



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

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΑΠΟ ΤΑ
ΡΟΔΟΦΥΚΗ *LAURENCIA MICROCLADIA* ΚΑΙ
*LAURENCIA OBTUSA***

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

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

ΜΑΡΙΑ ΧΑΡΙΖΑΝΗ

**ΑΘΗΝΑ
ΙΟΥΛΙΟΣ 2013**



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

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ ΑΠΟ ΤΑ ΡΟΔΟΦΥΚΗ *LAURENCIA MICROCLADIA* ΚΑΙ *LAURENCIA OBTUSA*

Isolation and identification of secondary metabolites from the marine red algae *Laurencia
microcladia* and *Laurencia obtusa*

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

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

ΜΑΡΙΑ ΧΑΡΙΖΑΝΗ

(Α.Μ. 1115-12)

**ΑΘΗΝΑ
ΙΟΥΛΙΟΣ 2013**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Ευσταθία Ιωάννου

Λέκτορας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αλέξιος-Λέανδρος Σκαλτσούνης

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευσταθία Ιωάννου

Λέκτορας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος των ροδοφυκών *Laurencia microcladia* Kützinger και *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux, δείγματα των οποίων συλλέχθηκαν από τη νήσο Τήνο των Κυκλάδων, σε βάθος 0,5 - 2 m, το Σεπτέμβριο του 2011.

Έπειτα από εξαντλητική εκχύλιση των οργανισμών με οργανικούς διαλύτες, τα δύο εκχυλίσματα υποβλήθηκαν σε σειρά χρωματογραφικών διαχωρισμών και απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS 21 μεταβολίτες.

Συγκεκριμένα απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν:

- Από το φύκος *Laurencia microcladia*,
 - i. έξι σεσκιτερπένια: ένα γραμμικό (1), δύο μονοκυκλικά με σκελετό μπισαμπολανίου (2,3), δύο αρωματικά με σκελετό λαουρανίου (4,5) και ένα μπραζίλανικού τύπου (6),
 - ii. δύο διτερπένια: ένα με λαβδανικό σκελετό (8) και ένα παράγωγο παργκουαρανίου (9), και
 - iii. τρεις C₁₅ ακετογενίνες: δύο με επταμελή δακτύλιο (η μία εκ των οποίων είναι διακλαδισμένη) (11,12) και μία με τετραϋδροπυρανικό δακτύλιο που αποτελεί νέο φυσικό προϊόν (10).
- Από το φύκος *Laurencia obtusa*,
 - i. τρία σεσκιτερπένια: δύο αρωματικά με σκελετό λαουρανίου (4,5) και ένα με σκελετό περφορανίου (7), και
 - ii. δέκα C₁₅ ακετογενίνες: μία με διακλαδισμένο επταμελή δακτύλιο (12), δύο με οκταμελή δακτύλιο (13,14), μία με εννιαμελή δακτύλιο (15) και έξι ομπτουςαλλένια (16,17,18,19,20,21).

Τα δύο σεσκιτερπένια λαουρανίου (4,5) και η διακλαδισμένη C₁₅ ακετογενίνη με επταμελή δακτύλιο (12) απομονώθηκαν και από τους δύο οργανισμούς.

Λέξεις-κλειδιά: ροδοφύκη, δευτερογενείς μεταβολίτες, θαλάσσια φυσικά προϊόντα, *Laurencia microcladia*, *Laurencia obtusa*.

ABSTRACT

Members of the genus *Laurencia* (Ceramiales, Rhodomelaceae) are thalloid algae comprising approximately 140 species which occur worldwide in different marine habitats. They have been proven to be a rich source of bioactive natural products, especially of halogenated sesquiterpenes, diterpenes, triterpenes and non-terpenoid C₁₅-acetogenins. Moreover, the chemistry of this genus is intriguing as it varies according to the site and the time of collection.

Specimens of *Laurencia microcladia* Kützinger and *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux were collected from the coastal rocks of Tinos, Greece, at a depth of 0.5 - 2 m in September of 2011. Extraction of the specimens with mixtures of CH₂Cl₂/MeOH, followed by a series of chromatographic separations (VLC, GCC, HPLC) led to the isolation and structure elucidation of 21 metabolites.

Specifically, the isolated metabolites include:

- From the red algae *Laurencia microcladia*,
 - i. six sesquiterpenes: one linear (**1**), two of bisabolane class (**2,3**), two of laurane type (**4,5**) and one of brasilane skeleton (**6**),
 - ii. two diterpenes: one of labdane type (**8**) and one of parguerane type (**9**), and
 - iii. three C₁₅ acetogenins: two oxepanes (one of them branched) (**11,12**) and one tetrahydropyrane which is a new natural product (**10**).
- From the red algae *Laurencia obtusa*,
 - i. three sesquiterpenes: two of laurane type (**4,5**) and one of perforane class (**7**), and
 - ii. ten C₁₅ acetogenins: one branched oxepane (**12**), two with an eight-membered ring (**13,14**), one with a nine-membered ring (**15**) and six obtusallenes (**16,17,18,19,20,21**).

The two laurane sesquiterpenes and the C₁₅ branched oxepane were isolated from both extracts.

Keywords: red algae, secondary metabolites, marine natural products, *Laurencia microcladia*, *Laurencia obtusa*.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τη Λέκτορα του Τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Ευσταθία Ιωάννου και τον Καθηγητή Βασίλειο Ρούσση για την ανάθεση του θέματος, την υποστήριξη και την καθοδήγησή τους καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής Καθηγητή Βασίλειο Ρούσση, Καθηγητή Αλέξιο-Λέανδρο Σκαλτσούνη και Λέκτορα Ευσταθία Ιωάννου για την ανάγνωση και αξιολόγηση της εργασίας μου.

Ευχαριστώ τον εκλίποντα Αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνο Βάγια που με ενέπνευσε να ασχοληθώ με τη Θαλάσσια Φαρμακογνωσία.

Ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Όλγα Τζάκου και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μαρία-Μαρίνα Κουλάδη για τη βοήθειά τους κατά την πορεία της εργασίας μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα τους μεταπτυχιακούς φοιτητές, υποψήφιους διδάκτορες, μεταδιδακτορικούς ερευνητές και τεχνικούς του τομέα για τη φιλία τους και τη βοήθεια τους καθόλη τη διάρκεια παραμονής μου στο εργαστήριο.

Και τέλος ευχαριστώ τους δικούς μου ανθρώπους για τη συμπαράσταση και την κατανόηση που έδειξαν τα δύο τελευταία χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	i
ABSTRACT	iii
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	v
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	vii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	ix
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1.1. Θαλάσσια Φαρμακογνωσία	1
1.2. Φύκη	6
1.3. Το «Σύμπλεγμα <i>Laurencia</i> ».....	9
1.3.1. Γενικά.....	9
1.3.2. Ταξινόμηση.....	12
1.4. Το γένος <i>Laurencia</i>	15
1.4.1. Γενικά	15
1.4.2. Οικολογική σημασία.....	16
1.4.3. Οικονομική σημασία.....	18
1.4.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες.....	19
1.5. Σκοπός της μελέτης.....	35
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	37
2.1. Οργανολογία	37
2.2. Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια	37
2.3. Συλλογή των οργανισμών.....	39
2.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος <i>Laurencia microcladia</i>	40
2.5. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος <i>Laurencia obtusa</i>	57
2.6. Συγκεντρωτική παρουσίαση απομονωμένων μεταβολιτών	72
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	75
3.1. Μεταβολίτης 1	76

3.2. Μεταβολίτης 2	79
3.3. Μεταβολίτης 3	82
3.4. Μεταβολίτης 4	85
3.5. Μεταβολίτης 5	88
3.6. Μεταβολίτης 6	91
3.7. Μεταβολίτης 7	94
3.8. Μεταβολίτης 8	97
3.9. Μεταβολίτης 9	100
3.10. Μεταβολίτης 10	103
3.11. Μεταβολίτης 11	110
3.12. Μεταβολίτης 12	113
3.13. Μεταβολίτης 13	116
3.14. Μεταβολίτης 14	119
3.15. Μεταβολίτης 15	122
3.16. Μεταβολίτης 16	125
3.17. Μεταβολίτης 17	128
3.18. Μεταβολίτης 18	131
3.19. Μεταβολίτης 19	134
3.20. Μεταβολίτης 20	137
3.21. Μεταβολίτης 21	140
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	143
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	147

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

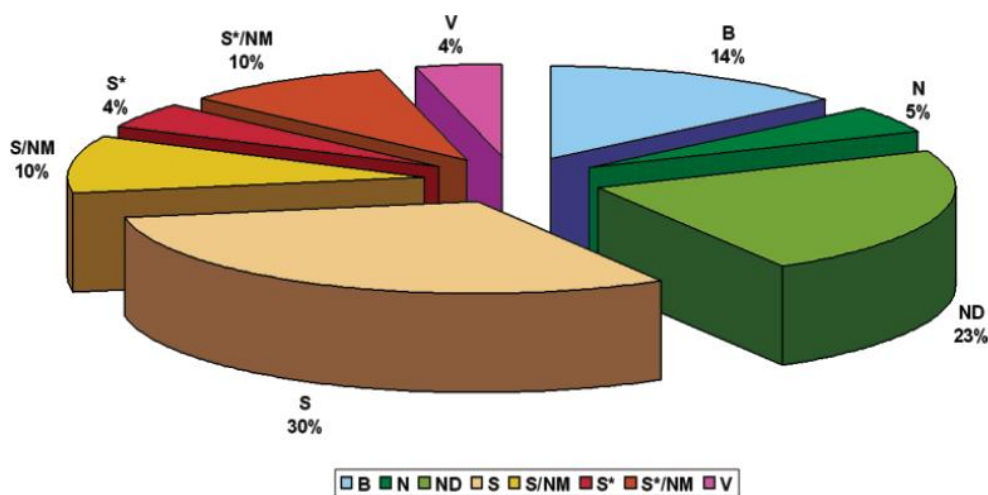
1D-NMR	πείραμα NMR μίας διάστασης
2D-NMR	πείραμα NMR δύο διαστάσεων
¹H NMR	1D-NMR πείραμα πυρήνων υδρογόνου (πρωτονίου)
¹³C NMR	1D-NMR πείραμα πυρήνων άνθρακα, με ευρεία ετεροπυρηνική αποσύζευξη (proton-noise decoupled)
br	ευρεία (NMR)
CDCl₃	δευτεριωμένο χλωροφόρμιο
CH₂Cl₂	διχλωρομεθάνιο
COSY	2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹ H για ² J και ³ J (C orrelated S pectroscopy)
δ	χημική μετατόπιση της απορρόφησης ενός πυρήνα σε σχέση με το τετραμεθυλοσιλάνιο (σε ppm) (NMR)
d	διπλή (NMR)
EIMS	φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων (E lectron I mpact M ass S pectrometry)
EtOAc	οξικός αιθυλεστέρας
EtOH	αιθανόλη
GCC	χρωματογραφία στήλης βαρύτητας (G ravity C olumn C hromatography)
H₂O	νερό
cHex	κυκλοεξάνιο
n-Hex	κανονικό εξάνιο
HMBC	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹³ C για ² J και ³ J (H eteronuclear M ultiple- B ond C orrelation)
HPLC	υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (H igh P erformance L iquid C hromatography)
HSQC	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹³ C για ¹ J (H eteronuclear S ingle Q uantum C oherence)
J	σταθερά σύζευξης (σε Hz) (NMR)
m	πολλαπλή (NMR)
Me₂CO	ακετόνη
MeOH	μεθανόλη
MS	φασματομετρία μάζας (M ass S pectrometry)
m/z	λόγος μάζας προς φορτίο
NMR	φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (N uclear M agnetic R esonance)
NOE	N uclear O verhauser E ffect
PCIMS	φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον θετικό χημικό ιονισμό (C hemical I onization M ass S pectrometry in positive mode)
i-Prop	ισοπροπανόλη (2-προπανόλη)
RP	αντίστροφης φάσης (R eversed P hase)
q	τετραπλή (NMR)
SPE	εκχύλιση στερεάς φάσης (S olid P hase E xtraction)
s	απλή (NMR)

t	τριπλή (NMR)
TLC	χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography)
VLC	χρωματογραφία στήλης υπο κενό (Vacuum Liquid Chromatography)

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Θαλάσσια Φαρμακογνωσία

Από την αρχαιότητα ο άνθρωπος είχε στρέψει την προσοχή του στη φύση για να προασπίσει την υγεία του και να θεραπεύσει τις ασθένειες που του παρουσιάζονταν. Πολλοί φυτικοί, αλλά και ζωικοί οργανισμοί έχουν χρησιμοποιηθεί, αλλά και χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα για το σκοπό αυτό. Σήμερα ένα μεγάλο ποσοστό των φαρμάκων και των φαρμακευτικών καλλυντικών που κυκλοφορούν στο εμπόριο περιέχουν ως δραστικά συστατικά ουσίες που είναι φυσικά προϊόντα ή έχουν τη βάση τους σε αυτά. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η ασπιρίνη, η οποία είναι από τα ευρύτερα χρησιμοποιούμενα παυσίπονα, και προέρχεται από φυσικό προϊόν του φλοιού της ιτιάς (*Salix sp.*) μετά από μια μικρή συνθετική τροποποίηση. Στο παρακάτω φαίνεται διάγραμματικά η συνεισφορά των φυσικών προϊόντων (Εικόνα 1) (Newman and Gragg, 2007).



Εικόνα 1. Εγκεκριμένα φάρμακα από 01/1981 έως 06/2006 (N:φυσικά προϊόντα, ND:παράγωγα φυσικών προϊόντων, S:συνθετικά προϊόντα, S*:συνθετικά προϊόντα αλλά με φυσικό φαρμακοφόρο τμήμα, NM:mimic φυσικού προϊόντος, V:εμβόλια, B:βιολογικά προϊόντα) (Newman and Gragg, 2007).

Ο όρος «φυσικά προϊόντα» περιλαμβάνει τις ουσίες του δευτερογενούς μεταβολισμού οι οποίες παράγονται από τους ζωντανούς φυτικούς ή ζωικούς οργανισμούς για συγκεκριμένο λόγο, ανεξάρτητα από τις βασικές λειτουργικές ανάγκες (Γεωργιάδης, 1994).

Η πλειοψηφία των φυσικών προϊόντων που έχουν βρει μέχρι σήμερα φαρμακευτική εφαρμογή προέρχεται από οργανισμούς του χερσαίου περιβάλλοντος, λόγω του σημαντικού όγκου πληροφοριών που ήταν διαθέσιμες για αυτούς και της προσπελασιμότητας του περιβάλλοντός τους. Έτσι, παρά το γεγονός ότι το υδάτινο περιβάλλον καλύπτει περισσότερο από το 70% της συνολικής επιφάνειας του πλανήτη και αντιπροσωπεύει το 95% της βιόσφαιρας, μόνο πρόσφατα άρχισε η συστηματική μελέτη των μεταβολιτών που παράγονται από θαλάσσιους οργανισμούς. Καθοριστικό ρόλο σε αυτό έπαιξε η εξέλιξη της τεχνολογίας, που με τη βελτίωση των μέσων πρόσβασης στο θαλάσσιο χώρο, κατέστησε τα βάθη των θαλασσών και τους οργανισμούς που υπήρχαν εκεί ευκολότερα προσβάσιμους. Τώρα αποκαλύπτονται τα μυστήρια της θάλασσας και ο ασύγκριτος πλούτος που περιέχει και μπορεί να αξιοποιηθεί.

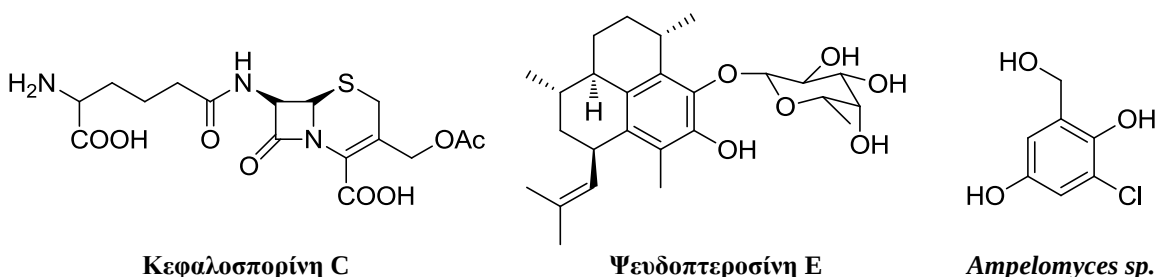
Από τα 28 διαφορετικά φύλα ζωής που αναγνωρίζουν σήμερα οι βιολόγοι, τα 26 απαντούν και στο υδάτινο περιβάλλον και τα 8 είναι αποκλειστικά υδρόβια. Η μακρόχρονη ιστορία τους σε συνδυασμό με το σταθερό (δυνατότητα ρύθμισης pH, θερμοκρασίας, αλατότητας), αλλά αρκετά ανταγωνιστικό (ανάγκη για άμυνα οργανωμένη σε κυτταρικό επίπεδο, π.χ. τα ασπόνδυλα δε διαθέτουν θύμο αδένες) περιβάλλον στο οποίο ζουν, επέτρεψε στους θαλάσσιους οργανισμούς να διαθέσουν χρόνο και ενέργεια για την εξέλιξη και την προσαρμογή τους. Έτσι, οι θαλάσσιοι οργανισμοί εμφανίζουν πολύ μεγαλύτερη ποικιλομορφία και διαθέτουν περισσότερο ανεπτυγμένες και πολύπλοκες μεταβολικές οδούς. Συνθέτουν βιοδραστικά μόρια με χημικούς σκελετούς ή δραστικές ομάδες σπάνιες ή άγνωστες στους χερσαίους οργανισμούς με εντονότερες βιολογικές δράσεις και συχνά υψηλότερης εξειδίκευσης. Μια χαρακτηριστική διαφορά είναι η σπανιότητα αζωτούχων δομών και η ύπαρξη μεγάλης ποικιλίας αλογωνομένων φυσικών προϊόντων στο θαλάσσιο περιβάλλον.

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα προσανατολίζεται στην αναζήτηση πρωτότυπων χημικών δομών με εκλεκτική δράση. Η θάλασσα έχει αποδειχτεί μέχρι στιγμής αστείρευτη πηγή νέων χημικών ουσιών με πολύ ενδιαφέρον. Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί περισσότεροι από 25.000 (MarinLit, 2013) μεταβολίτες από θαλάσσιους οργανισμούς και αναμένεται ο αριθμός τους να αυξηθεί αρκετά. Το μέλλον της χημείας θαλάσσιων φυσικών προϊόντων διαφαίνεται πραγματικά ελπιδοφόρο.

Οι εφαρμογές τους αφορούν κυρίως τον τομέα της Υγείας και αφορούν ένα πολύ

ευρύ φάσμα δράσεων, με την αντικαρκινική δράση να ξεχωρίζει. Από τους μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί από θαλάσσιους οργανισμούς, πάρα πολλοί έχουν χρησιμοποιηθεί σαν μόρια οδηγοί για τη σύνθεση χημικών ενώσεων με θεραπευτικές ιδιότητες, αρκετοί αποτελούν αυτούσια συστατικά φαρμακευτικών σκευασμάτων και πολλοί είναι υποψήφια φάρμακα για τη θεραπεία διάφορων ασθενειών. Ακολουθούν χαρακτηριστικά παραδείγματα μεταβολιτών και βιολογικών τους δράσεων (Εικόνα 2).

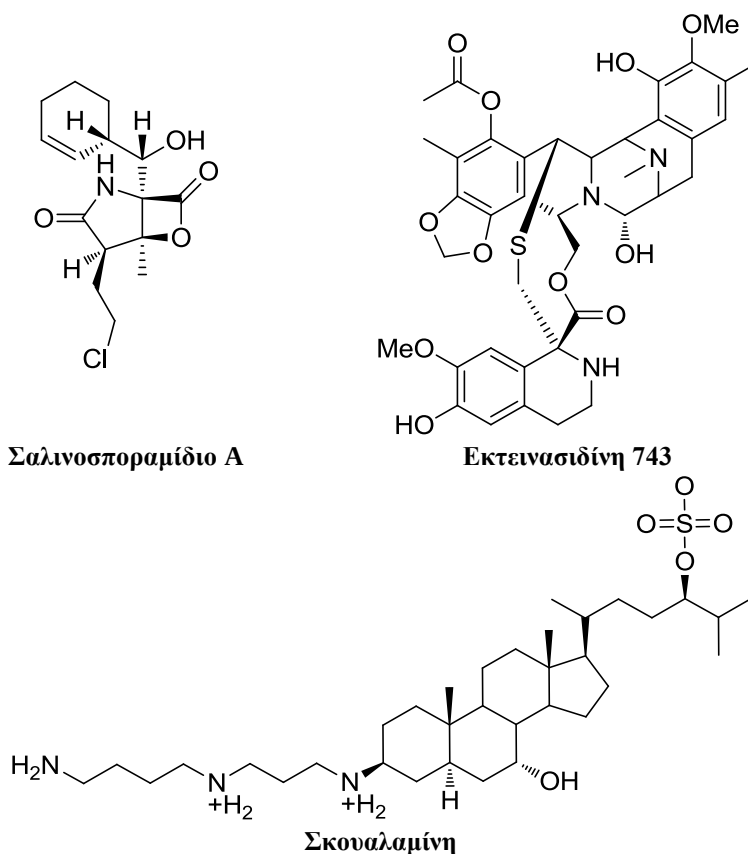
- ✓ Αντικαρκινική δράση: το συνθετικό προϊόν ARA-C (Cytarabine[®]) προέκυψε από το νουκλεοσιδικό παράγωγο σπογγοουριδίνη του σπόγγου *Tethya crypta*.
- ✓ Αντιική δράση: το συνθετικό προϊόν ARA-A (Vidarabine[®]) προέκυψε από το νουκλεοσιδικό παράγωγο σπογγοθυμιδίνη του σπόγγου *Tedania digitata* και η σειρά αλκαλοειδών ευδιστομίνες από το ασκίδιο *Eudistoma olivaceum*.
- ✓ Αντιμικροβιακή δράση: η κεφαλοσπορίνη C με τα συνθετικά παράγωγά της από το μύκητα *Cephalosporium acremonium* είναι μία από τις σημαντικότερες ομάδες αντιβιοτικών.
- ✓ Αναλγητική δράση: το πεπτίδιο ζικονοτίδιο (Prialt[®]) από το δηλητήριο των γαστεροπόδων του γένους *Conus*.
- ✓ Αντιφλεγμονώδη δράση: οι διτερπενικοί γλυκοζίτες ψευδοπτεροσίνες από το μαλακό κοράλλι *Pseudopterogorgia elizabethae* και το μεροτερπένιο μανοαλίδιο από το σπόγγο *Luffariella variabilis*.
- ✓ Ανθελμινθική δράση: το αλκαλοειδές καϊνικό οξύ (Digesap[®]) από το ροδοφύκος *Diginea simplex*.
- ✓ Δράση κατά της βιοεπίστρωσης: ένα απλό φαινολικό μόριο από το μύκητα *Ampelomyces sp.*



Εικόνα 2. Παραδείγματα βιοδραστικών θαλάσσιων φυσικών προϊόντων.

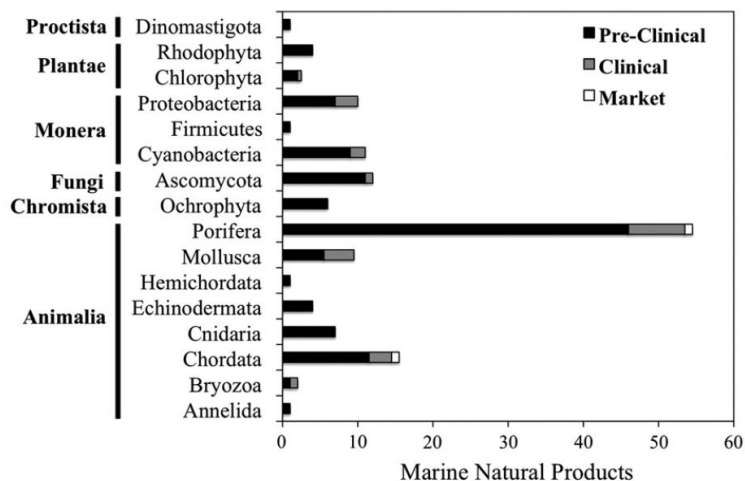
Πίνακας 1. Παραδείγματα κυτταροτοξικών ουσιών από θαλάσσιους οργανισμούς.

Όνομα	Παραγωγός οργανισμός	Χημική κατηγορία
Σαλινοσποραμίδιο A	<i>Salinospora tropica</i> (βακτήριο)	
Καχαλαλίδιο F	<i>Bryopsis</i> sp. (χλωροφύκος)	Δεψιπεπτίδιο
Δισκοδερμολίδιο	<i>Discodermia dissoluta</i> (σπόγγος)	Πολυκετίδιο
Δισκοδερμίνες	<i>Discodermia kiiensis</i> (σπόγγος)	Πεπτίδια
Χαλιχονδρίνη B	<i>Halichondria okadai</i> (σπόγγος)	Πολυαιθέρας
Εκτινασιδίνη-743 (Yondelis®)	<i>Ecteinascidia turbinata</i> (ασκίδιο)	Αλκαλοειδές
Διδεμνίνες	<i>Trididemnum solidum</i> (ασκίδιο)	Δεψιπεπτίδια
Απλιδίνη	<i>Aplidium albicans</i> (ασκίδιο)	Δεψιπεπτίδιο
Ελευθεροβίνη	<i>Eleutherobia</i> sp. (κοράλλι)	
Βρυοστατίνες	<i>Bugula neritina</i> (βρυόζωο)	Μακρολίδια
Δολοστατίνες	<i>Dolabella auricularia</i> (μαλάκιο)	Πεπτίδια
Γιορουμυκίνη (συνθετικό ανάλογο Zalypsis®)	<i>Jorunna funebris</i> (μαλάκιο)	Αλκαλοειδές
Σκουαλαμίνη	<i>Squalus acanthias</i> (καρχαρίας)	Στεροειδές



Εικόνα 3. Παραδείγματα κυτταροτοξικών θαλάσσιων φυσικών προϊόντων.

Ιδιαίτερη είναι η ποικιλία των κυτταροτοξικών μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί (Πίνακας 1, Εικόνα 3). Στην Εικόνα 4 φαίνεται η κατάταξη ανά οργανισμό των κυτταροτοξικών μορίων από θαλάσσιους οργανισμούς που υπάρχουν μέχρι στιγμής και το στάδιο εξέλιξης στο οποίο βρίσκονται (Erwin *et al.*, 2010).



Εικόνα 4. Αντικαρκινικά θαλάσσια φυσικά προϊόντα σε προκλινικό στάδιο (μαύρο χρώμα), σε κλινικές μελέτες (γκρι χρώμα) και στην αγορά (άσπρο χρώμα) (Erwin *et al.*, 2010).

Ακόμα, από τους θαλάσσιους οργανισμούς απομονώνονται μεταβολίτες με πολύ υψηλή τοξικότητα που είναι γνωστές ως τοξίνες θαλάσσιας προέλευσης. Αυτά τα μόρια δεν έχουν φαρμακευτικό ενδιαφέρον, αλλά χρησιμεύουν σαν «μοριακά εργαλεία» για τη μελέτη βιοχημικών μηχανισμών του ανθρώπινου οργανισμού. Παραδείγματα τοξινών θαλάσσιας προέλευσης είναι η σαξιτοξίνη (από τα δινομαστιγωτά *Alexandrium sp.*, *Gymnodinium sp.* και από τα κυανοβακτήρια *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Lyngbya sp.*, *Planktothrix sp.*), η μπρεβετοξίνη Β (από το δινομαστιγωτό *Gymnodinium breve*) και η τετροδοτοξίνη (από τα ψάρια της οικογένειας Tetraodontidae).

Η Θαλάσσια Φαρμακογνωσία δεν εστιάζει το ενδιαφέρον της μόνο στην απομόνωση και μελέτη νέων βιοδραστικών μεταβολιτών και τοξινών από θαλάσσιους οργανισμούς, αλλά και στη διερεύνηση των οικολογικών σχέσεων που αυτοί οι μεταβολίτες επηρεάζουν. Η Θαλάσσια Χημική Οικολογία προσπαθεί να δώσει λύση και στο πρόβλημα της βιοεπίστρωσης των επιφανειών που εκτίθενται στο θαλάσσιο περιβάλλον (π.χ. πλοία, υποθαλάσσιες κατασκευές) ερευνώντας για φυσικές ουσίες που είναι αποτελεσματικές αλλά δεν το επιβαρύνουν.

