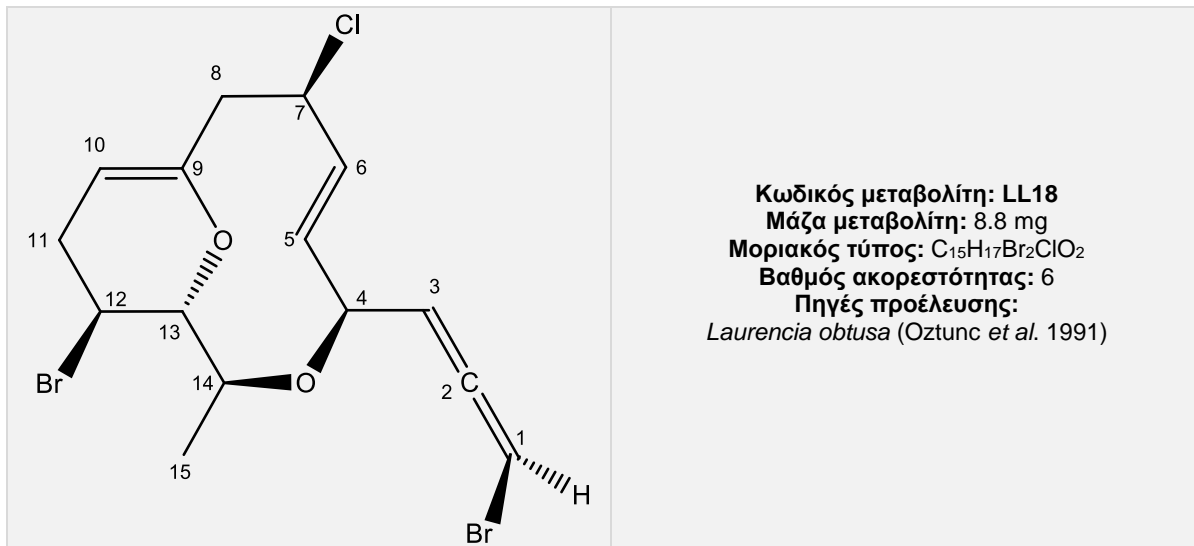
#	<sup>1</sup> H-NMR	<sup>1</sup> H-NMR (C <sub>6</sub> D <sub>6</sub> )	<sup>13</sup> C-NMR	HMBC
1	6.06 dd (5.8, 1.5)	5.71 dd (5.7, 2.0)	74.2	H-3
2			202.4	H-1, H-4
3	5.52 dd (5.8, 5.5)	5.28 dd (5.7, 5.7)	100.9	H-1, H-4
4	4.51 t (6.8)	4.08 ddd (14.7, 5.7, 2.0)	78.7	H-6, H-14
5	5.88 m	5.74 dd (14.7, 2.0)	128.7	
6	5.91 m	5.17 (14.7, 3.5)	134.9	H-4, H-5, H-8a
7	4.85 m	4.12 m	57.6	H-5, H-8a, H-9
8α 8β	2.19 ddd (15.4, 11.4, 7.8) 2.28 ddd (15.4, 2.3, 0.7)	1.82 m 1.71 ddd (15.4, 7.7, 4.0)	39.2	H-9
9	3.64 d (7.8)	3.13 ddd (7.7, 2.4, 0.8)	75.0	H-6, H-8b
10	4.44 m	3.64 m	53.7	H-8a, H-9, H-11
11a 11b	2.64 m	2.19 ddd (15.4, 7.4, 7.4) 1.90 m	43.0	
12	4.10 m	3.64 m	77.3	H-11, H-13, H-14
13	4.04 m	3.66 m	63.8	H-11, H-15
14	4.27 m	3.90 dq (6.5, 6.4)	75.2	H-4, H-12, H-13, H-15
15	1.26 d (6.6)	1.13 d (6.5)	19.7	H-14



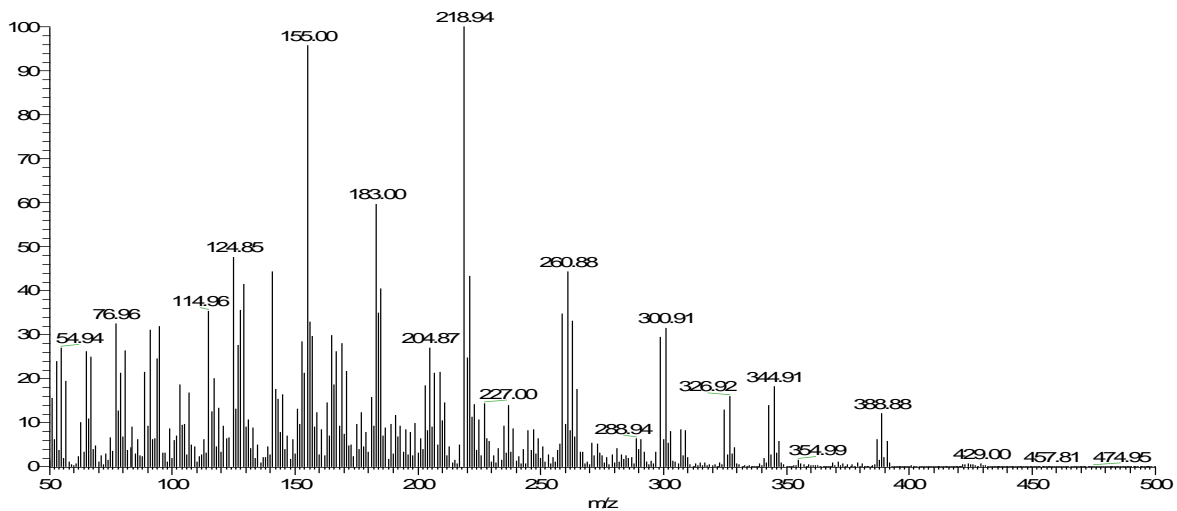
Εικόνα 271 - Συσχετίσεις α) COSY και HMBC β) Καθοριστικές συσχετίσεις NOE γ) τρισδιάστατη απεικόνιση του μεταβολίτη 60.



## Μεταβολίτης 61



Ο μεταβολίτης **61** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.272) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 424 και θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 343.

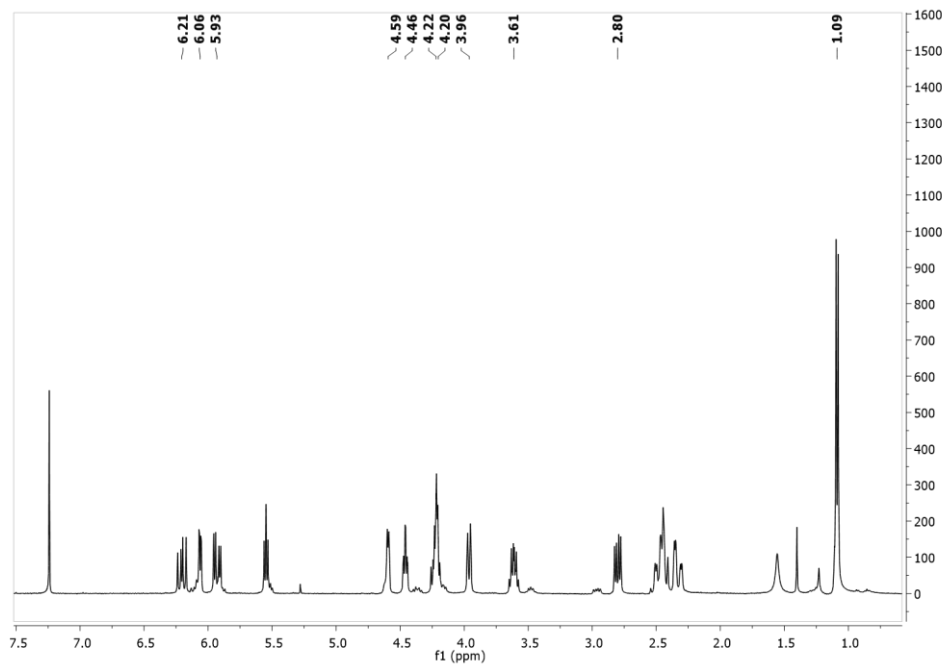


Εικόνα 272 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **60**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.273) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.09, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.

- Τέσσερις διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  6.06 , 5.93, 6.21, μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.59 και μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  5.55, οι οποίες αντιστοιχούν σε πέντε πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.46, μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.96 και μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  3.61, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.22, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.20, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



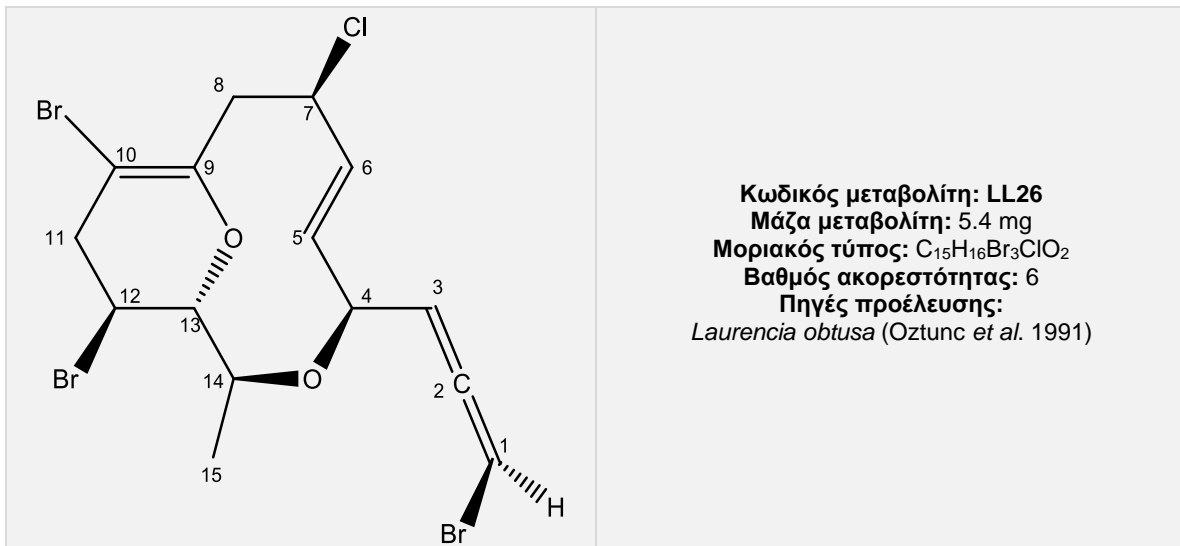
Εικόνα 273 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **61**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **61** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με σκελετό ομπουσαλλενίου, ομπουσαλλένιο I (obtusallene I) (Oztunc *et al.* 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 175.

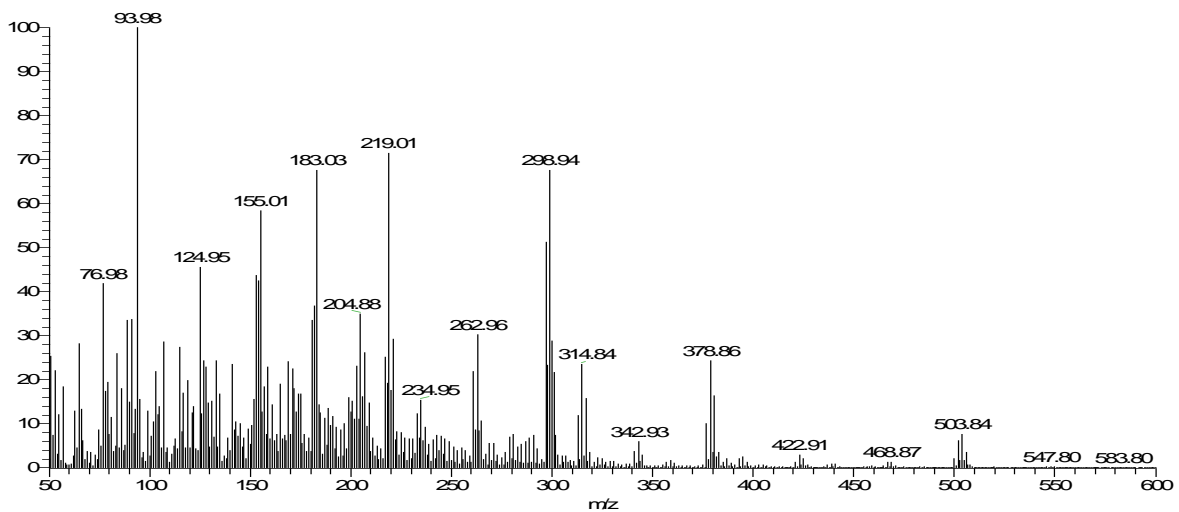
Πίνακας 175 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 61.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.06 dd (5.8, 1.9)	6.08 dd (5.9, 1.9)
3	5.55 t (5.8)	5.56 t (5.9)
4	4.46 m	4.48 ddd (9.6, 5.9, 1.5)
5	5.93 dd(15.9, 6.0)	5.93 dd (15.9, 6.0)
6	6.21 dd (15.9, 10.6)	6.28 dd (15.9, 10.5)
7	4.22 m	4.25 ddd (10.5, 10.5, 6.3)
8a	2.80 dd (13.4, 6.1)	2.82 ddd (13.3, 6.3)
8b	2.46 m	2.46 ddd (13.3, 10.5)
10	4.59 ddd (5.1, 1.5, 1.5)	4.60 dd (5.1, 1.5)
11a	2.48 m	2.47 ddd (19.1, 5.1, 1.5)
11b	2.32 ddd (19.1, 5.7, 1.5)	2.33 ddd (19.1, 5.1, 1.5)
12	4.20 m	4.20 ddd (5.1, 1.7, 1.5)
13	3.96 d (9.7)	3.98 dd (9.3, 1.7)
14	3.61 dq (9.4, 6.4)	3.63 dq (9.3, 6.5)
15	1.09 d (6.5)	1.11 d (6.5)

## Μεταβολίτης 62



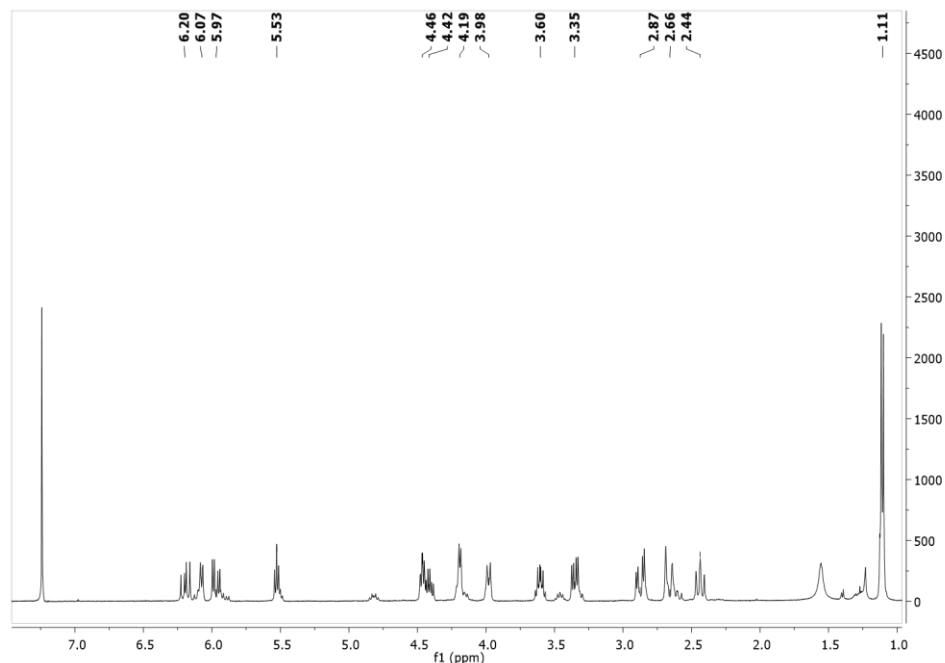
Ο μεταβολίτης **62** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.274) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  502 και ιστοπικές κορυφές σε  $m/z$  504 και 506 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης τριών ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου.



Εικόνα 274 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **62**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.275) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τριτοταγή άνθρακα.
- Τρεις διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  6.07, 5.97, 6.20 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.53, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικων ανθράκων.
- Μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.46, μία ευρεία διπλή κορυφή σε  $\delta$  3.98 και μία διπλή τετραπλών κορυφή σε  $\delta$  3.60, οι οποίες αντιστοιχούν σε τρία πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  4.42, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή τριπλών κορυφή σε  $\delta$  4.19, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



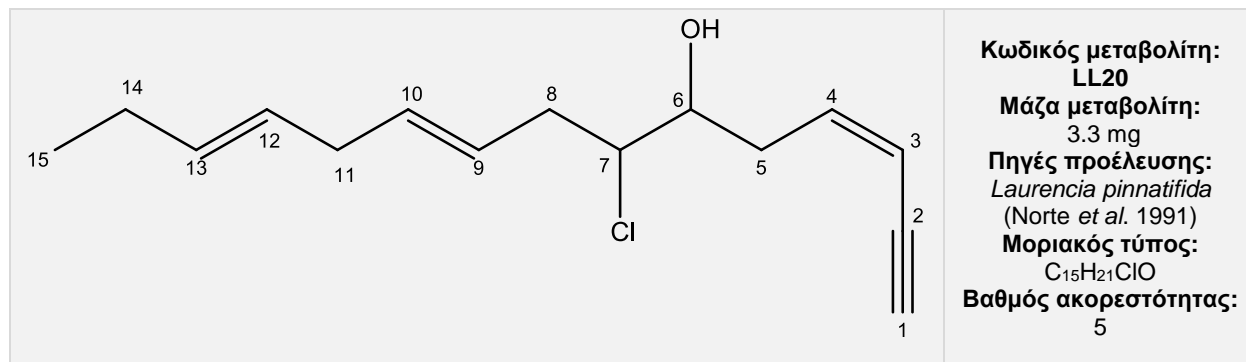
Εικόνα 275 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **62**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **62** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με σκελετό ομππουσαλλενίου, 10-Br-ομππουσαλλένιο I (10-Br-obtusallene I) (Oztunc *et al.* 1991). Ο μεταβολίτης **62** αποτελεί το βρωμιωμένο παράγωγο του μεταβολίτη **61** στη θέση 10. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 176.

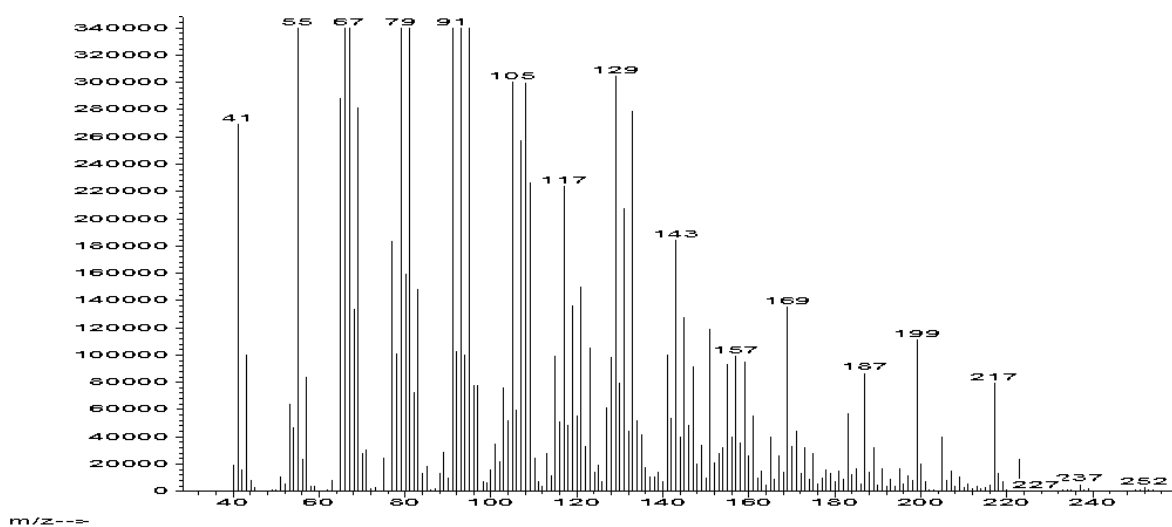
Πίνακας 176 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 62.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.07 dd (5.6, 1.7)	6.09 dd (5.9, 1.9)
3	5.53 dd (5.6, 1.4)	5.55 t (5.9)
4	4.46 m	4.50 ddd (5.9, 5.9, 1.9)
5	5.97 dd (15.9, 6.1)	5.98 dd (15.8, 5.9)
6	6.20 dd (15.9, 10.4)	6.21 dd (15.8, 10.3)
7	4.42 dt (10.4, 5.8)	4.41 ddd (10.3, 10.3, 5.7)
8a	3.35 dd (13.3, 5.8)	3.37 dd (13.1, 5.7)
8b	2.44 dd (13.3, 10.4)	2.45 dd (13.1, 10.3)
11a	2.88 dd (18.8, 5.1)	2.90 dd (18.8, 5.2)
11b	2.66 dd (18.8, 1.5)	2.68 dd (18.8, 1.5)
12	4.19 dt (5.1, 1.5)	4.20 ddd (5.2, 1.5, 1.5)
13	3.98 br d (9.4)	4.00 dd (9.3, 1.5)
14	3.60 dq (9.4, 6.5)	3.62 dq (9.3, 6.4)
15	1.11 d (6.5)	1.13 d (6.4)

## Μεταβολίτης 63



Ο μεταβολίτης **63** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.276) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  252 και θραύσμα [M-Cl]<sup>+</sup> σε  $m/z$  217.



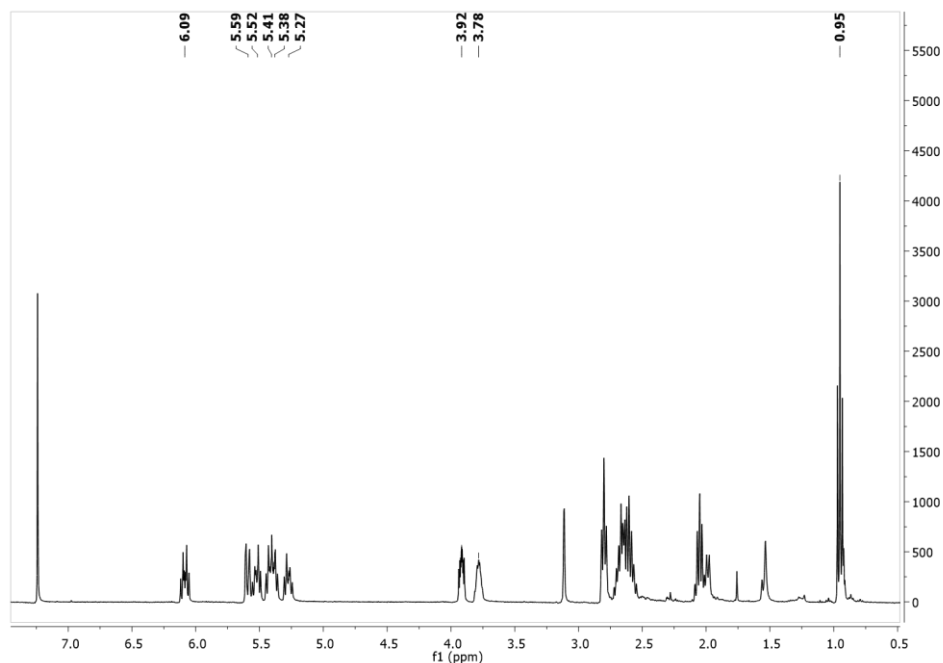
Εικόνα 276 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **63**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.277) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε δ 0.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 3.11, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.