Εκτός των προηγούμενων τα θαλάσσια προϊόντα βρίσκουν και άλλες γενικότερες εφαρμογές. Από μύδια του γένους *Mytilus* παραλαμβάνονται ίνες που έχουν μεγάλη αντοχή, είναι βιοαποικοδομήσιμες και χρησιμοποιούνται ως χειρουργικές ίνες. Ο σκελετός των σκληρών κοραλλιών αποτελείται κυρίως από υδροξυαπατίτη, ο οποίος επιτρέπει την ελεύθερη ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων και των οστών και χρησιμοποιείται στα ορθοπεδικά εμφυτεύματα και στην οδοντιατρική. Η «γη διατόμων» είναι ένα πορώδες υλικό με πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία (προσρόφηση της νιτρογλυκερίνης στην παρασκευή του δυναμίτη, υλικό χρωματογραφίας, μέσο διήθησης στην οиноποιΐα και ζυθοποιΐα).

Η ορμόνη καλσιτονίνη από το σολομό που είναι παρεμφερής με την ανθρώπινη χρησιμοποιείται στη θεραπεία της οστεοπορωσης. Στο αίμα του αρθροπόδου *Limulus polyphemus* υπάρχει ένα συστατικό πρωτεϊνικής φύσης το οποίο προκαλεί πήξη του αίματος όταν έρχεται σε επαφή με ενδοτοξίνες (-)-Gram βακτηρίων. Το **LAL test** (**Limulus Amoebocyte Lysate test**) χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της παρουσίας ενδοτοξινών σε προϊόντα ιατρικής και φαρμακευτικής χρήσης. Η πράσινη πρωτεΐνη φθορισμού (**Green Fluorescent Protein**) από τη μέδουσα *Aequora victoria* βρίσκει χρήση στη μοριακή βιολογία και στη μικροσκοπία φθορισμού για την παρατήρηση των ζώντων κυττάρων. Τα γαστερόποδα του γένους *Aplysia* διαθέτουν μεγάλα νευρικά κύτταρα και αποτελούν εργαστηριακά ζώα για τη μελέτη του εγκεφάλου.

Από το προσωβράγχιο *Murex brandaris* παράγεται η χρωστική ουσία ινγκοτίνη και από τα οπισθοβράγχια γαστερόποδα του γένους *Aplysia* απλυσιοβιολίνη. Από καλλιέργειες μικροφυκών (*Dunaliella*, *Spirulina*) παράγονται φυσικές χρωστικές (καροτένια), πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs), στερόλες και βιταμίνες. Επίσης τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται στο βιολογικό καθαρισμό για την απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων και στην παραγωγή βιοκαυσίμων.

1.2. Φύκη

Ο όρος Φύκη (Algae) περιλαμβάνει μία μεγάλη, ετερογενή και πολυφυλετική ομάδα σχετικά απλών στην οργάνωση οργανισμών, που είναι αυτότροφοι, υδρόβιοι ή ημιυδρόβιοι και στερούνται γνήσιων ιστών (κυρίως αγωγού ιστού) και εξωτερικής διαμόρφωσης σε ρίζα, βλαστό και φύλλα. Το φυτικό σώμα αυτό ονομάζεται θαλλός

(thallus). Είναι απλοί ευκαρυωτικοί και κυρίως φωτοσυνθετικοί οργανισμοί. Ποικίλουν ως προς το μέγεθος (από 0,2 μm σε κάποια μονοκύτταρα μέχρι και τα 70m σε κάποια από τα μεγαλύτερα μακροφύκη) και την πολυπλοκότητα και μπορεί να αποτελούνται από ένα μέχρι πολλά οργανωμένα κύτταρα (μονοκύτταροι, αποικιακοί, νηματώδεις, κοινοκυττικοί ή πολυκύτταροι). Παρουσιάζουν σχετικά απλές αναπαραγωγικές δομές και μπορούν να αναπαράγονται αγενώς, εγγενώς και βλαστητικά.

Η διάκρισή τους σε ομάδες γίνεται με βάση τις χρωστικές ύλες (χλωροφύλλες, φυκομπιλίνες, καροτένια, λουτεΐνη, φυκοξανθίνη κ.ά.) που περιέχονται σε αυτά, τη σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος, τη χημική αποθηκευτική μορφή και την ύπαρξη ή όχι μαστιγίου (Ρούσσης, 1999) και φαίνεται παρακάτω:

1. Διάτομα (Bacillariophyceae ή Diatomeae)
2. Πυρροφύκη ή Δινομαστιγωτά (Pyrrhophyceae)
3. Ευγληνοειδή φύκη (Euglenophyceae)
4. Κρυπτοφύκη (Cryptophyceae)
5. Απτοφύκη (Haptophyceae)
6. Χρυσοφύκη (Chrysophyceae)
7. Χλωροφύκη (Chlorophyceae)
8. Φαιοφύκη (Phaeophyceae)
9. Ροδοφύκη (Rhodophyceae)

Ο όρος μακροφύκη περιλαμβάνει τα φωτοσυνθετικά ευκαρυωτικά και κυρίως πολυκύτταρα φύκη που έχουν δομές πολύ πιο σύνθετες και αναπαραγωγή πολυπλοκότερη από τα μονοκύτταρα φύκη, όμως στερούνται πολύπλοκων δομών και αναπαραγωγικών μηχανισμών που διαθέτουν τα χερσαία φυτά. Στα μακροφύκη κατατάσσονται τα Χλωροφύκη (Chlorophyceae), τα Φαιοφύκη (Phaeophyceae) και τα Ροδοφύκη (Rhodophyceae) (Εικόνα 5).



Χλωροφύκος
(*Caulerpa taxifolia*)



Φαιοφύκος
(*Laminaria sp.*)
Εικόνα 5. Μακροφύκη.



Ροδοφύκος
(*Chondrus crispus*)

Απαντώνται σε μεγάλη ποικιλία βιοτόπων. Ζουν κυρίως σε θαλάσσια και γλυκά νερά είτε ελεύθερα επιπλέοντα ή προσκολλημένα σε βράχους, όστρακα ή άλλα φύκη. Πολλά είδη είναι χερσαία σε υγραινόμενα εδάφη, βράχους, πέτρες, τοίχους ή σε φλοιούς δέντρων. Λιγότερο συχνά βρίσκονται στα σύννεφα, στη σκόνη, στο χιόνι και στη γούνα κάποιων ζώων. Κάποια μονοκύτταρα είδη συμβιώνουν μέσα στα κύτταρα πρωτοζώων, σπόγγων, θαλάσσιων σαλιγκαριών και θαλάσσιων ανεμώνων. Τα χλωροφύκη ζουν συμβιωτικά μαζί με μύκητες και κυανοβακτήρια στους λειχήνες.

Τα φύκη παρουσιάζουν μεγάλο οικολογικό, οικονομικό και φαρμακευτικό ενδιαφέρον. Ο πιο σημαντικός οικολογικός τους ρόλος είναι ότι συνιστούν το πλαγκτόν. Διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην πρωτογενή παραγωγή οργανικού υλικού και στην παροχή οξυγόνου στα υδάτινα (αλλά και στα χερσαία) περιβάλλοντα λόγω της φωτοσυνθετικής τους δραστηριότητας. Από Φαιοφύκη και Ροδοφύκη σχηματίζονται «δάση» που συνιστούν ενδιαιτήματα για πολλούς οργανισμούς. Ακόμα, τα κοραλλιοειδή Ροδοφύκη είναι αυτά που κατακρημνίζοντας ανθρακικό ασβέστιο γύρω τους ή δεσμεύοντας το από θαλάσσιους σπόγγους δημιουργούν τους κοραλλιογενείς υφάλους. Τέλος, όταν οι συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη των μονοκυττάρων φυκών δημιουργούνται καταστάσεις ευτροφισμού, γνωστές ως «άνθη νερού» (“Harful Water Blooms” ή “HABs”) (Εικόνα 6), οι οποίες προκαλούν ποικίλλα οικολογικά και οικονομικά προβλήματα.



Εικόνα 6. «Άνθη νερού» (“Harful Water Blooms” ή “HABs”).

Η οικονομική σημασία των φυκών είναι επίσης μεγάλη. Περισσότερα από 70 είδη φυκών (ροδοφυκών και φαιοφυκών) έχουν χρησιμοποιηθεί ως τροφή από τον άνθρωπο. Τα περισσότερα δεν είναι ιδιαίτερα θρεπτικά, όμως πολλά περιέχουν σημαντικές ποσότητες ιωδίου, στοιχείου με ιδιαίτερη σημασία για τη λειτουργία του θυροειδή αδένος, καθώς και

μεγάλη ποσότητα πρωτεΐνης και βιταμίνες. Είδη *Ulva*, *Laminaria*, *Palmaria* κ.α. τρώγονται φρέσκα ή ως τουρσί και η *Porphyra tenera* χρησιμοποιείται ως αρτυματικό σε σούπες, σαλάτες και ως επικάλυψη σε maki-sushi.

Ακόμα, βρίσκουν εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και στη φαρμακευτική. Από τοιχώματα των Ροδοφυκών παραλαμβάνονται τα φυκοκολλοειδή καρραγενάνη (κυρίως από το *Chondrus crispus*) και άγαρ (από είδη των γενών *Gracilaria* και *Gelidium*). Η πρώτη χρησιμοποιείται ως σταθεροποιητής ή γαλακτοματοποιητής σε χρώματα, τρόφιμα που περιέχουν κρέμες, σε προϊόντα κοσμητολογίας, σε οδοντόπαστες, κ.ά., ενώ το δεύτερο κυρίως ως υπόστρωμα καλλιέργειας μικροοργανισμών στη μικροβιολογία, αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων ως γέλη σε κονσέρβες ψαριών και κρέατος και στη ζαχαροπλαστική. Από τα Φαιοφύκη παραλαμβάνεται το φυκοκολλοειδές αλγίνη (κυρίως από είδη των γενών *Macrocystis*, *Ascophyllum*, *Fucus* και *Laminaria*) και τα άλατα αυτής που βρίσκουν εφαρμογή στις βιομηχανίες τροφίμων και φαρμάκων ως πηκτικά μέσα, σταθεροποιητές και ομογενοποιητές. Επιπλέον από τα φύκη απομονώνονται πολυσακχαρίτες (π.χ. λαμιναρίνη, ουλβάνες) με αντιοξειδωτική, αντιική, κυτταροτοξική και αντιπηκτική δράση.

Στη βιομηχανία καλλυντικών χρησιμοποιούνται ως έκδοχα (φυκοκολλοειδή). Επίσης, είναι πλούσια σε ιχνοστοιχεία, αμινοξέα, βιταμίνες και έχουν ενυδατικές, απαλυντικές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και δράση κατά της κυτταρίτιδας.

1.3. Το «Σύμπλεγμα *Laurencia*»

1.3.1. Γενικά

Τα Ροδοφύκη (Rhodophyceae) εμφανίστηκαν στην Κάμβριο περίοδο και περιλαμβάνουν περίπου 3.900 είδη, από τα οποία τα περισσότερα είναι θαλάσσια φύκη, αλλά αρκετά από αυτά απαντούν στα γλυκά νερά (περίπου 50 είδη). Βρίσκονται σε ιδιαίτερη αφθονία στα τροπικά και ζεστά ύδατα, αν και αρκετά βρίσκονται σε ψυχρότερες περιοχές. Τα περισσότερα ζουν στις θάλασσες των τροπικών περιοχών από μικρά έως μεγάλα βάθη (περίπου έως 200 μέτρα). Συνήθως ζουν προσκολλημένα σε βραχώδεις θαλάσσιες ακτές.

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει οργανισμούς είτε μικροσκοπικούς νηματώδεις, είτε μακροσκοπικούς φυλλόμορφους. Κάποια από τα χαρακτηριστικά τους γνωρίσματα είναι η

μη ύπαρξη μαστιγοφόρων κυττάρων και η διάταξη των θυλακοειδών στους χλωροπλάστες, τα οποία δε βρίσκονται σε σωρούς αλλά έχουν παντα την ίδια απόσταση μεταξύ τους. Ο θαλλός τους είναι ποικίλης μορφής, αποτελείται από απλά έως πολύ διακλαδισμένα νήματα ή είναι φυλλοειδούς μορφής, στην τελειότερή του μορφή με πολυσχιδή διακλάδωση και κατασκευή. Σε μερικά είδη, γνωστά ως κοραλλιοειδή φύκη η κυτταρική μεμβράνη παρουσιάζει έντονη ασβεστοποίηση (CaCO_3 και MgCO_3). Αυτά περιλαμβάνουν περισσότερα από 400 είδη και συνιστούν ένα σημαντικό τμήμα των κοραλλιογενών υφάλων.

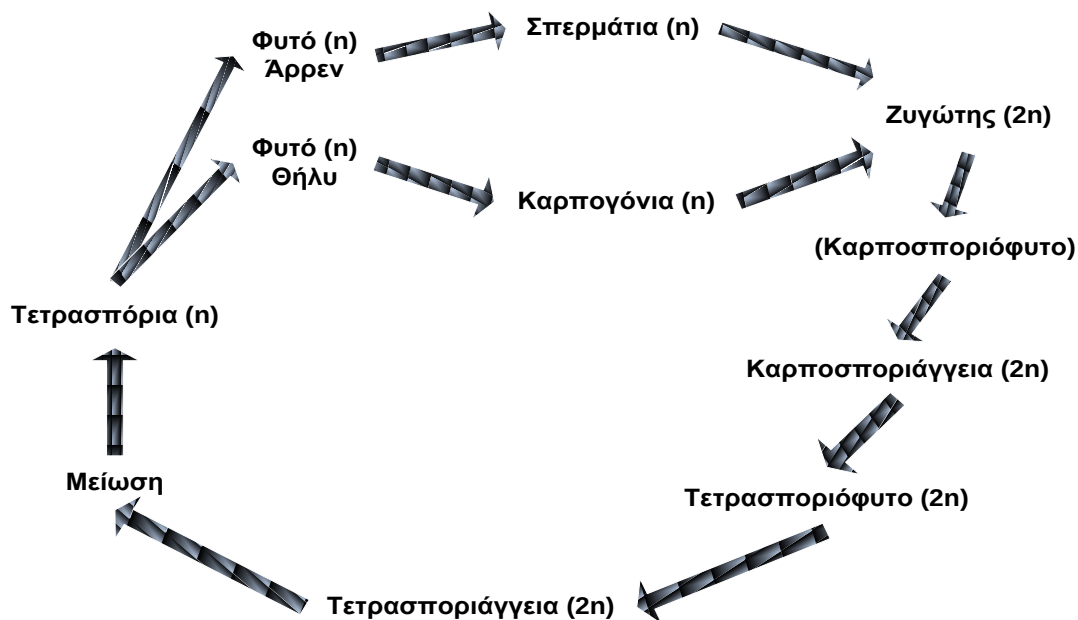
Το «Σύμπλεγμα *Laurencia*» ή “*Laurencia sensu lato*” είναι μία ομάδα φυκών που περιλαμβάνει έξι γένη Ροδοφυκών, τα: *Laurencia* J.V. Lamouroux, *Osmundea* Stackhouse, *Chondrophycus* (Tokida et Saito) Garbary et J.T. Harper, *Palisada* (Yamada) K.W.Nam, *Yuzurua* (K.W. Nam) Martin-Lescanne και *Laurenciella* Cassano (Cassano *et al.*, 2012b).

Χαρακτηρίζεται από μονοαξονική κατασκευή, με δύο ή τέσσερα περικεντρικά κύτταρα, ανάλογα με το γένος. Ο θαλλός μπορεί να είναι κυλινδρικός ή σε κάποιο βαθμό ή εντελώς επίπεδος, εξ ολοκλήρου φλοιώδης και με το κορυφαίο κύτταρο πάντοτε να βυθίζεται στο κάτω μέρος του κορυφαίου κοιλώματος, από το οποίο διχοτομικά διακλαδισμένες άχρωμες τριχοβλάστες αναπτύσσονται. Τα κύτταρα του φλοιού περιέχουν φωτοσυνθετικές χρωστικές διατεταγμένες στα θυλακοειδή, ενώ τα εσωτερικά κύτταρα είναι άχρωμα (Fujii *et al.*, 2012).

Τα Ροδοφύκη ως χρωστικές περιέχουν χλωροφύλλη α και φυκομπιλίνες (όπως φυκοερυθρίνη και, σπάνια, φυκοκυανίνη). Το χρώμα τους κυμαίνεται από ρόδινο έως ερυθρό και οφείλεται στη φυκοερυθρίνη, που είναι κόκκινη και εντοπίζεται στους χλωροπλάστες. Αυτή απορροφά την μπλε ακτινοβολία που εισχωρεί πιο βαθιά στο νερό από τα άλλα χρώματα του ορατού φάσματος, δίνοντάς τους έτσι τη δυνατότητα να φωτοσυνθέτουν και να εξαπλώνονται σε μεγαλύτερα βάθη. Άτομα του ίδιου είδους σε διαφορετικά βάθη μπορεί να έχουν διαφορετικά χρώματα. Αυτό θεωρείται προσαρμογή στην αλλαγή του φάσματος του διεισδύοντος φωτός, για τη φωτοσύνθεση (Beach and Smith, 1996a; Beach and Smith, 1996b). Με τα χρωμοφόρα τους εκμεταλλεύονται το μικρού μήκους κύματος φως και για αυτό πολλά είδη αναπτύσσονται σε μεγάλα βάθη ως βενθικοί οργανισμοί. Ως αποταμιευτικό υλικό έχουν το άμυλο των Ροδοφυκών, το οποίο με ιώδιο χρωματίζεται ερυθρό και όχι κυανό, όπως το κοινό άμυλο.

Η αναπαραγωγή των Ροδοφυκών μπορεί να είναι: i) αγενής, με ακίνητα σπόρια (απλανοσπόρια) που παράγονται συνήθως μέσα σε σποριάγγεια ανά τέσσερα (τετρασπόρια) ή ii) εγγενής, με ωογαμία, όπου το θηλυκό γαμετάγγειο (καρπογόνιο) καταλήγει σε τριχοειδή συλληπτική περιοχή (τριχογύνιο) και οι άρρενες γαμέτες (σπερμάτια) σχηματίζονται μέσα σε γαμετάγγεια (σπερμογόνια ή σπερματάγγεια). Ειδικότερα στο γένος *Laurencia* έχει παρατηρηθεί και μια μορφή αγενούς αναπαραγωγής με τη βοήθεια πλευρικών κλάδων με καλώς ανεπτυγμένα ριζοειδή, τα οποία ελευθερώνονται από το γονέα και αναπτύσσονται σε κανονικά φύκη (Cruz Adames and Ballantine, 1996; Herren et al, 2013).

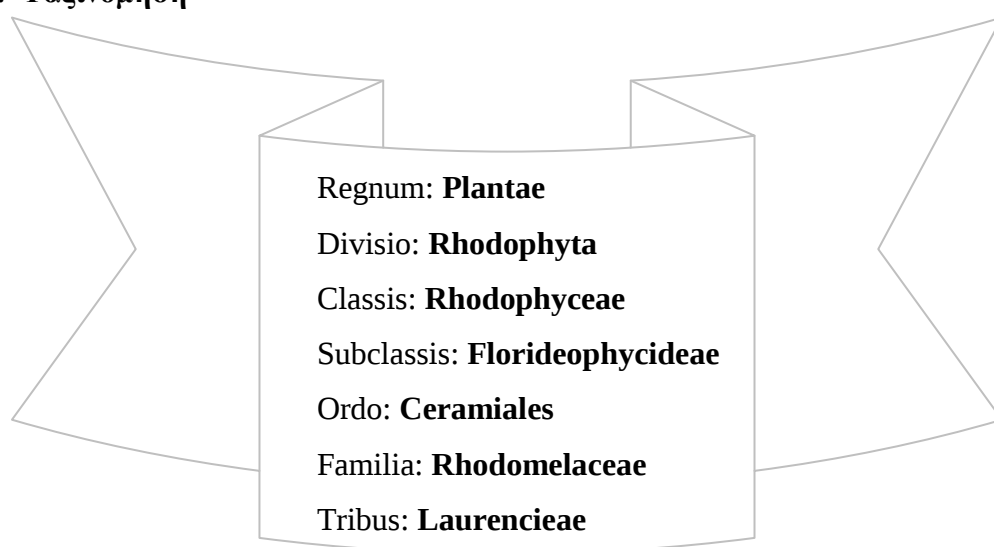
Ο κύκλος ζωής των Ροδοφυκών είναι από τους πιο πολύπλοκους του φυτικού κόσμου καθώς μπορεί να περιλαμβάνει την εναλλαγή τριών διαδοχικών γενεών. Το απλοειδές γαμετόφυτο παρέχει τους απλοειδείς γαμέτες (n), οι οποίοι με γονιμοποίηση δίνουν ένα διπλοειδές ζυγωτό ($2n$), το οποίο αναπτύσσεται σε ένα διπλοειδές καρποσποριόφυτο ($2n$). Τα καρποσπόρια ($2n$), διπλοειδή σπόρια που παράγονται από το καρποσποριόφυτο, αναπτύσσονται στο διπλοειδές τετρασποριόφυτο ($2n$). Αυτό με τη σειρά του δίνει με μείωση απλοειδή σπόρια, τα τετρασπόρια (n), τα οποία βλασταίνουν και αναπτύσσονται σε ένα νέο γαμετόφυτο (n) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Βιολογικός κύκλος τυπικού διπλοβιοτικού Ροδοφύκου.

Το καρποσποριόφυτο είναι συνήθως προσκολλημένο στο θηλυκό γαμετόφυτο. Στο «Συμπλέγμα *Laurencia*» το ώριμο τετρασποριόφυτο έχει την ίδια εμφάνιση με το γαμετόφυτο άρα έχουμε ισομορφικές γενεές. Έχουν γίνει κάποιες μελέτες που προτείνουν τρόπους για την εύκολη διάκριση μεταξύ αυτών των γενεών με βάση το περιεχόμενο των κυττάρων τους σε DNA (Schnetter *et al.*, 2000; Bleckwenn *et al.*, 2003). Στο γένος *Laurencia* έχουν επίσης παρατηρηθεί “mixed phases”, δηλαδή άτομα που φέρουν ταυτόχρονα τετρασποριάγγεια και αρσενικά αναπαραγωγικά όργανα στο θαλλό τους (Hernandez-Gonzalez and Gil-Rodriguez, 1994).

1.3.2. Ταξινόμηση



Εικόνα 8. Ταξινόμηση του «Συμπλέγματος *Laurencia*».

Τα Ροδοφύκη ανήκουν στο βασίλειο των Plantae, στο άθροισμα Rhodophyta. Τα γένη του συμπλέγματος ανήκουν στην κλάση Rhodophyceae, η οποία περιλαμβάνει δύο υποκλάσεις, τη Bangiophycideae και τη Florideophycideae. Η υποκλάση Bangiophycideae αποτελεί περίπου το 1% των Ροδοφυκών και περιλαμβάνει οργανισμούς μονοκύτταρους ή πολυκύτταρους νηματοειδείς ή φυλλοειδείς, με κύτταρα μονοπύρρηνα που διαθέτουν κεντρικό αστεροειδή χλωροπλάστη. Η φυλετική αναπαραγωγή είναι σπάνια, αλλά όταν υπάρχει συνδυάζεται με διπλοαπλοβιοτικό κύκλο ζωής, ισόμορφο ή ετερόμορφο. Στην υποκλάση αυτή δεν υπάρχουν τετρασποριάγγεια. Η υποκλάση Florideophycideae περιλαμβάνει αποκλειστικά πολυκύτταρους οργανισμούς, με κύτταρα που φέρουν πολλούς δισκοειδείς χλωροπλάστες. Εδώ παρατηρείται φυλετική αναπαραγωγή, με τα περισσότερα είδη να έχουν τριφασικό κύκλο ζωής. Αυτή περιλαμβάνει επτά τάξεις (Fritsch, 1945):

Bangiales, Nemalionales, Gelidiales, Gryptonemiales, Gigartinales, Rhodymeniales, Ceramiales. Στην τελευταία τάξη ανήκει η οικογένεια Rhodomelaceae και εδώ κατατάσσονται τα γένη του «Συμπλέγματος *Laurencia*» (Εικόνα 8).

Στην ομάδα Laurencieae ανήκουν συνολικά οκτώ γένη, από τα οποία τα έξι είναι αυτά που συνιστούν το «Σύμπλεγμα *Laurencia*», και τα άλλα δύο είναι τα *Coryneccladia* και *Janczewskia*. Το πρώτο θεωρείται ως συνώνυμο του γένους *Laurencia* (Nam, 2006), ενώ το δεύτερο είναι ένα γένος που περιλαμβάνει παρασιτικά είδη κυρίως επάνω στα Ροδοφύκη *Laurencia* και *Chondria*.

Για τη διάκριση και τον καθορισμό των γενών που ανήκουν στο «Σύμπλεγμα *Laurencia*» έχουν πραγματοποιηθεί πολλές ταξινομικές μελέτες. Αρχικά, το 1999, ο K. W. Nam καθιέρωσε τα τρία γένη τα οποία ανήκουν σε αυτό: *Laurencia*, *Osmundea* και *Chondrophycus*. Η διάκριση των γενών έγινε με βάση τον αριθμό των περικεντρικών κυττάρων στις φυτικές αξονικές ίνες, τον τύπο της ανάπτυξης των σπερματογγείων και την προέλευση των τετρασποριαγγείων:

- Το γένος *Laurencia*:
 - i. διαθέτει τέσσερα περικεντρικά κύτταρα στις φυτικές αξονικές ίνες,
 - ii. η ανάπτυξη των σπερματογγείων είναι τριχοβλαστητικού τύπου και
 - iii. τα τετρασποριάγγεια παράγονται από συγκεκριμένα περικεντρικά κύτταρα.
- Το γένος *Osmundea*:
 - i. διαθέτει δύο περικεντρικά κύτταρα στις φυτικές αξονικές ίνες,
 - ii. η ανάπτυξη των σπερματογγείων είναι νηματοειδούς τύπου και
 - iii. τα τετρασποριάγγεια παράγονται από τυχαία επιδερμικά κύτταρα.
- Το γένος *Chondrophycus*:
 - i. διαθέτει δύο περικεντρικά κύτταρα στις φυτικές αξονικές ίνες,
 - ii. η ανάπτυξη των σπερματογγείων είναι τριχοβλαστητικού τύπου και
 - iii. τα τετρασποριάγγεια παράγονται από συγκεκριμένα περικεντρικά κύτταρα.

Το 2006, ο K. W. Nam αναγνώρισε ως τέταρτο το γένος *Palisada*. Αυτό το γένος έχει τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν παραπάνω για το γένος *Chondrophycus*, αλλά διαφέρει στα εξής:

- ✓ το πρώτο περικεντρικό κύτταρο βρίσκεται στο κάτω μέρος του τριχοβλάστη (και όχι σε πλάγια θέση),

- ✓ τα κλαδιά με τα σπερματαγγεία παράγονται από ένα ή δύο πλευρικά των υπερβασικών κυττάρων του τριχοβλάστη (και όχι από δύο πλευρικά, τα οποία παραμένουν μερικώς άγονα) και
- ✓ ο άξονας των τετρασποριαγγείων έχει ένα άγονο περικεντρικό κύτταρο και ένα δεύτερο γόνιμο (και όχι και τα δύο άγονα).

Το 2010, οι Martin-Lescanne *et al.* αναγνώρισαν ως πέμπτο το γένος *Yuzurua*, το οποίο διαθέτει τα χαρακτηριστικά του γένους *Palisada*, αλλά διαφέρει στο ότι διαθέτει δευτερογενείς συνδέσεις κοιλωμάτων (“secondary pit connections”) μεταξύ των επιδερμικών κυττάρων, όπως και το γένος *Laurencia*.

Αρκετοί μορφολογικοί, ανατομικοί και αναπαραγωγικοί χαρακτήρες που έχουν χρησιμοποιηθεί στην ταξινόμηση των γενών του «Συμπλέγματος *Laurencia*» έχει αποδειχθεί ότι έχουν διαγνωστική αξία μόνο στο επίπεδο του γένους. Έτσι, πολλά είδη είναι ελλιπώς χαρακτηρισμένα και παρουσιάζουν μεγάλη μορφολογική πλαστικότητα που περιπλέκει την ταξινόμηση τους. Αυτό φαίνεται και στο μεγάλο αριθμό των ειδών και των ενδιάμεσων βαθμίδων που έχουν αποδοθεί στο «Σύμπλεγμα *Laurencia*». Υπολογίζεται ότι περιλαμβάνει 430 είδη από τα οποία περισσότερα από 140 ανήκουν στο γένος *Laurencia* (Cassano *et al.*, 2012a).

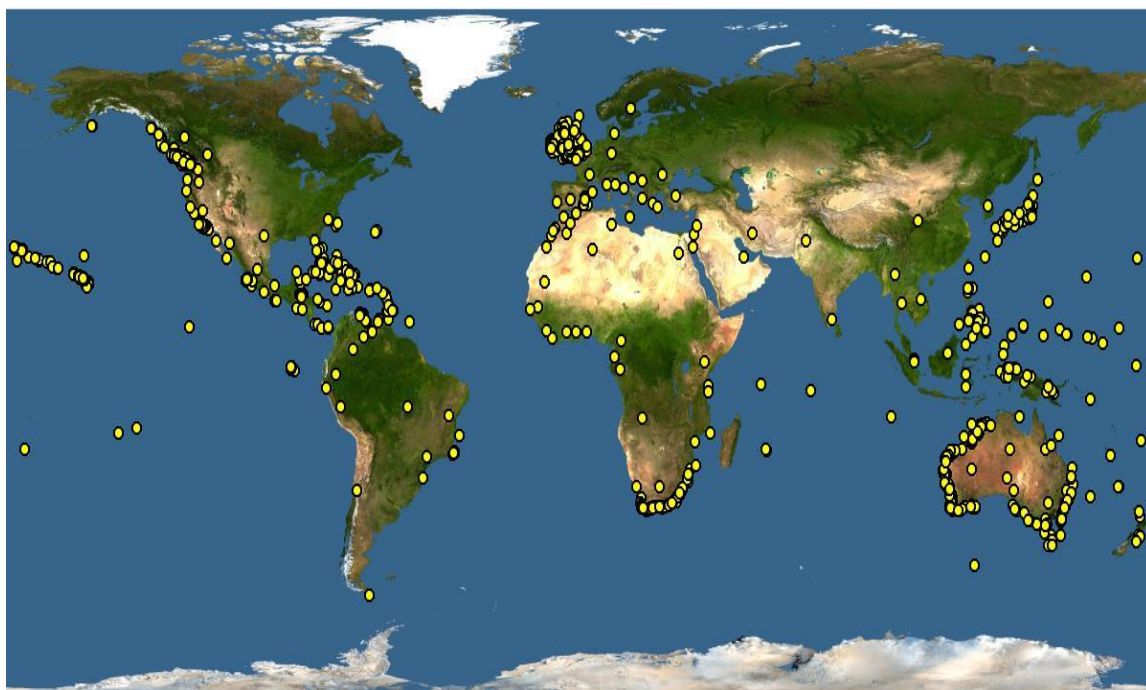
Η χρήση μοριακών δεικτών έχει αποδειχθεί χρήσιμη στην οριοθέτηση των βαθμίδων και στην εύρεση των φυλογενετικών σχέσεων στο «Σύμπλεγμα *Laurencia*» και έχει συμβάλει στη σύγχρονη άποψη για την ταξινόμησή του. Στις περισσότερες εργασίες χρησιμοποιείται ως μοριακός δείκτης η γενετική ακολουθία *rbcL* (RuBisCO , Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Oxygenase, Large chain), η οποία συνήθως παρέχει επαρκή πληροφορία ώστε να γίνει διάκριση στο επίπεδο του είδους (Fujii *et al.*, 2006; Martin-Lescanne *et al.*, 2010). Η πιο πρόσφατη φυλογενετική ανάλυση από τους Cassano *et al.* αναγνωρίζει ως έκτο γένος το γένος *Laurenciella*, το οποίο είναι μορφολογικά όμοιο με το γένος *Laurencia* και διαφέρει μόνο στη συγκεκριμένη γενετική ακολουθία (Cassano *et al.*, 2012b).

1.4. Το γένος *Laurencia*

1.4.1. Γενικά

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.

Το ροδοφύκος *Laurencia* αναπτύσσεται σε όλες τις θάλασσες και τους ωκεανούς και σχεδόν σε όλα τα γεωγραφικά πλάτη, σε τροπικά, εύκρατα και ψυχρά νερά, είναι δηλαδή κοσμοπολίτης οργανισμός. Τα είδη του γένους *Laurencia* μπορούν να αναπτύσσονται σε ποίκιλλα περιβάλλοντα και υποστρώματα και σε ποίκιλλα εύρη θερμοκρασίας (Padilla-Gamiño and Carpenter, 2007; Carballo *et al.*, 2002). Φύεται σε πετρώδεις ακτογραμμές όπου φτιάχνει πυκνές τούφες πάχους 0,5-3,0 cm, αλλά και σε αμμόδεις περιοχές, κυρίως κοντά στην επιφάνεια αλλά και στο βυθό ως επίφυτο επί άλλων φυκών. Βρίσκονται σε βάθη ως τα 65 μέτρα. Στην Εικόνα 9 φαίνεται η παγκόσμια εξάπλωση του γένους.



Εικόνα 9. Εξάπλωση του γένους *Laurencia*.

Στην πλειοψηφία, με κάποιες διαφοροποιήσεις ανά είδος, τα διάφορα είδη του γένους *Laurencia* είναι θαλλοειδή ροδοφύκη, με παχύ, σαρκώδη κυλινδρικό άξονα. Στους κλάδους εμφανίζονται λίγα εναλλασσόμενα πλευρικά παρακλάδια σταδιακά κοντύτερα προς την κορυφή σε σχήμα πυραμίδας. Αναπτύσσονται σε ύψος 5-15 cm και έχουν πράσινο, πορτοκαλί ή κόκκινο χρωματισμό (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Type species: *Laurencia obtusa*.

1.4.2. Οικολογική σημασία

Τα είδη του γένους *Laurencia* έχουν πολλαπλές οικολογικές σχέσεις και οικολογικούς ρόλους. Φαίνεται να είναι από τους προεξέχοντες πρωτογενείς παραγωγούς για τα θαλάσσια οικοσυστήματα στα οποία ανήκουν (Behringer and Butler, 2006).

Φιλοξενούν στην επιφάνεια τους μικροοργανισμούς (Fujita and Hallock, 1999; Hernández Almeida and Siqueiros Beltrones, 2008) και παρασιτικά φύκη, όπως είδη του γένους *Janczewskia*, που ανήκει και αυτό στην ομάδα Laurenciae (Fujii and Guimarães, 1999; Feldmann and Feldmann, 1951), αλλά αποτελούν και παράσιτα άλλων φυτών, όπως του θαλάσσιου φανερόγαμου *Halophila stipulaceae* (Rindi *et al.*, 1999) και φυκών, όπως του ροδοφύκου *Gracilaria cliftonii* (Muñoz and Fotedar, 2010).

Αποτελούν τροφή για διάφορα φυτοφάγα θαλάσσια ζώα, όπως μαλάκια π.χ., πεταλίδες (Boaventura *et al.*, 2002) και δίθυρα (Sara *et al.*, 2003), καρκινοειδή (Coen *et al.*, 1988), θαλάσσιες χελώνες (André *et al.*, 2005), ψάρια (Fox *et al.*, 2009), κ.ά. Ωστόσο, λόγω πιθανώς των βιοδραστικών μεταβολιτών που περιέχουν δεν προτιμώνται ως τροφή από κάποιους άλλους οργανισμούς (Littler, 1983; Granado and Caballero, 2001). Ένα ενδιαφέρον παράδειγμα είναι το καβούρι *Microphrys sp.* το οποίο χρησιμοποιεί τη *Laurencia papillosa* ως τροφή αλλά και ως καμουφλάζ (Kilar and Lou, 1984; Kilar and

Lou, 1986). Ένα δεύτερο παράδειγμα είναι το γαστερόποδο *Strombus gigas* για το οποίο, εκτός από τροφή, η *Laurencia* περιέχει και τα χημικά σήματα που προκαλούν τη μεταμόρφωση των προνυμφών του (Stoner *et al.*, 1991; Boettcher and Targett, 1996).

Σε «δάση» που σχηματίζουν βρίσκουν καταφύγιο πολλά είδη ζώων. Ενδιαφέρον είναι το παράδειγμα του γαστερόποδου *Aplysia sp.* (γνωστό ως «λαγός της θάλασσας»), το οποίο έχει στενή οικολογική σχέση με τη *Laurencia*, αφού αποτελεί κύριο μέρος της διατροφής του και επιπλέον φαίνεται να συσσωρεύει τους βιοδραστικούς μεταβολίτες από αυτή και από τα άλλα φύκη με τα οποία τρέφεται, και να τους χρησιμοποιεί για τη δική του χημική προστασία έναντι των θηρευτών του (Rogers *et al.*, 2000; Rogers *et al.*, 2002).

Μια θετική οικολογική συσχέτιση έχει παρατηρηθεί ανάμεσα στο Φαιοφύκος *Styropodium zonale* και σε διάφορα μακροφύκη συμπεριλαμβανομένου και του είδους *Laurencia poitei*, όπου φαίνεται ότι η αντίσταση του φαιοφύκου αυτού έναντι των θηρευτών του προστατεύει και τα φύκη που βρίσκονται κοντά του (Littler *et al.*, 1986). Ακόμα, μια παρόμοια σχέση έχει παρατηρηθεί ανάμεσα στο ίδιο είδος *Laurencia* και στα κοράλλια *Gorgonia ventalina* και *Millepora alcicornis* (Littler *et al.*, 1987).

Ένας λίγο διαφορετικός οικολογικός ρόλος της *Laurencia* (και άλλων μακροφυκών) είναι η διασπορά διάφορων ειδών μικροσκοπικών ζώων πάνω σε κομμάτια της που δεν επιπλέουν, τα οποία με αυτόν τον τρόπο μεταφέρονται σε μακρινές αποστάσεις (Holmquist, 1994).

Πολλά μακροφύκη, ανάμεσά τους και είδη *Laurencia*, φύονται σε κοραλλιογενείς υφάλους και συνυπάρχουν σε ισορροπία με τα οικοσυστήματα αυτά. Η άποψη ότι η παρουσία τους είναι ή έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση αυτών (McClanahan *et al.*, 2002; Kuffner *et al.*, 2006) αντικρούεται από νεότερα δεδομένα από μελέτες σε απομονωμένους και υγιείς κοραλλιογενείς υφάλους (Vroom and Braun, 2010). Ωστόσο, η ανθρωπογενής μόλυνση επηρεάζει αρνητικά την ισορροπία των οικοσυστημάτων αυτών προκαλώντας την υπέρμετρη κάλυψη τους από μακροφύκη (Lapointe *et al.*, 2004).

Η ανθρωπογενής μόλυνση φαίνεται να επιδρά αρνητικά και στη *Laurencia* (Turna *et al.*, 2002), καθώς είναι ένα γένος που αναπτύσσεται μόνο σε καθαρά νερά (Diez *et al.*, 1999). Επίσης, σε μια εργασία από τους Sudatti *et al.* (2011) φαίνεται ότι οι κλιματικές αλλαγές επηρεάζουν και αυτές αρνητικά τη *Laurencia*, καθώς παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού του βιοδραστικού μεταβολίτη ελατόλη από τη *Laurencia dendroidea* με ό,τι

οικολογικές συνέπειες μπορεί να έχει αυτό στις οικολογικές της σχέσεις με τους άλλους οργανισμούς (Horta *et al.*, 2012).

1.4.3. Οικονομική σημασία

Η *Laurencia* είναι ένα γένος που παράγει πολύ σημαντικούς δευτερογενείς μεταβολίτες με αξιόλογες φαρμακολογικές δράσεις. Όμως οι ποσότητες που απομονώνονται είναι πολύ μικρές και σπάνια επαρκούν ώστε να μελετηθούν πλήρως οι ιδιότητες τους και να αναπτυχθούν ως φάρμακα. Έτσι, η προσοχή των επιστημόνων έχει στραφεί προς την εξεύρεση τρόπων για την παραγωγή τους σε μεγαλύτερες ποσότητες. Για αυτό το σκοπό γίνονται προσπάθειες ημίσυνθεσης ή *de novo* σύνθεσης των μεταβολιτών αυτών (Suárez-Castillo *et al.*, 2006; Little and Nishigushi, 2008; Snyder *et al.*, 2011), αλλά και προσπάθειες για ελεγχόμενες καλλιέργειες (Silcin and Evstigneeva, 2005) ή ιστοκαλλιέργειες (Robaina *et al.*, 1990; Shen *et al.*, 2010) των οργανισμών ώστε να παραχθούν οι απαραίτητες ποσότητες μεταβολιτών για την αξιοποίησή τους.

Είδη του γένους *Laurencia* μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραλαβή άγαρ, ενός πολύ χρήσιμου πολυσακχαρίτη, που βρίσκεται στην εξωτερική στρώση των κυτταρικών τους τοιχωμάτων, και έχει τεράστιες εμπορικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων και τη φαρμακευτική βιομηχανία (Pacheco-Ruíz and Zurteche- González, 1996; Villanueva *et al.*, 2010). Συχνότερα, βέβαια, παραλαμβάνεται από άλλα μακροφύκη, κυρίως από είδη των γενών *Gelidium* και *Gracilaria*. Ακόμα, από είδη του γένους *Laurencia* και άλλα Ροδοφύκη παραλαμβάνονται οι πολυσακχαρδικής φύσης καρραγενάνες με εξίσου σημαντικές εμπορικές εφαρμογές (Vairappan *et al.*, 2010).

Σε μια μελέτη που έγινε από τους Gressler *et al.* το 2010 αποδείχθηκε ότι είδη του γένους μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγές διατροφικών πρωτεϊνών, αμινοξέων, λιπιδίων και απαραίτητων λιπαρών οξέων για ανθρώπους και ζώα. Ακόμα αποτελούν καλές πηγές για την παραλαβή αραχιδονικού και εικοσαπεντανοϊκού οξέως (Khotimchenko and Gusarova, 2004).

Επίσης σε άλλες μελέτες έχει αποδειχθεί η ικανότητα της *Laurencia sp.* να προσροφά ιόντα διάφορων μετάλλων, που μπορεί εν δυνάμει να οδηγήσει σε παραγωγή βιοπροσροφητικών υλικών και άλλες ενδιαφέρουσες περιβαλλοντικές εφαρμογές (Hamdy, 2000; Baran *et al.*, 2005).

1.4.4. Δευτερογενείς μεταβολίτες

Τα Ροδοφύκη που ανήκουν στο γένος *Laurencia* είναι μοναδικά στην ικανότητά τους να βιοσυνθέτουν μια μεγάλη ποικιλία δευτερογενών μεταβολιτών με ασυνήθιστες δομές, και φαίνεται να αποτελούν μια ανεξάντλητη πηγή νέων φυσικών προϊόντων (Wright *et al.*, 2003; Lyakhova *et al.*, 2004). Το γένος αυτό είναι από τα πιο εκτενώς μελετημένα όσον αφορά τα χημικά του συστατικά, γιατί αφενός είναι ένας παγκόσμια εξαπλωμένος οργανισμός και αφετέρου σχεδόν πάντα τα είδη του περιέχουν μεγάλο ποσοστό δευτερογενών μεταβολιτών. Τα δύο αυτά χαρακτηριστικά του το καθιστούν ελκυστική πηγή πρωτότυπων και νέων δομών και συχνά βιολογικά δραστικών φυσικών προϊόντων (Dorta *et al.*, 2004; Faulkner, 2002), ειδικότερα όταν υπάρχει η δυνατότητα να συλλεχθεί από περιοχές που δεν έχουν ερευνηθεί ξανά.

Περίπου 900 νέες χημικές δομές έχουν απομονωθεί από τα διάφορα μέλη του γένους *Laurencia* (MarinLit, 2013). Οι περισσότεροι δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από ροδοφύκη είναι αλογονωμένοι και ιδιαίτερα το ροδοφύκος *Laurencia* παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ποικιλία στην παραγωγή τέτοιων μεταβολιτών, οι οποίοι είναι αλογονωμένοι σε υψηλό βαθμό (Fenical, 1975; Cabrita *et al.*, 2010). Μάλιστα παρατηρούνται περισσότερο χλωριωμένοι και βρωμιωμένοι μεταβολίτες, από ότι ιωδιωμένοι.

Η παραγωγή τέτοιων βιοδραστικών μεταβολιτών σχετίζεται με τη δυνατότητα να αποθηκεύονται σε ειδικές δομές ώστε να μην είναι τοξικοί για τον παραγωγό οργανισμό. Στα φύκη αυτές οι ειδικές δομές μπορεί να είναι μεμονωμένα ολόκληρα κύτταρα ή κυτταρικά τμήματα που έχουν διαφοροποιημένη δομή, όπως το “*corps en cerise*” (ή cherry body) που απαντάται αποκλειστικά και μόνο στο γένος *Laurencia sensu stricto* (Young *et al.*, 1980). Αυτοί οι εξειδικευμένοι σχηματισμοί βρίσκονται συνήθως στα επιφανειακά κύτταρα του θαλλού.

Για το γένος *Laurencia* έχει βρεθεί ότι οι αλογονωμένοι μεταβολίτες παράγονται πιθανώς στους χλωροπλάστες με τη βοήθεια αλογονο-υπεροξειδασών (Carter-Franklin and Butler, 2004), αποθηκεύονται κυρίως στο “*corps en cerise*”, αλλά βρίσκονται και σε κυστιδία που είναι διασκορπισμένα στο κυτταρόπλασμα με τη βοήθεια των οποίων φαίνεται να εξωκυττώνονται προς την εξωτερική επιφάνεια του θαλλού (Salgado *et al.*, 2008). Ο ρυθμός εξωκύττωσης των κυστιδίων που περιέχουν τα βιοδραστικά αυτά μόρια

αυξάνει με την έκθεση σε χαμηλές θερμοκρασίες, τις αλλαγές στην ακτινοβολία και με τον αποικισμό από βακτήρια, άρα σχετίζεται με τη χημική προστασία της *Laurencia* (Paradas *et al.*, 2010). Εκπρόσωποι του γένους που δε διαθέτουν τον παραπάνω σχηματισμό δεν παράγουν αλογονωμένους μεταβολίτες (Suzuki and Kurosawa, 1979b; Suzuki *et al.*, 1987; Vairappan *et al.*, 2001a).

Η αποδιοργάνωση του “*corps en cerise*” προκαλεί κυτταρικό θάνατο και απελευθερώνει μεγάλες ποσότητες βιοδραστικών μορίων στην επιφάνεια, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι αυτό το φαινόμενο μπορεί να είναι ένας από τους μηχανισμούς χημικής άμυνας που διαθέτουν τα φύκη αυτά (Salgado *et al.*, 2008).

Οι σχηματισμοί αυτοί βρίσκονται στις τριχοβλάστες και στα εξωτερικά κύτταρα του φλοιού και το σχήμα τους ποικίλλει από σφαιρικό, νεφροειδές έως ροπαλοειδές. Ο αριθμός τους ανά κύτταρο του φλοιού αποδεικνύεται ένας χρήσιμος χαρακτήρας για τη διάκριση των ειδών του γένους *Laurencia* σε ομάδες. Υπάρχουν πολλά είδη που έχουν ένα “*corps en cerise*” ανά κύτταρο, ενώ λίγα είδη που έχουν περισσότερα (Fujii *et al.*, 2012).

Καθώς η διάκριση μεταξύ των ειδών περιπλέκεται από τη μεγάλη ποικιλία του φαινότυπού τους, οι αλογονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες θεωρούνται ένα χρήσιμο ταξινομικό εργαλείο σε επίπεδο είδους αφού τα περισσότερα είδη βιοσυνθέτουν ένα χαρακτηριστικό κύριο μεταβολίτη ή μία τάξη μεταβολιτών που δεν είναι τόσο διαδεδομένα στα υπόλοιπα του γένους (Fenical and Norris, 1975; Masuda *et al.*, 1996). Μάλιστα αυτό φαίνεται να παραμένει σταθερό σε διαφορετικές συνθήκες συλλογής ή καλλιέργειας (Howard *et al.*, 1980; Masuda *et al.*, 1997)

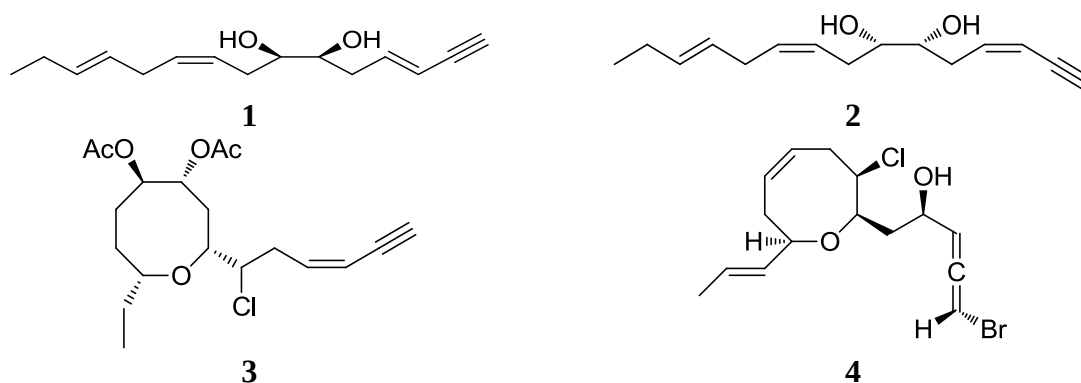
Οι κυριότερες κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα από τα διάφορα μέλη του γένους *Laurencia* είναι:

☞ **Μη τερπενικοί C₁₅ κυκλικοί αιθέρες (C₁₅ ακετογενίνες)**

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ενώσεις γραμμικές ή με διαφορετικού μεγέθους αιθερικούς δακτυλίους που συνήθως διαθέτουν μια συζευγμένη βινυλοακετυλενική ή αλλυλική πλευρική αλυσίδα. Οι περισσότερες είναι αλογονωμένες με το βρώμιο να κυριαρχεί σαν ετεροάτομο.

Η πλειοψηφία των ενώσεων αυτών είναι οκταμελείς κυκλικοί αιθέρες, οι οποίοι χωρίζονται σε δύο γενικές κατηγορίες τα λαουρενάνια (*laurenane*) και τα λαουθισάνια

(lauthisane) και φαίνεται βιοσυνθετικά να προκύπτουν από τα γραμμικά μόρια 3Z,6S,7S-λαουρεδιόλη (3Z,6S,7S-laurediol) (**1**) και 3E,6R,7R-λαουρεδιόλη (3E,6R,7R-laurediol) (**2**) αντίστοιχα (Fukuzawa *et al.*, 1992; Ishihara and Murai, 2001), τα οποία έχουν απομονωθεί από το φύκος *Laurencia nipponica* (Kurosawa *et al.*, 1972). Ο μεταβολίτης **3** είναι δραστικός κατά του ανθεκτικού στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA), ανήκει στα λαουθισάνια και απομονώθηκε από το φύκος *Laurencia glandulifera* (Kladi *et al.*, 2008). Το μαριλζαλλένιο (marilzallene) (**4**) είναι ένας οκταμελής κυκλικός αιθέρας με αλλυλική πλευρική αλυσίδα που απομονώθηκε πρόσφατα από το φύκος *Laurencia marilzae* (Gutiérrez-Cepeda *et al.*, 2011) (Εικόνα 11).

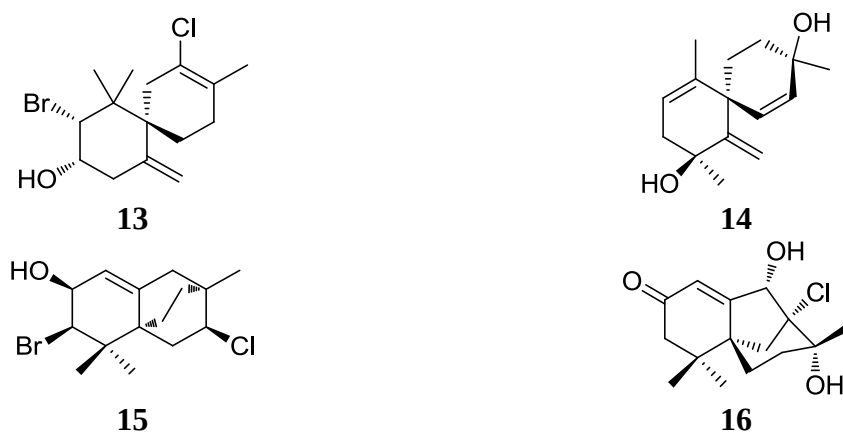


Εικόνα 11. C₁₅ ακετογενίνες του γένους *Laurencia*.

Ο μεταβολίτης **5** από το φύκος *L. glandulifera* διαθέτει τετραϋδροφουρανικό δακτύλιο (Kladi *et al.*, 2009), ενώ η σκανλονενίνη (scanlonenynne) (**6**) από το φύκος *L. obtusa* τετραϋδροπυρανικό δακτύλιο (Suzuki *et al.*, 1997). Από το φύκος *L. microcladia* έχουν απομονωθεί οι επταμελείς αιθέρες ροτζιολοξεπάνη A (rogioloxepane A) (**7**) και ροτζιολενίνη A (rogiolepyne A) (**8**) (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 ακετογενίνες **9** και **10** έχουν απομονωθεί από το φύκος *Laurencia implicata* και διαθέτουν εννιαμελή και δεκαμελή αιθερικό δακτύλιο, αντίστοιχα (Coll and Wright, 1989) (Εικόνα 12).

☞ Σεσκιτερπένια

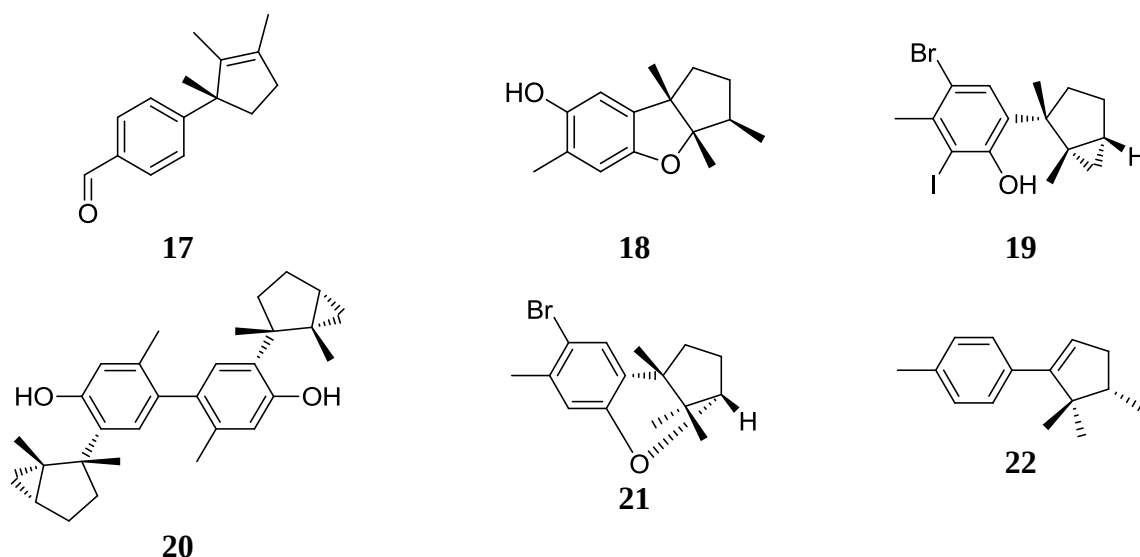
Τα σεσκιτερπένια αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών που έχουν απομονωθεί από είδη του γένους *Laurencia* και συχνά έχουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις. Πολύ συχνά απαντώνται σεσκιτερπένια τσαμιγκρανικού τύπου (chamigrane), όπως η ελατόλη (elatol) (**13**) από το φύκος *Laurencia 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 (scopariol) (**14**) από το φύκος *Laurencia scoparia* έχει σκελετό αναδιατεταγμένου τσαμιγκρανίου (Davyt *et al.*, 2001), ενώ η ροδολαουρεόλη (rhodolaureol) (**15**) (*Laurencia sp.*) και η γκομερόνη Α (gomerone A) (**16**) (*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 14).