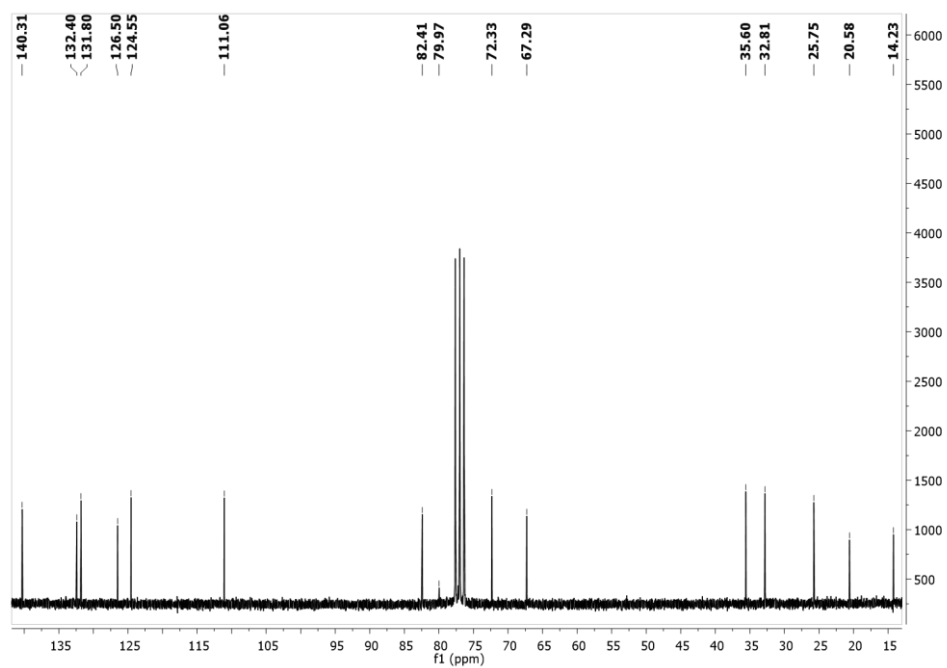


- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.41, 5.52, 5.27, 5.38, μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.59 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.09, οι οποίες αντιστοιχούν σε έξι πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.78, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός οξυγονωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.92, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.

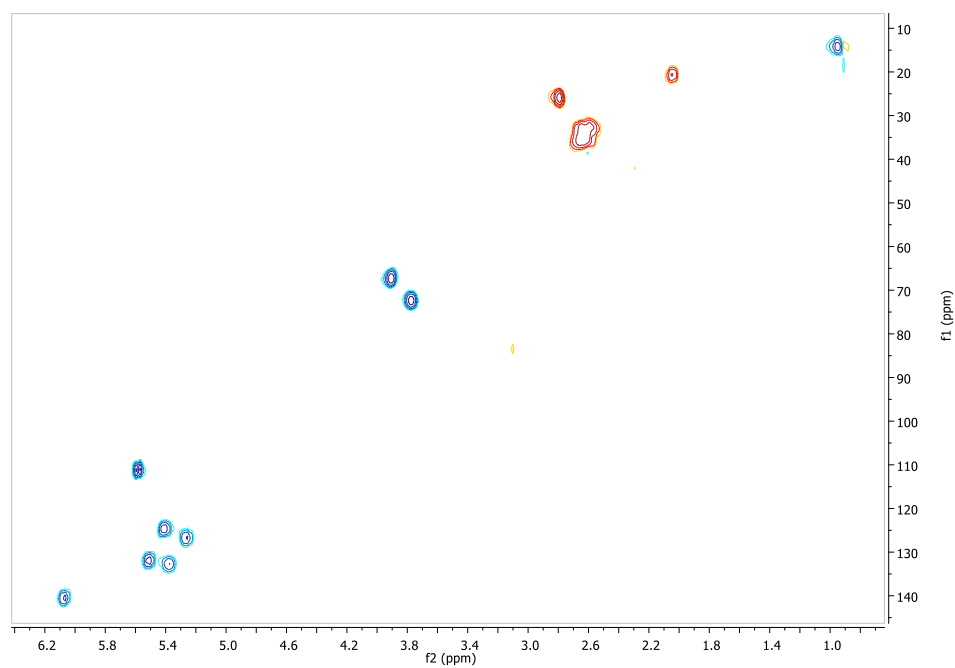


Εικόνα 277 - Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **63**.

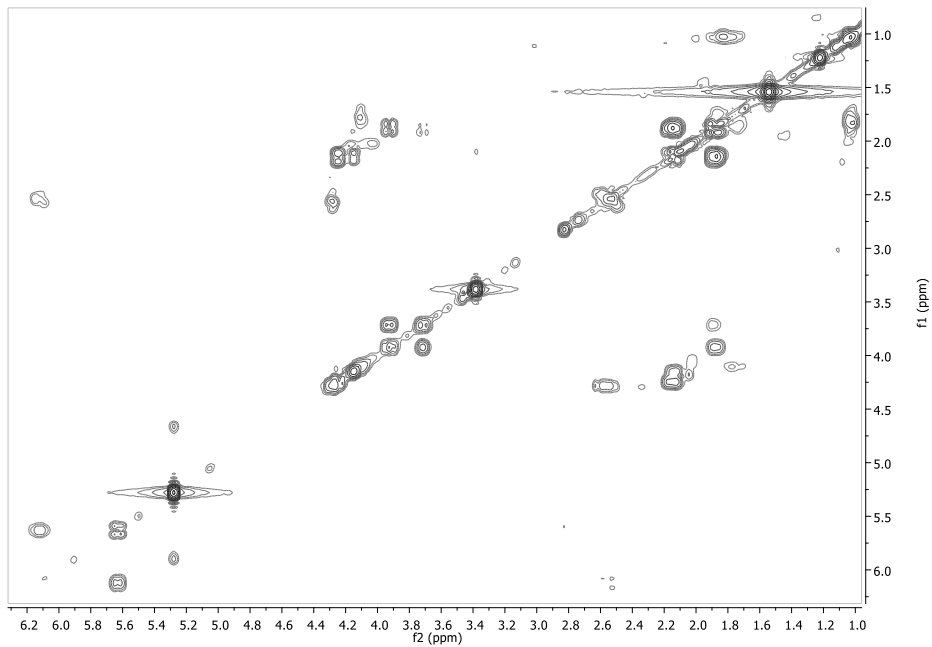
Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων και συγκεκριμένα 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **63** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.278,279,280,281).



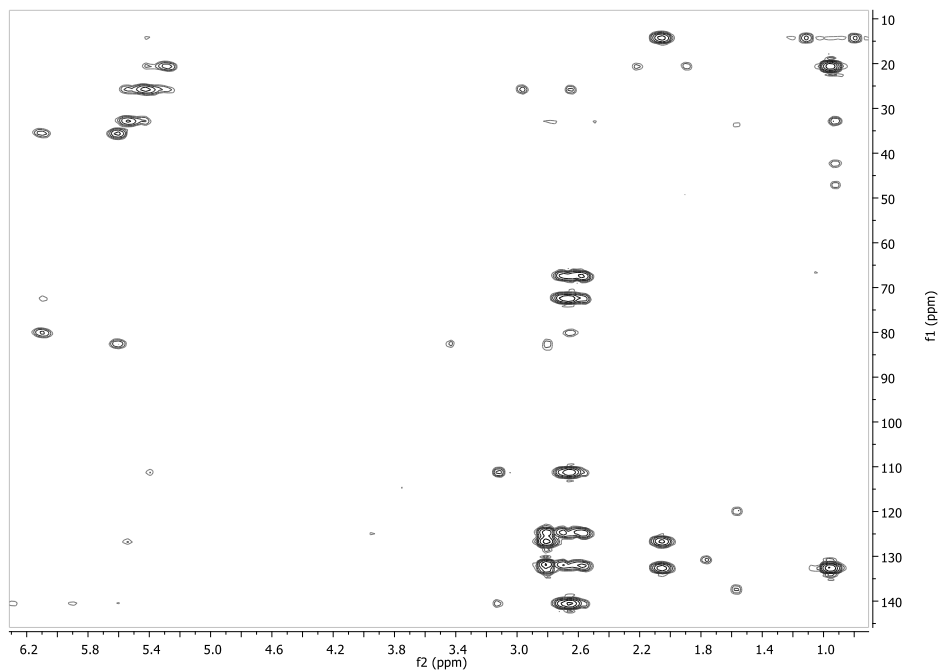
Εικόνα 278 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR του μεταβολίτη **63**.



Εικόνα 279 - Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **63**.



Εικόνα 281 - Φάσμα COSY (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 63.



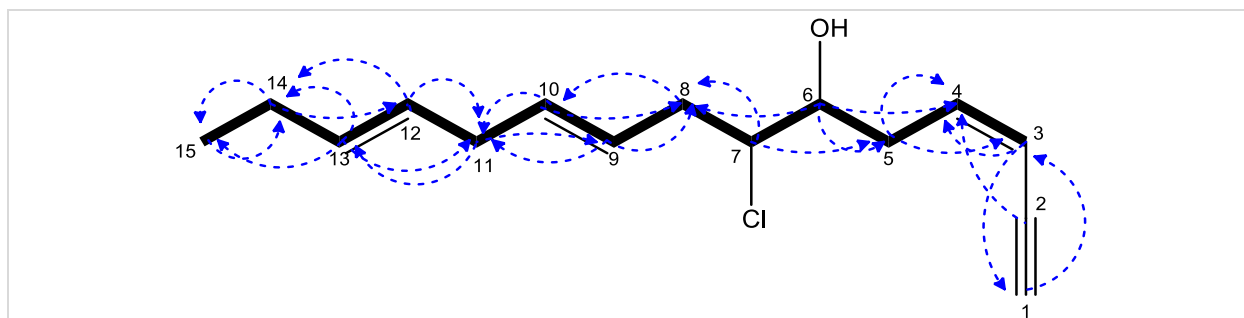
Εικόνα 280 - Φάσμα HMBC (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 63.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **63** ως μία γνωστή άκυκλη C<sub>15</sub> ακετογενίνη (Norte *et al.* 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 177.

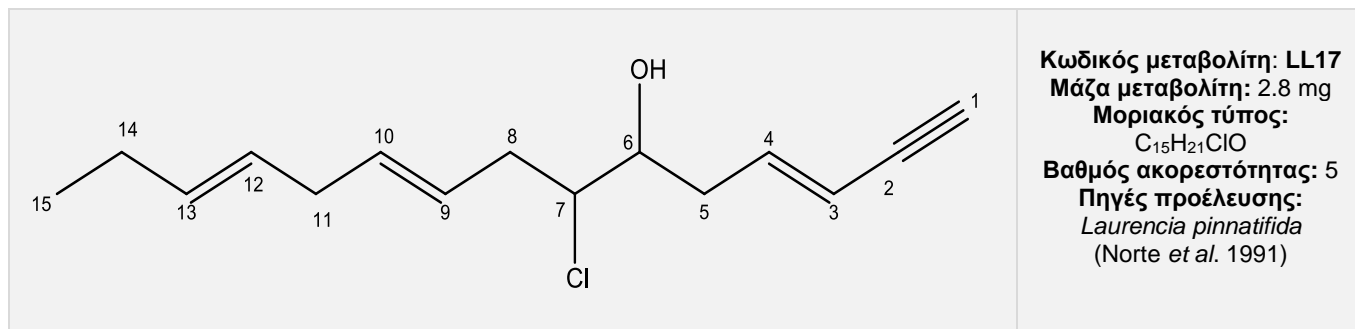
Πίνακας 177 - Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη 63

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά	Πειραματικά	HMBC
1	3.11 d (1.8)	3.13 d (2.3)	82.4	H-3
2			80.0	H-4
3	5.59 dd (10.7, 1.8)	5.60 dd (10.8, 2.1)	111.1	H-1, H-4
4	6.09 ddd (10.7, 7.5, 6.9)	6.10 ddd (14.9, 10.9, 7.3)	140.3	H-5
5a	2.66 m	2.67 m	35.6	H-3, H-4
5b	2.62 m	2.67 m		
6	3.78 m	3.80 m	72.3	H-4, H-5, H-8
7	3.92 ddd (9.5, 5.9, 3.6)	3.93 ddd (7.7, 6.0, 3.5)	67.3	H-5, H-8
8a	2.64 m	2.67 m	32.8	H-10
8b	2.59 m	2.67 m		
9	5.41 m	5.44 m	124.6	H-8, H-11
10	5.52 m	5.44	131.8	H-8, H-11
11a	2.79 m	2.82 m	25.8	H-9, H-13
11b	2.79 m	2.82 m		
12	5.27 m	5.44	126.5	H-11, H-14
13	5.38 m	5.44	132.4	H-11, H-13, H-14
14a	2.04 m	2.03 m	20.6	H-12, H-15
14b	2.04 m	2.03 m		
15	0.95 t (7.6)	0.97 t (7.6)	14.2	H-14
-OH	1.98		-	

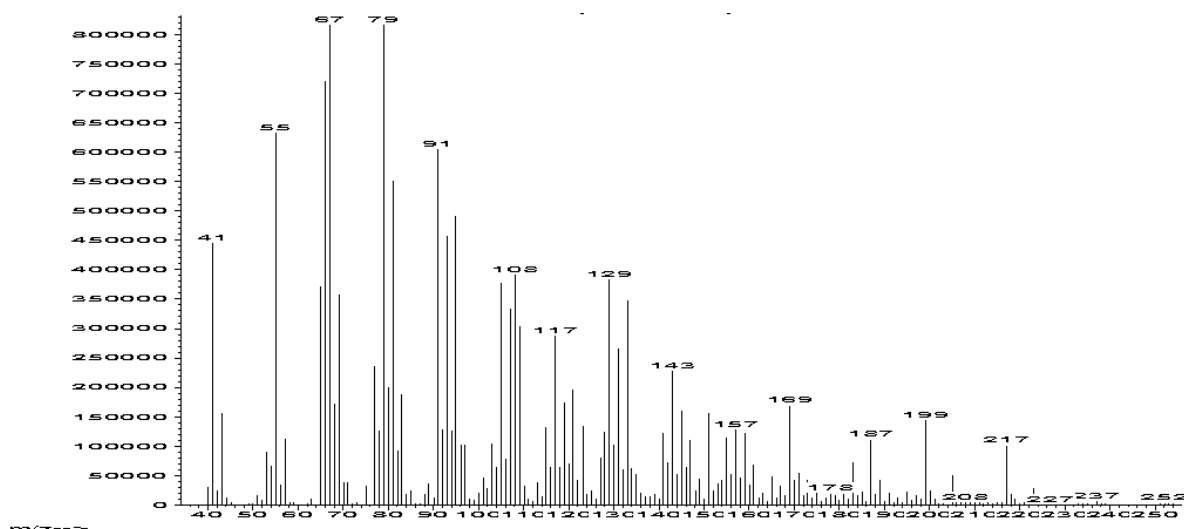
Εικόνα 282 - Συσχετίσεις COSY και HMBC του μεταβολίτη 63.



## Μεταβολίτης 64



Ο μεταβολίτης **64** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.283) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  252 και θραύσμα  $[M-Cl]^+$  σε  $m/z$  217.

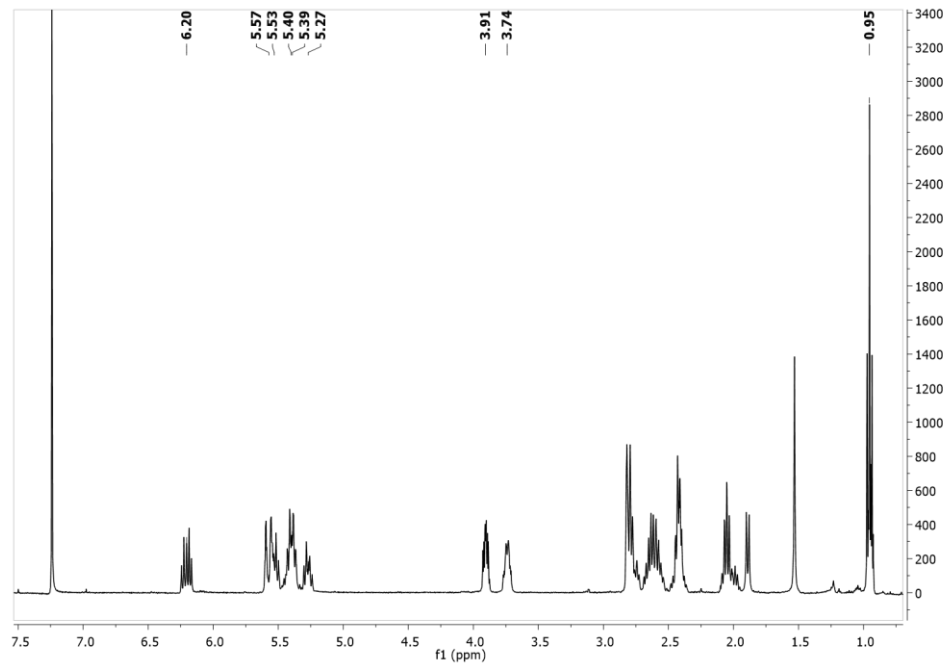
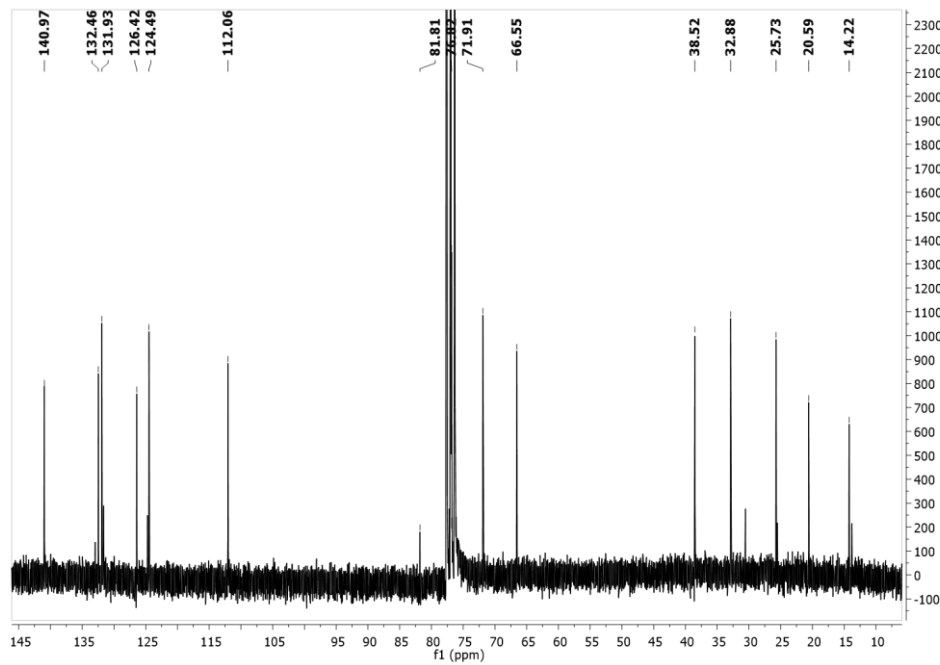


Εικόνα 283 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **64**.

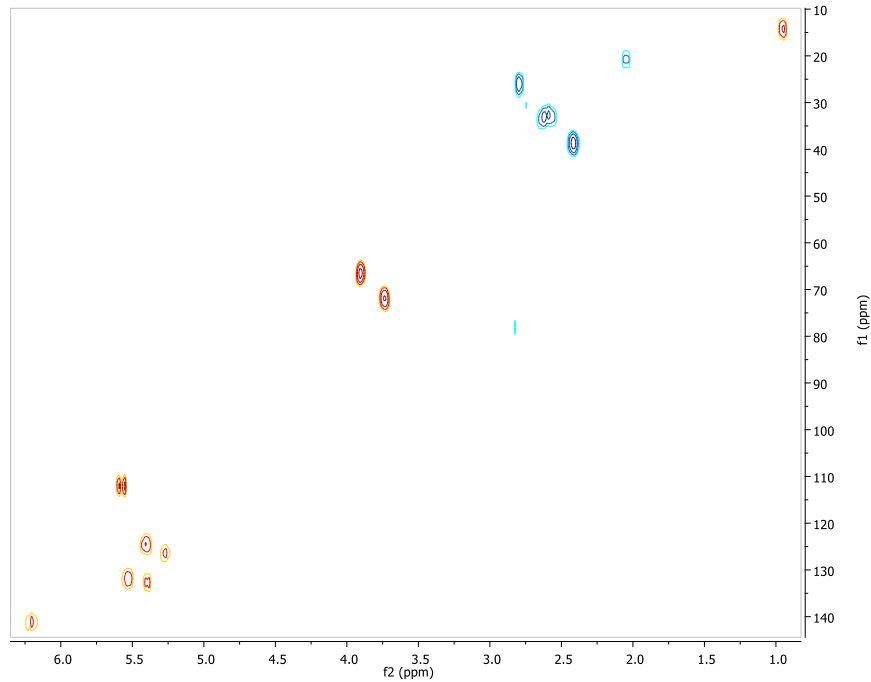
Στο φάσμα  $^1H$  NMR (Εικ.284) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  0.95, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.82, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Πέντε πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.57, 5.40, 5.53, 5.27, 5.40 και μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.20, οι οποίες αντιστοιχούν σε έξι πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

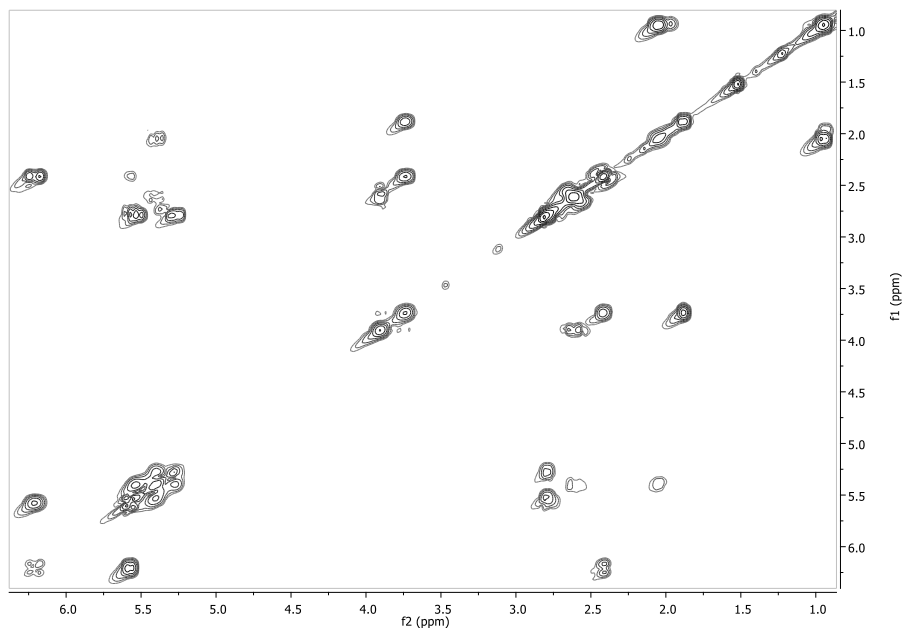
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.74, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.91, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.

Εικόνα 284 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR του μεταβολίτη 64.Εικόνα 285 - Φάσμα  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 64.

Συνδυασμός των φασμάτων  $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC-DEPT και HMBC υπέδειξε την ύπαρξη 15 ανθράκων, 1 τεταρτοταγούς, 9 τριτοταγών, 4 δευτεροταγών και 1 πρωτοταγούς ατόμου άνθρακα. Η διδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **64** αποδόθηκε κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων που προέκυψαν από τα φάσματα HSQC-DEPT, COSY και HMBC (Εικ.285,286,287).



Εικόνα 286 – Φάσμα HSQC-DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **64**.



Εικόνα 287 - Φάσμα COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **64**.

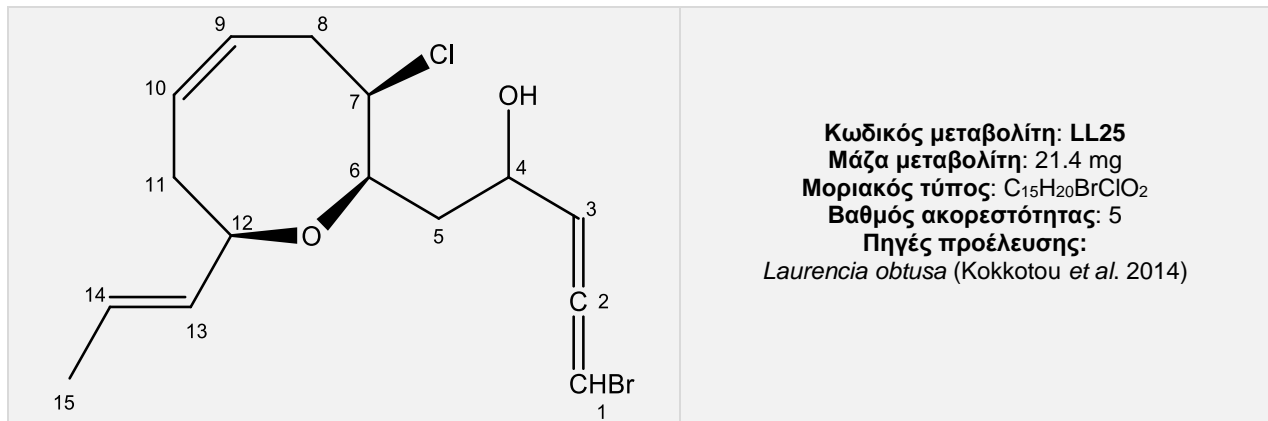
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **64** ως μία γνωστή άκυκλη C<sub>15</sub> ακετογενίνη (Norte *et al.* 1991). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 178. Ο μεταβολίτης **64** αποτελεί γεωμετρικό ισομερές του μεταβολίτη **63** ως προς το διπλό δεσμό C-3 – C-4.