Εικόνα 14. Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

Μια ακόμη πολυπληθής ομάδα σεσκιτερπενίων από τους αντιπροσώπους του γένους *Laurencia* είναι τα λαουράνια (laurane). Παραδείγματα αυτής της κατηγορίας είναι η ισολαουραλδεΰδη (isolauraldehyde) (**17**) από το φύκος *L. obtusa* με αντιβακτηριακή δράση, αντιμυκητιασική δράση και *in vitro* δράση κατά των κυττάρων ασκίτη Ehrlich (Alarif *et al.*, 2012), και η δεβρωμοαπλυσινόλη (debromoaplysinol) (**18**) από το φύκος *Laurencia tristicha*, ένα επόξυλαουράνιο με εκλεκτική κυτταροτοξικότητα στην καρκινική σειρά HeLa (Sun *et al.*, 2007). Η κυτταροτοξική 8-ιώδολαουριντερόλη (8-iodolaurinterol)

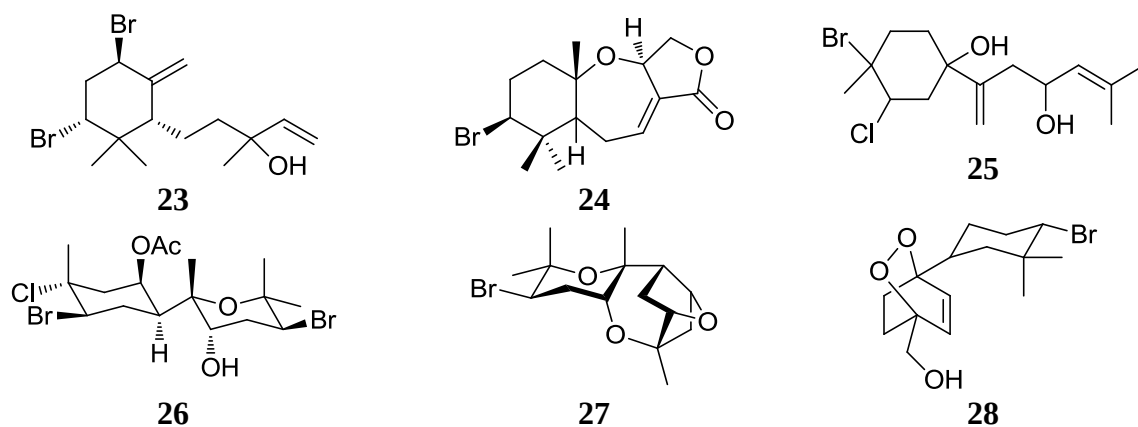
(19) από το φύκος *L. microcladia* έχει σκελετό κυκλολαουρανίου και αποτελεί ένα από τα ελάχιστα ιωδιομένα παράγωγα που έχουν απομονωθεί από φύκη του γένους *Laurencia* (Kladi *et al.*, 2007). Το λαουρεμπιφαινύλιο (laurebiphenyl) (20) είναι ένα διμερές κυκλολαουρανίου με μέτρια κυτταροτοξική δράση που έχει απομονωθεί από τα φύκη *Laurencia nidifica* και *L. tristicha* (Shizuri and Yamada, 1985; Sun *et al.*, 2005). Ακόμα, δομικά παρόμοια σεσκιτερπένια με σκελετό κουπαρενίου (cuparene) έχουν απομονωθεί από είδη του γένους, όπως ο μεταβολίτης 21 με κυτταροτοξική δράση από το φύκος *L. microcladia* (Kladi *et al.*, 2005). Το λαουροκαμουρένιο B (laurokamurene B) (22) από το φύκος *Laurencia okamura* έχει σκελετό αναδιατεταγμένου κουπαρενίου (Mao and Guo, 2006). (Εικόνα 15).



Εικόνα 15. Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

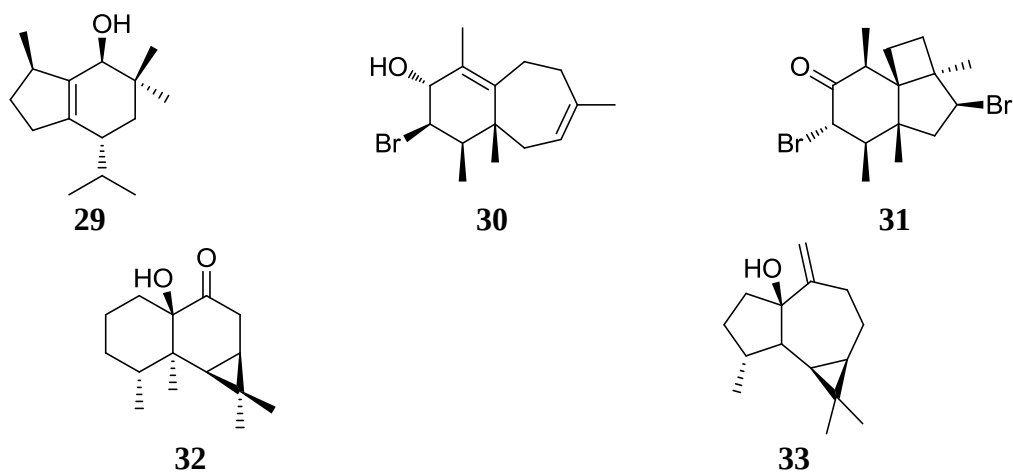
Η 8-βρώμο-10-επι-β-σνυδερόλη (8-bromo-10-epi-β-snyderol) (23) από το φύκος *L. obtusa* ανήκει στα σνυδεράνια (snyderane) και εμφανίζει αντιμαλαριακή δράση (Torcu *et al.*, 2003). Η απλυσιστατίνη (aplysistatin) (24) η οποία αρχικά απομονώθηκε από το γαστερόποδο *Aplysia angasi* και έπειτα από διάφορα είδη του γένους *Laurencia* είναι ένα τρικυκλικό σνυδεράνιο με αντιλευχαιμική και αντιφλεγμονώδη δράση (Pettit *et al.*, 1977; Vairappan *et al.*, 2013). Ο μεταβολίτης 25 από το φύκος *L. scoraria* ανήκει στα β-μπισαμπολάνια (β-bisabolane) και εμφανίζει ασθενή ανθελμινθική δράση (Davys *et al.*, 2006). Στην ίδια κατηγορία ανήκουν και το κυτταροτοξικό δικυκλικό σεσκιτερπένιο 26 από το φύκος *Laurencia catariannensis* (Lhullier *et al.*, 2010) και η τρικυκλική αλδινγενίνη A (aldingenin A) (27) από το φύκος *Laurencia aldingenensis* (de Carvalho *et al.*, 2003).

Με περαιτέρω κυκλοποίηση της ανθρακικής αλυσίδας προκύπτουν μόρια όπως το ματζαπολένιο Α (majapolene Α) (**28**) από το φύκος *L. majuscula*, το οποίο εμφανίζει μέτρια κυτταροτοξική δράση (Erickson *et al.*, 1995) (Εικόνα 16).



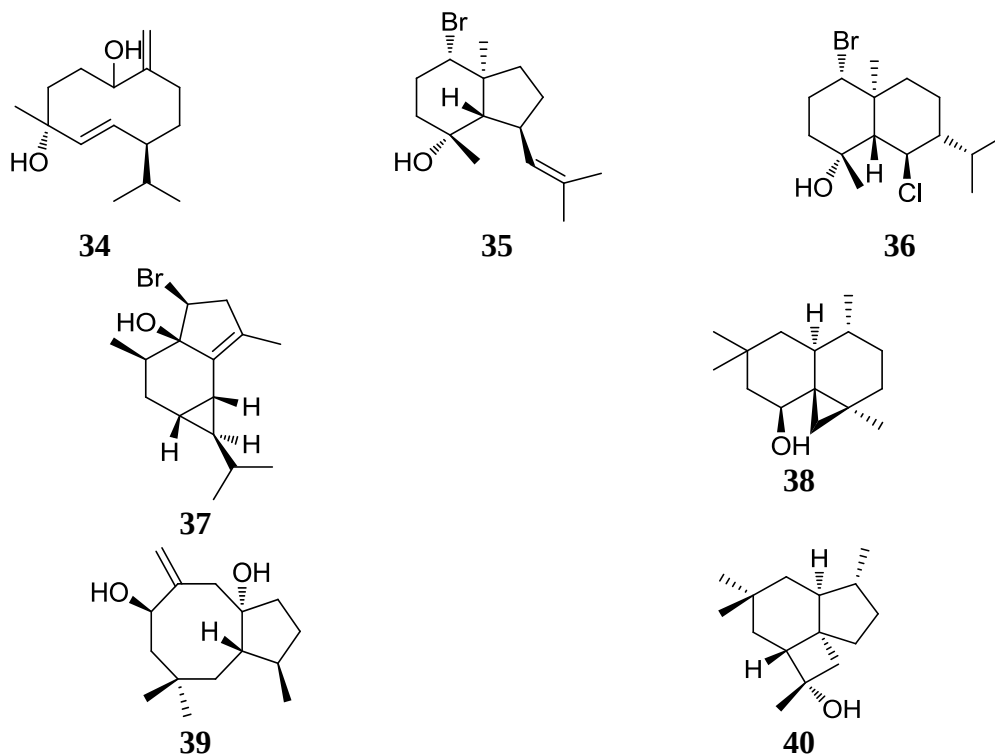
Εικόνα 16. Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

Μια ιδιαίτερη ομάδα συνιστούν τα σεσκιτερπένια μπρασιλανικού τύπου (brasilane), όπως για παράδειγμα η μπρασιλενόλη (brasilenol) (**29**) που απομονώθηκε αρχικά από το φύκος *L. obtusa* (Stallard *et al.*, 1978). Η περφορενόλη Β (perforenol Β) (**30**) από το φύκος *L. obtusa* έχει σκελετό περφορανίου και εμφανίζει κυτταροτοξική δράση (Kladi *et al.*, 2006). Η περφορατόνη (perforatone) (**31**) έχει απομονωθεί από το φύκος *Laurencia perforata* (González *et al.*, 1975). Επίσης, έχουν απομονωθεί σεσκιτερπένια με σκελετό αριστολανίου (aristolane), τύπος ο οποίος απαντάται αρκετά συχνά στο χερσαίο περιβάλλον, όπως για παράδειγμα ο μη αλογωνομένος μεταβολίτης **32** από το φύκος *Laurencia similis* (Ji *et al.*, 2007c). Άπο το φύκος *Laurencia subopposita* έχουν απομονωθεί σεσκιτερπένια με σκελετό αρωμαδενδρανίου (aromadendrane) όπως ο μεταβολίτης **33** (Wratten and Faulkner, 1977) (Εικόνα 17).



Εικόνα 17. Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

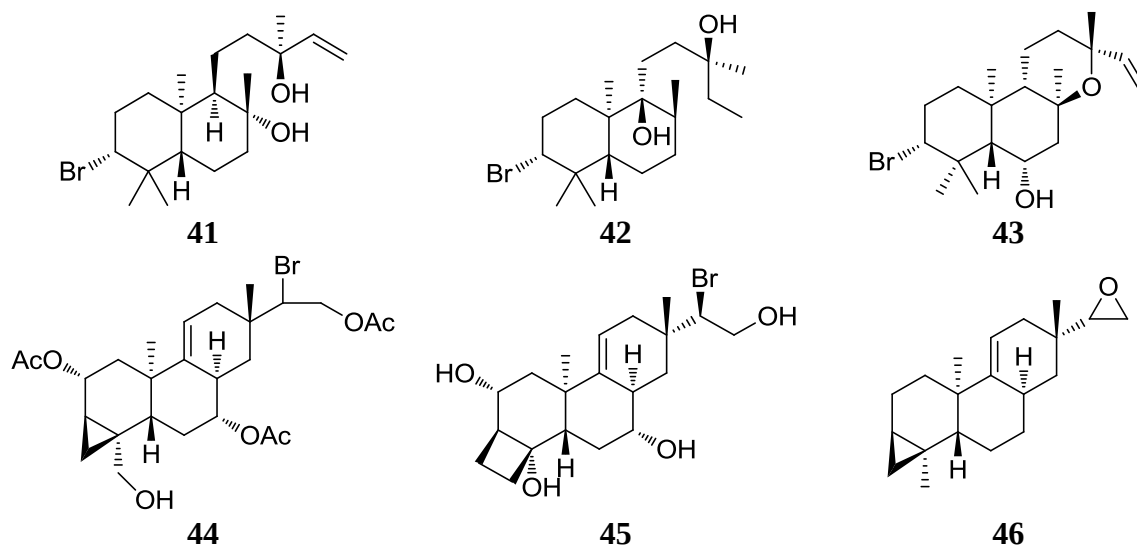
Άλλα σεσκιτερπένια είναι: το γερμακρανικού τύπου (germacrane) **34** από το φύκος *L. subopposita* (Wratten and Faulkner, 1977), η οπποζιτόλη (oppositol) (**35**) από το ίδιο φύκος με σκελετό οπποζιτανίου (oppositane) και μέτρια αντιβιοτική δράση (Hall *et al.*, 1973) και η ετεροκλαδόλη (heterocladol) (**36**) 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 and König, 2000; Guella *et al.*, 2002). Τέλος, έχουν αναφερθεί σεσκιτερπενια i) με σκελετό καλενζανίου (calenzane), όπως ο μεταβολίτης **37** από το φύκος *L. microcladia* που είναι ασταθής και αποσυντίθεται σε ινδενικό παράγωγο (Guella *et al.*, 2001; Guella *et al.*, 2003), ii) με σκελετό α -χουμουλανίου (α -humulane), όπως η λαουρομπτουςόλη (laurobtusol) (**38**) από το φύκος *L. obtusa* (Caccamese *et al.*, 1991), iii) με σκελετό ποϊτανίου (poitane), όπως η ποϊτεδιόλη (poitediol) (**39**) από το φύκος *L. poitei* (Fenical *et al.*, 1978) και iv) η βιριντιανόλη (viridianol) (**40**) από το φύκος *Laurencia viridis* που φαίνεται να έχει βιοσυνθετική συσχέτιση με τα ποϊτάνια (Norte *et al.*, 1994) (Εικόνα 18).



Εικόνα 18. Σεσκιτερπένια του γένους *Laurencia*.

☞ Διτερπένια

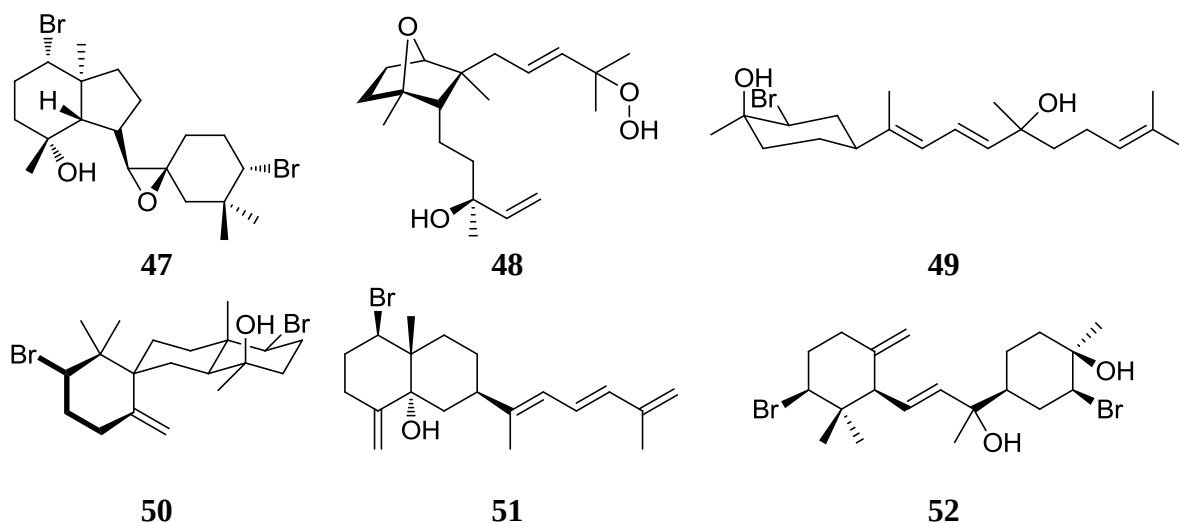
Στο γένος *Laurencia* απαντώνται συχνά λαβδανικού τύπου διτερπένια, όπως η πιννατόλη Α (pinnatol A) (41) από το φύκος *Laurencia pinnata* (Fukuzawa *et al.*, 1985), η κονσινδιόλη (concinndiol) (42) από το φύκος *Laurencia concinna* (Sims *et al.*, 1973), η πανικουλατόλη (paniculatol) (43) από το φύκος *Laurencia paniculata* (Briand *et al.*, 1997). Ακόμα απομονώνονται αρκετά συχνά διτερπένια τύπου παργκουαρενίου (44, *L. filiformis*, Rochfort *et al.*, 1996), ισοπαργκουαρενίου (45, *L. obtusa*, Takeda *et al.*, 1990) και δεόξυπαργκουαρενίου (46, *Laurencia saitoi*, Kurata *et al.*, 1998) (Εικόνα 19).



Εικόνα 19. Διτερπένια του γένους *Laurencia*.

Άλλου τύπου διτερπένια είναι (Εικόνα 20) :

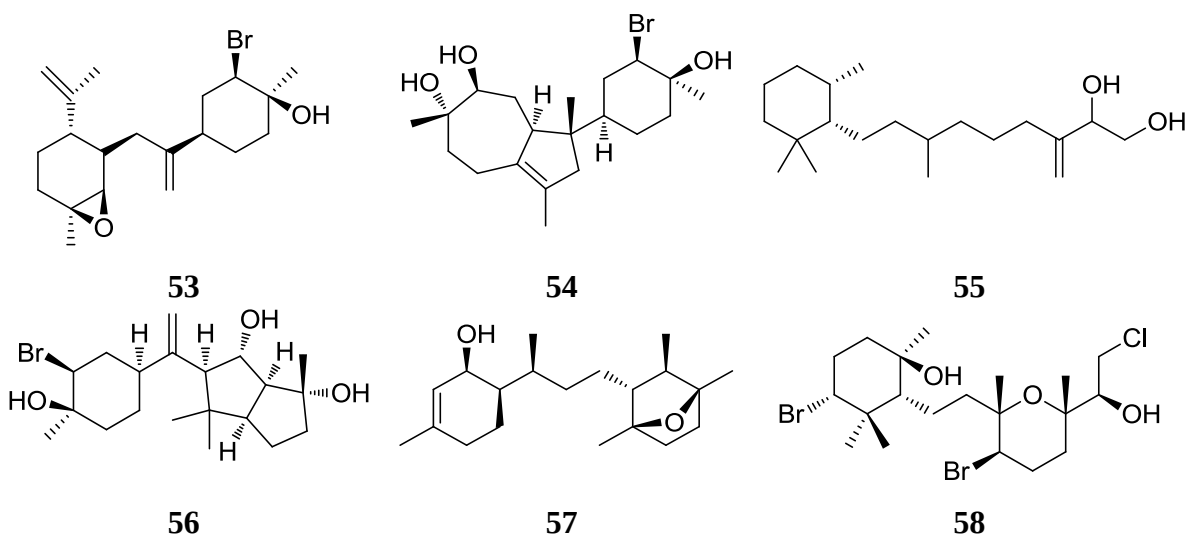
- ✓ με σκελετό ιριεόλης, όπως η ιριεόλη A (irieleol A) (47) από το φύκος *Laurencia iriei* (Fenical *et al.*, 1975),
- ✓ με σκελετό δακτυλομελανίου (dactylomelane skeleton), όπως το *E*-δακτυλοϋδροϋπεροξειδίο A (*E*-dactylohydroperoxide A) (48) από ένα φύκος του γένους *Laurencia* (Fernández *et al.*, 2005),
- ✓ με σκελετό πρενυλιωμένου μπισαμπολανίου, όπως η ροτζιολδιόλη D (rogioldiol D) (49) από το φύκος *L. microcladia* (Guella and Pietra, 2000),
- ✓ με σκελετό πρενυλιωμένου τσαμιγκρανίου, όπως το καχουκουένιο B (kahukuene B) (50) από το φύκος *L. majuscula* (Brennan *et al.*, 1993),
- ✓ με σκελετό πρενυλιωμένου ευδεσμανίου, όπως η ανυδροαπλυσιαδιόλη (anhydroaplysiadiol) (51) από το φύκος *Laurencia japonensis* (Takahashi *et al.*, 1998) και
- ✓ με σκελετό ομπουσανίου, όπως η ομπουσαδιόλη (obtusadiol) (52) από το φύκος *L. obtusa* (Howard and Fenical, 1978).



Εικόνα 20. Διτερπένια του γένους *Laurencia*.

Άλλα διτερπένια με αξιόλογες φαρμακολογικές δράσεις από το γένος *Laurencia* είναι (Εικόνα 21) :

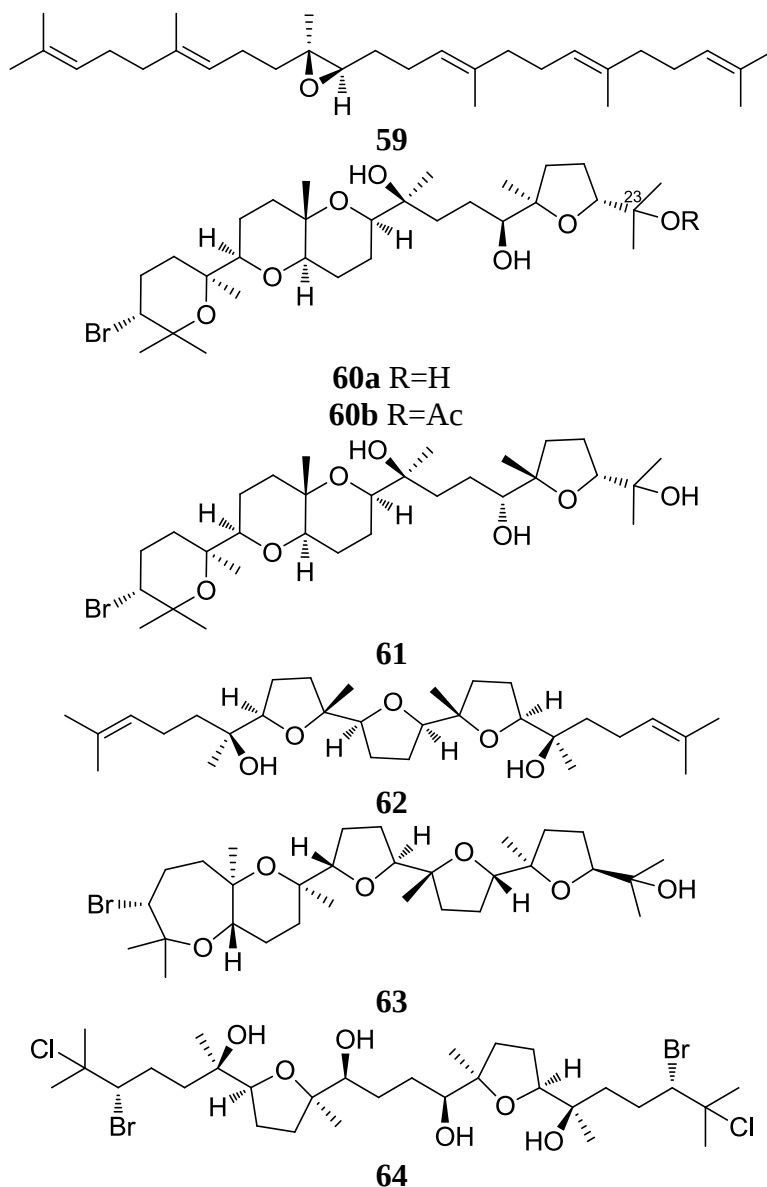
- ✓ οι κυτταροτοξικές ουσίες πρεβεζόλη Α (prevezol A) (53) και πρεβεζόλη D (prevezol D) (54) από το φύκος *L. obtusa* (Mihopoulos *et al.*, 2001; Iliopoulou *et al.*, 2003),
- ✓ η κυτταροτοξική βιριδιόλη Α (viridiol A) (55) από το φύκος *L. viridis* (Norte *et al.*, 1996),
- ✓ η νεοροτζιολτριόλη (neorogioltriol) (56) από το φύκος *L. glandulifera* με αναλγητική και *in vitro* και *in vivo* αντιφλεγμονώδη δράση (Chatter *et al.*, 2009; Chatter *et al.*, 2011),
- ✓ η μη αλογονωμένη λαουρενδιτερπενόλη (laurenditerpenol) (57) από το φύκος *Laurencia intricata*, με ανασταλτική δράση στον παράγοντα HIF-1 (Hypoxia Inducing Factor 1) στα καρκινικά κύτταρα (Mohammed *et al.*, 2004; Chittiboyina *et al.*, 2007) και
- ✓ η λαουρενσιανόλη (laurencianol) (58) από το φύκος *L. obtusa* με αντιβακτηριακή δράση (Caccamese *et al.*, 1982).



Εικόνα 21. Διτερπένια του γένους *Laurencia*.

Τριτερπένια

Το γένος *Laurencia* παράγει πολυαιθερικά τριτερπένια, τα οποία διαθέτουν σκελετό σκουαλενίου και φαίνεται να προέχρονται από το παράγωγο **59**, που έχει απομονωθεί από το φύκος *L. okamura* (Kigoshi *et al.*, 1982; Kigoshi *et al.*, 1986). Η θυρσιφερόλη (thyriferol) (**60a**) από το φύκος *Laurencia thyrifera* (Blunt *et al.*, 1978) εμφανίζει κυτταροτοξική δράση (Suzuki *et al.*, 1985), ανασταλτική δράση στην ενεργοποίηση του HIF-1 (Hypoxia Inducing Factor 1) και εκλεκτική καταστολή της μιτοχονδριακής αναπνοής (Mahdi *et al.*, 2011). Η 23-ακετυλοθυρσιφερόλη (thyriferyl 23-acetate) (**60b**) από το φύκος *L. obtusa* (Suzuki *et al.*, 1985) εμφανίζει κυτταροτοξική δράση, εκλεκτική αναστολή της PP2A (serine/threonine phosphatase 2A) (Matsuzawa *et al.*, 1994) και προκαλεί απόπτωση σε B και T λευkemικά κύτταρα (Matsuzawa *et al.*, 1999). Η βενουστατριόλη (venustatriol) (**61**) από το φύκος *Laurencia venusta* εμφανίζει αντιική δράση (Sakemi *et al.*, 1986). Το κυτταροτοξικό τριτερπένιο τεουριλένιο (teurilene) (**62**) έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* και το ξύλο του φυτού *Euryloma longifolia* (Suzuki *et al.*, 1985; Morita *et al.*, 1993). Άλλα παραδείγματα είναι η ενσουόλη (enshuol) (**63**) από το φύκος *Laurencia omaezakiana* Masuda (Matsuo *et al.*, 1995) και η ιντρικατετραόλη (intricatetraol) (**64**) από το φύκος *L. intricata* (Suzuki *et al.*, 1993). (Εικόνα 22).



Εικόνα 22. Τριτερπένια του γένους *Laurencia*.

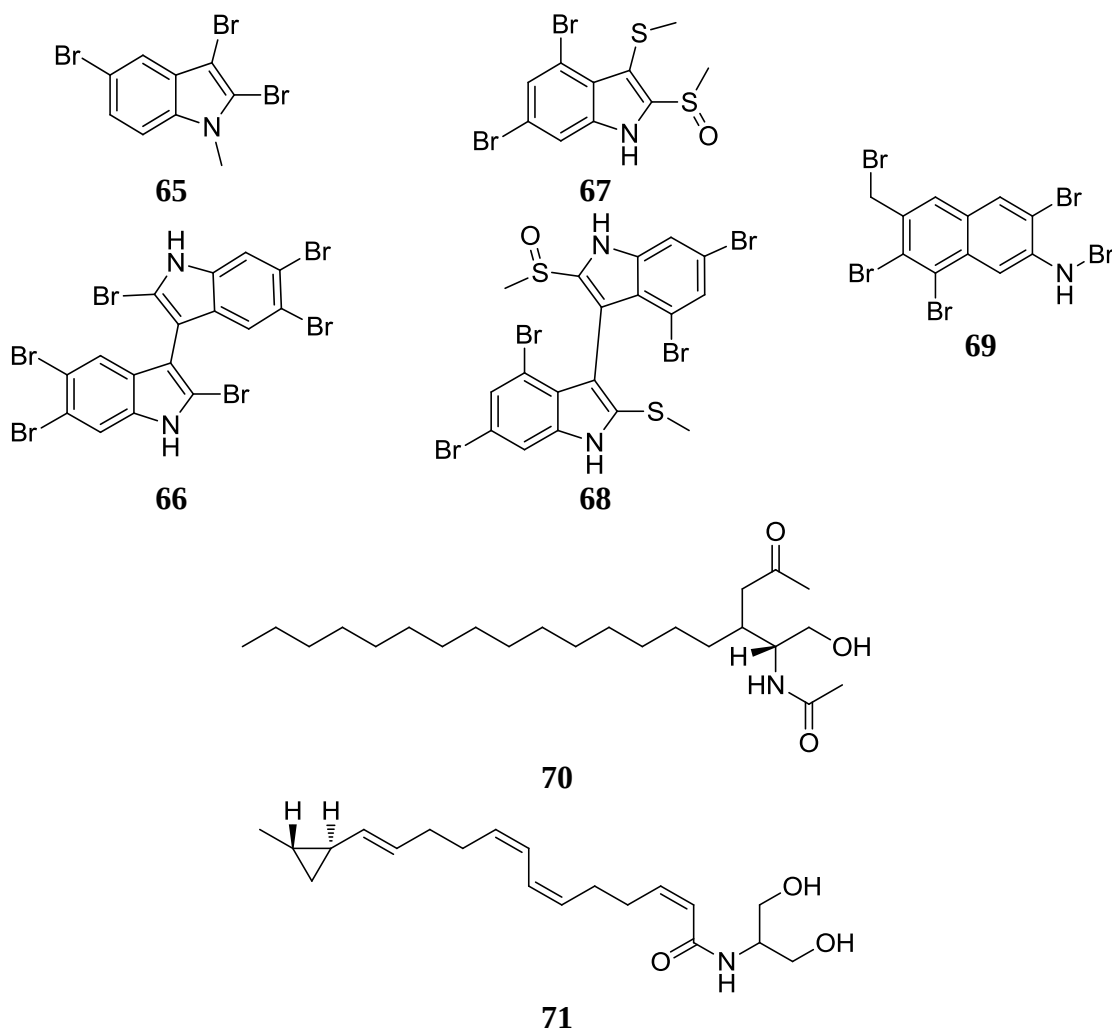
☞ Άλλα συστατικά

Το γένος *Laurencia* παράγει αζωτούχα παράγωγα που ανήκουν στις εξής κατηγορίες (Εικόνα 23):

- ✓ Πολυβρωμιωμένα παράγωγα ινδολίου έχουν απομονωθεί από τα φύκη *Laurencia brongniartii* (65) (Carter *et al.*, 1978), *L. similis* (Ji *et al.*, 2007a; Li *et al.*, 2010a) και *Laurencia decumbens* (Ji *et al.*, 2007b), και ένα διμερές αυτού του τύπου από το φύκος *L. brongniartii* (66) (Su *et al.*, 2009). Από το φύκος *L. brongniartii* έχουν απομονωθεί παρόμοια συστατικά που έχουν επιπλέον και σουλφοξείδιο, μια ομάδα

που σπάνια απαντάται σε φυσικά προϊόντα, όπως το ιτομανινδόλιο Α (itomanindole Α) (**67**) (Tanaka *et al.*, 1988; Tanaka *et al.*, 1989) και διμερή αυτών (**68**) (Kubota *et al.*, 2005; El-Gamal *et al.*, 2005).

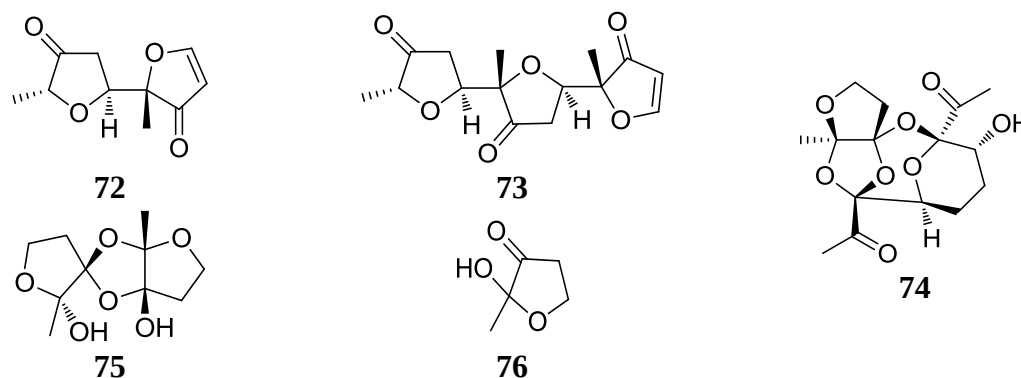
- ✓ Πολυβρωμιωμένα παράγωγα ναφθυλαμίνης έχουν απομονωθεί από το φύκος *L. similis* (**69**) (Qin *et al.*, 2010).
- ✓ Ένα σφινγκοσινικό (sphingosine) παράγωγο έχει απομονωθεί από το φύκος *L. nidifica* (**70**) (Cardellina *et al.*, 1978).
- ✓ Ένα αμιδικό παράγωγο λιπαρού οξέος, το παπιλλαμίδιο (papillamide) (**71**), απομονώθηκε πρόσφατα από το φύκος *L. papilllosa* (Maru *et al.*, 2010).



Εικόνα 23. Αζωτούχα παράγωγα του γένους *Laurencia*.

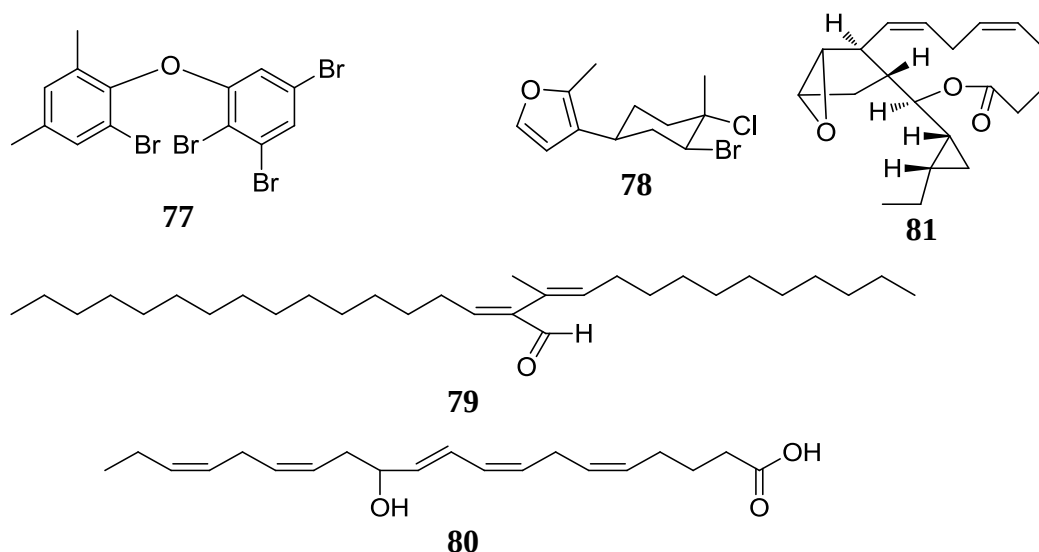
Επίσης, έχουν απομονωθεί και μόρια πολυακετιδικής φύσης, όπως οι χιλενόνες (chilenone) Α (**72**) και Β (**73**) (San-Martin *et al.*, 1983; San-Martin *et al.*, 1987), η

τετρακυκλική πολυακετάλη (74) (Bittner *et al.*, 1987) από το φύκος *Laurencia chilensis* και η σπίρο-δισ-πιννακετάλη (spiro-bis-pinnacetal) (75) από το φύκος *Laurencia pinnatifida* (Wiedenfeld *et al.*, 1985). Υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτά τα μόρια μπορεί να είναι προϊόντα συμπύκνωσης των μονοκυκλικών μη σταθερών μορίων που έχουν απομονωθεί από τα φύκη *Laurencia spectabilis* (76) (Bernart *et al.*, 1992) και *L.chilensis* (Arroyo *et al.*, 1995) (Εικόνα 24).



Εικόνα 24. Πολυακετίδια του γένους *Laurencia*.

Απο το φύκος *L. similis* έχουν απομονωθεί δύο πολυβρωμιωμένα αρωματικά διμερή (77) με ανασταλτική δράση στην PTP-1B (Protein Tyrosine Phosphatase 1B) (Qin *et al.*, 2010). Από το φύκος *Laurencia ceaspitosa* έχουν απομονωθεί μεταβολίτες με σκελετό παρόμοιο της φουροκαεσπιτάνης (furocaespitane) (78) (Estrada *et al.*, 1987) τα οποία μπορεί να προέρχονται από αποικοδόμηση των σεσκιτερπενίων μπισαμπολανικού τύπου. Τέλος, έχουν απομονωθεί παράγωγα λιπαρών οξέων, όπως ο μεταβολίτης 79 με αντιμυκητιακή δράση από το φύκος *L. papillosa* (Alarif *et al.*, 2011) και το 12-HEPE (80) (Higgs, 1981) με αντιμικροβιακή δράση από το φύκος *Laurencia hybrida*, το οποίο φαίνεται να είναι βιοσυνθετικός πρόδρομος της υβριδαλακτόνης (hybridalactone) (81) (Higgs and Mulheirn, 1981) που έχει απομονωθεί από τον ίδιο οργανισμό (Bernart and Gerwick, 1988) (Εικόνα 25).



Εικόνα 25. Άλλα συστατικά από το γένος *Laurencia*.

Το γένος *Laurencia* έχει μελετηθεί χημικά σε μεγάλο βαθμό, ωστόσο οι μεταβολίτες του δεν έχουν μελετηθεί συστηματικά ως προς τη βιοδραστικότητά τους. Μελέτες και πειράματα που έχουν γίνει μέχρι τώρα έχουν δείξει αξιόλογα αποτελέσματα ως προς την κυτταροτοξική (Juagdan *et al.*, 1997; Fernández *et al.*, 1998; Matsuzawa *et al.*, 1999; Pec *et al.*, 1999; Sun *et al.*, 2005), αντιφλεγμονώδη (Mayer *et al.*, 1993), αντιβακτηριακή (Vairappan *et al.*, 2001b; Bansemir *et al.*, 2004; Vairappan *et al.*, 2004), αντιυική (Sakemi *et al.*, 1986), ανθελμινθική (Davyt *et al.*, 2001; Topcu *et al.*, 2003), ανθελονοσιακή (Wright and König, 1996), εντομοκτόνο (El Sayed *et al.*, 1997), αντιοξειδωτική δράση (Li *et al.*, 2010b), καθώς και ανασταλτική δράση στην εγκατάσταση μικρο και μακρο οργανισμών σε υποθαλάσσιες επιφάνειες (antifouling activity) (König and Wright, 1997; Cassano *et al.*, 2008), πολλών δευτερογενών μεταβολιτών ή οργανικών εκχυλισμάτων του γένους *Laurencia*.

Τα υπόλοιπα γένη του «Συμπλέγματος *Laurencia*» δεν έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα ή μελετήθηκαν πριν γίνει η ανακατάταξή τους στο εκάστοτε γένος και ήταν γνωστά ως *Laurencia*. Παρόλα αυτά επειδή στα γένη αυτά (με εξαίρεση το γένος *Laurenciella*) φαίνεται να λείπει ο σχηματισμός “corps en cerise” μπορούμε να πούμε σχεδόν με σιγουριά ότι δε θα παράγουν αλογονωμένα παράγωγα (Fujii *et al.*, 2012).

Για το γένος *Osmundea* έχει αναφερθεί δράση κατά των μυκοβακτηριδίων από το εκχύλισμα της *Osmundea hybrida* (González *et al.*, 2001) και δράση κατά της βιοεπίστρωσης για το εκχύλισμα της *Osmundea ramosissima* (Nylund and Pavia, 2003).

Για το γένος *Chondrophycus* αναφέρονται τερπένια και ινδολικά παράγωγα από το είδος *Chondrophycus papillosus* (Sun *et al.*, 2011). Για το γένος *Palisada* αναφέρεται μόνο μέτρια κυτταροτοξικότητα του μεθανολικού εκχυλίσματος του είδους *Palisada flagellifera* (Stein *et al.*, 2011).

Μέχρι στιγμής δεν έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ώστε να επαναπροσδιοριστούν τα είδη που είχαν χρησιμοποιηθεί σε παλαιότερες χημικές αναλύσεις και έτσι σε αυτό το σημείο παρουσιάζεται ένα βιβλιογραφικό κενό. Μια αξιόλογη προσπάθεια προς αυτή την κατεύθυνση έγινε το 2011 από τους Fujii *et al.* και αφορά τα είδη του «Συμπλέγματος *Laurencia*» που βρίσκονται στη Βραζιλία.

1.5. Σκοπός της μελέτης

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η απομόνωση νέων φυσικών προϊόντων με βιολογική δράση ή κάποια άλλη αξιόλογη εφαρμογή. Σε αυτή την κατεύθυνση μελετήθηκε το γένος *Laurencia*. Από είδη του γένους έχει απομονωθεί μέχρι στιγμής αξιόλογος αριθμός μεταβολιτών με βιολογικές δράσεις. Τα κριτήρια επιλογής των συγκεκριμένων ειδών που μελετήθηκαν ήταν το ενδιαφέρον χημικό προφίλ τους (προκαταρκτικός έλεγχος με φαρματοσκοπία ^1H NMR και χρωματογραφία TLC), οι επαρκείς πληθυσμοί και η δυνατότητα επαναληπτικής συλλογής, καθώς βρίσκονται σε σχετικά μικρό βάθος.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Οργανολογία

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματογράφους Bruker AC 200 και Bruker DRX 400. Τα 2D-NMR πειράματα πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τις τυποποιημένες ακολουθίες παλμών Bruker. Για τη λήψη όλων των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκε CDCl_3 . Οι ^1H και ^{13}C NMR χημικές μετατοπίσεις δίνονται στη κλίμακα δ (ppm) λαμβάνοντας ως αναφορά την κορυφή του CHCl_3 στα 7,24 και 77,0 ppm, αντίστοιχα, ενώ οι σταθερές σύζευξης J (Hz) δίνονται σε παρενθέσεις.

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 CH_4 ως το αέριο ιονισμού (PCIMS).

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί HPLC πραγματοποιήθηκαν σε χρωματογράφο PHARMACIA LKB Pump 2248 με μονή αντλία εισαγωγής του συστήματος διαλυτών και ανιχνευτή RI 102 Shodex.

Οι στήλες που χρησιμοποιήθηκαν στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC ήταν οι ακόλουθες: (i) στήλη κανονικής φάσης διαστάσεων 25 cm x 10 mm (Grace, Econoshpere Silica 10u), και (ii) χειρόμορφη στήλη διαστάσεων 25 cm x 10 mm (Daicel Chemical Industries Ltd., Chiralcel OD, 10 μm).

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.).

2.2. Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια

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

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί υγρής χρωματογραφίας βαρύτητας πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ως υλικό πλήρωσης της στήλης γέλη πυριτίου κανονικής φάσης Kieselgel 60A flash (35-70 μM) της εταιρείας Merck.

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί εκχύλισης στερεής φάσης πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας προκατασκευασμένες στήλες γέλης πυριτίου κανονικής (SiOH) ή αντίστροφης (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/UV₂₅₄ (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% H_2SO_4 σε MeOH και θέρμανση της πλάκας στους 100°C για περίπου 2min.

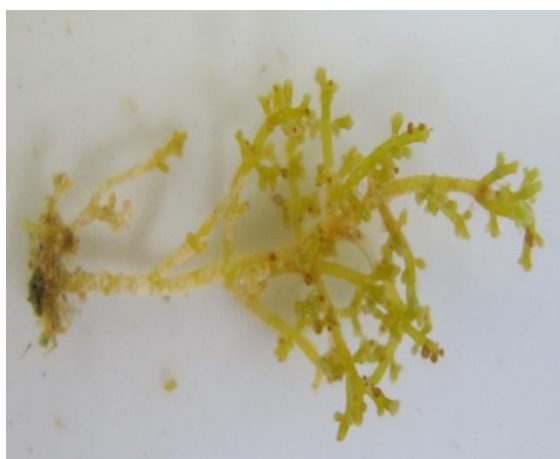
Οι διαλύτες cHex, EtOAc, CH_2Cl_2 και MeOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences, οι οποίοι πριν από τη χρήση τους αποστάχθηκαν. Ο διαλύτης EtOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Οι διαλύτες *n*-Hex, *i*-Prop και Me_2CO ήταν καθαρότητας HPLC της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences. Όλοι οι διαλύτες πριν από τη χρήση τους σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC διηθήθηκαν υπό κενό και απαερώθηκαν.

Για την λήψη των φασμάτων NMR χρησιμοποιήθηκε CDCl_3 χωρίς εσωτερικό πρότυπο των εταιρειών Deutero GmbH ή Aldrich-Sigma Chemical Company.

Το H_2O που χρησιμοποιήθηκε ήταν απεσταγμένο που στη συνέχεια διηθήθηκε μέσω συστήματος ρητινών.

2.3. Συλλογή των οργανισμών

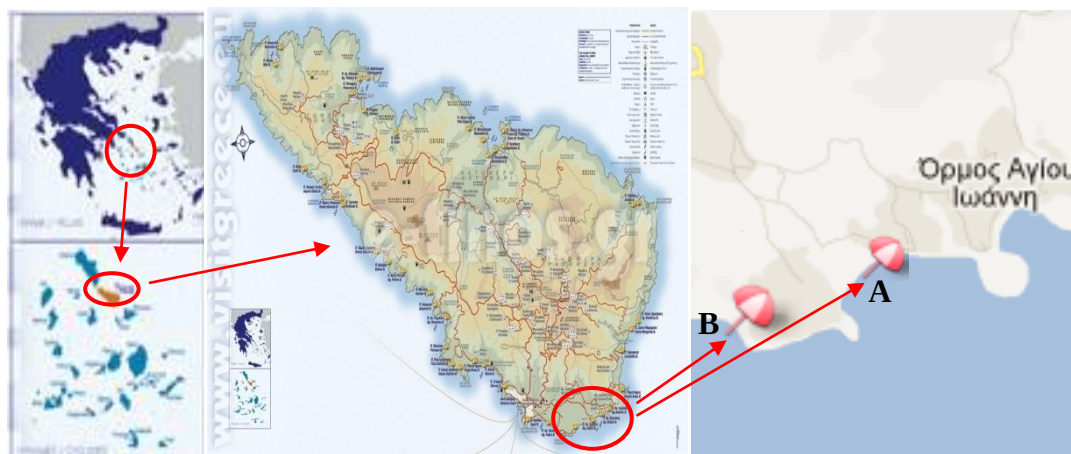
Ο οργανισμός *Laurencia microcladia* Kützting συλλέχθηκε από την παραλία της Αγίας Κυριακής και ο οργανισμός *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux από την παραλία του Αγίου Σώστη της νήσου Τήνου των Κυκλάδων, το Σεπτέμβριο του 2011, σε βάθος 0,5 - 2 m (Εικόνα 26).



Laurencia microcladia



Laurencia obtusa



Περιοχή δειγματοληψίας του οργανισμού *Laurencia microcladia* (A) και του οργανισμού *Laurencia obtusa* (B).

Εικόνα 26.

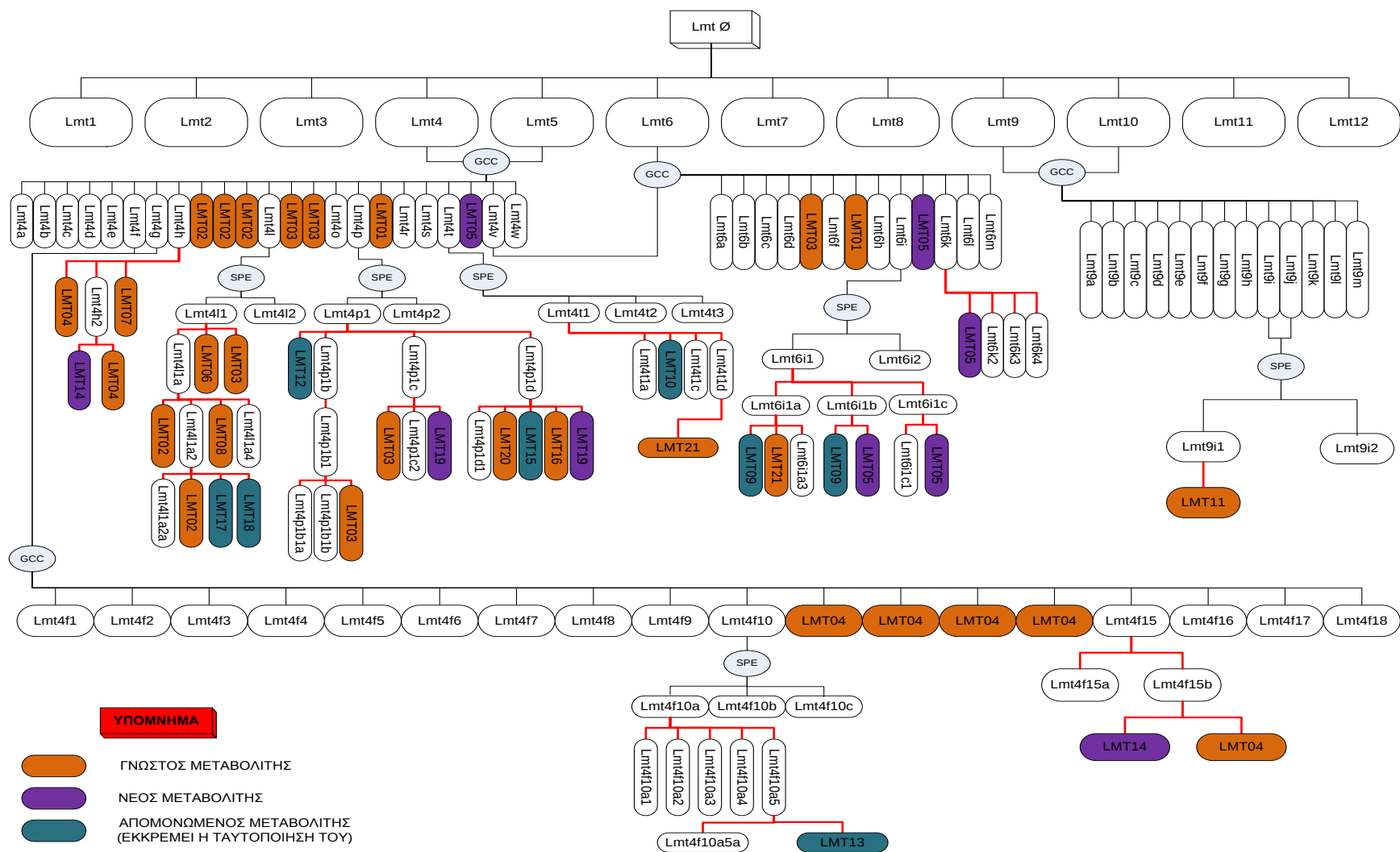
Μετά τη συλλογή τους μεταφέρθηκαν με πάγο σε φορητό ψυγείο στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου διατηρήθηκαν στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία τους.

2.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος *Laurencia microcladia*

Ο οργανισμός υπέστη εξαντλητική εκχύλιση με μίγμα διαλυτών CH_2Cl_2 και MeOH σε αναλογίες 1:1, 2:1 και 3:1 (δύο φορές) ανά 24 h. Τα εκχυλίσματα συνενώθηκαν και συμπυκνώθηκαν υπό κενό, σε θερμοκρασία όχι μεγαλύτερη από 38°C , αφήνοντας ένα ελαιώδες, σκούρο πράσινο υπόλειμμα βάρους 39,17 g. Ο οργανισμός ξηράνθηκε στον αέρα. Το βάρος του ξηρού οργανισμού ήταν 87,12 g, άρα πριν την εκχύλιση ο οργανισμός είχε ολικό βάρος 126,29 g.

Επειδή ο οργανισμός ήταν νωπός όταν εκχυλίστηκε, το ολικό εκχύλισμα περιείχε μεγάλες ποσότητες αλάτων. Έτσι ακολούθησε αφαλάτωση του αρχικού εκχυλίσματος με διαλυση του σε μίγματα διαλυτών CH_2Cl_2 και MeOH (με αναλογίες 4:1 250 ml, 125 ml, 125 ml και 1:0 100 ml) και διήθηση του. Το ξηρό βάρος του αφαλατωμένου αρχικού εκχυλίσματος ήταν τελικά 13,168 g. Από αυτήν την ποσότητα περίπου τα 10 g χρησιμοποιήθηκαν για τις περαιτέρω αναλύσεις, ενώ η υπόλοιπη φυλάχθηκε ως αρχικό εκχύλισμα αναφοράς.

Ακολούθησε διαχωρισμός των χημικών συστατικών με συνδυασμό χρωματογραφικών μεθόδων (VLC, SPE, GCC και HPLC). Παρακάτω δίνεται σχηματικά η πορεία απομόνωσης των δευτερογενών μεταβολιτών (Εικόνα 27) και ακολουθούν αναλυτικά όλα τα στάδια του διαχωρισμού.



Εικόνα 27. Πορεία απομόνωσης δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος *Laurencia microcladia*.

Το αρχικό εκχύλισμα, βάρους 10 g, υποβλήθηκε σε VLC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είχε διάμετρο 12,5 cm και τελικό ύψος 7 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δώδεκα κλάσματα (Lmt1-12) (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. VLC στο αρχικό εκχύλισμα Lmt.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt1	cHex	100%	250	31,2
Lmt2	cHex	100%	250	13,2
	cHex-EtOAc	95:5	500	
Lmt3	cHex-EtOAc	90:10	500	50,2
Lmt4	cHex-EtOAc	85:15	500	731,0
	cHex-EtOAc	80:20	250	
Lmt5	cHex-EtOAc	80:20	250	936,0
	cHex-EtOAc	75:25	500	
	cHex-EtOAc	70:30	250	
Lmt6	cHex-EtOAc	70:30	250	119,8
	cHex-EtOAc	65:35	250	
Lmt7	cHex-EtOAc	65:35	250	123,7
	cHex-EtOAc	60:40	500	
Lmt8	cHex-EtOAc	55:45	500	82,9
	cHex-EtOAc	50:50	250	
Lmt9	cHex-EtOAc	50:50	250	186,0
	cHex-EtOAc	40:60	250	
	cHex-EtOAc	30:70	250	
	cHex-EtOAc	20:80	250	
Lmt10	cHex-EtOAc	10:90	250	134,0
	EtOAc	100%	250	
Lmt11	EtOAc-MeOH	90:10	250	208,0
	EtOAc-MeOH	75:25	250	
	MeOH	100%	500	
Lmt12	MeOH	100%	500	6870,0

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lmt4-Lmt6 και Lmt9-Lmt10 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω. Ακόμα, αποφασίστηκαν οι συνενώσεις των κλασμάτων: i) Lmt4 και Lmt5, και ii) Lmt9 και Lmt10, λόγω παρόμοιου χημικού προφίλ.

Τα κλάσματα Lmt4 και Lmt5, συνολικού βάρους 1,6670 g, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 4 cm και τελικό ύψος 21,5 cm. Παραλήφθηκαν τελικά εικοσιτρία κλάσματα

(Lmt4a-w) (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. GCC στα κλάσματα Lmt4 και Lmt5.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4a	cHex	100%	300	4,4
	cHex-EtOAc	99:1	67	
Lmt4b	cHex-EtOAc	99:1	133	2,1
	cHex-EtOAc	98:2	60	
Lmt4c	cHex-EtOAc	98:2	140	0,8
	cHex-EtOAc	97:3	40	
Lmt4d	cHex-EtOAc	97:3	160	0,7
	cHex-EtOAc	96:4	33	
Lmt4e	cHex-EtOAc	96:4	67	0,7
	cHex-EtOAc	95:5	79	
Lmt4f	cHex-EtOAc	95:5	142	173,9
Lmt4g	cHex-EtOAc	95:5	79	56,4
	cHex-EtOAc	94:6	14	
Lmt4h	cHex-EtOAc	94:6	29	16,9
Lmt4i	cHex-EtOAc	94:6	57	20,8
	cHex-EtOAc	93:7	20	
Lmt4j	cHex-EtOAc	93:7	60	36,5
Lmt4k	cHex-EtOAc	93:7	20	31,1
	cHex-EtOAc	92:8	93	
Lmt4l	cHex-EtOAc	92:8	17	131,3
	cHex-EtOAc	91:9	73	
Lmt4m	cHex-EtOAc	91:9	127	567,0
Lmt4n	cHex-EtOAc	90:10	100	150,0
Lmt4o	cHex-EtOAc	90:10	50	20,6
Lmt4p	cHex-EtOAc	90:10	50	27,2
	cHex-EtOAc	88:12	100	
Lmt4q	cHex-EtOAc	87:13	77	20,2
Lmt4r	cHex-EtOAc	87:13	123	48,8
	cHex-EtOAc	85:15	57	
Lmt4s	cHex-EtOAc	85:15	43	6,6
	cHex-EtOAc	83:17	14	
Lmt4t	cHex-EtOAc	83:17	86	25,1
	cHex-EtOAc	81:19	100	
	cHex-EtOAc	80:20	33	
Lmt4u	cHex-EtOAc	80:20	67	54,5
	cHex-EtOAc	75:25	83	
Lmt4v	cHex-EtOAc	75:25	17	20,7
	cHex-EtOAc	50:50	200	
Lmt4w	EtOAc	100%	250	13,2

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lmt4f-Lmt4g, Lmt4l, Lmt4p και Lmt4t παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω. Ακόμα, αποφασίστηκε η συνένωση των κλασμάτων: i) Lmt4f και Lmt4g, και ii) Lmt4n και Lmt6, λόγω παρόμοιου χημικού προφίλ. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4i-Lmt4k, Lmt4m-Lmt4n, Lmt4q, Lmt4u είναι καθαρές ουσίες και αποτελούν τους μεταβολίτες **LMT02**, **LMT03**, **LMT01** και **LMT05** αντίστοιχα.