**Πίνακας 178** – Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR (CDCl<sub>3</sub>) του μεταβολίτη **64**.

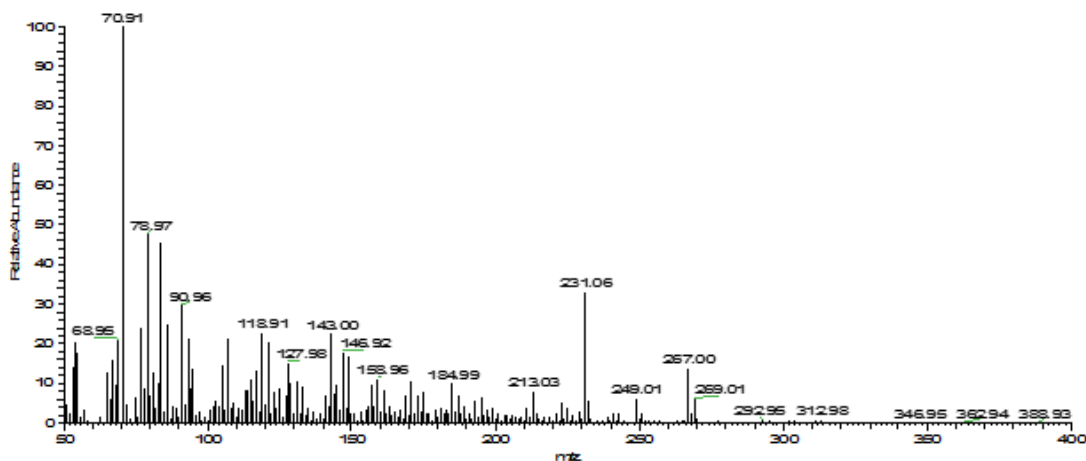
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά	Πειραματικά
<b>1</b>	2.82 m	2.78 m	76.8
<b>2</b>			81.8
<b>3</b>	5.57 m	5.59 dd (15.8, 2.1)	112.1
<b>4</b>	6.20 ddd (15.6, 7.5, 6.5)	6.22 ddd (15.3, 7.4, 7.4)	141.0
<b>5a</b>	2.41 m	2.44 m	38.5
<b>5b</b>	2.41 m		
<b>6</b>	3.74 m	3.78 m	71.9
<b>7</b>	3.91 ddd (9.3, 6.4, 3.0)	3.92 ddd (9.5, 7.4, 2.9)	66.6
<b>8</b>	2.60 m	2.63 m	32.9
<b>9</b>	5.40 m	5.39 m	124.5
<b>10</b>	5.53 m	5.39 m	131.9
<b>11</b>	2.79 m	2.82 m	25.7
<b>12</b>	5.27 m	5.39 m	126.4
<b>13</b>	5.40 m	5.39 m	132.5
<b>14</b>	2.04 m	2.05 m	20.6
<b>15</b>	0.95 t (7.5)	0.97 t (7.6)	14.2
<b>-OH</b>	1.89 m		



## Μεταβολίτης 65



Ο μεταβολίτης **65** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.288) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 346 και θραύσμα [M-Br]<sup>+</sup> σε *m/z* 267.

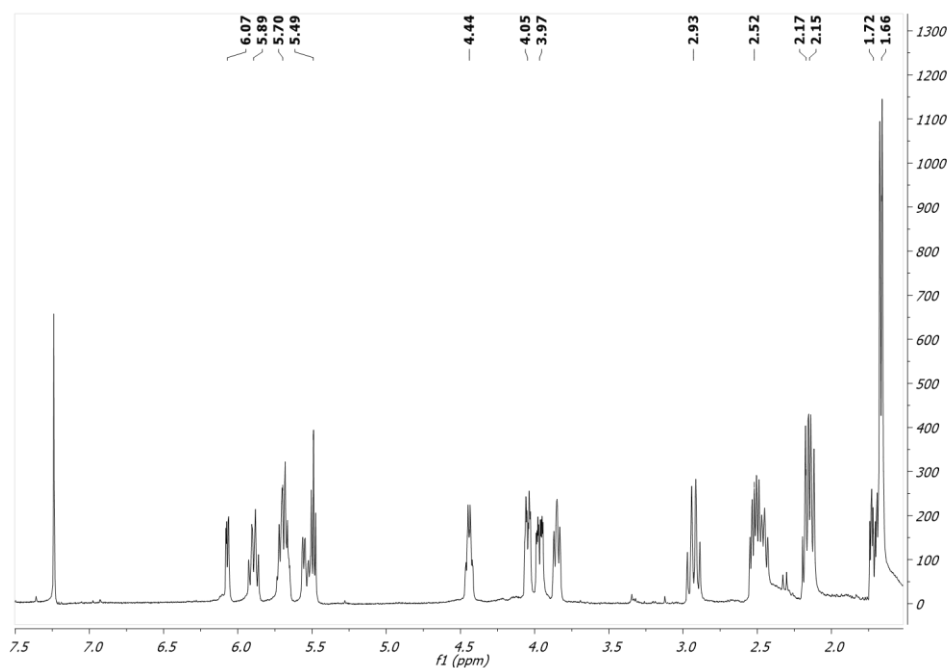


Εικόνα 288 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **65**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.289) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.66, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε δ 6.07, 5.49 και τρεις πολλαπλές κορυφές σε δ 5.70, 5.55 και 5.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε έξι πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε δ 4.05 και μία τριπλή κορυφή σε δ 3.85, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.

- Μία τετραπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  4.44, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδροξυλιωμένου άνθρακα.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.97, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.



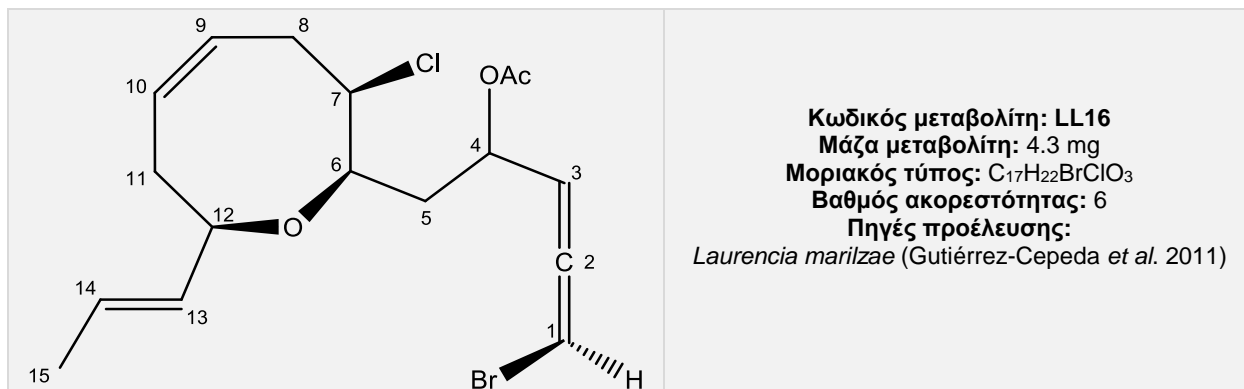
Εικόνα 289 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **65**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **65** ως μία γνωστή  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη (Kokkotou *et al.* 2014). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **65** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 179.

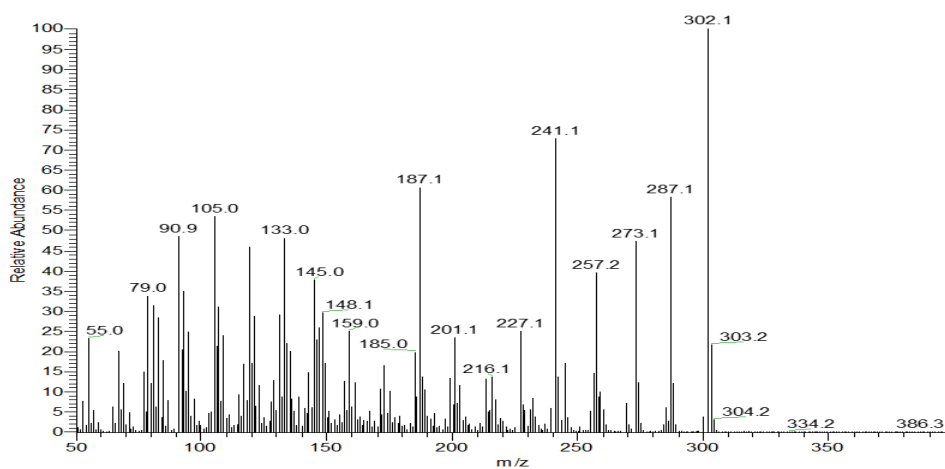
Πίνακας 179 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 65.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.07 (dd, 5.8, 1.9)	6.07 dd (5.7, 1.9)
3	5.49 dd (5.7, 5.0)	5.48 t (5.7)
4	4.44 (qd 5.6, 1.9)	4.45 qd (5.7, 1.9)
5a	2.17 m	2.17 m
5b	1.72 ddd (14.6, 5.2, 4.0)	1.72 ddd (14.6, 5.7, 3.8)
6	4.05 ddd (9.1, 3.3, 2.3)	4.04 ddd (9.3, 3.8, 2.3)
7	3.97 ddd (11.3, 4.8, 2.3)	3.95 ddd (11.3, 4.8, 2.3)
8a	2.93 m	2.94 dt (11.3, 11.0)
8b	2.52 m	2.52 m
9	5.70 m	5.70 m
10	5.89 m	5.90 dt (10.4, 8.0)
11a	2.47 m	2.47 dd (14.3, 8.0)
11b	2.15 m	2.15 m
12	3.85 t (8.1)	3.85 t (8.0)
13	5.55 m	5.55 m
14	5.70 m	5.70 m
15	1.66 d (6.1)	1.67 d (6.2)

## Μεταβολίτης 66



Ο μεταβολίτης **66** παρελήφθη κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.290) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε  $m/z$  388.

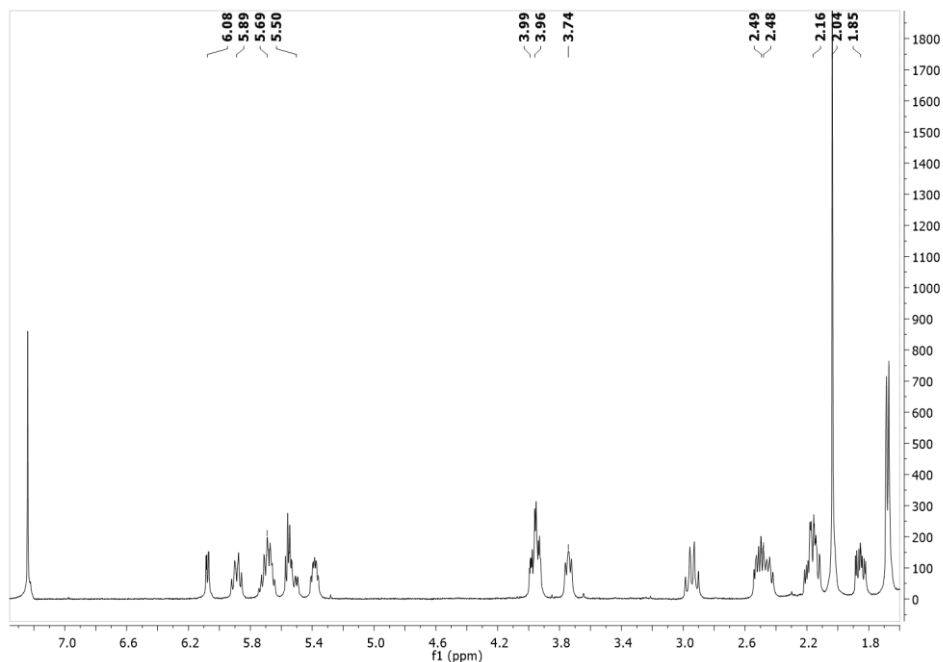


Εικόνα 290 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **66**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.291) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  1.68, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία απλή κορυφή σε  $\delta$  2.04, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου ακετόξυ ομάδας.
- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.55, 5.69, 5.50, 5.89 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  6.08, οι οποίες αντιστοιχούν σε έξι πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  3.96 και 3.74, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.38, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός υδρόξυ ακετυλιωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.99, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.



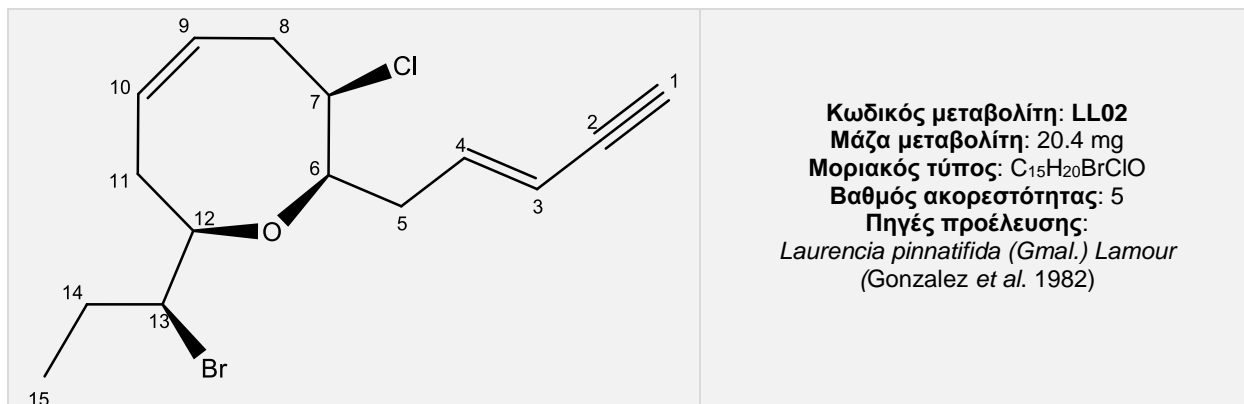
Εικόνα 291 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **66**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **66** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη 4-ακετοξυ-μαριλζαλλένιο (4-acetoxy-marilzallene) (Gutiérrez-Cepeda *et al.* 2011). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 180.

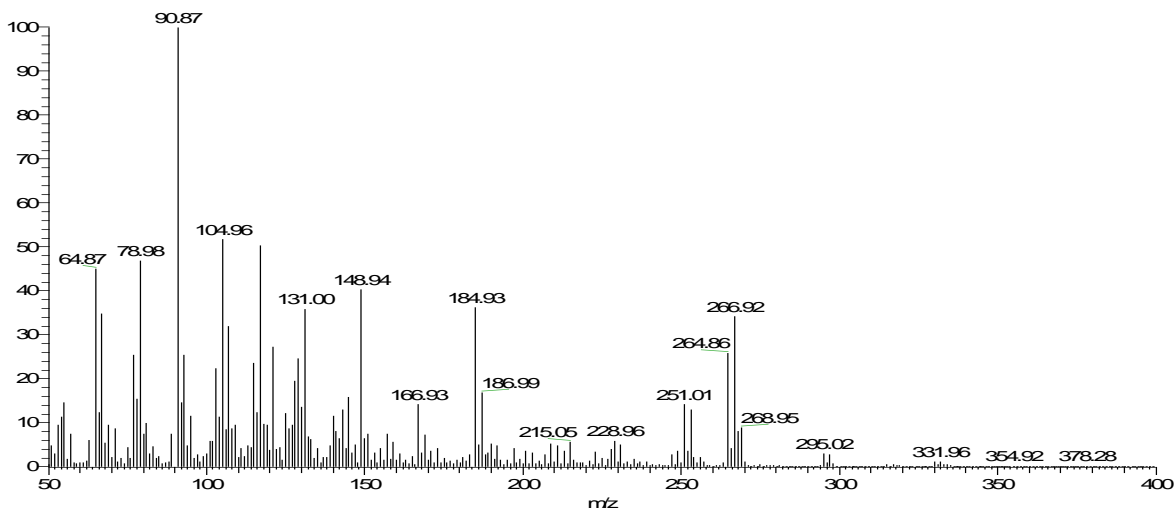
Πίνακας 180 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 66

	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	6.08 dd (5.8, 1.7)	6.10 dd (5.6, 1.9)
3	5.55 m	5.58 dd (5.6, 5.5)
4	5.38 m	5.40 dddd (8.8, 5.5, 4.6, 1.9)
5a	2.16 m	2.20 ddd (14.1, 9.3, 4.6)
5b	1.85 ddd (14.0, 8.9, 3.4)	1.87 ddd (14.1, 8.8, 3.5)
6	3.96 m	3.96 ddd (9.3, 3.5, 2.5)
7	3.99 m	3.99 ddd (11.3, 4.8, 2.5)
8a	2.94 m	2.96 ddd (12.3, 11.3, 9.9)
8b	2.48 m	2.53 ddd (12.3, 6.5, 4.8)
9	5.69 m	5.69 ddd (10.3, 9.9, 6.5)
10	5.89 m	5.91 ddd (10.3, 8.3, 7.1)
11a	2.49 m	2.48 ddd (14.3, 8.9, 7.1)
11b	2.16 m	2.17 ddd (14.3, 8.3, 1.6)
12	3.74 m	3.76 dddd (8.9, 6.3, 1.6, 1.6)
13	5.50 m	5.54 ddd (15.4, 6.3, 2.3)
14	5.69 m	5.72 ddd (15.4, 6.5, 1.6)
15	1.68 d (6.4)	1.70 dd (6.5, 2.3)
OAc	2.04 s	2.06 s

## Μεταβολίτης 67



Ο μεταβολίτης **67** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.292) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 330 και ισοτοπικές κορυφές σε *m/z* 332 και 334 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.

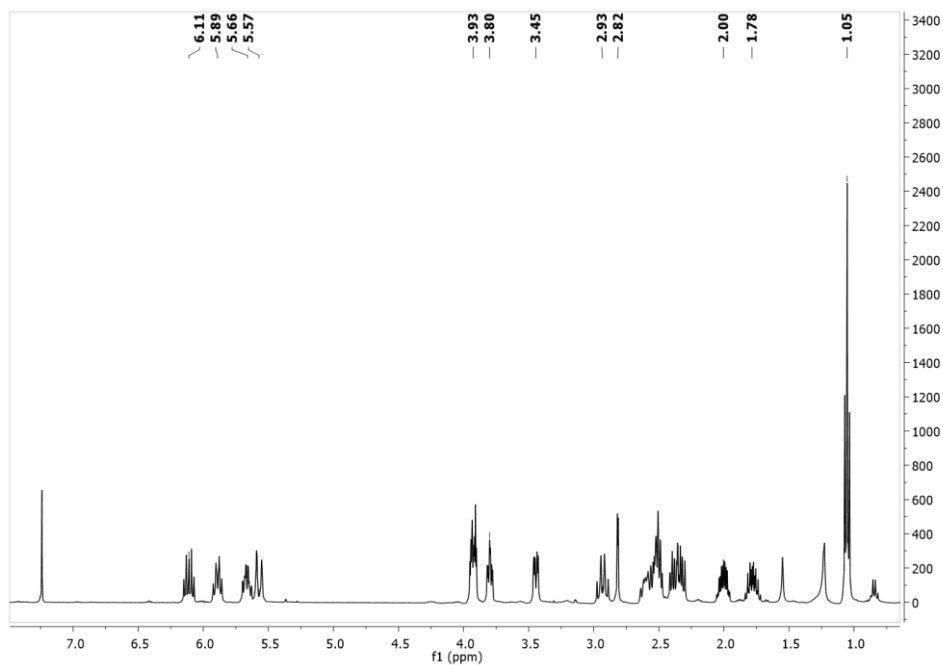


Εικόνα 292 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **67**.

Στο φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.293) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε δ 1.05, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 2.82, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.

- Μία διπλη διπλών κορυφή σε  $\delta$  5.57, δύο διπλές διπλών διπλών κορυφές σε  $\delta$  6.11, 5.66 και μια πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  5.89, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο διπλές διπλών κορυφές σε  $\delta$  3.80, 3.45 οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.93, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  3.92, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 293 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **67**.

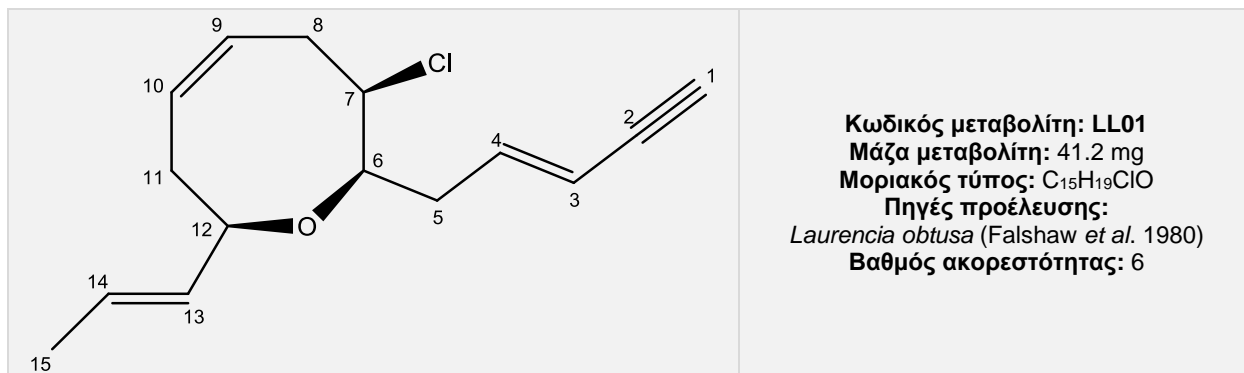
Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **67** ως την  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, τρανς-πιννατιφιδενίνη (trans-pinatifidenyne) (Gonzalez *et al.* 1982). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 181.