Τα κλάσματα Lmt4f και Lmt4g, συνολικού βάρους 230,3 mg, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 3,5 cm και τελικό ύψος 18 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δεκαοκτώ κλάσματα (Lmt4f1-18) (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. GCC στα κλάσματα Lmt4f και Lmt4g.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΔΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f1	cHex	100%	340	2,4
Lmt4f2	cHex	100%	52	2,5
Lmt4f3	cHex	100%	26	1,2
Lmt4f4	cHex	100%	91	1,9
Lmt4f5	cHex	100%	91	1,0
	cHex-EtOAc	99:1	111	
Lmt4f6	cHex-EtOAc	99:1	95	0,9
Lmt4f7	cHex-EtOAc	99:1	95	0,2
Lmt4f8	cHex-EtOAc	99:1	79	0,9
Lmt4f9	cHex-EtOAc	99:1	47	0,3
Lmt4f10	cHex-EtOAc	99:1	63	26,2
Lmt4f11	cHex-EtOAc	99:1	47	28,0
Lmt4f12	cHex-EtOAc	99:1	63	45,1
	cHex-EtOAc	98:2	50	
Lmt4f13	cHex-EtOAc	98:2	88	18,1
Lmt4f14	cHex-EtOAc	98:2	62	9,4
	cHex-EtOAc	95:5	14	
Lmt4f15	cHex-EtOAc	95:5	93	26,9
Lmt4f16	cHex-EtOAc	95:5	93	36,8
	cHex-EtOAc	90:10	67	
Lmt4f17	cHex-EtOAc	90:10	133	2,8
	cHex-EtOAc	50:50	57	
Lmt4f18	cHex-EtOAc	50:50	143	5,1
	EtOAc	100%	100	

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4f11-Lmt4f14 περιείχαν την ίδια καθαρή ουσία που αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT04**. Ακόμα, τα κλάσματα Lmt4f10 και Lmt4f15 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lmt4f10, βάρους 26,2 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά τρία κλάσματα (Lmt4f10a-c) (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. SPE στο κλάσμα Lmt4f10.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f10a	cHex-EtOAc 99:1	5	21,1
Lmt4f10b	cHex-EtOAc 98:2	5	2,6
Lmt4f10c	cHex-EtOAc 95:5 EtOAc 100%	5 10	1,2

Το κλάσμα Lmt4f10a, βάρους 21,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά πέντε κλάσματα (Lmt4f10a1-5) (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. HPLC στο κλάσμα Lmt4f10a.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f10a1	9,07-13,02	11,9
Lmt4f10a2	13,32	1,4
Lmt4f10a3	14,35	1,1
Lmt4f10a4	15,24	1,3
Lmt4f10a5	16,06	3,9

Το κλάσμα Lmt4f10a5, βάρους 3,9 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δυο κλάσματα (Lmt4f10a5a-b) (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. HPLC στο κλάσμα Lmt4f10a5.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f10a5a	17,52	1,5
Lmt4f10a5b	23,43	1,3

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt4f10a5b είναι καθαρή ουσία και αποτελεί το μεταβολίτη **LMT13**.

Το κλάσμα Lmt4f15, βάρους 26,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lmt4f15a-b) (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. HPLC στο κλάσμα Lmt4f15.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f15a	10,01	9,1
Lmt4f15b	13,16	17,8

Το κλάσμα Lmt4f15b, βάρους 17,8 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lmt4f15b1-2) (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. HPLC στο κλάσμα Lmt4f15b.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4f15b1	17,39	4,0
Lmt4f15b2	21,12	3,8

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4f15b1 και Lmt4f15b2 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT14** και **LMT04** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4h, βάρους 16,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 93:7. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt4h1-3) (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. HPLC στο κλάσμα Lmt4h.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4h1	14,77	2,4
Lmt4h2	15,67	5,5
Lmt4h3	18,16	6,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4h1 και Lmt4h3 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούν τους μεταβολίτες **LMT04** και **LMT07**.

Το κλάσμα Lmt4h2, βάρους 5,5 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lmt4h2a-b) (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. HPLC στο κλάσμα Lmt4h2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4h2a	15,66	3,0
Lmt4h2b	17,81	2,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4h2a και Lmt4h2b ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT14** και **LMT04** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4l, βάρους 131,3 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά δύο κλάσματα (Lmt4l1-2) (Πίνακας 12).

Πίνακας 12. SPE στο κλάσμα Lmt4l.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4l1	cHex-EtOAc 94:6	35	121,2
Lmt4l2	EtOAc 100%	30	10,1

Το κλάσμα Lmt4l1, βάρους 121,2 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 93:7. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt4l1a-c) (Πίνακας 13).

Πίνακας 13. HPLC στο κλάσμα Lmt4l1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4l1a	17,88-22,92	12,8
Lmt4l1b	23,37	11,8
Lmt4l1c	24,43	96,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4l1b και Lmt4l1c ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT06** και **LMT03** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4l1a, βάρους 12,8 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 93:7. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lmt4l1a1-4) (Πίνακας 14).

Πίνακας 14. HPLC στο κλάσμα Lmt4l1a.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4l1a1	18,55	2,9
Lmt4l1a2	19,30	3,6
Lmt4l1a3	21,24	3,0
Lmt4l1a4	22,33	2,0

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4l1a1 και Lmt4l1a3 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT02** και **LMT08** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4l1a2, βάρους 3,6 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lmt4l1a2a-d) (Πίνακας 15).

Πίνακας 15. HPLC στο κλάσμα Lmt4l1a2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4l1a2a	12,08	0,1
Lmt4l1a2b	12,40	0,9
Lmt4l1a2c	13,96	0,5
Lmt4l1a2d	15,08	1,1

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4l1a2b, Lmt4l1a2c και Lmt4l1a2d ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT02**, **LMT17** και **LMT18** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4p, βάρους 27,2 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά δύο κλάσματα (Lmt4p1-2) (Πίνακας 16).

Πίνακας 16. SPE στο κλάσμα Lmt4p.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1	cHex-EtOAc 88:12	5	24,9
Lmt4p2	cHex-EtOAc 85:15 EtOAc 100%	5 10	2,3

Το κλάσμα Lmt4p1, βάρους 24,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lmt4p1a-d) (Πίνακας 17).

Πίνακας 17. HPLC στο κλάσμα Lmt4p1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1a	18,23	0,7
Lmt4p1b	18,76	4,3
Lmt4p1c	19,91	3,1
Lmt4p1d	20,20-21,72	8,9

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt4p1a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT12**. Ακόμα, τα κλάσματα Lmt4p1b, Lmt4p1c και Lmt4p1d παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lmt4p1b, βάρους 4,3 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκε τελικά ένα κλάσμα (Lmt4p1b1) (Πίνακας 18).

Πίνακας 18. HPLC στο κλάσμα Lmt4p1b.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1b1	15,28	4,3

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το μίγμα δεν είχε διαχωριστεί και έτσι το κλάσμα Lmt4p1b1(4,3 mg), υποβλήθηκε ξανά σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt4p1b1a-c). Συνοπτικά τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω (Πίνακας 19).

Πίνακας 19. HPLC στο κλάσμα Lmt4p1b1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1b1a	23,54	1,1
Lmt4p1b1b	23,54-24,32	0,8
Lmt4p1b1c	24,32	2,4

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt4p1b1c ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT03**.

Το κλάσμα Lmt4p1c, βάρους 3,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt4p1c1-3) (Πίνακας 20).

Πίνακας 20. HPLC στο κλάσμα Lmt4p1c.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1c1	15,35	0,6
Lmt4p1c2	19,28	1,1
Lmt4p1c3	23,61	1,2

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4p1c1 και Lmt4p1c3 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT03** και **LMT19** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4p1d, βάρους 8,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά πέντε κλάσματα (Lmt4p1d1-5) (Πίνακας 21).

Πίνακας 21. HPLC στο κλάσμα Lmt4p1d.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4p1d1	12,46	0,4
Lmt4p1d2	17,78	0,6
Lmt4p1d3	22,67	1,1
Lmt4p1d4	36,99	0,9
Lmt4p1d5	23,61	3,9

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt4p1d2, Lmt4p1d3, Lmt4p1d4 και Lmt4p1d5 ήταν καθαρές ουσίες και αντιστοιχούσαν στους μεταβολίτες **LMT20**, **LMT15**, **LMT16** και **LMT19** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt4t, βάρους 25,1 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά τρία κλάσματα (Lmt4t1-3) (Πίνακας 22).

Πίνακας 22. SPE στο κλάσμα Lmt4t.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΔΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4t1	cHex-EtOAc 85:15	10	22,0
Lmt4t2	cHex-EtOAc 85:15	10	1,4
Lmt4t3	EtOAc 100%	10	1,7

Το κλάσμα Lmt4t1, βάρους 22,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10 μ , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 80:20. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lmt4t1a-d) (Πίνακας 23).

Πίνακας 23. HPLC στο κλάσμα Lmt4t1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4t1a	14,04	1,0
Lmt4t1b	14,68	6,2
Lmt4t1c	15,99	1,6
Lmt4t1d	16,72	6,4

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt4t1b ήταν καθαρή ουσία και αντιστοιχούσε στο μεταβολίτη **LMT10**.

Το κλάσμα Lmt4t1d, βάρους 6,4 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκε τελικά ένα κλάσμα (Lmt4t1d1) (Πίνακας 24).

Πίνακας 24. HPLC στο κλάσμα Lmt4t1d.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt4t1d1	26,70	2,2

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt4t1d1 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT21**.

Τα κλάσματα Lmt6 και Lmt4v, συνολικού βάρους 198,7 mg, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 3 cm και τελικό ύψος 19,5 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δεκατρία κλάσματα (Lmt6a-m) (Πίνακας 25).

Πίνακας 25. GCC στα κλάσματα Lmt6 και Lmt4v.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΔΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6a	cHex-EtOAc	98:2	220	1,1
Lmt6b	cHex-EtOAc	98:2	40	1,7
Lmt6c	cHex-EtOAc	98:2	60	0,9
Lmt6d	cHex-EtOAc	98:2	60	0,8
Lmt6e	cHex-EtOAc	98:2	20	5,4
	cHex-EtOAc	90:10	100	
Lmt6f	cHex-EtOAc	90:10	100	11,7
	cHex-EtOAc	88:12	20	

Lmt6g	cHex-EtOAc	88:12	120	28,2
Lmt6h	cHex-EtOAc	88:12	60	11,1
	cHex-EtOAc	85:15	40	
Lmt6i	cHex-EtOAc	85:15	60	12,0
	cHex-EtOAc	80:20	80	
Lmt6j	cHex-EtOAc	80:20	60	41,3
Lmt6k	cHex-EtOAc	80:20	60	18,1
	cHex-EtOAc	75:25	200	
	cHex-EtOAc	70:30	60	
Lmt6l	cHex-EtOAc	70:30	40	6,6
	cHex-EtOAc	60:40	100	
	cHex-EtOAc	50:50	60	
Lmt6m	cHex-EtOAc	50:50	40	5,0
	EtOAc	100%	100	

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt6e, Lmt6g και Lmt6j ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT03**, **LMT01** και **LMT05** αντίστοιχα. Ακόμα, τα κλάσματα Lmt6i και Lmt6k παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lmt6i, βάρους 12,0 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά δύο κλάσματα (Lmt6i1-2) (Πίνακας 26).

Πίνακας 26. SPE στο κλάσμα Lmt6i.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6i1	cHex-EtOAc	82:18	5	10,0
Lmt6i2	cHex-EtOAc	70:30	5	2,0
	EtOAc	100%	10	

Το κλάσμα Lmt6i1, βάρους 10,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 85:15. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt6i1a-c) (Πίνακας 27).

Πίνακας 27. HPLC στο κλάσμα Lmt6i1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6i1a	23,28	3,1
Lmt6i1b	24,63	2,0
Lmt6i1c	25,20-25,98	3,0

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι και τα τρία κλάσματα παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lmt6i1a, βάρους 3,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lmt6i1a1-3) (Πίνακας 28).

Πίνακας 28. HPLC στο κλάσμα Lmt6i1a.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6i1a1	19,33	0,2
Lmt6i1a2	26,80	0,4
Lmt6i1a3	30,80	0,1

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt6i1a1 και Lmt6i1a2 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT09** και **LMT21** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt6i1b, βάρους 2,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lmt6i1b1-2) (Πίνακας 29).

Πίνακας 29. HPLC στο κλάσμα Lmt6i1b.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6i1b1	19,32	0,8
Lmt6i1b2	26,09	0,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lmt6i1b1 και Lmt6i1b2 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LMT09** και **LMT05** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lmt6i1c, βάρους 3,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής

φάσης Chiralcel OD 10 μm , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lmt6i1c1-2) (Πίνακας 30).

Πίνακας 30. HPLC στο κλάσμα Lmt6i1c.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6i1c1	13,14	0,3
Lmt6i1c2	26,20	0,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt6i1c2 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT05**.

Το κλάσμα Lmt6k, βάρους 18,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10 μ , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 75:25. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lmt6k1-4) (Πίνακας 31).

Πίνακας 31. HPLC στο κλάσμα Lmt6k.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt6k1	14,24	2,3
Lmt6k2	15,89	0,8
Lmt6k3	16,76	1,4
Lmt6k4	23,51	2,9

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt6k1 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT05**.

Τα κλάσματα Lmt9 και Lmt10, συνολικού βάρους 320,0 mg, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 3,5 cm και τελικό ύψος 21 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δεκατρία κλάσματα (Lmt9a-m) (Πίνακας 32).

Πίνακας 32. GCC στα κλάσματα Lmt9 και Lmt10.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΔΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt9a	cHex-EtOAc 65:35	104	2,3
Lmt9b	cHex-EtOAc 65:35	62	6,9
Lmt9c	cHex-EtOAc 65:35	62	6,6
Lmt9d	cHex-EtOAc 65:35	125	3,3

Lmt9e	cHex-EtOAc	65:35	125	3,7
Lmt9f	cHex-EtOAc	65:35	22	8,4
	cHex-EtOAc	60:40	229	
Lmt9g	cHex-EtOAc	60:40	271	24,7
	cHex-EtOAc	55:45	40	
Lmt9h	cHex-EtOAc	55:45	60	5,7
	cHex-EtOAc	50:50	64	
Lmt9i	cHex-EtOAc	50:50	236	14,6
	cHex-EtOAc	40:60	182	
Lmt9j	cHex-EtOAc	40:60	18	12,3
	cHex-EtOAc	30:70	100	
	cHex-EtOAc	20:80	80	
Lmt9k	cHex-EtOAc	20:80	20	1,9
	EtOAc	100%	100	
Lmt9l	EtOAc	100%	100	2,3
	MeOH	100%	50	
Lmt9m	MeOH	100%	100	27,2

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο αποφασίστηκε η συνένωση των κλασμάτων Lmt9i και Lmt9j για την περαιτέρω μελέτη τους.

Τα κλάσματα Lmt9i και Lmt9j, συνολικού βάρους 26,9 mg, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά δύο κλάσματα (Lmt9i1-2) (Πίνακας 33).

Πίνακας 33. SPE στα κλάσματα Lmt9i και Lmt9j.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt9i1	cHex-EtOAc	40:60	10	25,9
Lmt9i2	cHex-EtOAc	40:60	10	1,0
	EtOAc	100%	20	
	MeOH	100%	10	

Το κλάσμα Lmt9i1, βάρους 25,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 40:60. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκε τελικά ένα κλάσμα (Lmt9i1a) (Πίνακας 34).

Πίνακας 34. HPLC στο κλάσμα Lmt9i1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lmt9i1a	25,07	1,2

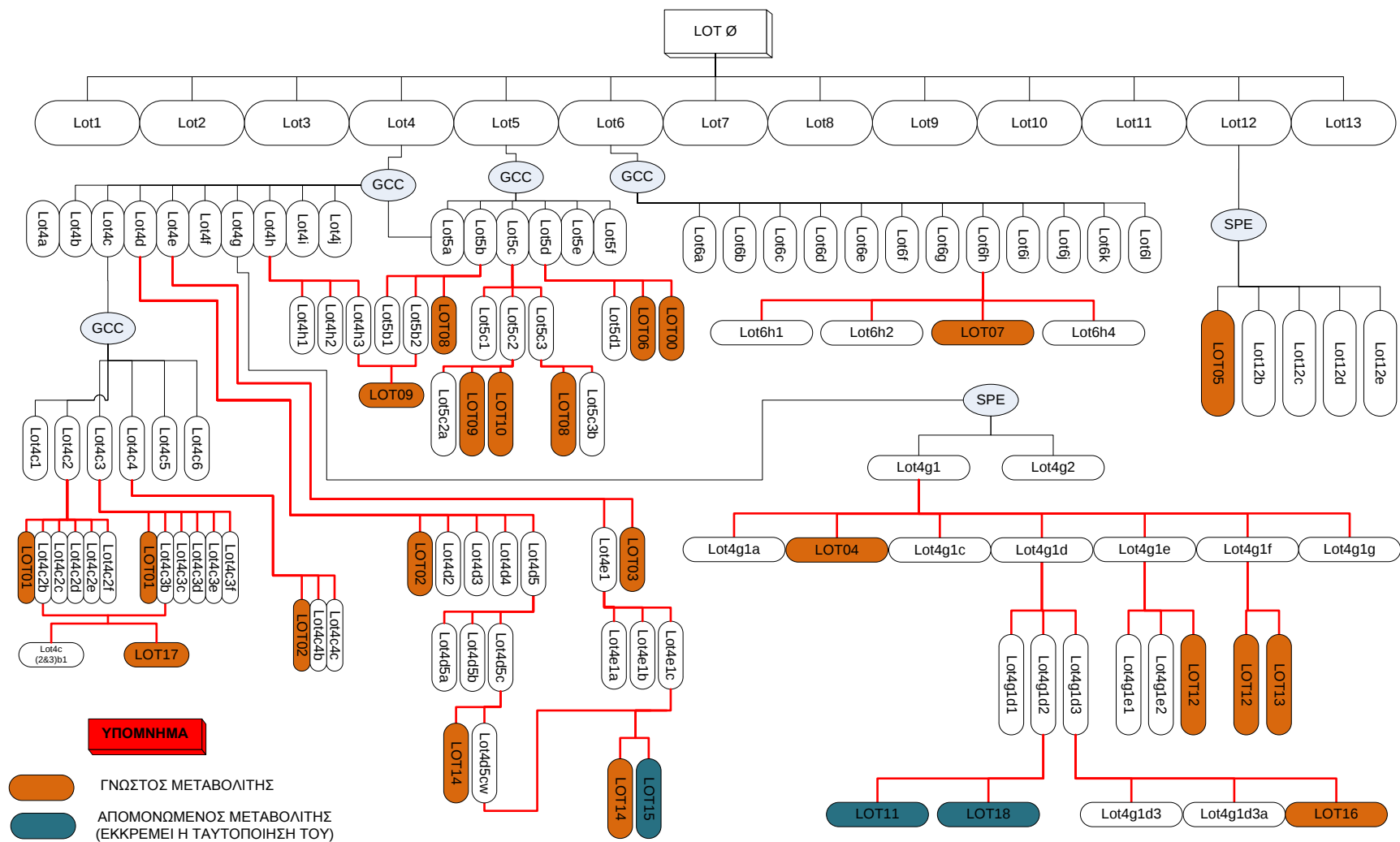
Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lmt9i1a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LMT11**.

2.5. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος *Laurencia obtusa*

Ο οργανισμός υπέστη εξαντλητική εκχύλιση με μίγμα διαλυτών CH₂Cl₂ και MeOH σε αναλογίες 0:1, 1:1 και 3:1 ανά 24 h. Τα εκχυλίσματα συνενώθηκαν και συμπυκνώθηκαν υπό κενό, σε θερμοκρασία όχι μεγαλύτερη από 38 °C, αφήνοντας ένα ελαιώδες, σκούρο πράσινο υπόλειμμα βάρους 23,81 g. Ο οργανισμός ξηράνθηκε στον αέρα. Το βάρος του ξηρού οργανισμού ήταν 56,55 g, άρα πριν την εκχύλιση ο οργανισμός είχε ολικό βάρος 80,36 g.

Επειδή ο οργανισμός ήταν νωπός όταν εκχυλίστηκε, το ολικό εκχύλισμα περιείχε μεγάλες ποσότητες αλάτων. Έτσι ακολούθησε αφαλάτωση του αρχικού εκχυλίσματος με διαλυση του σε μίγματα διαλυτών CH₂Cl₂ και MeOH (με αναλογίες 1:0 100 ml, 100 ml και 1:1 100 ml) και EtOH (50 ml, δύο φορές) και διήθηση του. Το ξηρό βάρος του αφαλατωμένου αρχικού εκχυλίσματος ήταν τελικά 6,587 g, από το οποίο ελάχιστη ποσότητα κρατήθηκε ως αρχικό εκχύλισμα αναφοράς.

Ακολούθησε διαχωρισμός των χημικών συστατικών με συνδυασμό χρωματογραφικών μεθόδων (VLC, SPE, GCC και HPLC). Παρακάτω δίνεται σχηματικά η πορεία απομόνωσης των δευτερογενών μεταβολιτών (Εικόνα 28) και ακολουθούν αναλυτικά όλα τα στάδια του διαχωρισμού.



Εικόνα 28. Πορεία απομόνωσης δευτερογενών μεταβολιτών από το ροδοφύκος *Laurencia obtusa*.

Το αρχικό εκχύλισμα, βάρους περίπου 6,587 g, υποβλήθηκε σε VLC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είχε διάμετρο 9,5 cm και τελικό ύψος 5 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δεκατρία κλάσματα (Lot1-13) (Πίνακας 35).

Πίνακας 35. VLC στο αρχικό εκχύλισμα Lot.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot1	cHex	100%	350	35,1
	cHex-EtOAc	90:10	150	
Lot2	cHex-EtOAc	90:10	150	4,5
Lot3	cHex-EtOAc	80:20	140	28,5
Lot4	cHex-EtOAc	80:20	140	257,0
Lot5	cHex-EtOAc	70:30	150	127,8
Lot6	cHex-EtOAc	70:30	150	120,4
Lot7	cHex-EtOAc	60:40	300	168,0
Lot8	cHex-EtOAc	50:50	150	35,6
Lot9	cHex-EtOAc	40:60	150	31,3
Lot10	cHex-EtOAc	30:70	150	35,6
Lot11	cHex-EtOAc	20:80	150	91,0
	cHex-EtOAc	10:90	150	
Lot12	EtOAc	100%	150	49,3
	EtOAc-MeOH	90:10	150	
	EtOAc-MeOH	75:25	150	
Lot13	MeOH	100%	500	4147,0

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lot4-Lot6 και Lot12 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot5, βάρους 127,8 mg, υποβλήθηκε σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 2 cm και τελικό ύψος 17,5 cm. Παραλήφθηκαν τελικά έξι κλάσματα (Lot5a-f) (Πίνακας 36).

Πίνακας 36. GCC στο κλάσμα Lot5.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5a	cHex-EtOAc	95:5	160	56,6
	cHex-EtOAc	97:3	80	
Lot5b	cHex-EtOAc	97:3	20	22,5
	cHex-EtOAc	90:10	20	
Lot5c	cHex-EtOAc	90:10	80	24,1

Lot5d	cHex-EtOAc	90:10	50	17,2
	cHex-EtOAc	80:20	60	
Lot5e	cHex-EtOAc	80:20	60	3,5
Lot5f	EtOAc	100%	60	3,9

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lot5b-Lot5d παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω. Αποφασίστηκε η συνένωση των κλασμάτων Lot5a και Lot4 λόγω της παρεμφερούς εικόνας που έδειξαν στην TLC που πραγματοποιήθηκε.

Το κλάσμα Lot5b, βάρους 22,5 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot5b1-3) (Πίνακας 37).

Πίνακας 37. HPLC στο κλάσμα Lot5b.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5b1	19,69	2,4
Lot5b2	22,52	6,7
Lot5b3	24,39	9,1

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot5b3 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT08**. Επίσης το κλάσμα Lot5b2 παρουσίαζε ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθεί περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot5c, βάρους 24,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot5c1-3) (Πίνακας 38). Καθότι το δείγμα δεν ήταν απόλυτα διαλυτό στο μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε, παρέμεινε ίζημα βάρους 4,0 mg.

Πίνακας 38. HPLC στο κλάσμα Lot5c.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5c1	19,15	2,3
Lot5c2	21,29	3,9
Lot5c3	23,18	16,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lot5c2 και Lot5c3 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot5c2, βάρους 3,9 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-Me₂CO 93:7. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot5c2a-c) (Πίνακας 39).

Πίνακας 39. HPLC στο κλάσμα Lot5c2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5c2a	12,01	0,5
Lot5c2b	15,76	1,1
Lot5c2c	22,97	0,9

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot5c2b και Lot5c2c ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LOT09** και **LOT10** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lot5c3, βάρους 16,6 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-Me₂CO 92:8. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot5c3a-b) (Πίνακας 40).

Πίνακας 40. HPLC στο κλάσμα Lot5c3.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5c3a	16,41	8,1
Lot5c3b	17,51	4,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot5c3a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT08**.

Το κλάσμα Lot5d, βάρους 17,2 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 80:20. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot5d1-3) (Πίνακας 41).

Πίνακας 41. HPLC στο κλάσμα Lot5d.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot5d1	13,18-13,85	0,9
Lot5d2	14,27	4,2
Lot5d3	18,99	2,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot5d2 και Lot5d3 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LOT06** και **LOT00** αντίστοιχα.

Τα συνενωμένα κλάσματα Lot4 και Lot5a, συνολικού βάρους 313,6 mg, συνενώθηκαν και υποβλήθηκαν σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 2 cm και τελικό ύψος 26 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δέκα κλάσματα (Lot4a-j) (Πίνακας 42)

Πίνακας 42. GCC στα κλάσματα Lot4 και Lot5a.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4a	cHex-EtOAc	97:3	80	2,7
Lot4b	cHex-EtOAc	97:3	60	1,9
Lot4c	cHex-EtOAc	97:3	40	91,2
Lot4d	cHex-EtOAc	97:3	20	14,2
Lot4e	cHex-EtOAc	97:3	20	13,0
Lot4f	cHex-EtOAc	97:3	20	93,8
	cHex-EtOAc	96:4	20	
Lot4g	cHex-EtOAc	96:4	60	76,8
Lot4h	cHex-EtOAc	96:4	20	6,6
	cHex-EtOAc	90:10	40	
Lot4i	cHex-EtOAc	90:10	60	5,8
	cHex-EtOAc	85:15	100	
	EtOAc	100%	40	
Lot4j	EtOAc	100%	60	4,4

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lot4c-Lot4e και Lot4g-Lot4h παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4c, βάρους 91,2 mg, υποβλήθηκε σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 2 cm και τελικό ύψος 17 cm. Παραλήφθηκαν τελικά έξι κλάσματα (Lot4c1-6) (Πίνακας 43).

Πίνακας 43. GCC στο κλάσμα Lot4c.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4c1	cHex-EtOAc 98:2	98	1,5
Lot4c2	cHex-EtOAc 98:2	15	52,0
Lot4c3	cHex-EtOAc 98:2	15	32,2
Lot4c4	cHex-EtOAc 98:2	30	4,0
Lot4c5	cHex-EtOAc 90:10	38	0,8
Lot4c6	cHex-EtOAc 90:10	62	0,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο τα κλάσματα Lot4c2-Lot4c4 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4c2, βάρους 52,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά έξι κλάσματα (Lot4c2a-f) (Πίνακας 44).

Πίνακας 44. HPLC στο κλάσμα Lot4c2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4c2a	13,17-15,71	16,6
Lot4c2b	16,07	3,3
Lot4c2c	19,52	14,6
Lot4c2d	19,75-21,49	8,4
Lot4c2e	22,10	3,7
Lot4c2f	23,92	3,4

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4c2a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT01**. Επίσης το κλάσμα Lot4c2b παρουσίαζε ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθεί περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4c3, βάρους 32,2 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά έξι κλάσματα (Lot4c3a-f) (Πίνακας 45).

Πίνακας 45. HPLC στο κλάσμα Lot4c3.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4c3a	13,29-15,60	8,0
Lot4c3b	15,98	2,0
Lot4c3c	19,44	4,3
Lot4c3d	19,79-21,23	6,5
Lot4c3e	21,79	4,6
Lot4c3f	23,56	3,0

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4c3a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT01**. Επίσης το κλάσμα Lot4c3b ήταν όμοιο με το Lot4c2b.

Τα κλάσματα Lot4c2b (3,3 mg) και Lot4c3b (2,0 mg), υποβλήθηκαν διαδοχικά σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10 μ , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4c(2&3)b1-2) (Πίνακας 46).

Πίνακας 46. HPLC στα κλάσματα Lot4c2b και Lot4c3b.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4c(2&3)b1	16,59-19,91	2,8
Lot4c(2&3)b2	20,56	2,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4c(2&3)b2 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT17**.

Το κλάσμα Lot4c4, βάρους 4,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10 μ , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4c4a-c) (Πίνακας 47).

Πίνακας 47. HPLC στο κλάσμα Lot4c4.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4c4a	18,69	0,9
Lot4c4b	19,50-20,67	1,6
Lot4c4c	22,80	1,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4c4a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT02**.

Το κλάσμα Lot4d, βάρους 14,2 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά πέντε κλάσματα (Lot4d1-5) (Πίνακας 48).

Πίνακας 48. HPLC στο κλάσμα Lot4d.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4d1	16,25	4,1
Lot4d2	17,72	0,4
Lot4d3	18,46	1,3
Lot4d4	19,15	2,3
Lot4d5	20,26	6,1

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4d1 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT02**.

Το κλάσμα Lot4d5, βάρους 6,1 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4d5a-c) (Πίνακας 49).

Πίνακας 49. HPLC στο κλάσμα Lot4d5.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4d5a	22,85	0,5
Lot4d5b	29,58	0,2
Lot4d5c	30,76	5,0

Το κλάσμα Lot4d5c, βάρους 5,0 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκε τελικά δύο κλάσματα (Lot4d5c1-2) (Πίνακας 50).

Πίνακας 50. HPLC στο κλάσμα Lot4d5c.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4d5c1	16,48	3,2
Lot4d5c2	47,70	1,8

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4d5c1 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT14**. Επίσης το κλάσμα Lot4d5c2 παρουσίαζε ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθεί περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4e, βάρους 13,0 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4e1-2) (Πίνακας 51).

Πίνακας 51. HPLC στο κλάσμα Lot4e.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4e1	19,85	4,3
Lot4e2	21,56	6,1

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4e2 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT03**.

Το κλάσμα Lot4e1, βάρους 4,3 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 98:2. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4e1a-c) (Πίνακας 52).

Πίνακας 52. HPLC στο κλάσμα Lot4e1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4e1a	22,96	0,2
Lot4e1b	25,46	0,3
Lot4e1c	30,76	3,8

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4e1c είχε το ίδιο προφίλ με το Lot4d5c2 και αποφασίστηκε να μελετηθεί περαιτέρω.

Τα κλάσματα Lot4e1c (3,8 mg) και Lot4d5c2 (1,8 mg), υποβλήθηκαν διαδοχικά σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μ m, 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 99:1. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4e1c1-2) (Πίνακας 53).

Πίνακας 53. HPLC στα κλάσματα Lot4e1c και Lot4d5c2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4e1c1	17,57	0,9
Lot4e1c2	47,70	4,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot4e1c1 και Lot4e1c2 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LOT14** και **LOT15** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lot4g, βάρους 76,8 mg, υποβλήθηκε σε SPE κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά δύο κλάσματα (Lot4g1-2) (Πίνακας 54).

Πίνακας 54. SPE στο κλάσμα Lot4g.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1	cHex-EtOAc 90:10	25	74,2
Lot4g2	EtOAc 100%	30	2,6

Το κλάσμα Lot4g1, βάρους 74,2 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10 μ , 250 mm $\times$ 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά επτά κλάσματα (Lot4g1a-g) (Πίνακας 55).

Πίνακας 55. HPLC στο κλάσμα Lot4g1.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1a	12,89-13,43	0,9
Lot4g1b	13,78	8,6
Lot4g1c	14,32-14,76	2,4
Lot4g1d	15,07	12,3
Lot4g1e	16,14	17,3
Lot4g1f	17,03	14,4
Lot4g1g	18,10-18,89	2,3

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4g1b ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT04**. Επίσης τα κλάσματα Lot4g1d-Lot4g1f παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4g1d, βάρους 12,3 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4g1d1-3) (Πίνακας 56).

Πίνακας 56. HPLC στο κλάσμα Lot4g1d.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1d1	15,63	0,7
Lot4g1d2	16,91	5,1
Lot4g1d3	17,89	5,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot4g1d2 και Lot4g1d3 παρουσίαζαν ενδιαφέρον και αποφασίστηκε να μελετηθούν περαιτέρω.

Το κλάσμα Lot4g1d2, βάρους 5,1 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Chiralcel OD 10 μm, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-i-Prop 95:5. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4g1d2a-b) (Πίνακας 57).

Πίνακας 57. HPLC στο κλάσμα Lot4g1d2.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1d2a	16,97	3,0
Lot4g1d2b	19,08	1,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot4g1d2a και Lot4g1d2b ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LOT11** και **LOT18** αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lot4g1d3, βάρους 5,7 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4g1d3a-b) (Πίνακας 58). Επειδή οι κορυφές δε διαχωρίζονταν πολύ καλά με αυτό το σύστημα διαλυτών, η περιοχή που συνεκλούονταν οι δύο ουσίες

συλλέχθηκε χωριστά ως Lot4g1d3 και έπειτα από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι αποτελούνταν κυρίως από την ουσία Lot4g1d3a.

Πίνακας 58. HPLC στο κλάσμα Lot4g1d3.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1d3a	17,12	0,5
Lot4g1d3b	17,97	2,4
Lot4g1d3	17,12-17,97	1,8

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4g1d3b ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT16**, ενώ τα κλάσματα Lot4g1d3a και Lot4g1d3 ήταν μίγμα των μεταβολιτών **LOT11** και **LOT18**.

Το κλάσμα Lot4g1e, βάρους 17,3 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4g1e1-3) (Πίνακας 59).

Πίνακας 59. HPLC στο κλάσμα Lot4g1e.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1e1	17,19	1,9
Lot4g1e2	17,54-19,05	2,3
Lot4g1e3	19,50	8,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4g1e3 ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT12**, ενώ τα κλάσματα Lot4g1e1 και Lot4g1e2 ήταν μίγμα των μεταβολιτών **LOT11** και **LOT18**.

Το κλάσμα Lot4g1f, βάρους 14,4 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν nHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά δύο κλάσματα (Lot4g1f1-2) (Πίνακας 60).

Πίνακας 60. HPLC στο κλάσμα Lot4g1f.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4g1f1	19,31	6,0
Lot4g1f2	23,19	3,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα Lot4g1f1 και Lot4g1f2 ήταν καθαρές ουσίες και αποτελούσαν τους μεταβολίτες **LOT12** και **LOT13**, αντίστοιχα.

Το κλάσμα Lot4h, βάρους 6,6 mg, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 90:10. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τρία κλάσματα (Lot4h1-3) (Πίνακας 61).

Πίνακας 61. HPLC στο κλάσμα Lot4h.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot4h1	19,57	2,7
Lot4h2	20,33-21,08	1,2
Lot4h3	22,01	2,7

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot4h3 παρούσισε το ίδιο προφίλ με το Lot5b2 και αποφασίστηκε να μελετηθεί περαιτέρω.

Τα κλάσματα Lot4h3 (2,7 mg) και Lot5b2 (6,7 mg), υποβλήθηκαν διαδοχικά σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-Me₂CO 93:7. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκε τελικά ένα κλάσμα (Lot(5b2&4h3)a) (Πίνακας 62).

Πίνακας 62. HPLC στα κλάσματα Lot5b2 και Lot4h3.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot(5b2&4h3)a	15,80	7,6

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot(5b2&4h3)a ήταν καθαρή ουσία και αποτελούσε το μεταβολίτη **LOT09**.

Το κλάσμα Lot6, βάρους 120,4 mg, υποβλήθηκε σε GCC κανονικής φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Η στήλη είχε διάμετρο 2 cm και τελικό ύψος 24,5 cm. Παραλήφθηκαν τελικά δώδεκα κλάσματα (Lot6a-l) (Πίνακας 63).

Πίνακας 63. GCC στο κλάσμα Lot6.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΔΟΥΣΗΣ	ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot6a	cHex-EtOAc 90:10	100	2,5
Lot6b	cHex-EtOAc 90:10	40	1,6

Lot6c	cHex-EtOAc	90:10	40	3,9
Lot6d	cHex-EtOAc	90:10	10	29,5
	cHex-EtOAc	88:12	50	
Lot6e	cHex-EtOAc	88:12	40	45,6
	cHex-EtOAc	86:14	40	
Lot6f	cHex-EtOAc	86:14	40	6,9
Lot6g	cHex-EtOAc	86:14	20	4,7
	cHex-EtOAc	83:17	20	
Lot6h	cHex-EtOAc	83:17	50	7,4
	cHex-EtOAc	70:30	30	
Lot6i	cHex-EtOAc	70:30	40	3,0
Lot6j	cHex-EtOAc	70:30	30	2,4
Lot6k	cHex-EtOAc	50:50	50	2,9
Lot6l	EtOAc	100%	100	10,0

Το κλάσμα Lot6h, βάρους 6,9 mg, το οποίο μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο παρουσίαζε ενδιαφέρον, υποβλήθηκε σε HPLC με στήλη κανονικής φάσης Econosphere Silica 10u, 250 mm × 10 mm. Το μίγμα διαλυτών που χρησιμοποιήθηκε ήταν cHex-EtOAc 80:20. Η ροή ήταν 1,50 ml/min. Παραλήφθηκαν τελικά τέσσερα κλάσματα (Lot6h1-4) (Πίνακας 64).

Πίνακας 64. HPLC στο κλάσμα Lot6h.

ΚΛΑΣΜΑ	ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot6h1	18,02	0,5
Lot6h2	19,86	0,7
Lot6h3	20,89	2,6
Lot6h4	24,76	0,5

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot6h3 είναι καθαρή ουσία και αποτελεί το μεταβολίτη **LOT07**.

Το κλάσμα Lot12, βάρους 49,3 mg, υποβλήθηκε σε SPE αντίστροφης φάσης με διαλύτες αυξανόμενης πολικότητας. Παραλήφθηκαν συνολικά πέντε κλάσματα (Lot12a-e) (Πίνακας 65).

Πίνακας 65. SPE στο κλάσμα Lot12.

ΚΛΑΣΜΑ	ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΕΚΛΟΥΣΗΣ		ΟΓΚΟΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ (mg)
Lot12a	MeOH-H ₂ O	50:50	10	25,6
	MeOH-H ₂ O	60:40	10	
Lot12b	MeOH-H ₂ O	70:30	10	12,9
	MeOH-H ₂ O	80:20	20	
	MeOH-H ₂ O	90:10	20	
Lot12c	MeOH	100%	10	6,9
Lot12d	MeOH	100%	20	2,5
Lot12e	CH ₂ Cl ₂	100%	20	1,4
	EtOAc	100%	20	

Μετά από φασματοσκοπικό έλεγχο διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα Lot12a είναι καθαρή ουσία και αποτελεί το μεταβολίτη **LOT05**.

2.6. Συγκεντρωτική παρουσίαση απομονωμένων μεταβολιτών

Συνολικά από τους δύο οργανισμούς απομονώθηκαν 36 μεταβολίτες οι οποίοι παρουσιάζονται στον Πίνακα 66.

Πίνακας 66. Απομονωμένοι μεταβολίτες.

Μεταβολίτης	Κωδικός	Κλάσματα	Συνολικό βάρος (mg)
-	LMT01, LOT00	Lmt4q, Lmt6g, Lot5d3	51,0
1	LMT02	Lmt4i-k, Lmt4l1a1, Lmt4l1a2b	99,2
3	LMT03	Lmt4m-n, Lmt4l1c, Lmt4p1c1, Lmt4p1b1c, Lmt6e	822,0
4	LMT04, LOT04	Lmt4f11-14, Lmt4f15b2, Lmt4h1, Lmt4h2b, Lot4g1b	117,9
10	LMT05	Lmt4u, Lmt6i1b2, Lmt6i1c2, Lmt6j, Lmt6k1	99,3
2	LMT06	Lmt4l1b	11,8
5	LMT07, LOT12	Lmt4h3, Lot4g1e3, Lot4g1f1	21,0
8	LMT08	Lmt4l1a3	3,0
	LMT09	Lmt6i1a1, Lmt6i1b1	1,0
	LMT10	Lmt4t1b	6,2
9	LMT11	Lmt9i1a	1,2
	LMT12	Lmt4p1a	0,7
	LMT13	Lmt4f10a5b	1,3
	LMT14	Lmt4f15b1, Lmt4h2a	7,0
	LMT15	Lmt4p1d3	1,1
12	LMT16, LOT10	Lmt4p1d4, Lot5c2c	1,8
	LMT17	Lmt4l1a2c	0,5
	LMT18	Lmt4l1a2d	1,1
	LMT19	Lmt4p1c3, Lmt4p1d5	4,5
6	LMT20	Lmt4p1d2	0,6
11	LMT21	Lmt4t1d1, Lmt6i1a2	2,6
13	LOT01	Lot4c2a, Lot4c3a	24,6
15	LOT02	Lot4c4a, Lot4d1	5,0
21	LOT03	Lot4e2	6,1
-	LOT05	Lot12a	25,6
-	LOT06	Lot5d2	4,2
19	LOT07	Lot6h3	2,6
16	LOT08	Lot5b3, Lot5c3a	17,2
17	LOT09	Lot(5b2&4h3)a, Lot5c2b	8,7
	LOT11	Lot4g1d2a	3,0
18	LOT13	Lot4g1f2	3,7
20	LOT14	Lot4d5c1, Lot4e1c1	4,1
	LOT15	Lot4e1c2	4,7
7	LOT16	Lot4g1d3b	2,4
14	LOT17	Lot4c(2&3)b2	2,5
	LOT18	Lot4g1d2b	1,7

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

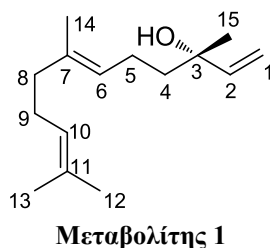
Δείγματα των ροδοφυκών *Laurencia microcladia* και *Laurencia obtusa* συλλέχθηκαν από τη νήσο Τήνο των Κυκλάδων, σε βάθος 0,5 - 2 m, το Σεπτέμβριο του 2011. Οι οργανισμοί εκχυλίστηκαν με CH_2Cl_2 και MeOH. Τα οργανικά εκχυλίσματα που προέκυψαν υποβλήθηκαν σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς με αποτέλεσμα την απομόνωση 36 μεταβολιτών, εκ των οποίων ταυτοποιήθηκαν είκοσι ένας (**1–21**).

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

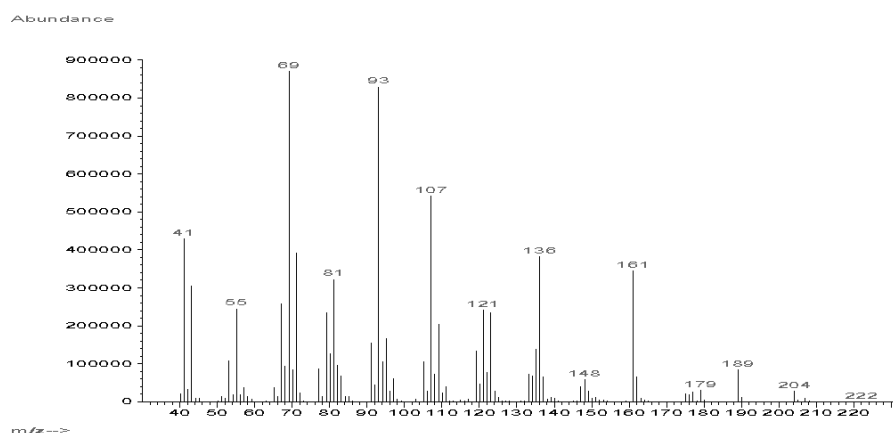
Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα των δευτερογενών μεταβολιτών **1–21** και περιγράφεται ο καθορισμός της χημικής τους δομής.

3.1. Μεταβολίτης 1

Ο μεταβολίτης **1** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα συνολικής μάζας 99,2 mg.



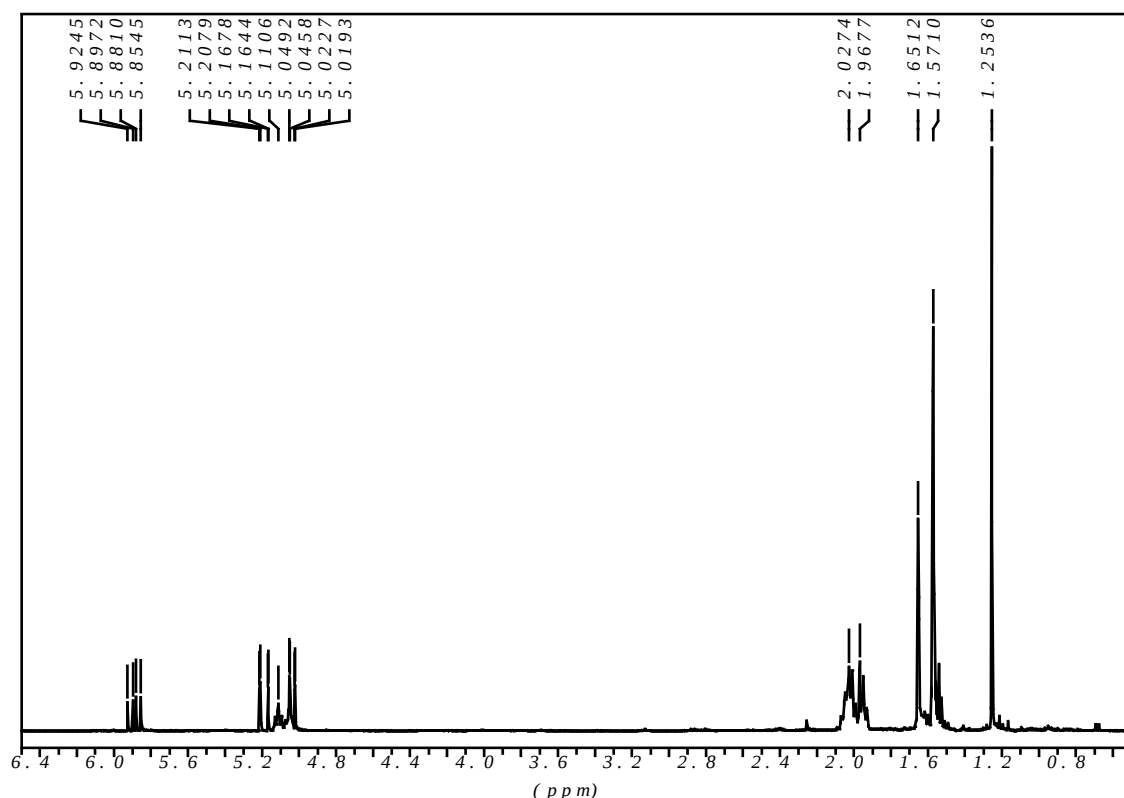
Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **1** (Εικόνα 29) εμφάνισε μοριακό ιόν $[M]^+$ σε m/z 222 και θραύσματα $[M-H_2O]^+$ και $[M-CH_3-H_2O]^+$ σε m/z 204 και 189, αντίστοιχα, υποδεικνύοντας την ύπαρξη υδροξυλίου στο μόριο.



Εικόνα 29. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **1**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **1** (Εικόνα 30) παρατηρήθηκαν: (i) σήματα τριών συζευγμένων ολεφινικών πρωτονίων σε δ 5,89 (dd, 10,8, 1,3), 5,19 (dd, 17,6, 1,3) και 5,03 (dd, 17,6, 10,8), τα οποία αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια ενός μονοϋποκατεστημένου διπλού δεσμού, (ii) δύο πολλαπλές κορυφές σε δ 5,11 και 5,05 που αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια δύο ολεφινικών μεθινίων, (iii) δύο απλές κορυφές σε δ 1,65 (br s, 3H) και 1,57 (br s, 6H), οι οποίες αντιστοιχούσαν σε τρία βινυλικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα, και (iv) μία απλή κορυφή σε δ 1,25, η οποία ολοκλήρωνε για

τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε ένα αποθωρακισμένο αλειφατικό μεθύλιο σε τεταρτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 30. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **1**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **1** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι γραμμικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **1** με αυτά της βιβλιογραφίας για γραμμικά σεσκιτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μόριο *trans*-νερολιδόλη (*trans*-nerolidol) που απαντάται σε πλήθος φυτικών οργανισμών στο χερσαίο και θαλάσσιο περιβάλλον (Cane *et al.*, 1990; Díaz *et al.*, 1992).

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι διαθέτει αρκετές βιολογικές δράσεις, όπως αντιβακτηριακή (Roussis *et al.*, 2001; Simionatto *et al.*, 2005; Togashi *et al.*, 2010), αντιμυκητιασική (Lee *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2009), αντινεοπλασματική (Wattenberg *et*

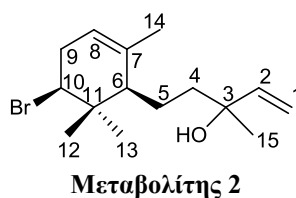
al., 1991; Sylvestre *et al.*, 2007; Loizzo *et al.*, 2007; Nibret *et al.*, 2010), αντιελκωτική (Klopell *et al.*, 2007), αντιμαλαριακή (Van Zyl *et al.*, 2006), αντιλεισμανιακή (Arruda *et al.*, 2005), αντιτρυπανοσωμιακή (Nibret *et al.*, 2010), νηματοκτόνο (Abdel-Rahman *et al.*, 2013), ακαρεοκτόνο (Araújo *et al.*, 2012), αντιπαρασιτική (Chantraine *et al.*, 1998; Lwande *et al.*, 1999; Priestley *et al.*, 2006; Navarro-Moll *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2011). Έχει βρεθεί, ακόμα, ότι μειώνει την αντίσταση στα αντιβιοτικά των ανθεκτικών στελεχών μικροοργανισμών (Brehm-Stecher *et al.*, 2003). Επίσης, μελετάται ως επιταχυντής της διαδερμικής απορρόφησης ουσιών και έχει εγκριθεί από το F.D.A. ως βελτιωτικό γεύσης για τρόφιμα (Lapczynski *et al.*, 2008). Η παρουσία του στους φυτικούς οργανισμούς φαίνεται ότι σχετίζεται επιπλέον και με τη δράση του ως φερομόνης (Hick *et al.*, 1999). Στον Πίνακα 67 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **1**.

Πίνακας 67. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **1**.

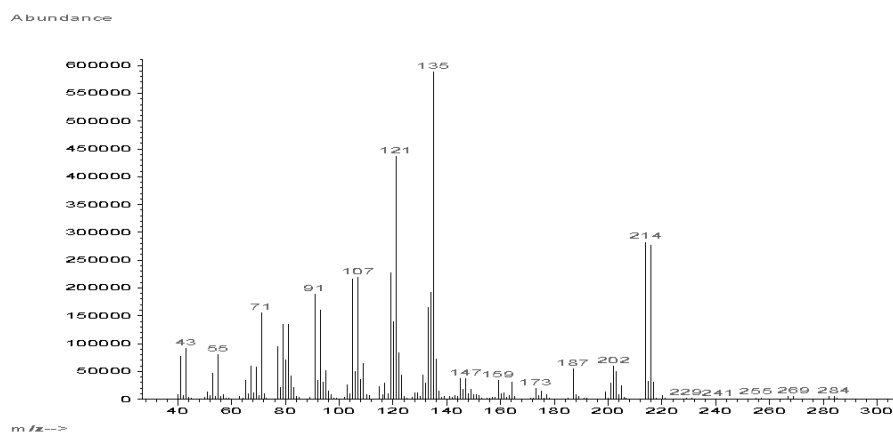
#	^1H
1a	5,19 dd (17,6, 1,3)
1b	5,03 dd (10,8, 1,3)
2	5,89 dd (17,6, 10,8)
3	-
4	1,54 m
5	2,02 m
6	5,11 m
7	-
8	1,96 m
9	2,03 m
10	5,05 m
11	-
12	1,65 br s
13	1,57 br s
14	1,57 br s
15	1,25 s

3.2. Μεταβολίτης 2

Ο μεταβολίτης 2 απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 11,8 mg.

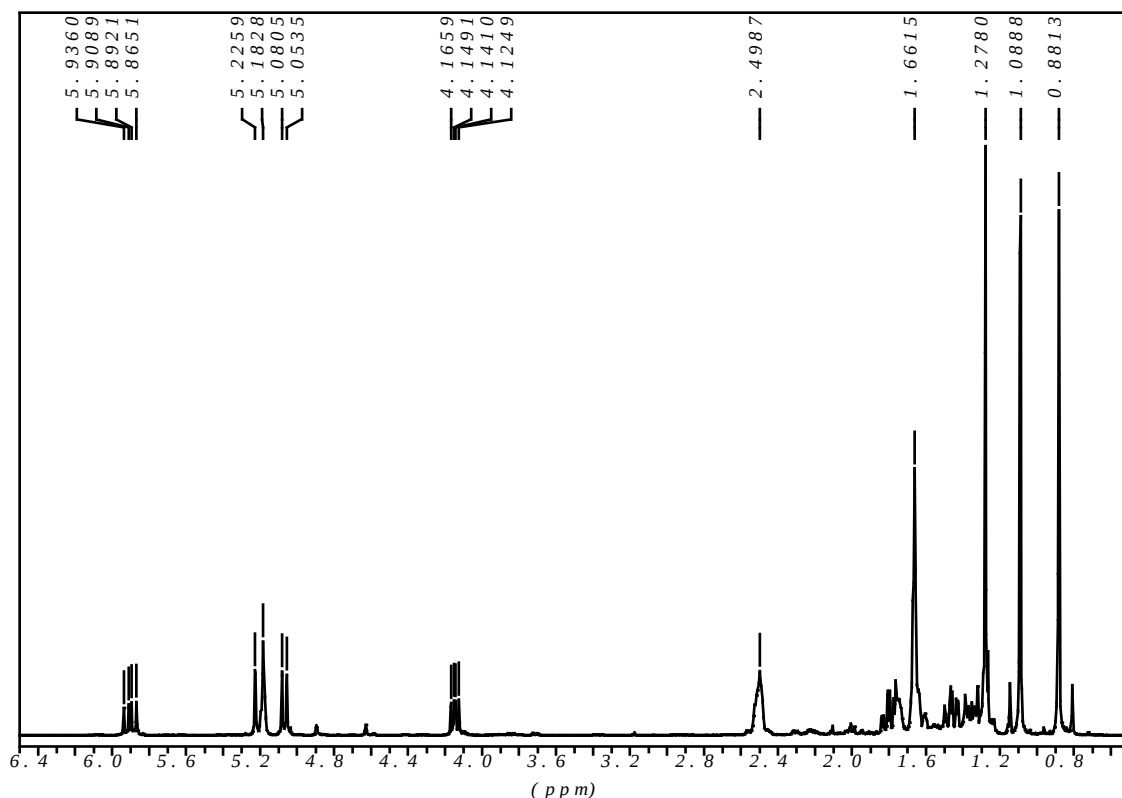


Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη 2 (Εικόνα 31) εμφάνισε χαρακτηριστικό θραύσμα $[M-H_2O]^+$ σε m/z 282 με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 284, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου βρωμίου και μίας υδροξυλομάδας στο μόριο.



Εικόνα 31. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη 2.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη 2 (Εικόνα 32) παρατηρήθηκαν: (i) σήματα τριών συζευγμένων ολεφινικών πρωτονίων σε δ 5,90 (dd, 17,4, 10,7), 5,20 (br d, 17,4) και 5,07 (br d, 10,7), τα οποία αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια ενός μονοϋποκατεστημένου διπλού δεσμού, (ii) μία πολλαπλή κορυφή σε δ 5,18, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ολεφινικό μεθίνιο, (iii) μία διπλή διπλών κορυφή σε δ 4,15 που ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα αλογονωμένο μεθίνιο, και (iv) τέσσερις απλές κορυφές που ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία σε δ 1,66, 1,28, 1,09 και 0,88 και αντιστοιχούσαν σε τέσσερα μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.



Εικόνα 32. Φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη 2.