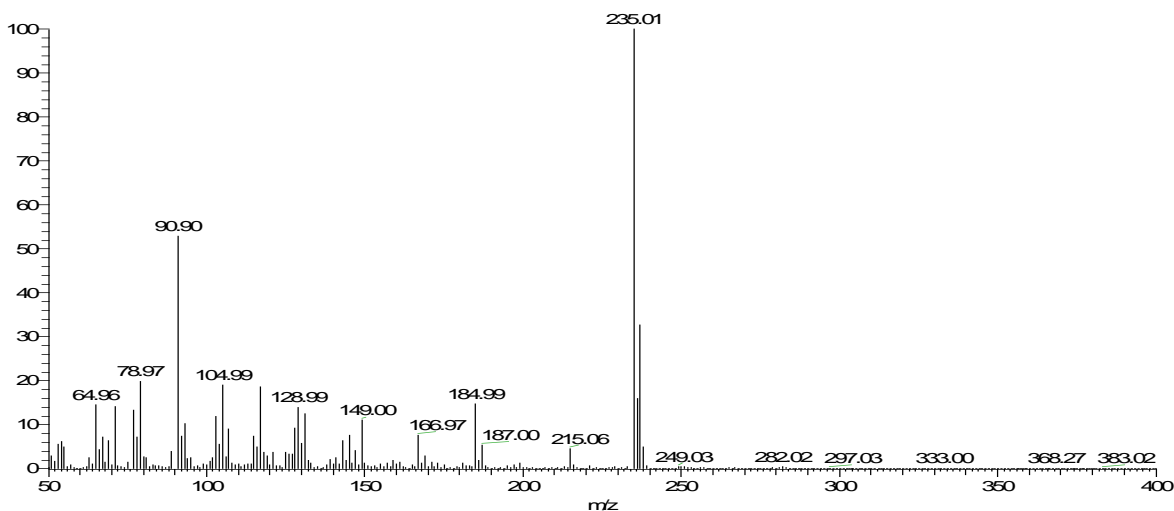
Πίνακας 181 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 67.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.82 d (2.1)	2.83 d (1.6)
3	5.57 dd (16.0, 2.1)	5.59 (dd, 15.7, 1.6)
4	6.11 ddd (16.0, 7.6, 7.6)	6.14 (dt, 15.7, 7.7)
5a	2.40 m	2.40 dt (14.1, 7.7, 7.7)
5b	2.35 m	2.35 ddd (14.1, 7.7, 7.8)
6	3.80 ddd (6.9, 6.8, 2.5)	3.82 ddd (7.8, 7.7, 2.3)
7	3.93 m	3.93 ddd (10.6, 3.0, 2.3)
8a	2.93 m	2.95 ddd (12.3, 10.6, 7.0)
8b	2.52 m	2.53 ddd (12.3, 3.0, 1.2)
9	5.66 ddd (10.0, 6.5, 1.7)	5.69 ddd (10.5, 7.0, 1.2)
10	5.89 m	5.91 ddd (10.5, 7.9, 0.1)
11a	2.60 m	2.63 ddd (14.2, 10.5, 0.1)
11b	2.35 m	2.35 ddd (14.2, 7.9, 3.1)
12	3.45 ddd (9.8, 4.0, 3.1)	3.46 ddd (10.5, 4.3, 3.1)
13	3.92 m	3.96 ddd (11.5, 4.3, 3.6)
14a	2.00 ddq (14.5, 7.2, 3.5)	2.01 ddq (14.5, 7.2, 3.6)
14b	1.78 ddq (14.5, 10.4, 7.2)	1.80 ddq (14.5, 11.5, 7.2)
15	1.05 t (7.2)	1.07 t (7.2)

## Μεταβολίτης 68



Ο μεταβολίτης **68** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.294) εμφανίζεται το μοριακό ιόν [M]<sup>+</sup> σε *m/z* 250 και θραύσματα [M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 235, [M-Cl]<sup>+</sup> σε *m/z* 215, [M-C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> σε *m/z* 185.

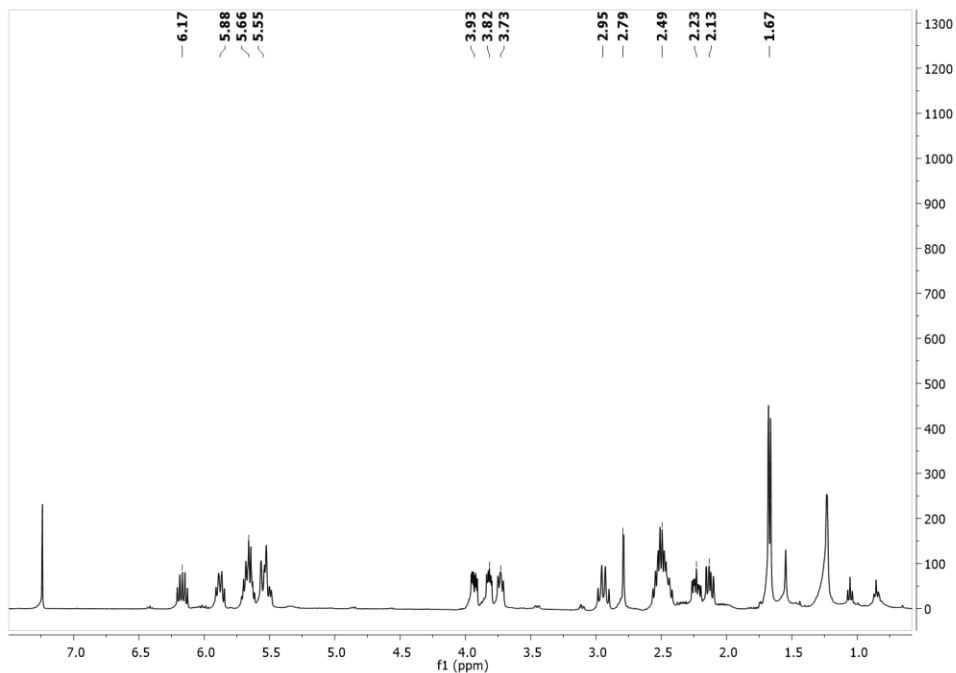


Εικόνα 294 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **68**.

Το φάσμα <sup>1</sup>H NMR (Εικ.295) εμφάνισε τις παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία διπλή κορυφή σε δ 1.67, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε βινυλικό άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε δ 2.79, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.
- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε δ 5.55, 5.67, 5.52, 5.67 και δύο διπλές τριπλών κορυφές σε δ 6.17 και 5.88, οι οποίες αντιστοιχούν σε έξι πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.

- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.82 και μία διπλή διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.73, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία διπλή διπλών διπλών κορυφή σε  $\delta$  3.93 η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.



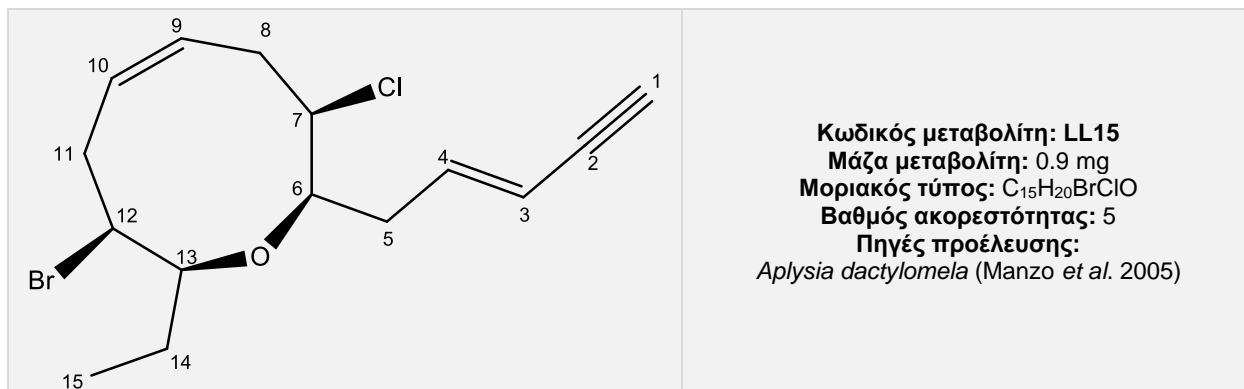
Εικόνα 295 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **68**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **68** ως μία  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη τύπου λαουρενανίου, την 3*E*-λαουρενίνη (3*E*-Laurenyne) (Overman & Thompson, 1988). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **68** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 182.

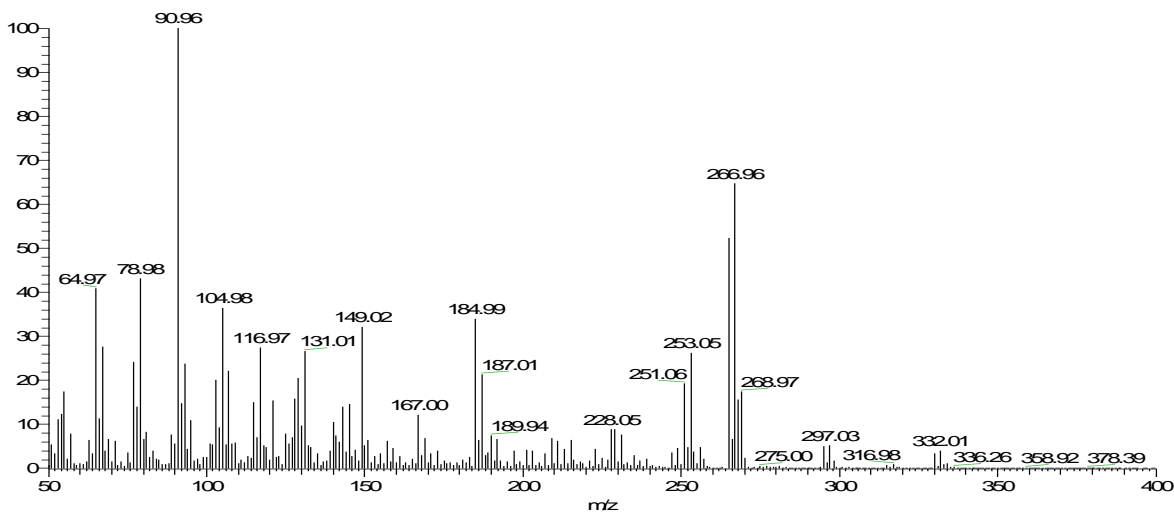
Πίνακας 182 - Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 68.

#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.79 d (2.3)	2.82 d (2.2)
3	5.55 m	5.57 d (15.6)
4	6.17 dt (15.3, 7.9)	6.20 dt (15.8, 7.8)
5a	2.49 m	2.45-2.60 m
5b	2.23 m	2.26 dddd (14.0, 8.8, 4.8, 1.0)
6	3.82 ddd (8.4, 4.8, 2.4)	3.85 ddd (8.7, 4.9, 2.5)
7	3.93 ddd (11.3, 4.8, 2.4)	3.96 dd (11.4, 4.9, 2.4)
8a	2.95 m	2.97 (dq, 11.2, 1.0)
8b	2.49 m	2.45-2.60 m
9	5.67 m	5.65-5.74
10	5.88 dt (9.7, 7.6)	5.90 dt (10.4, 8.0)
11a	2.49 m	2.45-2.60 m
11b	2.13 ddd (14.2, 8.7, 1.4)	2.16 ddd (14.2, 8.5, 1.4)
12	3.73 dd (8.7, 6.2)	3.76 dd (9.3, 6.9)
13	5.52 m	5.65-5.74 m
14	5.67 m	5.65-5.74 m
15	1.67 d (6.3)	1.70 d (6.3)

## Μεταβολίτης 69



Ο μεταβολίτης **69** παρελήφθη σε καθαρή μορφή κατόπιν χρωματογραφικών διαχωρισμών με HPLC. Στο φάσμα μάζας (EI-MS) (Εικ.296) εμφανίζεται το μοριακό ιόν  $[M]^+$  σε  $m/z$  330 και ιστοπτικές κορυφές σε  $m/z$  332 και 334 με σχετική αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.

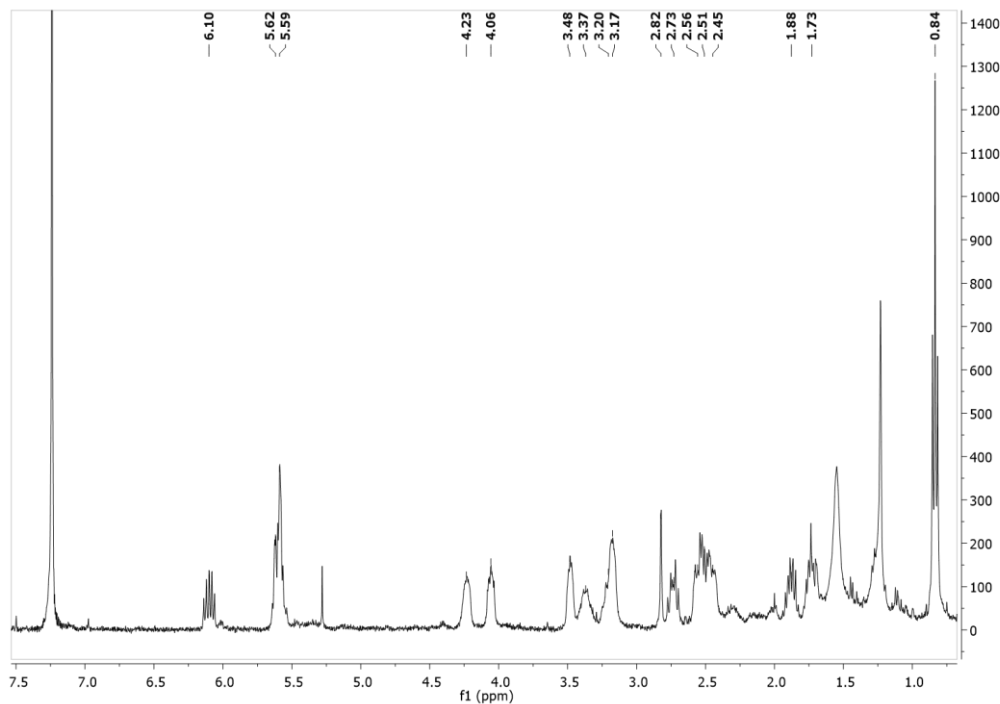


Εικόνα 296 – Φάσμα μάζας (EI-MS) του μεταβολίτη **69**.

Στο φάσμα  $^1\text{H}$  NMR (Εικ.297) παρατηρήθηκαν οι παρακάτω αναφερόμενες κορυφές με τις ακόλουθες χημικές μετατοπίσεις:

- Μία τριπλή κορυφή σε  $\delta$  0.84, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε δευτεροταγή άνθρακα.
- Μία διπλή κορυφή σε  $\delta$  2.82, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός ακετυλενικού άνθρακα.

- Τέσσερις πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  5.62, 6.10, 5.59 και 5.62, οι οποίες αντιστοιχούν σε τέσσερα πρωτόνια βινυλικών ανθράκων.
- Δύο πολλαπλές κορυφές σε  $\delta$  3.48 και 3.17, οι οποίες αντιστοιχούν σε δύο πρωτόνια οξυγονωμένων ανθράκων.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.06, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός χλωριωμένου άνθρακα.
- Μία πολλαπλή κορυφή σε  $\delta$  4.23, η οποία αντιστοιχεί σε πρωτόνιο ενός βρωμιωμένου άνθρακα.



Εικόνα 297 – Φάσμα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη **69**.

Η ανωτέρω διερεύνηση οδήγησε στην ταυτοποίηση του μεταβολίτη **69** ως μία  $\text{C}_{15}$  ακετογενίνη με χαρακτηριστικό εννιαμελή δακτύλιο (Manzo *et al.* 2005). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **69** παρατίθενται με αυτά της βιβλιογραφίας στον Πίνακα 183.

Πίνακας 183 – Φασματοσκοπικά δεδομένα  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) του μεταβολίτη 69.

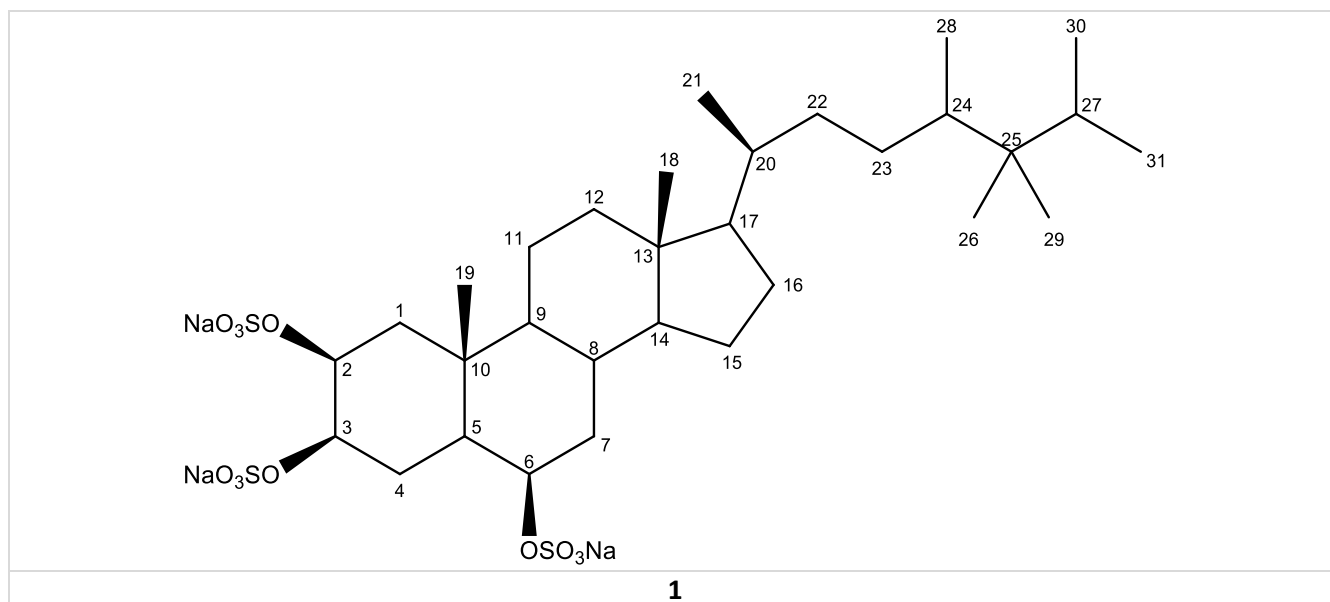
#	Πειραματικά	Βιβλιογραφικά
1	2.82 d (2.1)	2.84 d (2.2)
3	5.62 m	5.64 m
4	6.10 m	6.12 m
5a	2.73 m	2.71 m
5b	2.51 m	2.51 m
6	3.48 m	3.48 m
7	4.06 m	4.07 m
8	3.20 m 2.45 m	3.19 m 2.45 m
9	5.59 m	5.59 m
10	5.62 m	5.60 m
11	3.37 m 2.56 m	3.36 m 2.57 m
12	4.23 m	4.22m
13	3.17 m	3.17 m
14	1.88 m 1.73 m	1.88 m 1.73 m
15	0.84 t (7.2)	0.85 t (7.5)

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>: ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ  
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

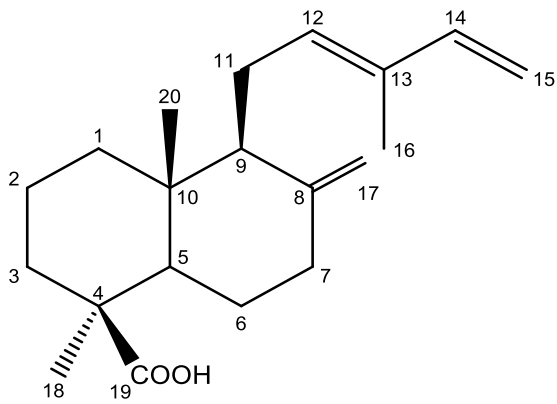
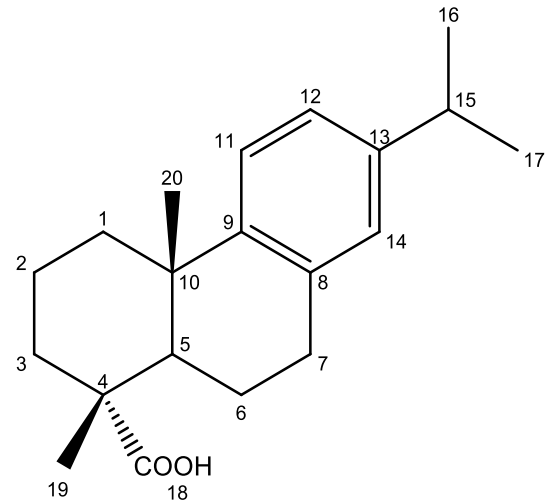
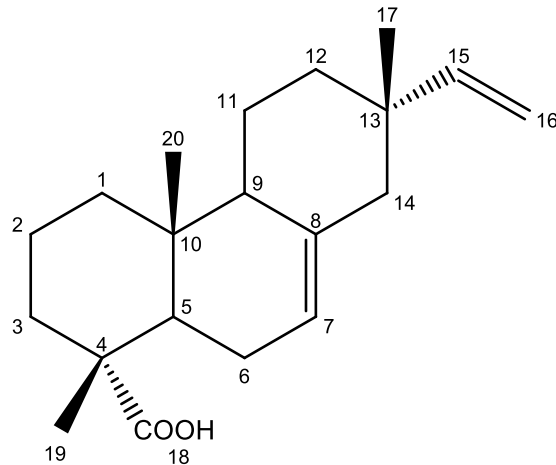


Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής συλλέχθηκαν και μελετήθηκαν έξι θαλάσσιοι οργανισμοί και συγκεκριμένα δύο σπόγγοι, ένα κοράλι και τρία ροδόφυκη. Οι οργανισμοί εκχυλίστηκαν εξαντλητικά με οργανικούς διαλύτες και τα εκχυλίσματα υποβλήθηκαν σε πλήθος χρωματογραφικών διαχωρισμών με αποτέλεσμα την απομόνωση 69 δευτερογενών μεταβολιτών, εκ των οποίων οι 18 αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα. Η απόδοση της δισδιάστατης δομής των δευτερογενών μεταβολιτών, καθώς και της σχετικής τους στερεοχημείας βασίστηκε στην ανάλυση δεδομένων που προέκυψαν από πειράματα φασματοσκοπίας NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC-DEPT, HMBC, COSY και NOESY) και άλλες φασματομετρικές και φασματοσκοπικές μεθόδους (MS, IR και UV).

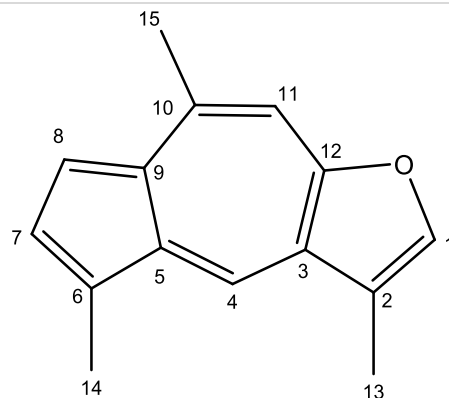
Από τον σπόγγο *Ciocalypta* sp που συλλέχθηκε από τη θαλάσσια περιοχή της Σαντορίνης σε βάθος 230 m απομονώθηκε ένας σπάνιος δευτερογενής μεταβολίτης στεροειδούς δομής που φέρει τρεις θειϊκές ομάδες (**1**).



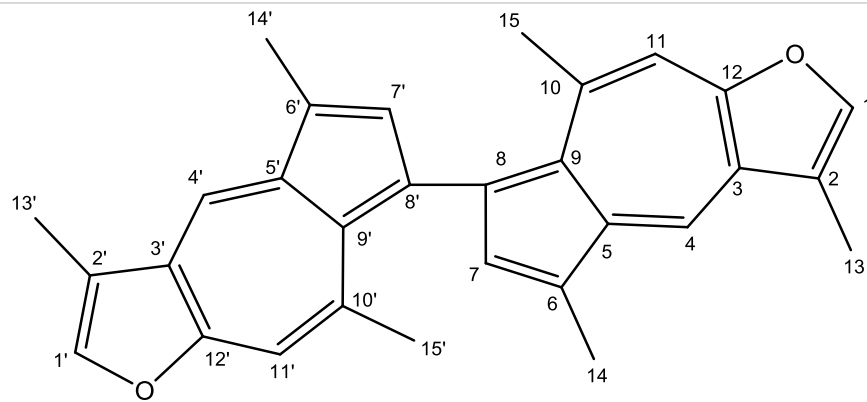
Από τον σπόγγο *Aplysina cavernicola* που συλλέχθηκε από την περιοχή της Κυλλήνης σε βάθος 100-120 m απομονώθηκαν τα διτερπένια *trans*-κομμουνικό οξύ (**2**), δεϋδροαβιετικό οξύ (**3**) και ισοπιμαρικό οξύ (**4**), τα οποία αναφέρονται πρώτη φορά ως συστατικά θαλάσσιων οργανισμών.

**2****3****4**

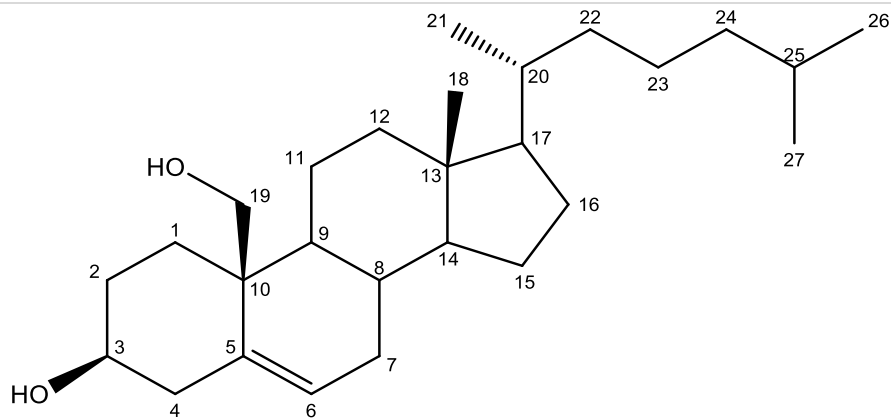
Από το μαλακό κοράλλι *Paramuricea clavata* που συλλέχθηκε από τη θαλάσσια περιοχή της Σάμου σε βάθος 80-100 m απομονώθηκαν τρεις δευτερογενείς μεταβολίτες, και συγκεκριμένα ένα αζουλένιο (5) και το διμερές του (6) που αποτελεί νέο φυσικό προϊόν, καθώς και το γνωστό στεροειδές χολεστ-5-εν-3β-19-διόλη (7).



5

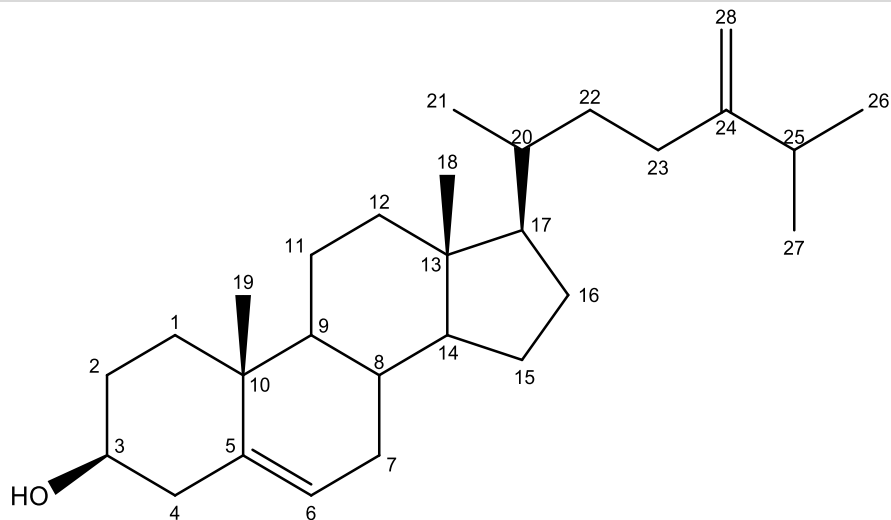


6 (Νέο φυσικό προϊόν)

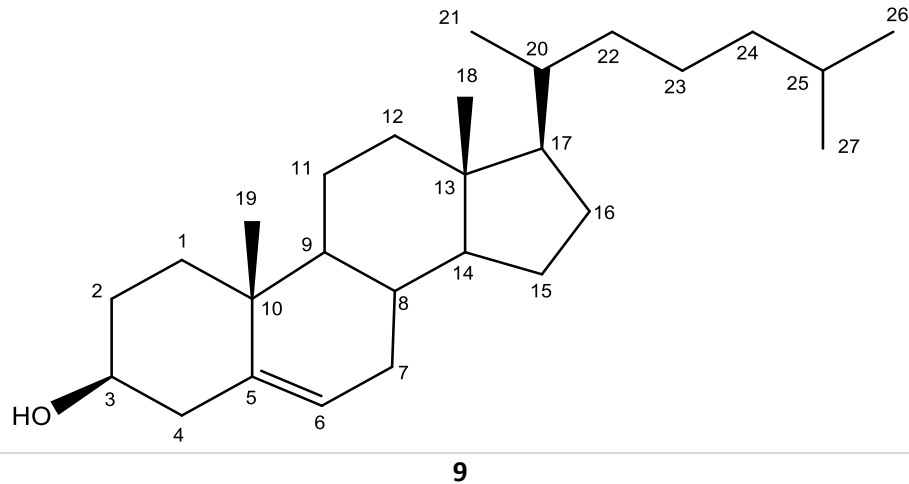


7

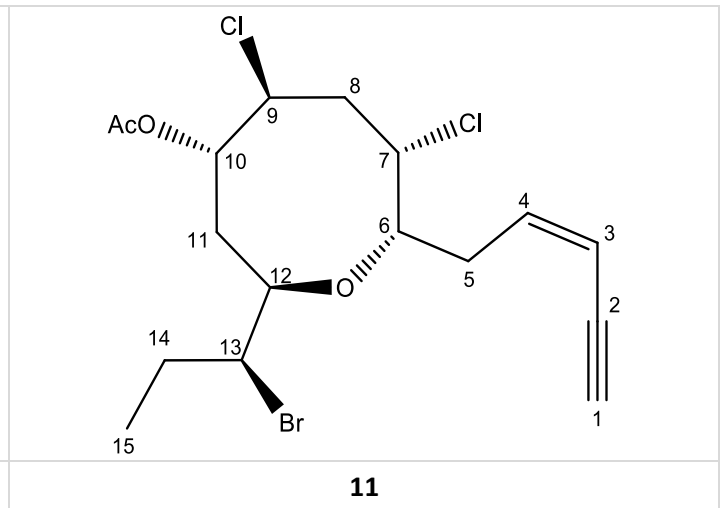
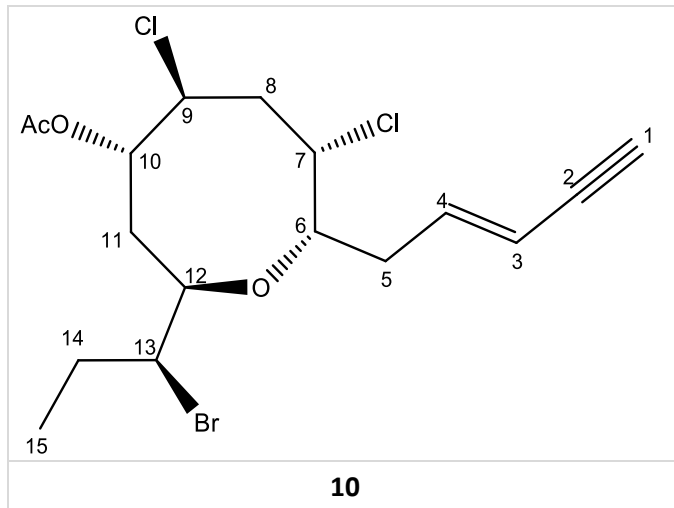
Από το ροδοφύκος *Vidalia volubilis* που συλλέχθηκε από τον Κορινθιακό κόλπο στην περιοχή του Πόρτο Γερμενό σε βάθος 25-40 m απομονώθηκαν τα γνωστά στεροειδή 24(28)-μεθυλενο-χοληστερόλη (**8**) και χοληστερόλη (**9**).

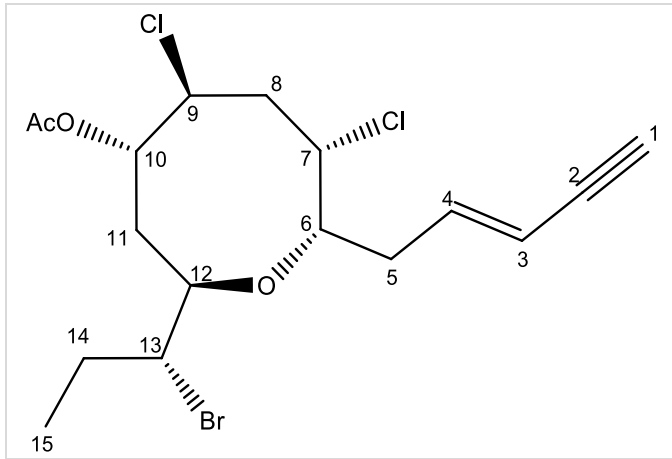


8

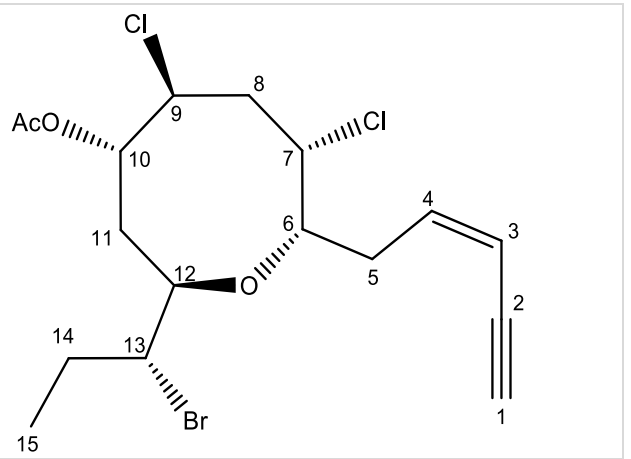


Από το ροδοφύκος *Laurencia microcladia* που συλλέχθηκε από την περιοχή Κερί στη Ζάκυνθο σε βάθος 10-15 m απομονώθηκαν 25 δευτερογενείς μεταβολίτες. Συγκεκριμένα, απομονώθηκαν 5 γνωστά (**10-13, 22**) και 8 νέα φυσικά προϊόντα (**14-21**) που ανήκουν στην χημική κατηγορία των C<sub>15</sub> ακετογενινών με σκελετό λαουρενανίου και ένας γνωστός μεταβολίτης (**23**) που ανήκει στην χημική κατηγορία των C<sub>15</sub> ακετογενινών με σκελετό λαουθισανίου.

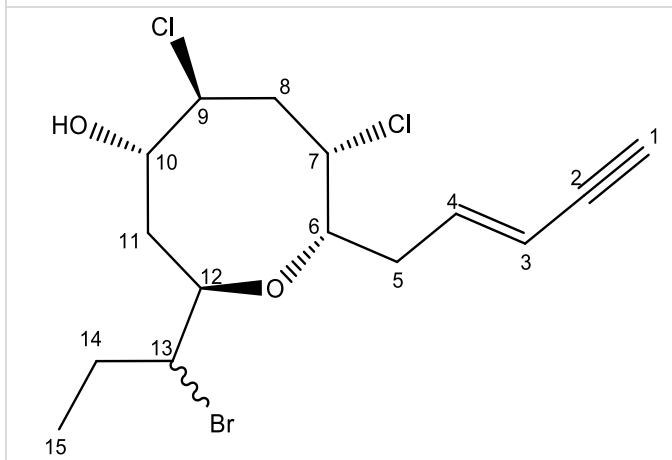




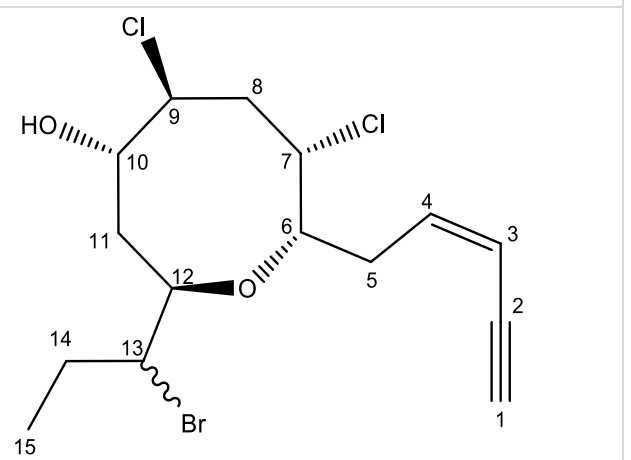
**12**



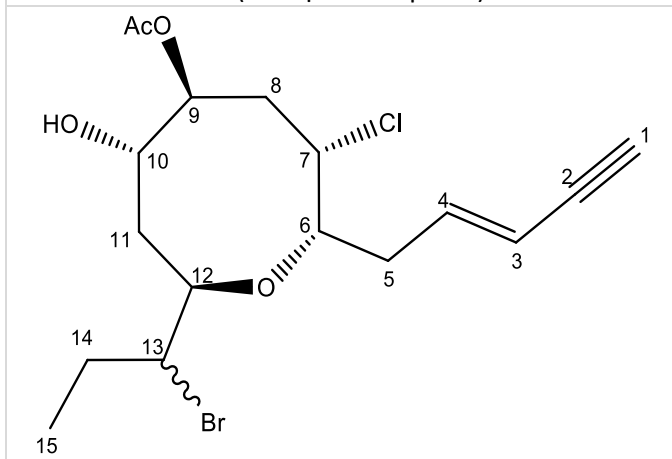
**13**



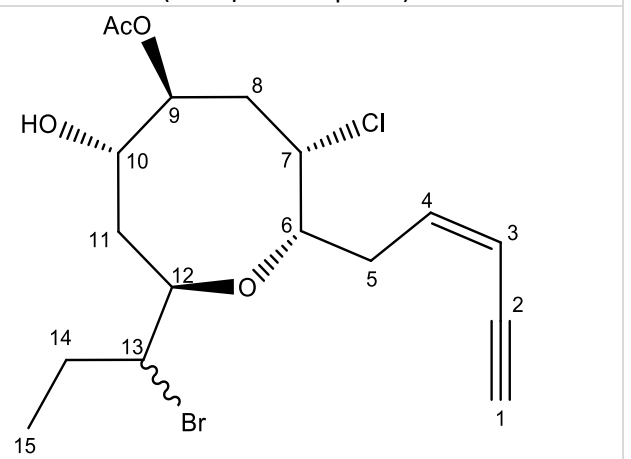
**14** (Νέο φυσικό προϊόν)



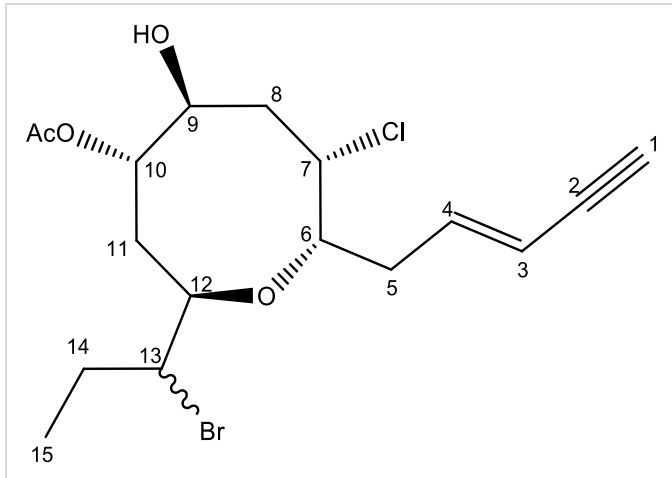
**15** (Νέο φυσικό προϊόν)



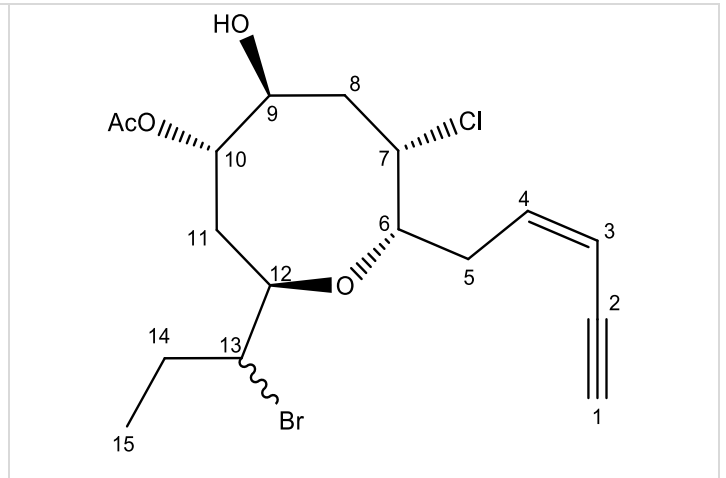
**16** (Νέο φυσικό προϊόν)



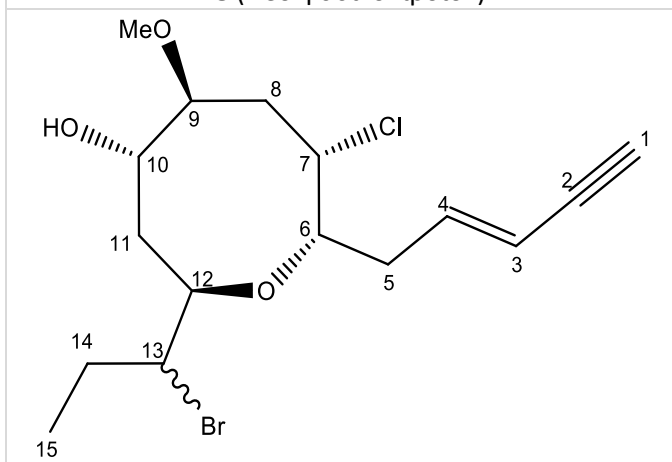
**17** (Νέο φυσικό προϊόν)



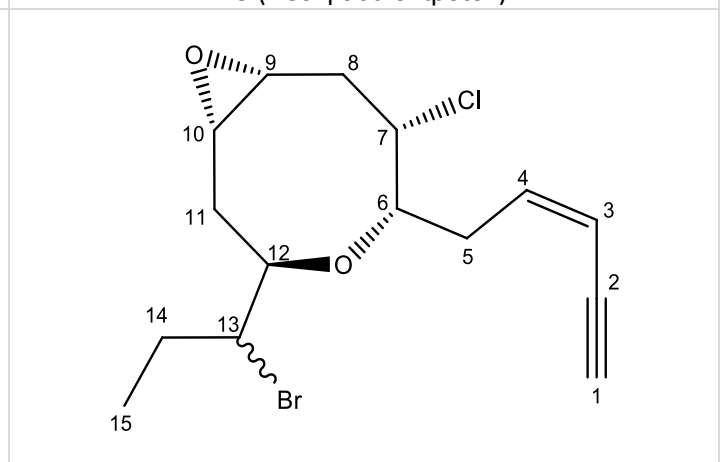
**18** (Νέο φυσικό προϊόν)



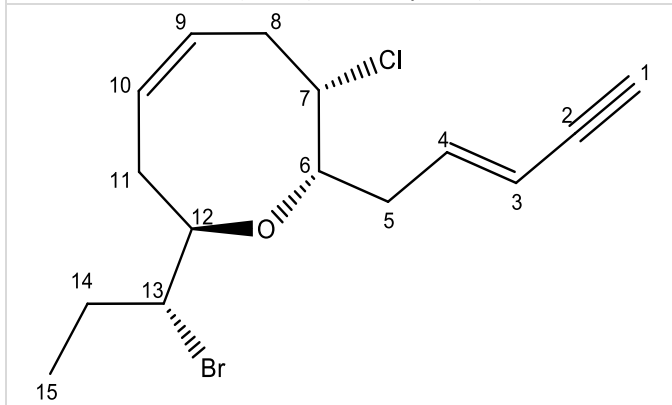
**19** (Νέο φυσικό προϊόν)



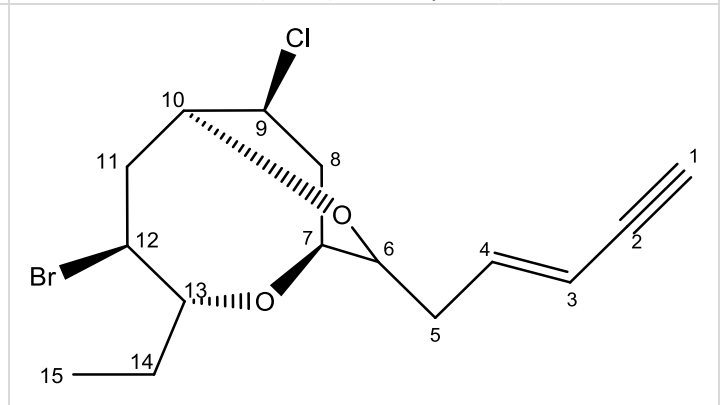
**20** (Νέο φυσικό προϊόν)



**21** (Νέο φυσικό προϊόν)

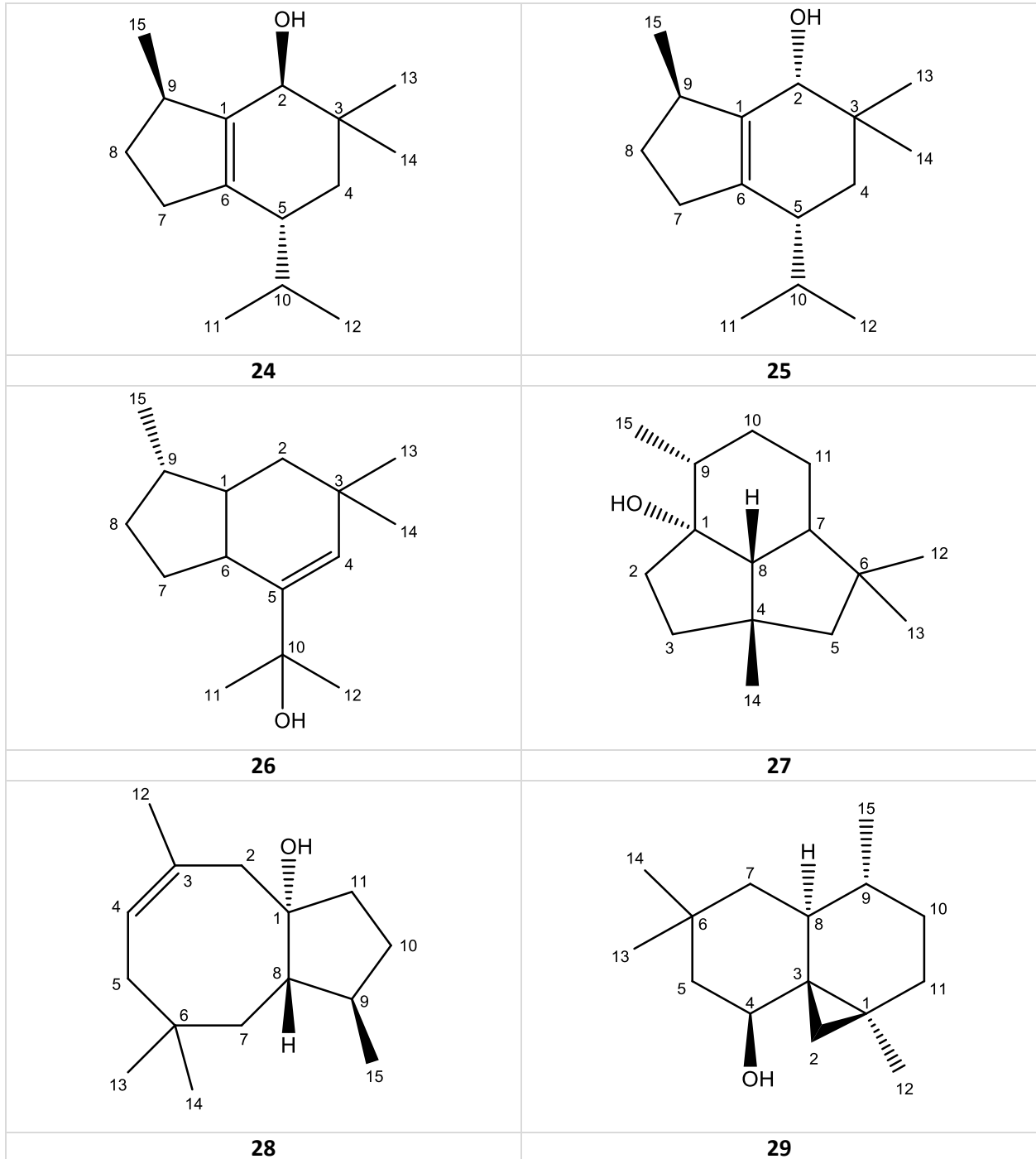


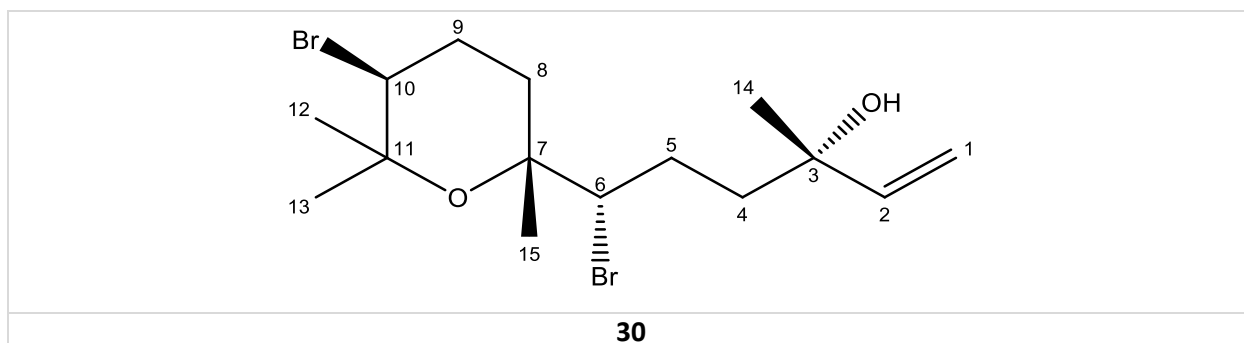
**22**



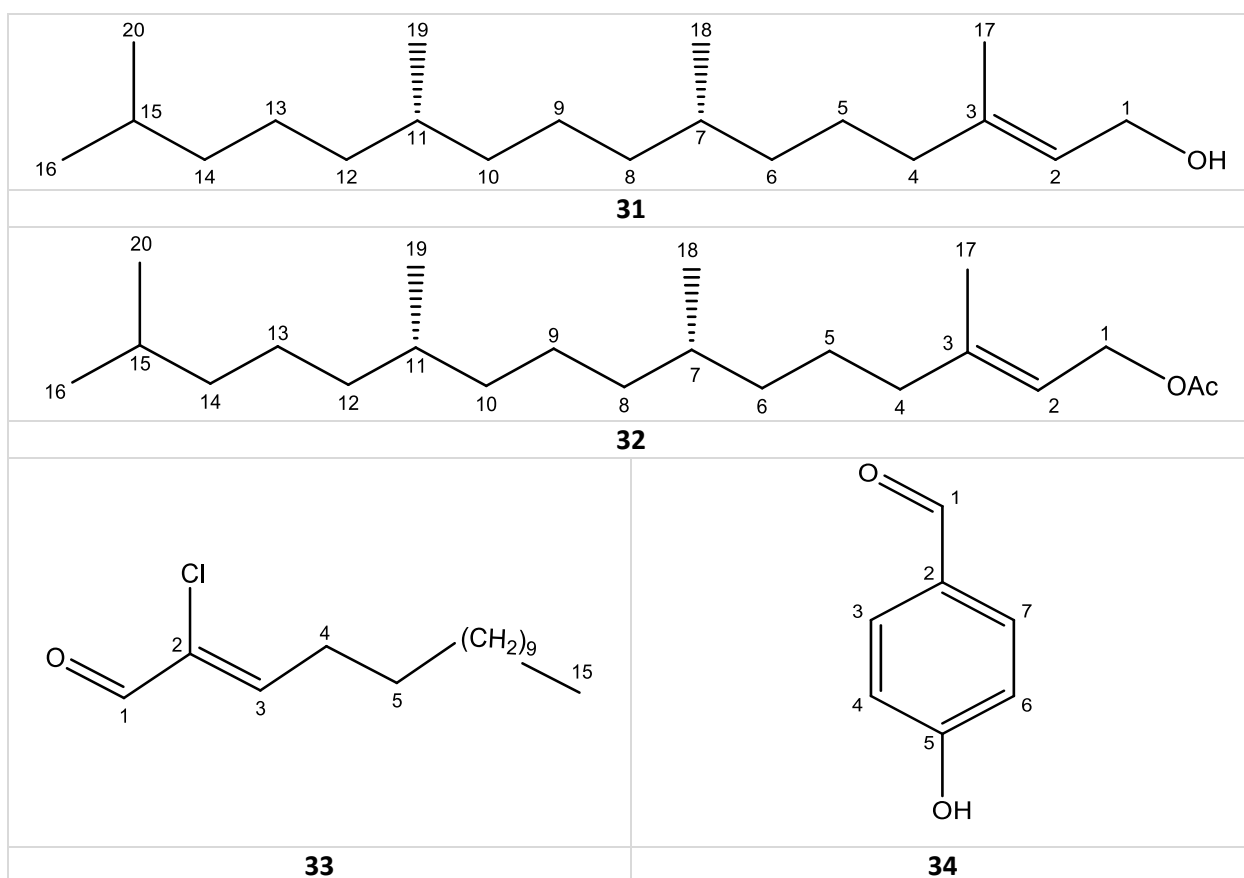
**23**

Επιπρόσθετα, απομονώθηκαν 7 σεσκιτερπένια, τα οποία ανήκουν στις κατηγορίες μπρασιλανίου (**24-26**), πρεσιλφιπερφολιανίου (**27**), κυκλοοκτενοειδούς (**28**), χουμουλενίου (**29**) και σνυδερανίου (**30**).





Επίσης, απομονώθηκαν τα διτερπένια *trans*-φυτόλη (**31**) και ακετυλο-*trans*-φυτόλη (**32**), μία αλογονωμένη αλειφατική αλδεΐδη (**33**) και η  $\pi$ -υδροξυ-βενζαλδεΐδη (**34**).

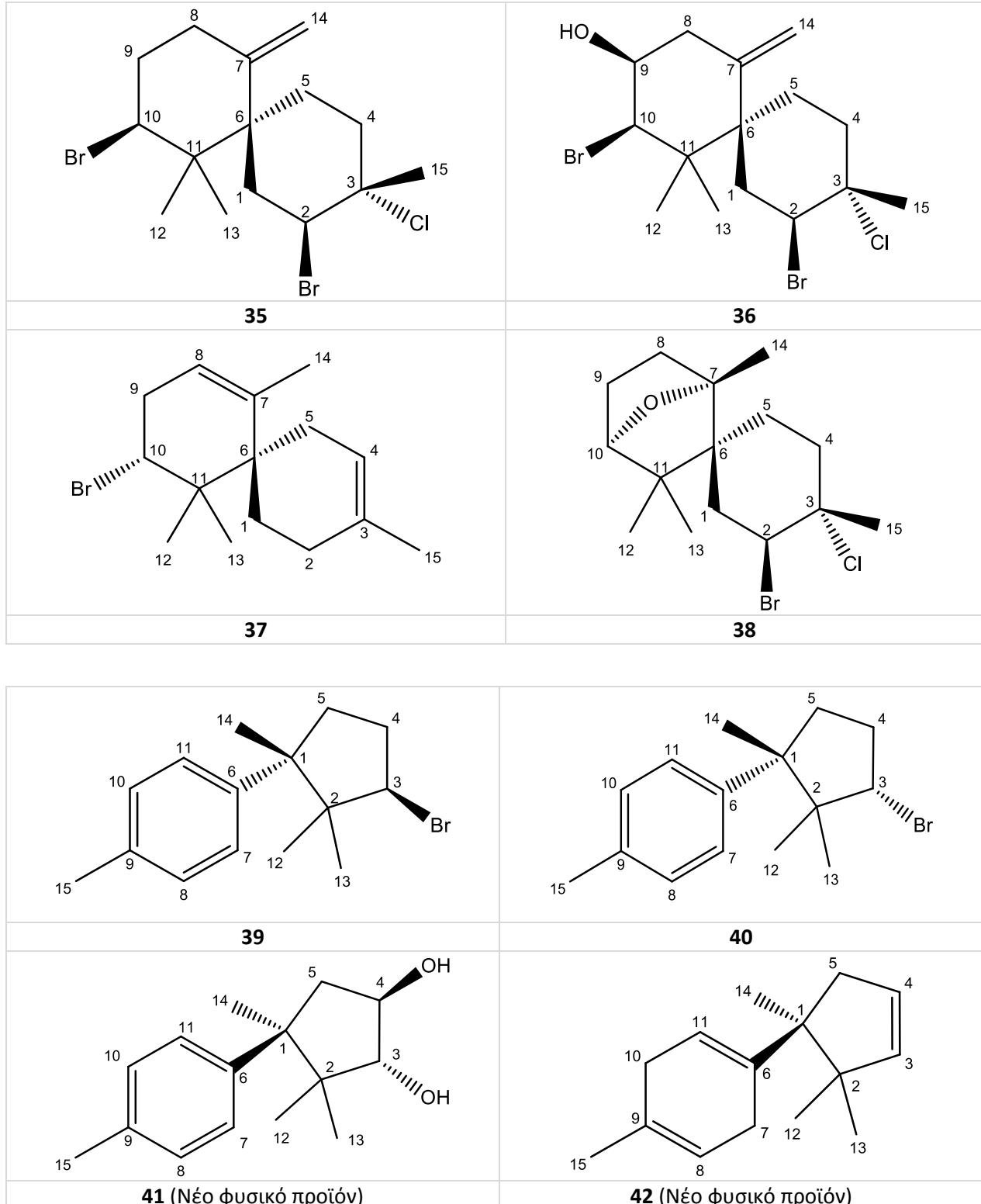


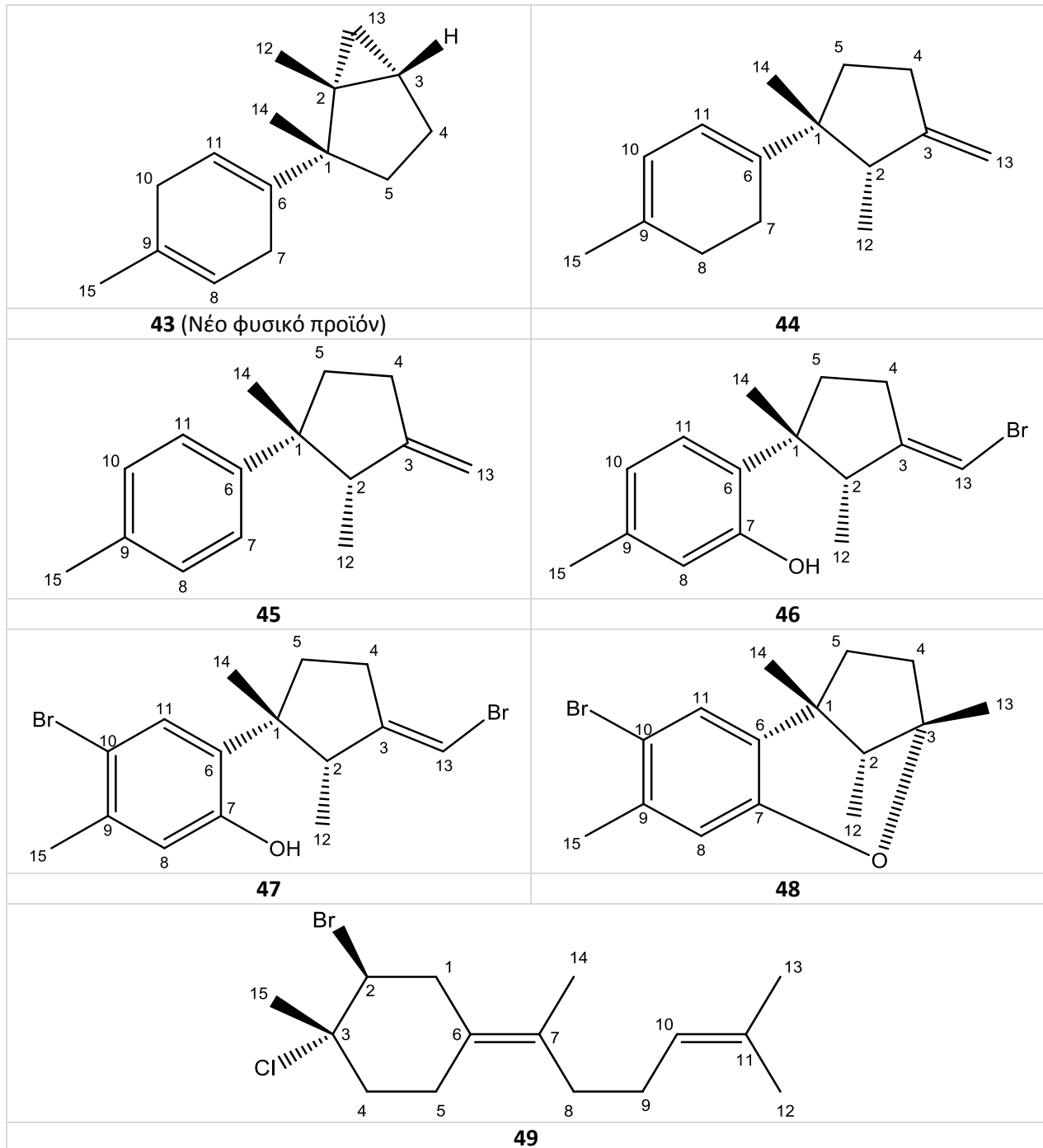
Από το ροδοφύκος *Laurencia obtusa* που συλλέχθηκε από την περιοχή Μαραθιάς στην Λευκάδα σε βάθος 10-15 m απομονώθηκαν 35 δευτερογενείς μεταβολίτες, εκ των οποίων οι εννιά αποτελούν νέα φυσικά προϊόντα. Συγκεκριμένα:

- Τρία ανήκουν στην χημική κατηγορία των σεσκιτερπενίων με σκελετό κουπαρενίου (**41-43**).
- Έξι ανήκουν στην χημική κατηγορία των  $C_{15}$  ακετογενινών με σκελετό ομπτουςαλλενίου (**52-56**, **60**).

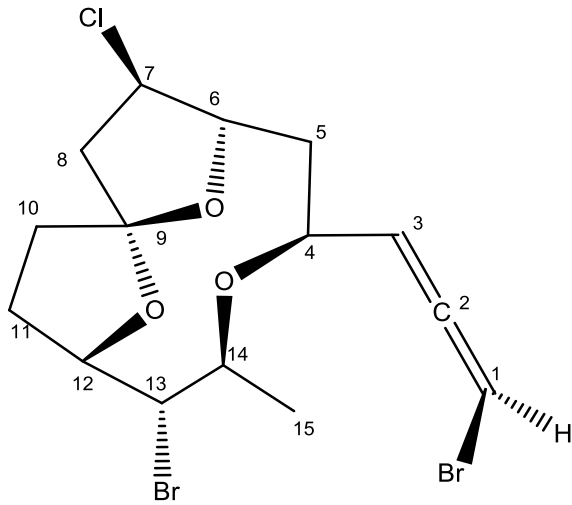


Επιπλέον, απομονώθηκαν 12 γνωστά σесκιτερπένια, εκ των οποίων τέσσερα ανήκουν στην κατηγορία των τσαμιγκρενίων (**35-38**), δύο στην κατηγορία των κουπαρενίων (**39-40**) και πέντε στην κατηγορία των λαουρενίων (**44-48**), καθώς και το αλογονωμένο μονοκυκλικό σесκιτερπένιο **49**.

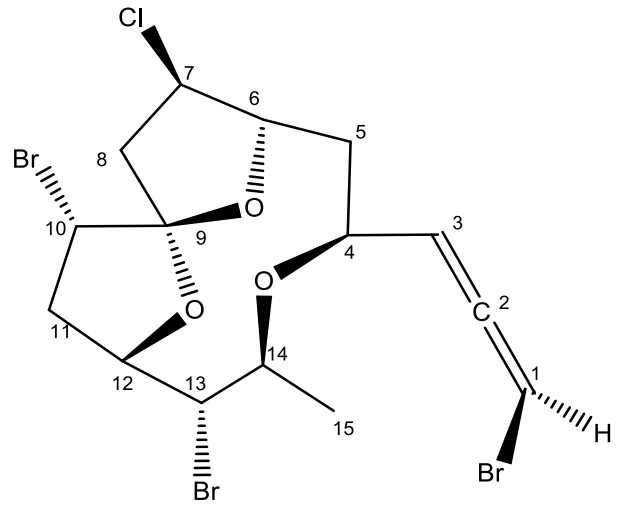




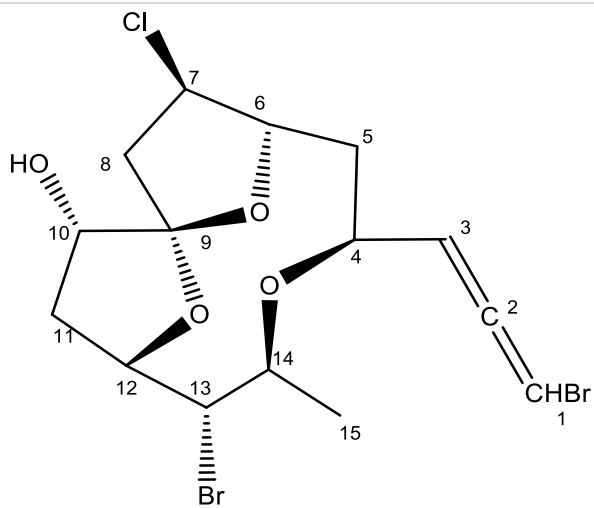
Επίσης, απομονώθηκαν 14 γνωστές  $C_{15}$  ακετογενίνες, εκ των οποίων οι επτά ανήκουν στην κατηγορία των ομπουσαλλενίων (**50**, **51**, **57-59**, **61**, **62**), δύο είναι γραμμικές (**63**, **64**), τέσσερις περιέχουν οκταμελή αιθερικό δακτύλιο (**65**, **66**, **67**, **68**) και μία εννιαμελή αιθερικό δακτύλιο (**69**).



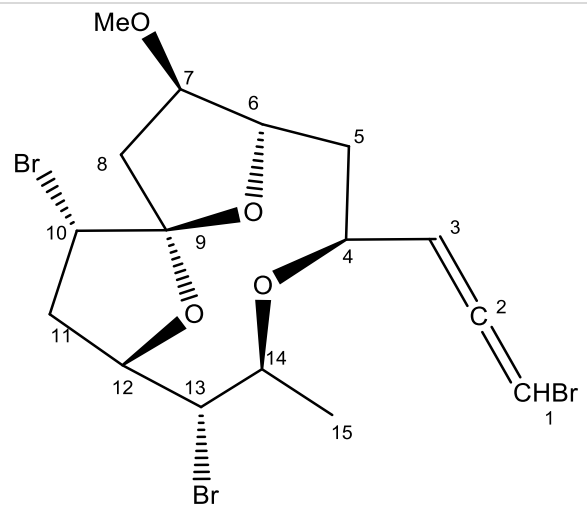
50



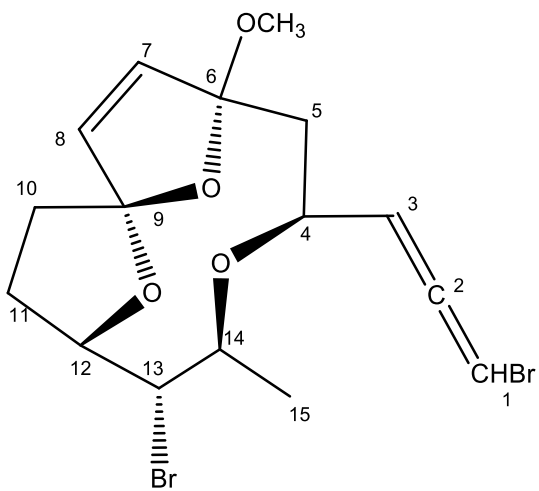
51



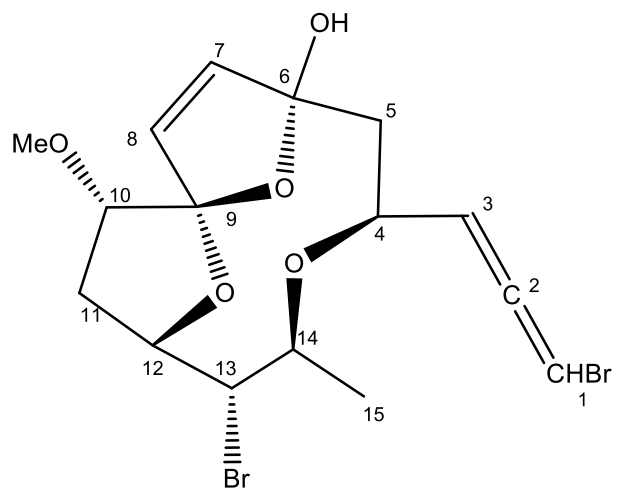
52 (Νέο φυσικό προϊόν)



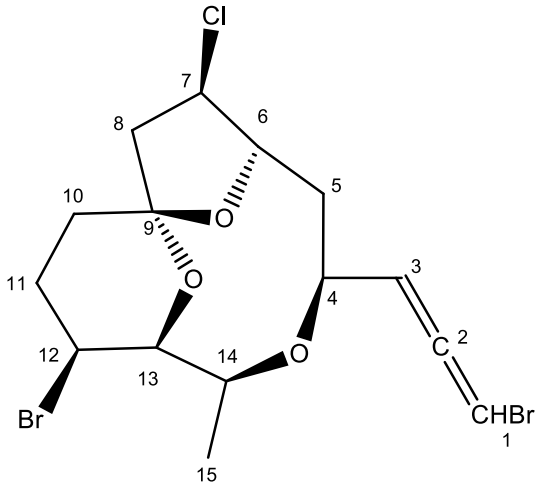
53 (Νέο φυσικό προϊόν)



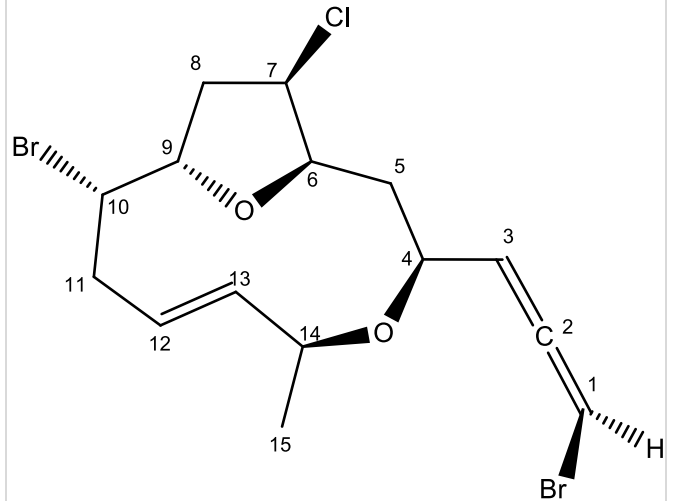
54 (Νέο φυσικό προϊόν)



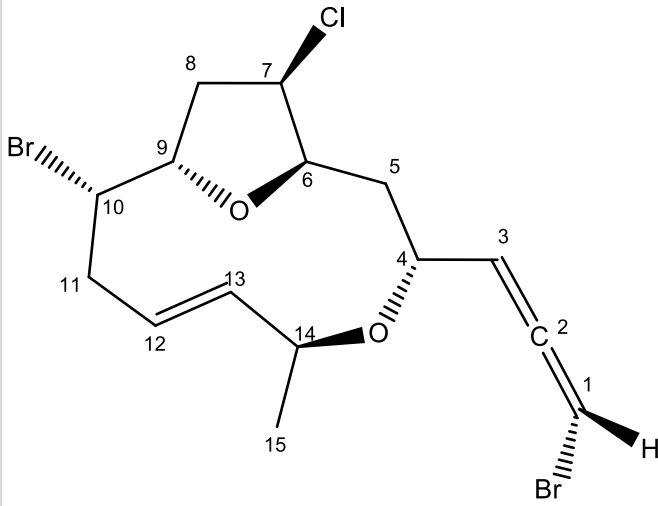
55 (Νέο φυσικό προϊόν)



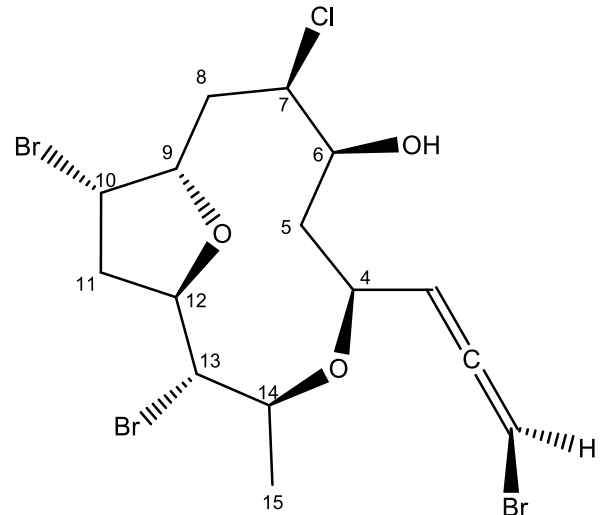
**56** (Νέο φυσικό προϊόν)



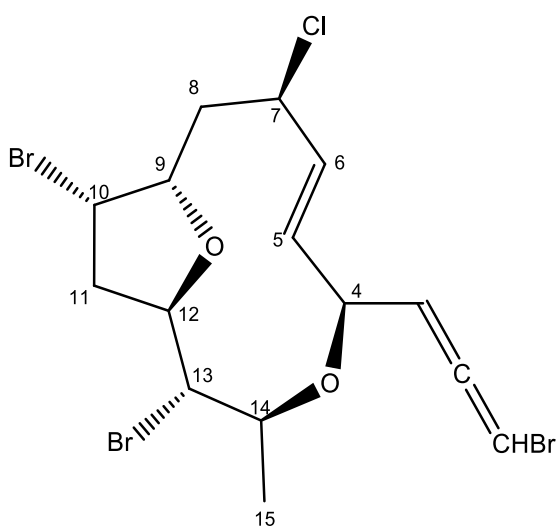
**57**



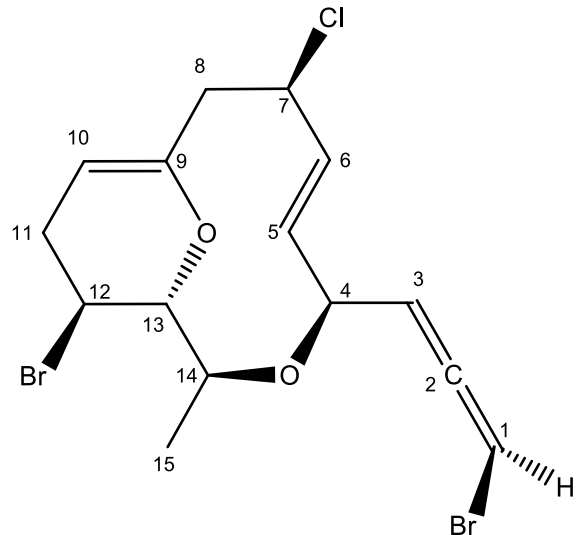
**58**



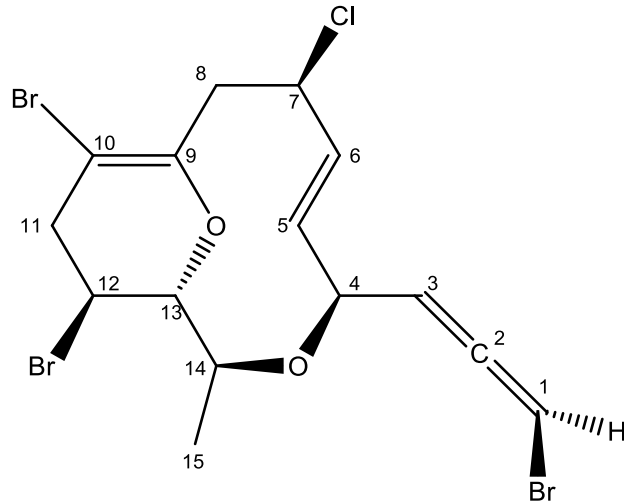
**59**



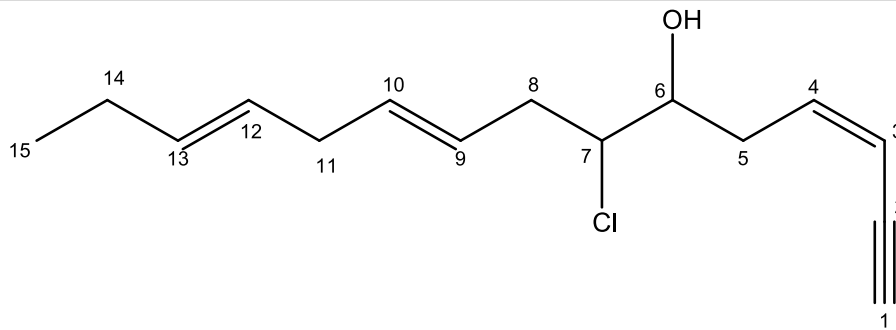
**60** (Νέο φυσικό προϊόν)



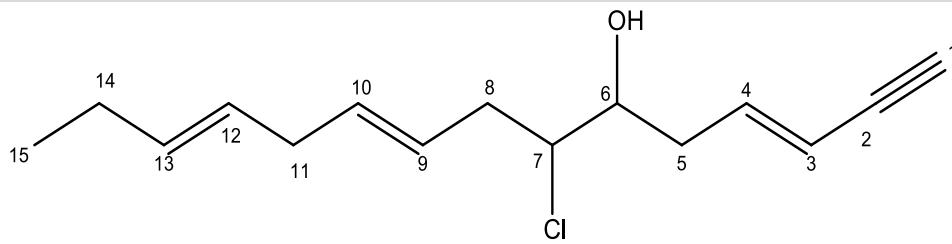
**61**



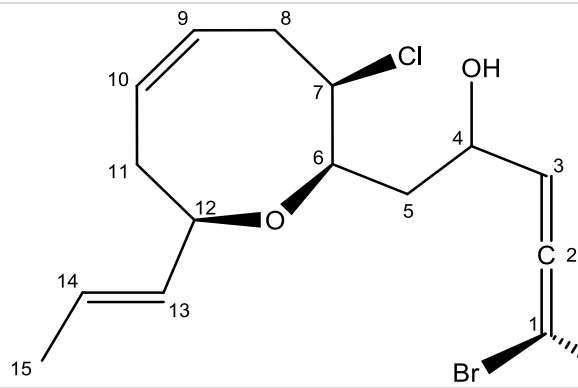
62



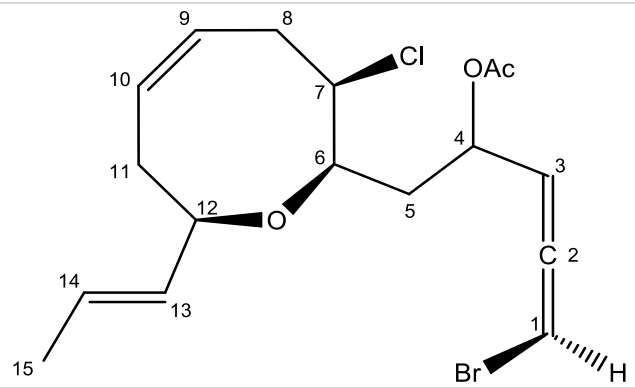
63



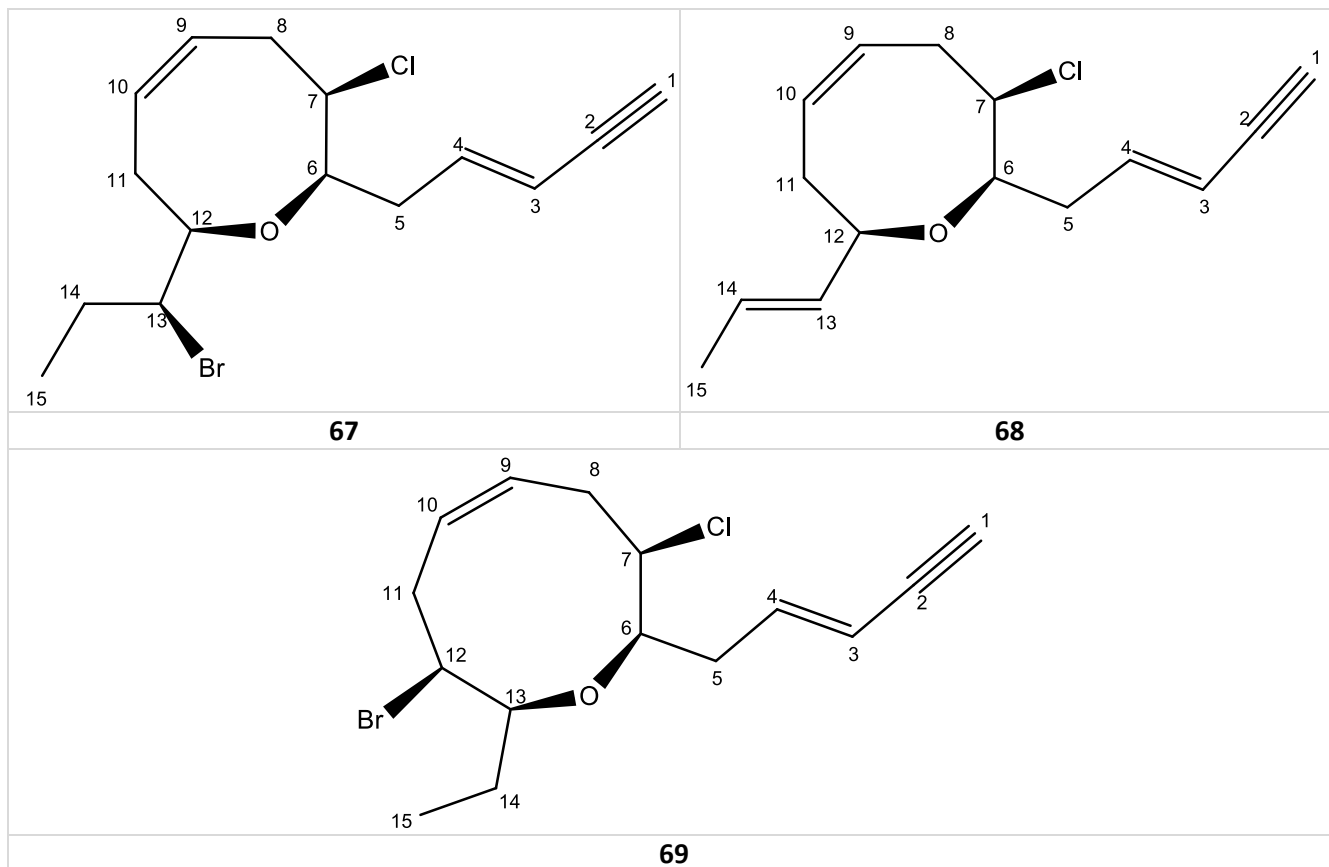
64



65



66



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Alarif W.M., Al-Lihaibi S.S., Ayyad S.E.N., Abdel-Rhman M.H., Badria F.A. Laurene-type sesquiterpenes from the Red Sea red alga *Laurencia obtusa* as potential antitumor-antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, 55, 462-466.
- Alpertunga B., Imre S., Cowe H.J., Cox P.J., Thomson R.H. A photo artefact from Linderazule. *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 4461-4462.
- Appleton D., Babcock R., Copp B. Novel tryptophan-derived dipeptides and bioactive metabolites from the sea hare *Aplysia dactylomela*. *Tetrahedron*, **2001**, 57, 10181-10189.
- Aydogmus.Z, Imre S. Secondary metabolites from the red alga *Laurencia obtusa*. *Pharmazie.*, **1997**, 52, 11-12.
- Baker D.D., Chu M., Oza U., Rajgarhia V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Nat. Prod. Rep.*, **2007**, 24, 1225–1244.
- Baras A.I., Baras A.S., Schulman K.A. Drug development risk and the cost of capital. *Nat.Rev.Drug.Discov.*, **2012**, 11, 347-348.
- Bazina M.A., Loiseaub P.M., Boriesb C., Letourneuxc Y., Raulta S., Kihela E.L. Synthesis of oxysterols and nitrogenous sterols with antileishmanial and trypanocidal activities *Eur.J.Med.Chem.*, **2006**, 41
- Berger S., Sicker D. **2009**. Classics in spectroscopy, 1st ed., Wiley-VCH, Weinheim, pp 104.
- Bhattacharya K.A., Rana C.K. Antimycobacterial agent, (E)-phytol and lauric amide from the plant *LAGASCEA MOLLIS*. *Indian.J.Chem.*, **2013**, 52B, 901-903.
- Bister B., Bischoff D., Strobele M., Riedlinger J., Reicke A., Wolter F., Bull A.T., Zahner H., Fiedler H.P., Sussmuth R.D. Abyssomicin C—A Polycyclic Antibiotic from a Marine Verrucosipora Strain as an Inhibitor of the p-Aminobenzoic Acid/Tetrahydrofolate Biosynthesis Pathway *Angew.Chem.Int.Edit.*, **2004**, 43, 2574.
- Blunt J., Lake R., Munro M. Sesquiterpenes from the marine red alga *Laurencia distichopylla*. *Phytochemistry*, **1984**, 23, 1951-1954.
- Braddock D, Rzepa HS. Structural reassignment of obtusallenes V, VI, and VII by GIAO-based density functional prediction. *J.Nat.Prod.*, **2008**, 71, 728-730.
- Brauers G., Ebel R., Edrada R., Wray V., Berg A., Grafe U., Proksch P. Hortein, a new natural product from the fungus *Hortaea werneckii* associated with the sponge *Aplysina aerophoba*. *J.Nat.Prod.*, **2001**, 64, 651-652.
- Breton R., Reynolds W. Using NMR to identify and characterize natural products. *Nat.Prod.Rep*, **2013**, 30, 501-524.



- Brito I., Cueto M., Diaz-Marrero A.R., Darias J., San-Martin A. Oxachamigrenes, New Halogenated Sesquiterpenes from *Laurencia obtusa*, *J.Nat.Prod.*, **2002**, 65, 946-948.
- Bülow N., König W. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalysed, phytochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochemistry*, **2000**, 55, 141-168.
- Caccamese S., Azzolina R., Laurencienyne, a New Acetylenic Cyclic ether from the Marine Red Alga *Laurencia Obtusa*. *Tetrahedron Lett*, **1980**, 24, 2299-2302.
- Caccamese S., Amico V., Neri P., Foti M. The structure of laurobtusol, a new rearranged sesquiterpenoid from the Mediterranean red alga *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron*, **1991**, 47, 10101-10108.
- Campos A., Souza C.B., Lhullier C., Falkenberg M., Schenkel E.P., Ribeirodu-Valle R.M., Siqueira J.M. Anti-tumour effects of elatol, a marine derivative compound obtained from red algae *Laurencia microcladia*. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2012**, 64, 1146-1154.
- Carballo J.L., Olabarria C., Osuna T.G. Analysis of four macroalgal assemblages along the Pacific Mexican Coast during and after the 1997-98 El Niño. *Ecosystems*, **2002**, 5, 749-760.
- Chambers L.D., Stokes K.R., Walsh F.C., Wood R.J.K. Modern approaches to marine antifouling coatings. *Surf. Coat. Tech.*, **2006**, 201, 3642-3652.
- Chauhan D., Hideshima T., Anderson K.C. A novel proteasome inhibitor NPI-0052 as an anticancer therapy. *Br. J. Cancer*, **2006**, 95, 961-965.
- Ciminiello P., Fattorusso E., Forino M., Magno S., Pansini M. Chemistry of Verongida sponge VIII. Bromocompounds from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 6565-6572.
- Cordell G.A., Shin Y.G. Finding the needle in the haystack. The dereplication of natural product extracts. *Pure. Appl. Chem.*, **1999**, 71, 1089-1094.
- Coll J.C., Wright A.D. Tropical marine algae IV. Novel metabolites from the red alga *Laurencia implicata* (Rhodophyta, Rhodophyceae, Ceramiales, Rhodomelaceae). *Aust. J. Chem.*, **1989**, 42, 1685-1693.
- Cox P.J., Howie A.R. X-ray Structure Analysis of Obtusallene. *Acta.Cryst.*, **1982**, B38, 1386-1387.
- Cruz-Barraza J.A., Carballo J.L., Rocha-Olivares A., Ehrlich H., Hog M. Integrative taxonomy and molecular phylogeny of Genus *Aplysina* (Demospongiae: Verongida) from Mexican Pacific. *Plos. One*, **2012**, 7, 1-15.

- Cuadrado A., Garcia-Fernandez L., Gonzalez L., Suarez Y., Losada A., Alcaide V., Martinez T., Fernandez-Sousa J., Sanchez-Puelles J.M., Munoz A. Aplidin™ Induces Apoptosis in Human Cancer Cells via Glutathione Depletion and Sustained Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor, Src, JNK, and p38 MAPK. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 241-250.
- Da Silva M., Fernanda L., Pacienza-Lima W., Rossi-Bergmann B., de Souza G.L.M., Fujii M.T., Campos de P.J., Costa S.S., Lopes N.P., Kaiser C.R., Soares A.R. Antileishmanial sesquiterpenes from the Brazilian red alga *Laurencia dendroidea*. *Planta Med.*, **2011**, 77, 733-735.
- D'Auria M., Paloma G., Minale L., Riccio R., Zampella A., Debitus C. Metabolites of the New Caledonian Sponge *Claodocroce incurvata*. *J. Nat. Prod.*, **1993**, 56, 418-423.
- Davyt D., Fernández R., Suescun L., Mombrú A.W., Saldana J., Domínguez L., Coll J., Fujii M.T., Manta E. New sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia scoparia*. Isolation, structure determination and anthelmintic activity. *J. Nat. Prod.*, **2001**, 64, 1552-1555.
- Davyt D., Fernandez R., Suescun L., Mombru A.W., Saldana J., Dominguez L., Fujii M.T., Manta E. Bisabolanes from the red alga *Laurencia scoparia*. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 1113-1116.
- De Carvalho L.R., Fujii M.T., Roque N.F., Kato M.J., Lago J.H.G. Aldingenin A, new brominated sesquiterpene from red algae *Laurencia aldingensis*. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 2637-2640.
- De Nys R., Konig G.M., Wright A.D., Sticher O. Two metabolites from the red alga *Laurencia flexilis*. *Phytochemistry*, **1993**, 34, 725-728.
- DeRiccardis F., Iorizzi M., Minale L., Riccio R., Forges R.D.F., Debitus C. The gymnochromes: novel marine brominated Phenanthroperylenequinone pigments from the stalked crinoid *Gymnocrinus richeri*. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 6781.
- DeRiccardis F., Iorizzi M., Minale L., Riccio R., Debitus C. The first occurrence of polyhydroxylated steroids with phosphate conjugation from the starfish *Tremaster novaecaledoniae*. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 1097.
- Desoti V.C., Lazarin-Bidoia D., Sudatti D.B., Pereira R.C., Alonso A., Ueda-Nakamura T., Dias F.B.P., Nakamura C.V., Silva Sde O. Trypanocidal action of (-)-elatol involves an oxidative stress triggered by mitochondria dysfunction. *Mar. drugs*, **2012**, 10, 1631-1646.
- Díaz-Marrero A.R., Brito I., De la Rosa J.M., Darias J., Cueto M. Gomerones A-C, halogenated sesquiterpenoids with a novel carbon skeleton from *Laurencia majuscula*. *Tetrahedron*, **2008**, 64, 10821-10824.
- Dias T., Brito I., Moujir L., Paiz N., Darias J., Cueto M. Cytotoxic sesquiterpenes from *Aplysia dactylomela*. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 1677-1679.

- Dos Santos A.O., Veiga-Santos P., Ueda-Nakamura T., Dias Filho B.P., Sudatti D.B., Bianco E.M., Pereira R.C., Nakamura C. V. Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. *Mar. Drugs*, **2010**, 8, 2733-2743.
- Erickson K.L., Beutler J.A., Gray G.N., Cardellina J.H., Boyd M.R. Majapolene A, a cytotoxic peroxide, and related sesquiterpenes from the red alga *Laurencia majuscula*. *J.Nat.Prod.*, **1995**, 58, 1848-1860.
- Falshaw C.P., King T.J., Imre S., Islimyeli S., Thomson R.H. Laurenyne, a new acetylene from *Laurencia obtusa*: crystal structure and absolute configuration. *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 4951-4954.
- Feling R., Buchanan G., Mincer T., Kauffman C., Jensen P., Fenical W. Salinosporamide A: A Highly Cytotoxic Proteasome Inhibitor from a Novel Microbial Source, a Marine Bacterium of the New Genus *Salinospora*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2003**, 42, 355-357.
- Fenical W., Schulte G.R., Finer J., Clardy J. Poitediol, a new nonisoprenoid sesquiterpene diol from the marine alga *Laurencia poitei*. *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 3628-3630.
- Findlay J., Guoqiang L. Novel terpenoids from the Sea hare *Aplysia punctata*. *Canad.J.Chem.*, **2002**, 80, 1697-1707.
- Fodstad O., Breistol K., Pettit G.R., Shoemaker R.H., Boyd M.R. Comparative antitumor activities of halichondrins and vinblastine against human tumor xenografts. *J. Exp. Ther. Oncol.*, **1996**, 1, 119-125.
- Fujita T., Kadoya Y., Aota H., Nakayama M. A New Phenylpropanoid Glucoside and Other Constituents of *Oenanthe javanica*. *Biosci.Biotech.Biochem.*, **1995**, 59, 526-528.
- Fukuzawa A., Takasugi Y., Murai A., Nakamura M., Tamura M. Enzymatic single-step formation of laureatin and its key intermediate prelaureatin, from (3Z, 6S, 7S)-laurediol. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 2017-2018.
- Furstner A., Langemann K. A Concise Total Synthesis of Dactylol via Ring Closing Metathesis. *J. Org. Chem.*, **1996**, 361, 8746-8749.
- Gochfeld D., Hamman M. Isolation and biological evaluation of filiformin, plakortide F, and plakortone G from the Caribbean sponge *Plakortis* sp. *J.Nat.Prod.*, **2001**, 64, 1477-1479.
- González A.G., Aguilar J.M., Martin D., Norte M. Sesquiterpenoids from the marine alga *Laurencia perforata*. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16, 2499-2502.
- González A.G., Martin J D., Martin V.S., Norte M., Perez R. Non-terpenoid C-15 metabolites from the red seaweed *Laurencia pinnatifida*. *Tetrahedron.*, **1982**, 38, 1009-1014.

- González A.G., Martin J.D., Martin V.S., Norte M., Perez R. Biomimetic approach to the syntheses of rhodolaureol and rhodolauradiol, *Tetrahedron Lett.*, **1982a**, 23, 2395-2398.
- González A.G., Martin J.D., Martin V.S., Perez R., Tagle B., Clardy J. Rhodolaureol and rhodolauradiol, two new halogenated tricyclic sesquiterpenes from a marine alga. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1985**, 5, 260-261.
- Graham L., Graham J., Wilcox L. **2009**, *Algae*, 2nd ed., Pearson.
- Guella G., Pietra F. Rogiolenyne A, B, and C: the first branched marine C15 acetogenins. Isolation from the red seaweed *Laurencia microcladia* or the sponge *Spongia zimocca*. *Helv. Chim. Acta*, **1991**, 74, 47-54.
- Guella G., Mancini I., Chiasera G., Pietra F. On the unusual propensity by the red seaweed *Laurencia microcladia* of Il Rogiolo to form C15 oxepanes: isolation of rogioloxepane A,B,C, and their likely biogenetic acyclic precursor, prerogioloxepane. *Helv. Chim. Acta*, **1992b**, 75, 310-322.
- Guella G., Chiasera G., Mancini I., Öztunç A., Pietra F. Twelve-membered O-bridged cyclic ethers of red seaweed in the genus *Laurencia* exist in solution as slowly interconverting conformers. *Chem. Eur. J.*, **1997**, 3, 1223-1231.
- Guella G., Mancini I., Öztunç A., Pietra F. Conformational bias in macrocyclic ethers and observation of high solvolytic reactivity at a masked furfuryl (=2-furylmethyl) C-atom. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 336-348.
- Guella G., Skropeta D., Breuils S., Mancini I., Pietra F. Calenzanol, the first member of a new class of sesquiterpene with a novel skeleton isolated from the red seaweed *Laurencia microcladia* from the bay of Calenzana, Elba Island. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 723-725.
- Guella G., Skropeta D., Mancini I., Pietra F. The first 6,8-cycloeudesmane sesquiterpene from a marine organism: the red seaweed *Laurencia microcladia* from the Baia di Calenzana, Elba Island. *Z. Naturforsch.*, **2002**, 57 B, 1147-1151.
- Guella G., Skropeta D., Mancini I., Pietra F. Calenzanane sesquiterpenes from the red seaweed *Laurencia microcladia* from the Bay of Calenzana, Elba Island: acid-catalyzed stereospecific conversion of calenzanol into indene- and guaiazulene-type sesquiterpenes. *Chem. Eur. J.*, **2003**, 9, 5770-5777.
- Gunasakera P.S., Sennett S.H., Kelly-Borges M. Ophirapstanol Trisulfate, A new biologically active steroid sulfate from the deep water marine sponge *Topsentia Ophiraphidites*. *J.Nat.Prod.*, **1994**, 57, 1751-1754.
- Gutiérrez-Cepeda A., Fernandez J.J., Gil L.V., Lopez-Rodriguez M., Norte M., Souto M.L.

- Nonterpenoid C-15 Acetogenins from *Laurencia marilzae*. *J. Nat. Prod.*, **2011**, 74, 441-448.
- Hall S.S., Faulkner D.J., Fayos J., Clardy J. Oppositol; a brominated sesquiterpene alcohol of a new skeletal class from the red alga *Laurencia subopposita*. *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 7187-7189.
  - Iliopoulou D., Vagias .C, Harvala C., Roussis V. C<sub>15</sub> Acetogenins from the red alga *Laurencia obtusa*, *Phytochemistry*, 2002, 59, 111-116
  - Iliopoulou D., Vagias C., Galanakis D., Argyropoulos D., Roussis V. Brasilane type sesquiterpenoids from *Laurencia obtusa*. *Org.Lett.*, **2002**, 4, 3263-3266.
  - Imre S., Islimyeli S., Öztunç A., Thomson R.H. Obtusenol, a sesquiterpene from *Laurencia obtusa*. *Phytochemistry*, **1981**, 20, 833-834.
  - Imre S., Thomson R.H, Yalhi B. Linderazulene, a new naturally occurring pigment from the gorgonian *Paramuricea chamaeleon*. *Experientia*, **1981**, 37, 442-443.
  - Imre S., Aydogmus Z. Secondary metabolites from the red alga *Laurencia obtusa*. *Pharmazie*, **1997**, 11, 883-884.
  - Ioannou E., Nappo M., Avila C., Vagias C., Roussis V. Metabolites from the Sea Hare *Aplysia fasciata*. *J. Nat. Prod*, **2009**, 72, 1716-1719.
  - Irie T., Yasunari Y., Suzuki T., Imai N., Kurosawa E., Masamune T. A new sesquiterpene hydrocarbon from *Laurencia glandulifera*. *Tetrahedron Lett.*, **1965**, 40, 3619-3624.
  - Ishihara J., Murai A. Biosynthesis of cyclic bromo-ethers, derived from red algae. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **2001**, 59, 1181-1198.
  - Jackson K.L., Henderson J.A., Philips A.J. The Halichondrins and E7389. *Chem.Rev.*, **2009**, 109, 3044-3079.
  - Jamieson D., De Rome P., Taylor K. Potent inhibition of oxidative phosphorylation by marine natural products. *J.Pharm.Sci.*, **1980**, 69, 462
  - Kameyama T., Takahashi A., Kurasawa S., Ishizuka M., Okami Y., Takeuchi T., Umezawa H. Bisucaberin, A New Siderophore, sensitizing tumor cells to macrophage-mediated cytotoxicity. *J.Antibiot.*, **1987**, 40, 1664.
  - Kashman Y., Hirsch S., Koehn F., Cross S., Reischwig A and B, novel antiviral diterpenes from a deepwater sponge. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 5461.
  - Kazlauskas R., Murphy P.T., Quinn R.J., Wells R.J. New laurene derivatives from *Laurencia filiformis*. *Aust.J.Chem.*, **1976**, 29, 2533-2539.
  - Kazlauskas R., Murphy P.T., Wells R.J., Daly J.J., Oberhansli W.E. Heterocladol, a halogenated selinane sesquiterpene of biosynthetic significance from *Laurencia filiformis*, its isolation, crystal

- structure and absolute configuration. *Aust. J. Chem.*, **1977**, 30, 2679-2687.
- Kazlauskas R., Murphy P.T., Wells R.J. A Brominated metabolite from the Red Alga *Vidalia spiralis*. *Aust.J.Chem.*, **1982**, 35, 219-220.
  - Kem W., Soti F., Wildeboer K., LeFrancois S., MacDougall K., Wei D., Chou K., Arias H. The Nemertine Toxin Anabaseine and Its Derivative DMXBA (GTS-21): Chemical and Pharmacological Properties. *Mar.Drugs*, **2006**, 4, 255-273.
  - Kerr L.M., Yoshikami D. A venom peptide with a novel presynaptic blocking action. *Nature*, **1984**, 308, 282-284.
  - Kim Se-Kwon. **2011**. Marine Cosmeceuticals: Trends and Prospects, 1st ed., CRC Press.
  - Kimura J., Kamada N., Tsujimoto Y. Fourteen Chamigrane Derivatives from a Red Alga, *Laurencia nidifica*. *Bull.Chem.Soc.Jpn.*, **1999**, 72, 289-292
  - Killday B.K., Longley R., McCarthy P.J., Pomponi S.A., Wright A.E. Sesquiterpene-Derived Metabolites from the Deep Water Marine Sponge *Poecillastra sollasi*. *J.Nat.Prod.*, **1993**, 56, 500.
  - Kladi M., Vagias C., Furnari G., Moreau D., Roussakis C., Roussis V. Cytotoxic cuparene sesquiterpenes from *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5723-5726.
  - Kladi M., Xenaki H., Vagias C., Papazafiri P., Roussis V. New cytotoxic sesquiterpenes from the red algae *Laurencia obtuse* and *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 182-189.
  - Kladi M., Vagias C., Stavri M., Mukhlesur Rahman M., Gibbons S., Roussis V. C15 acetogenins with antistaphylococcal activity from the red algae *Laurencia glandulifera*. *Phytochem. Lett.*, **2008**, 1, 31-36.
  - Kladi M., Vagias C., Papazafiri P., Brogi S., Tafi A., Roussis V. Tetrahydrofuran acetogenins from *Laurencia glandulifera*. *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72, 190-193.
  - Kokkotou K., Ioannou E., Nomikou M., Pitterl F., Vonaparti A., Siapi E., Zervou M., Roussis V. An integrated approach using UHPLC-PDA-HRMS and 2D HSQC NMR for the metabolic profiling of the red alga *Laurencia*: dereplication and tracing of natural products. *Phytochemistry*, **2014**, 108, 208-219.
  - Kong DX, Jiang YY, Zhang HY. Marine natural products as sources of novel scaffolds: achievement and concern. *Drug.Discov.Today*, **2010**, 15, 884-886.
  - König G., Wright A. New C<sub>15</sub> Acetogenins and Sesquiterpens from the Red Alga *Laurencia sp.cf.L. gracilis*. *J.Nat.Prod.*, **1994**, 57, 477-485.
  - König G., Wright A. *Laurencia rigida*: Chemical investigations of its antifouling dichloromethane extract. *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 967-970.

- Kurosawa E., Fukuzawa A., Irie T. trans- and cis-laurediol, unsaturated glycols from *Laurencia nipponica* Yamada. *Tetrahedron Lett.*, **1972**, 21, 2121-2124.
- Kuznetsov G., Tendyke K., Towle M., Cheng H., Liu J., Marsh J., Schiller S., Spyvee M., Yang H., Seletsky B., Shaffer C., Marceau V., Yao Y., Suh E., Campagna S., Fang F., Kowalczyk J., Littlefield B.A. Tubulin-based antimitotic mechanism of E7974, a novel analogue of the marine sponge natural product hemiasterlin. *Mol.Cancer.Ther.*, **2009**, 8, 2852-2860.
- Mao S.C., Guo Y.W. A laurane sesquiterpene and rearranged derivatives from the chinese red alga *Laurencia olamurai* Yamada. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 1209-1211.
- Laval G., Audran G., Sanchez S., Monti H. Enantiospecific total synthesis of both enantiomers of laurene by a chemical diastereoselection/lipase-catalyzed kinase resolution sequence. *Tetrahedron Asymm.*, **1999**, 10, 1927-1933.
- Leal J., Garcia-Hernandez V., Moneo V., Domingo A., Bueren-Calabuig J., Negri A., Gago F., Guillen-Navarro M., Aviles P., Cuevas C., Garcia- Fernandez L., Galmarini C. Molecular pharmacology and antitumor activity of Zalypsis in several human cancer cell lines. *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 78, 162-170.
- Lhullier C., Falkenberg M., Ioannou E., Quesada A., Papazafiri P., Horta P.A., Schenkel E.P., Vagias C., Roussis V. Cytotoxic halogenated metabolites from the brazilian red alga *Laurencia catarinensis*. *J. Nat. Prod.*, **2010**, 73, 27-32.
- Li D., Wang F., Xiao X., Fang Y., Zhu T., Gu Q., Zhu W. Corrigendum to "Trisorbicillinone A, a novel sorbicillin trimer, from a deep ocean sediment derived fungus, *Phialocephala* sp. FL30r". *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 8083.
- Li D.H., Cai S.X., Tian L., Lin J.Z., Zhu T.Z., Fang C.Y., Liu P.P., Gu Q.Q., Zhu M.W. Two new metabolites with cytotoxicities from deep-sea fungus, *Aspergillus sydowi* YH11-2. *Arch. Pharm. Res.*, **2007**, 30, 1051.
- Ling Y., Aracil M., Jimeno J., Perez-Soler R., Zou Y. Molecular pharmacodynamics of PM02734 (elisidepsin) as single agent and in combination with erlotinib; synergistic activity in human non-small cell lung cancer cell lines and xenograft models. *Eur. J. Cancer*, **2009**, 45, 1855-1864.
- Li C., Li X., Cui C., Wang B. Brominated metabolites from the marine red alga *Laurencia similis*. *Z. Naturforsch. B*, **2010**, 65, 87-89.
- Luzhetskyy A., Pelzer S., Bechthold A. The future of natural products as a source of new antibiotics. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2007**, 8, 608-613.

- Magina C., Cooperb S., Brennana A. Non-toxic antifouling strategies. *Mater. Today*, **2010**, 13, 36-44.
- Makarieva T.N., Stonik V.A., Dyachuk O.G., Dmitrenok A.S. Annasterol sulfate, a novel marine sulfated steroid, inhibitor of glucanase activity from the deep water sponge *Poecillastra laminaris*. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 129.
- Manzo E., Ciavatta M., Letizia G., Puliti M., Mollo R., Yue-Wei G., Carlo Andrea M., Lelio M., Guido C. Structure and absolute stereochemistry of novel C<sub>15</sub> halogenated acetogenins from the anaspidean mollusc *Aplysia dactylomela*. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7456-7460.
- Mancini I., Guerriero A., Guella G., Bakken T., Zibrowius H., Pietra F. Novel 10-Hydroxydocosapolyenoic Acids from Deep-Water Scleractinian Corals. *Helv. Chim. Acta*, **1999**, 82, 677.
- Mayer A.M.S., Hamann M.T. Marine pharmacology in 2000: Marine compounds with Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities, affecting the Cardiovascular, Immune and Nervous Systems and other Miscellaneous Mechanisms of Action. *Mar. Biotechnol.*, **2004**, 37-52.
- McPhail K.L., Davies M.T., Copley R.C.B., Eggleston D.S. New Halogenated Sesquiterpenes from South African Specimens of the Circumtropical Sea Hare *Aplysia dactylomela*. *J. Nat. Prod.*, **1999**, 62, 1618-1623.
- Melching S., König W. Sesquiterpenes from the essential oil of the liverwort *Conocephalum conicum*. *Phytochemistry*, **1999**, 51, 517-523.
- Mihopoulos N., Vagias C., Scoullou M., Roussis V. Laurencienyne B, A New Acetylenic Cyclic Ether From the Red Alga *Laurencia Obtusa*. *Nat. Prod. Lett.*, **1999**, 2, 151-156.
- Milijanich G.P. Ziconotide: Neuronal calcium channel blocker for treating severe chronic pain. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11, 3029-3040.
- Montesinos M.C., Gadagni P., Longaker M., Sung J., Levine J., Nilsen D., Reibman J., Li M., Chuan K-J., Hirschhorn R., Recht P., Ostad E., Levin R., Cronstein B. Wound healing is accelerated by agonists of adenosine A<sub>2</sub> (G alpha s-linked) receptors. *J. Exp. Med.*, **1997**, 186, 1615-1620.
- Munro M., Blunt J., Dumdei E., Hickford S., Lill R., Li S., Battershill C., Duckworth A. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *J. Biotechnol.*, **1999**, 70, 15-25.
- Newman D., Cragg G. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.*, **2012**, 70, 311-335.



- Newman D.J., Cragg G.M., Battershill C.N. Therapeutic agents from the sea: biodiversity, chemo-evolutionary insight and advances to the end of Darwin's 200<sup>th</sup> year. *Diving. Hyperb. Med.* **2009**, 39, 216-225.
- Nicholson B., Lloyd G.K., Miller B. NPI-2358 is a tubulin-depolymerizing agent: in-vitro evidence for activity as a tumor vascular-disrupting agent. *Anticancer drugs*, **2006**, 17, 25-31.
- Norte M., Fernandez J.J., Cataldo F., Gonzalez A.G. E-Dihydrorhodophytin, a C-15 acetogenin from the red alga *Laurencia pinnatifida*. *Phytochemistry*, **1989**, 28, 647-649.
- Norte M., Fernandez J.J., Souto M.L. Viridianol, a rearranged sesquiterpene with a novel carbon skeleton from *Laurencia viridis*. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 4607-4610.
- Ohgane K., Karaki F., Noguchi Y T., Dodo K., Hashimoto Y. Structure activity relationships of oxysterol -derived pharmacological chaperones for Niemann Pick type C1 protein. *Bioorganic.Med.Chem.Lett.*, **2014**, 24, 3480-3485.
- Ojima I. Modern natural products chemistry and drug discovery. *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 2587–2588.
- Overman E.L., Thompson A.S. Total Synthesis of (-)-Laurenyne. Use of Acetal-Initiated Cyclizations To Prepare Functionalized Eight-Membered Cyclic Ethers. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 2248-2256.
- Öztunç A., Imre S., Wagner H. A new haloether from *Laurencia* possessing a lauroxacyclododecane ring. Structural and conformational studies. *Tetrahedron*, **1991**, 47, 2273-2276.
- Öztunç A., Imre S., Lotter H., Wagner H. Two C15 bromoallenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *Phytochemistry*, **1991a**, 30, 255-257.
- Πετράκη Α. Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης. **2010**.
- Padilla-Gamiño J.L. Carpenter R.C. Thermal ecophysiology of *Laurencia pacifica* and *Laurencia nidifica* (Ceramiales, Rhodophyta) from tropical and warm-temperate regions. *J. Phycol.*, **2007**, 43, 686-692.
- Palagiano E., Zollo F., Minale L., Paloma G.J., Iorizzi M., Bryan P., McClintock J., Hopkins T. Downeyoside A and B, Two New Sulphated Steroid Glucuronides from the Starfish *Henricia downeyae*. *Tetrahedron*, **1995**, 51, 12293.
- Pangestuti R., Kim S.K. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *J. Function. Food*, **2011**, 3, 255-266.

- Penez N., Culioli G., Perez T., Briand J.F., Thomas O., Blache Y. Antifouling Properties of Simple Indole and Purine Alkaloids from the Mediterranean Gorgonian *Paramuricea clavata*. *J. Nat. Prod.*, **2011**, 74, 2304-2308.
- Pettit G.R., Herald C.L., Allen M.S., Von Dreele R.B., Vanell L.D., Kao P.Y., Blake W. The isolation and structure of aplysistatin. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 262-263.
- Pinto C.S., Leitao G.G., Bizzo R.H., Martinez N., Dellacassa E., Martins dos Santos Jr F., Costa Paranhos Luiz F., De Amorim Barbosa M., Leitao Guimaraes S. (-)-epi-Presilphiperfolan-1-ol, a new triquinane sesquiterpene from essential oil of *Anemia tomentosa* var. *anthriscifolia* (Pteridophyta). *Tetrahedron Lett.*, **2009**, 50, 4785-4787.
- Ray A., Okouneva T., Manna T., Miller H., Schmid S., Arthaud L., Luduena R., Jordan M., Wilson L. Mechanism of Action of the Microtubule-Targeted Antimitotic Depsipeptide Tasidotin (Formerly ILX651) and Its Major Metabolite Tasidotin C-Carboxylate. *Cancer Res.*, **2007**, 67, 3767-3776.
- Reddy N.S., Reed J.K., Longley R.E., Wright A.E. Two New Cytotoxic Linderazulenes from a Deep-Sea Gorgonian of the Genus *Paramuricea*. *J.Nat.Prod.*, **2005**, 68, 248.
- Rinehart K.L., Holt G.T., Fregeau N.L., Stroh J.G., Keifer P.A., Sun F., Li H., Martin D.G. Ecteinascidins 729, 743, 745, 759A, 759B, and 770: potent antitumor agents from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 4512-4515.
- Rochfort S. Metabolomics reviewed: A new "Omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 1813-1820.
- Rouhi M. Betting on Natural Products for Cures. *Chem.Eng.News*, **2003**, 81, 93-103.
- Roussis V., Wu Z., Fenical W., Strobel S., Van Duyne G., Clardy J. New anti-inflammatory pseudopterosins from the marine octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae*. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 4916-4922.
- Ryu B., Jeong J., Kim H., Kim M., Park J., Kim D., Nguyen H., Park J., Chang S., Park H., Rho C., Lee S. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CL pro inhibition. *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 7940-7947.
- Saeki B.M., Granato A.C., Berlinck R.G.S., Magalhaes A., Schefer A.B., Ferreira A.G., Pinheiro U.S., Hajdu E. Two Unprecedented Dibromotyrosine-Derived Alkaloids from the Brazilian Endemic Marine Sponge *Aplysina caissara*. *J.Nat.Prod.*, **2002**, 65, 796-799.
- Saketi S., Higa T. 2,3-Dihydrolinderazulene, a new bioactive azulene pigment from the gorgonian *Acalycigorgia* sp. *Experientia*, **1987**, 43, 624-625.

- Sandler S., Colin P., Kelly M., Fenical W. Cytotoxic Macrolides from a New Species of the Deep-Water Marine Sponge *Leiodermatium*. *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 7245-7251.
- Saunders G.W., Hommersand M.H. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *Am.J.Bot.*, **2004**, 91, 1494-1507.
- Schmitz F., Hollenbeak K., Vanderah D. Marine Natural Products: Dactylol, a new sesquiterpene alcohol from a sea hare. *Tetrahedron*, **1978**, 34, 2719-2722.
- Schwartz R.E., Scheuer P.J., Zabel V. The coraxeniolides, constituents of pink coral, *corallium* sp. *Tetrahedron*, **1981**, 37, 2725.
- Sharma R., Kishore N., Hussein A. Lall N. The potential of *Leucosidea sericea* against *Propionibacterium acnes*. *Phytochem.Lett.*, **2014**, 7, 124-129.
- Shyong L., McChesney J. Preparation of Potential Anti-Inflammatory Agents from Dehydroabietic Acid. *J. Pharm. Sci.*, **1992**, 81, 646-651.
- Sims J.J., Lin G.H.Y., Wing R.M. Marine Natural Products X: Elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from the red alga *Laurencia elata*. *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 39, 3487-3490.
- Stallard O.M., Fenical W. The brasilenols, rearranged sesquiterpene alcohols isolated from the marine opisthobranch *Aplysia brasiliana*. *Tetrahedron*, **1978**, 34, 2077-2081.
- Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities, *Annu.Rev.Microbiol.*, **2002**, 56, 187-209.
- Stowe S.D., Richards J.J., Tucker A.T., Thompson R., Melander C., Cavanagh G. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges, *Mar.drugs*. **2011**, 9, 2010-2035.
- Sun J., Shi D.Y., Li S., Wang S.J., Han L.J., Fan Z., Yang Y.C., Shi J.G. Chemical constituents of the red alga *Laurencia tristicha*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **2007**, 9, 725-734.
- Suzuki T., Suzuki M., Kurosawa E. a-bromocuparene and a-isobromocuparene, New bromo compounds from *Laurencia* species. *Tetr.Lett.*, **1975**, 35, 3057-3058
- Suzuki M., Furusaki A., Kurosawa E. The absolute configurations of halogenated chamigrene derivatives from the marine alga, *Laurencia grandulifera* Kützting *Tetrahedron*, **1979**, 35, 823-831.
- Suzuki M., Takahashi Y., Matsuo Y., Guiry M.D., Masuda M. Scanlonenyne, a novel halogenated C-15 acetogenin from the red alga *Laurencia obtusa* in Irish waters. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 4271-4278.
- Takeda K., Nagata W. Components of the root of *Lindera strychnifolia* Vill. V. Azulenes isolated from linderene by zincdust distillation. *Pharm.Bull.*, **1953**, 1, 164-169.

- Talpir R., Benayahu Y., Kashman Y. Hemiasterlin and geodiamolide TA; two new cytotoxic peptides from the marine sponge *Hemiasterella minor* (Kirkpatrick). *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 4453-4456.
- Topcu G., Aydogmus Z., Imre S., Gören A.C., Pezzuto J.M., Clement J.A., Kingston D.G. Brominated sesquiterpenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66, 11, 1505-1508.
- Tori M., Katsuyuki N., Masashi S., Yoshinori A. Revised Structure of a Brasilane-Type Sesquiterpene Isolated from the Red Alga *Laurencia implicata* and its Absolute Configuration. *Tetrahedron.Lett.*, **1994**, 35, 3105-3106.
- Urban S., Separovic F. Developments in hyphenated spectroscopic methods in natural product profiling. *Front. Drug Des. Discov.*, **2005**, 1, 113–166.
- Vairappan C.S., Daitoh M., Suzuki M., Abe T., Masuda M. Antibacterial halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia* species. *Phytochemistry*, **2001**, 58, 291-297.
- Vairappan C.S. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biomol. Eng.*, **2003**, 20, 255-259.
- Vairappan C.S., Anangdan S.P., Matsunaga S. Diet-derived halogenated metabolite from the sea hare *Aplysia parvula*. *Malays J.Sci.*, **2009**, 28, 269-273.
- Vairappan C.S., Kamada T., Lee W-W., Jeon Y-J. Anti-inflammatory activity of halogenated secondary metabolites of *Laurencia snackeyi* (Weber-van Bosse) Masuda in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J. Appl. Phycol.*, **2013**.
- Veiga-Santos P., Pelizzaro-Rocha K.J., Santos A.O., Ueda-Nakamura T., Dias Filho B.P., Silva S.O., Sudatti D.B., Bianco E.M., Pereira R.C., Nakamura C.V. In vitro anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*. *Parasitology*, **2010**, 137, 1661-1670.
- Verweij J. Soft tissue sarcoma trials: one size no longer fits all. *J.Clin.Oncol.*, **2009**, 27, 3085-3087.
- Watanabe J., Tsugitaka N., Motohiro K. Comparison of the antivasular and cytotoxic activities of TZT-1027 (Soblidotin) with those of other anticancer agents. *Anticancer drugs*, **2007**, 18, 905-911.
- Wickramasinghe M Bandaranayake. The nature and role of pigments of marine invertebrates. *Nat.Prod.Rep.*, **2006**, 23, 223-255.
- Wiemer D.F., Idler D.D., Fenical W. Vidalols A and B, new anti-inflammatory bromophenols from the Caribbean marine red alga *Vidalia obtusiloba*. *Experientia*, **1991**, 47, 851-853.
- Wong H.F., Brown G.D. Photo-oxygenation of phytol and the structure revision of phytene-1,2-diol from *Artemisia annua* to phytene-1-ol-2-hydroperoxide., *J.Chem.Res.S.*, **2002**, 1 , 30-33.
- Woo W., Choi U., Boriesb C., Park C., Lee R. A New Lignan Glycoside from *Juniperus rigida*

---

*Arch.Pharm.Res.*, **2011**, 34, 2043-2049

- Wratten S.J., Faulkner D.J. Metabolites of the red alga *Laurencia subopposita*. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 3343-3349.
- Wright D.A., Konig M.G., Sticher O. New Sesquiterpenes and C15 Acetogenins from the Marine Red Alga *Laurencia implicata*. *J. Nat. Prod.*, **1991**, 54, 1025-1033.
- Yoo H.D., Ketchum S., France D., Bair K., Gerwick W. Vidalenolone, a Novel Phenolic Metabolite from the Tropical Red Alga *Vidalia* sp. *J.Nat.Prod.* **2002**, 65, 51-53.
- Zhang W., Guo Y.W., Mollo E., Fontana A., Cimino G. Acanthovagasteroids A-D, Four New 19-Hydroxylated Steroids from the South China Sea Gorgonian *Acanthogorgia vagae Aurivillus*. *J.Nat.Prod.*, **2004**, 67, 2083-2085.