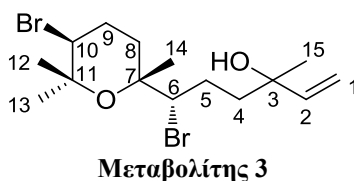
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του 2 οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₅H₂₅BrO. Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους δύο από τους τρεις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 2 με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικά σесκιτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη α -σνυδερόλη (α -snyderol), ο οποίος απομονώθηκε πρώτη φορά από το φύκος *L. obtusa* (Howard and Fenical, 1976) και ανήκει στα σνυδεράνια. Έχει αποδειχθεί ότι ο μεταβολίτης αυτός βιοσυνθετικά προκύπτει από την *trans*-νερολιδόλη με τη βοήθεια ενός ενζύμου που υπάρχει στα ροδοφύκη και ονομάζεται βρωμούπεροξειδάση του βαναδίου (vanadium bromoperoxidase) (Carter-Franklin and Butler, 2004). Στον Πίνακα 68 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη 2.

Πίνακας 68. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **2**.

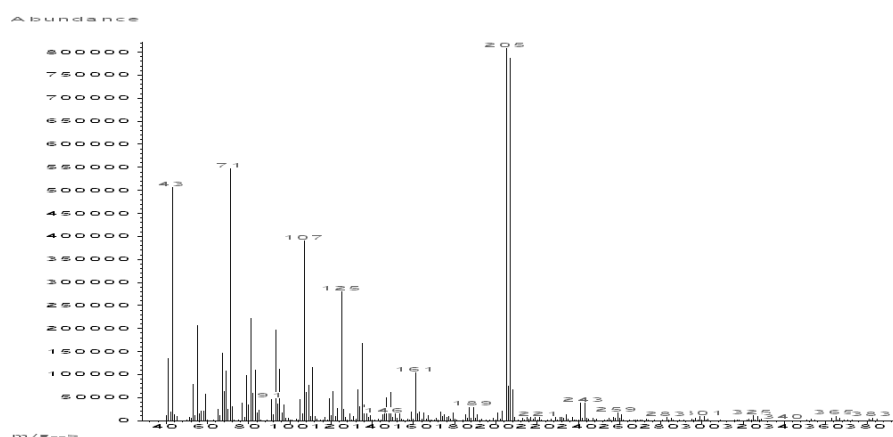
#	^1H
1a	5,20 br d (17,4)
1b	5,07 br d (10,7)
2	5,90 dd (17,4, 10,7)
3	
4a	1,80 ddd (12,8, 12,8, 4,5)
4b	1,46 ddd (12,8, 12,8, 4,0)
5a	1,64 m
5b	1,35 m
6	1,75 m
7	
8	5,18 m
9	2,50 m
10	4,15 dd (9,8, 6,6)
11	
12	0,88 s
13	1,09 s
14	1,66 br s
15	1,28 s

3.3. Μεταβολίτης 3

Ο μεταβολίτης **3** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 822,0 mg.



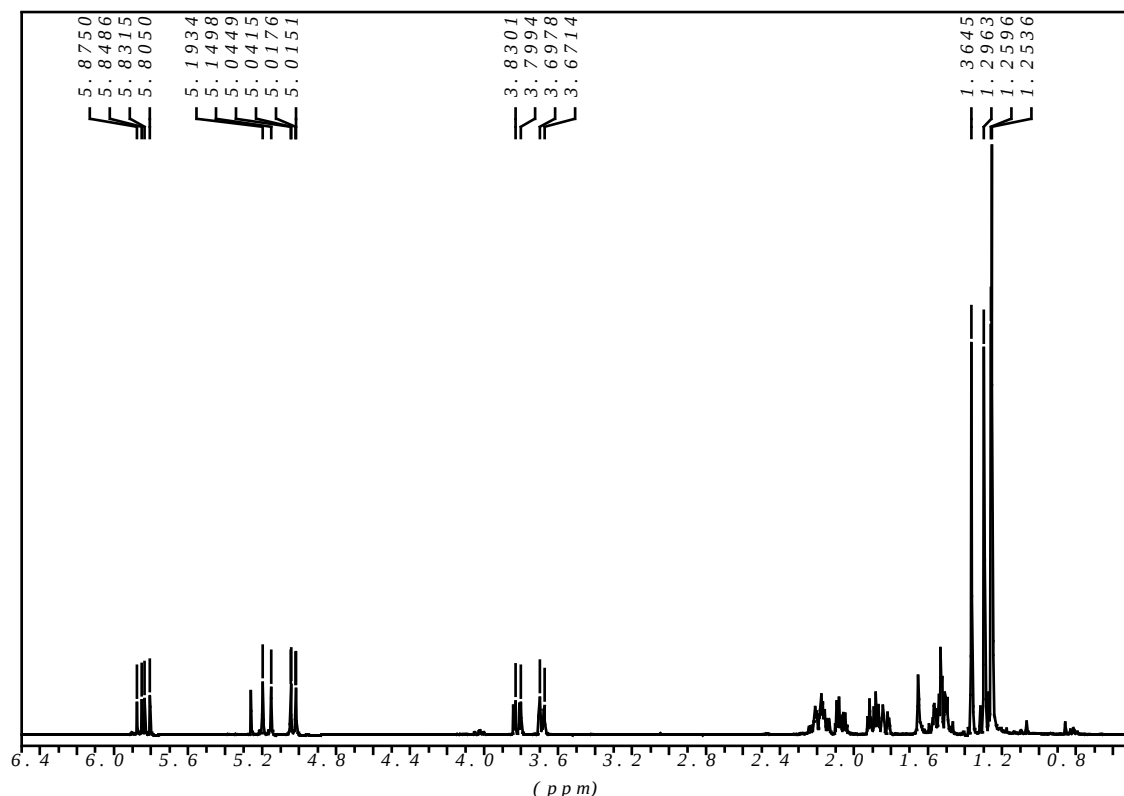
Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **3** (Εικόνα 33) εμφάνισε χαρακτηριστικά θραύσματα $[M-CH_3]^+$ και $[M-CH_3-H_2O]^+$ σε m/z 381 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 383 και 385 με αναλογία 1:2:1 μεταξύ τους) και 363 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 365 και 367 με αναλογία 1:2:1 μεταξύ τους), υποδεικνύοντας την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου και μίας υδροξυλομάδας στο μόριο.



Εικόνα 33. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **3**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **3** (Εικόνα 34) παρατηρήθηκαν: (i) σήματα τριών συζευγμένων ολεφινικών πρωτονίων σε δ 5,84 (dd, 17,3, 10,7), 5,17 (dd, 17,3, 1,1) και 5,03 (dd, 10,7, 1,1), τα οποία αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια ενός μονοϋποκατεστημένου διπλού δεσμού, (ii) δύο κορυφές σε δ 3,82 (dd, 12,2, 4,2) και 3,69 (dd, 10,5, 1,9) που αντιστοιχούσαν σε δύο αλογονωμένα μεθίλια, και (iii) τέσσερις απλές κορυφές σε δ 1,36, 1,30, 1,26 και 1,25 οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε

μία και αντιστοιχούσαν σε τέσσερα αποθωρακισμένα αλειφατικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.



Εικόνα 34. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 3.

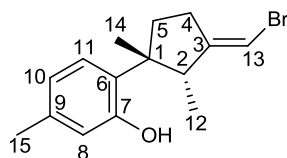
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του 3 οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{O}_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τον διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως έναν από τους δύο βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 3 με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικά σεσκιτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπτουςενόλη (*obtusenol*) που απομονώθηκε πρώτη φορά από το φύκος *L. obtusa* (Imre *et al.*, 1981; Aydoğmuş *et al.*, 2004) και είναι το μοναδικό σεσκιτερπένιο με τετραϋδροπυρανικό δακτύλιο που έχει απόμονωθεί μέχρι στιγμής από ροδοφύκη του γένους *Laurencia*. Στον Πίνακα 69 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη 3.

Πίνακας 69. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **3**.

#	^1H
1a	5,17 dd (17,3, 1,1)
1b	5,03 dd (10,7, 1,1)
2	5,84 dd (17,3, 10,7)
3	
4a	1,83 m
4b	1,54 m
5a	2,19 m
5b	1,52 m
6	3,69 dd (10,5, 1,9)
7	
8α	1,52 m
8β	1,90 ddd (13,8, 3,8, 3,8)
9α	2,07 m
9β	2,17 m
10	3,82 dd (12,2, 4,2)
11	
12	1,36 s
13	1,25 s
14	1,30 s
15	1,26 s

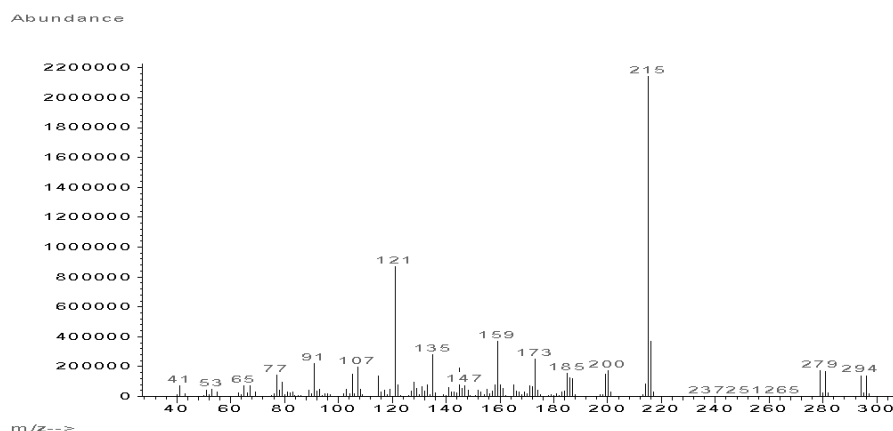
3.4. Μεταβολίτης 4

Ο μεταβολίτης **4** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 117,9 mg.



Μεταβολίτης 4

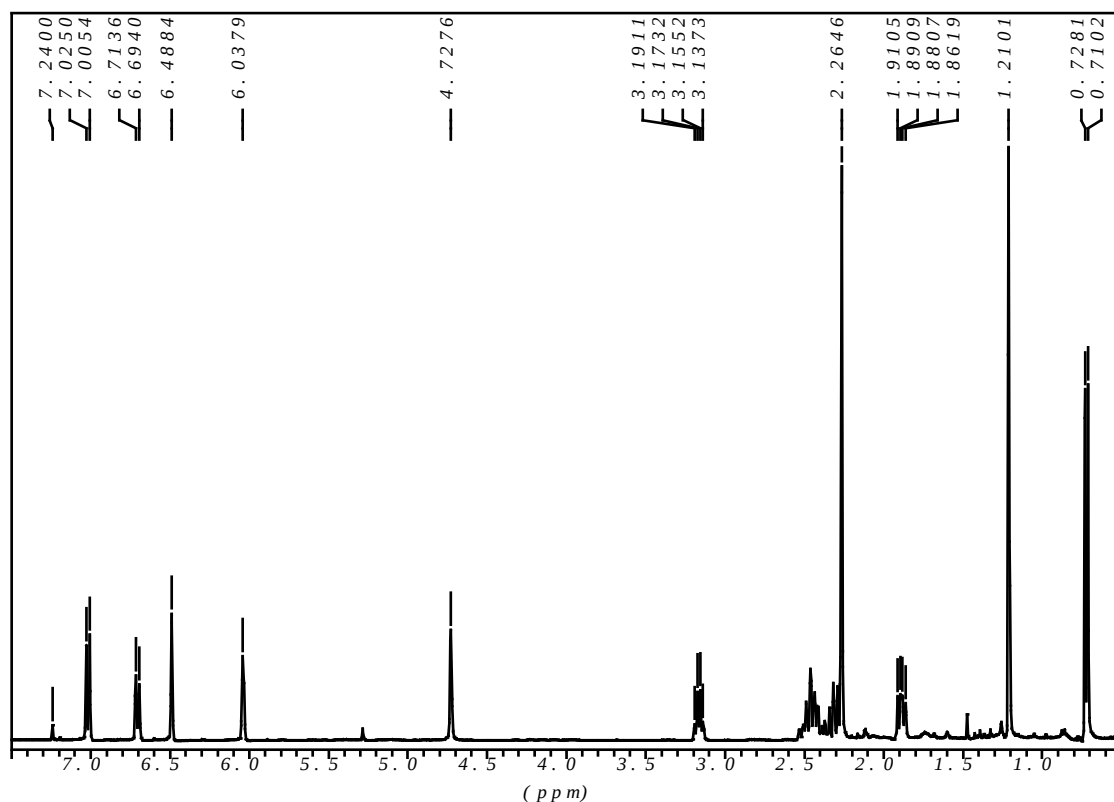
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **4** (Εικόνα 35) εμφάνισε μοριακό ιόν $[M]^+$ σε m/z 294 με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 296, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου βρωμίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκαν τα θραύσματα $[M-CH_3]^+$ και $[M-Br]^+$ σε m/z 279 (με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 281) και 215, αντίστοιχα.



Εικόνα 35. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **4**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **4** (Εικόνα 36) παρατηρήθηκαν: (i) τρία σήματα αρωματικών πρωτονίων σε δ 7,00 (d, 7,8), 6,69 (br d, 7,8) και 6,48 (br s), τα οποία αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια ενός 1,2,4-τριυποκατεστημένου αρωματικού δακτυλίου, (ii) μία ευρεία απλή κορυφή σε δ 6,03, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα αποθωρακισμένο ολεφινικό μεθίνιο, (iii) δύο απλές κορυφές που ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία σε δ 2,25 και 1,20 και αντιστοιχούσαν σε μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα, και (iv) μια διπλή κορυφή η οποία ολοκλήρωνε

για τρία πρωτόνια σε δ 0,71 και αποδόθηκε σε ένα μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 36. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **4**.

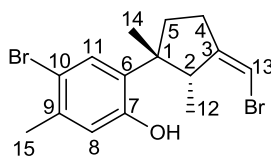
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **4** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τον αρωματικό δακτύλιο και τον ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους πέντε από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να διαθέτει έναν επιπλέον δακτύλιο. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **4** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικά σεσκιτερπένια με αρωματικό δακτύλιο οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μόριο ισολαουρενισόλη (isolaurenisol), το οποίο ανήκει στα λαουράνια και απομονώθηκε πρώτη φορά από το φύκος *Laurencia* sp. cf. *L. gracilis* (Kö nig and Wright, 1994) και εμφανίζει κυτταροτοξική δράση έναντι πολλών καρκινικών σειρών (Kladi *et al.*, 2006). Στον Πίνακα 70 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **4**.

Πίνακας 70. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **4**.

#	^1H
1	
2	3,15 q (7,2)
3	
4	2,44 m
5a	2,30 br dd (11,7, 10,1)
5b	1,88 dd (11,7, 7,7)
6	
7	
8	6,48 br s
9	
10	6,69 br d (7,8)
11	7,00 d (7,8)
12	0,71 d (7,2)
13	6,03 br s
14	1,20 br s
15	2,25 s
OH	4,73 s

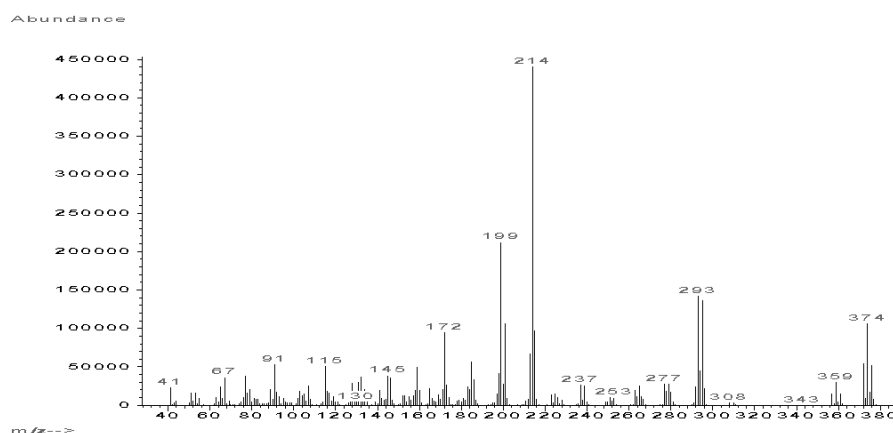
3.5. Μεταβολίτης 5

Ο μεταβολίτης 5 απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 21,0 mg.



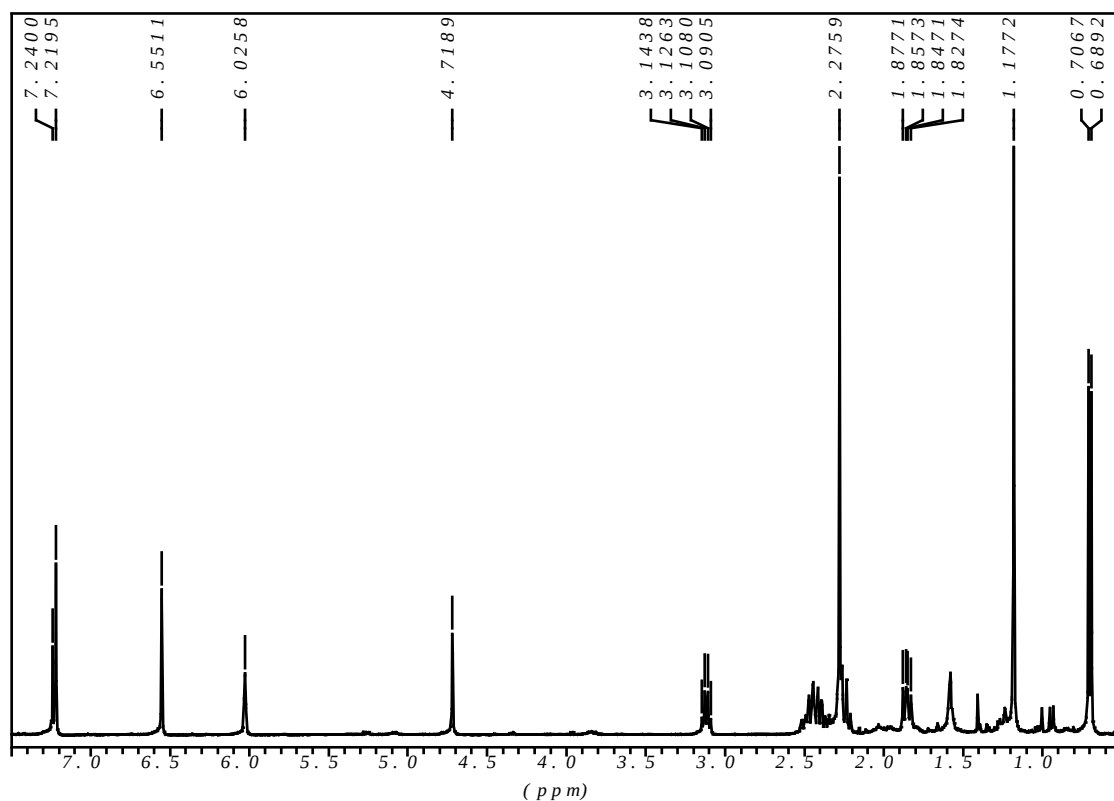
Μεταβολίτης 5

Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη 5 (Εικόνα 37) εμφάνισε μοριακό ιόν $[M]^+$ σε m/z 372 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 374 και 376 με αναλογία 1:2:1 μεταξύ τους, υποδεικνύοντας την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-Br]^+$ σε m/z 293 με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 295.



Εικόνα 37. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη 5.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη 5 (Εικόνα 38) παρατηρήθηκαν παρόμοια σήματα με αυτά του μεταβολίτη 4, με τη διαφορά ότι στην αρωματική περιοχή, και συγκεκριμένα από 6,50 έως 7,50 ppm, εμφανίζονται μόνο δύο απλές κορυφές που υποδηλώνουν έναν τετραϋποκατεστημένο αρωματικό δακτύλιο με πρωτόνια σε 1,4-διάταξη.



Εικόνα 38. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 5.

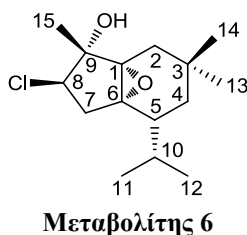
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του 5 οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Br}_2\text{O}$. Λαμβάνοντας υπόψη τον αρωματικό δακτύλιο και τον ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους πέντε από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να διαθέτει έναν επιπλέον δακτύλιο. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 5 με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικά σεσκιτερπένια με αρωματικό δακτύλιο οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μόριο βρωμολαουρενισόλη (bromolaurenisol), το οποίο ανήκει στα λαουράνια, απομονώθηκε πρώτη φορά από το φύκος *L. glandulifera* (Suzuki and Kurosawa, 1979a) και εμφανίζει κυτταροτοξική δράση έναντι πολλών καρκινικών σειρών (Kladi *et al.*, 2006). Στον Πίνακα 71 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη 5.

Πίνακας 71. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη 5.

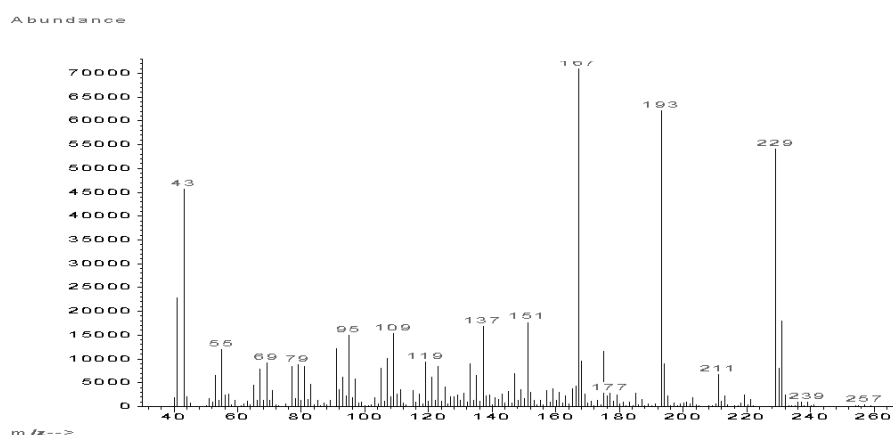
#	^1H
1	
2	3,12 q (7,2)
3	
4	2,44 m
5 α	2,24 m
5 β	1,85 dd (11,8, 7,9)
6	
7	
8	6,55 s
9	
10	
11	7,22 s
12	0,70 d (7,2)
13	6,03 br s
14	1,17 s
15	2,28 br s
OH	4,72 s

3.6. Μεταβολίτης 6

Ο μεταβολίτης **6** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 0,6 mg.

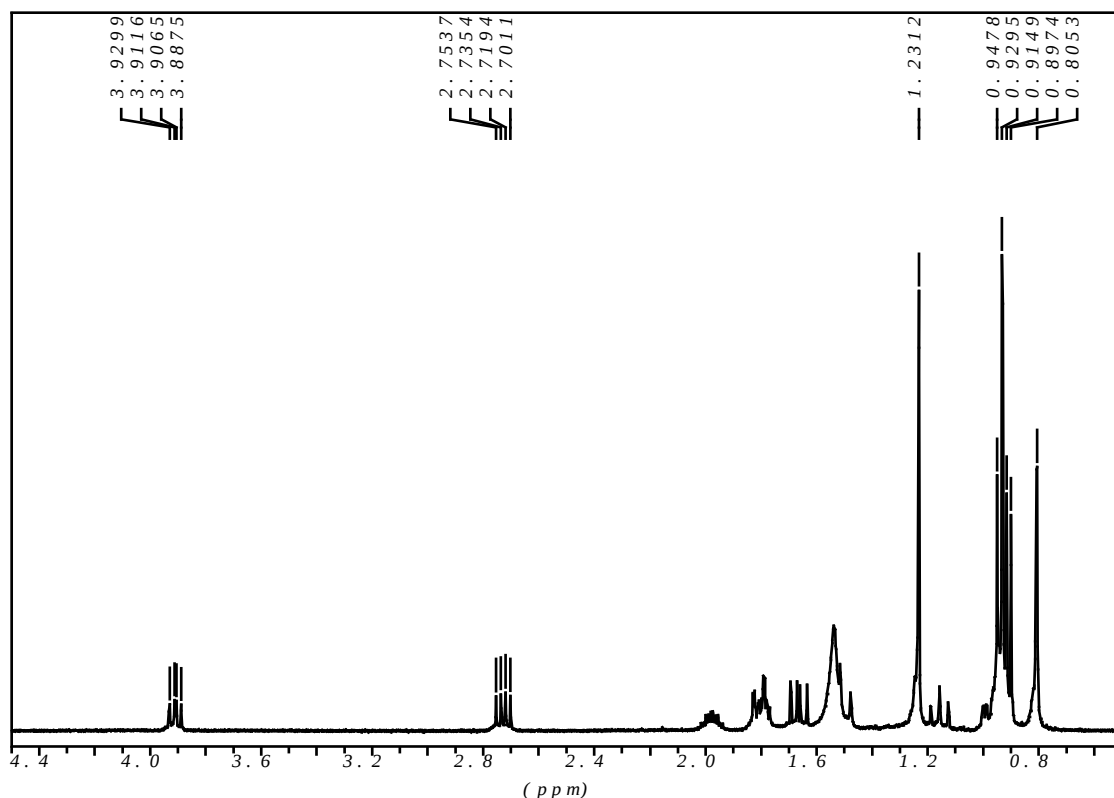


Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **6** (Εικόνα 39) εμφάνισε θραύσμα $[M-C_3H_7]^+$ σε m/z 229 με ισοτοπική κορυφή σε m/z 231 με αναλογία 3:1 μεταξύ τους, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο.



Εικόνα 39. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **6**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **6** (Εικόνα 40) παρατηρήθηκαν: (i) μία διπλή διπλών κορυφή σε δ 3,91, η οποία ολοκληρώνει για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα αλογονωμένο μεθίνιο, (ii) δύο διπλές κορυφές σε δ 0,94 (d, 7,2) και 0,91 (d, 7,2), που ολοκληρώναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε δύο τριτοταγή μεθύλια μίας ισοπρόπυλο-ομάδας, και (iii) τρεις απλές κορυφές σε δ 1,23, 0,93 και 0,81, οι οποίες ολοκληρώναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε αλειφατικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.



Εικόνα 40. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **6**.

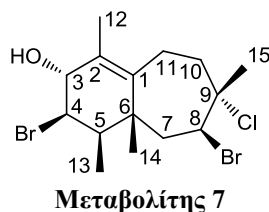
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **6** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{ClO}_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι τρικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **6** με αυτά της βιβλιογραφίας για τρικυκλικά σεσκιτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη $(1S^*,5R^*,6S^*,8R^*,9S^*)$ -8-χλώρο-1,6-επόξυ-5-ισοπρόπυλο-3,3,9-τριμέθυλοδίκυκλο[4.3.0]νοναν-9-όλη ($(1S^*,5R^*,6S^*,8R^*,9S^*)$ -8-chloro-1,6-epoxy-5-isopropyl-3,3,9-trimethylbicyclo[4.3.0]nonan-9-ol), ο οποίος ανήκει στα μπραζιλάνια, έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Iliopoulou *et al.*, 2002) και είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από το είδος *L. microcladia*. Στον Πίνακα 72 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **6**.

Πίνακας 72. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **6**.

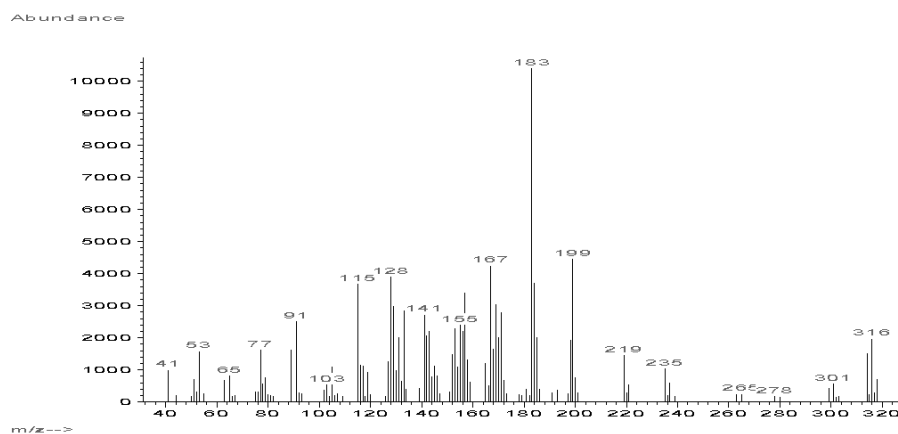
#	^1H
1	
2 β	1,81 dd (15,3, 2,0)
2 α	1,50 d (15,3)
3	
4 α	1,15 dd (13,0, 13,0)
4 β	0,97 ddd (13,0, 5,1, 2,0)
5	1,79 m
6	
7 α	2,73 dd (13,8, 7,4)
7 β	1,66 dd (13,8, 9,6)
8	3,91 dd (9,6, 7,4)
9	
10	1,98 m
11	0,94 d (7,2)
12	0,91 d (7,2)
13	0,93 s
14	0,81 s
15	1,23 s

3.7. Μεταβολίτης 7

Ο μεταβολίτης 7 απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 2,4 mg.

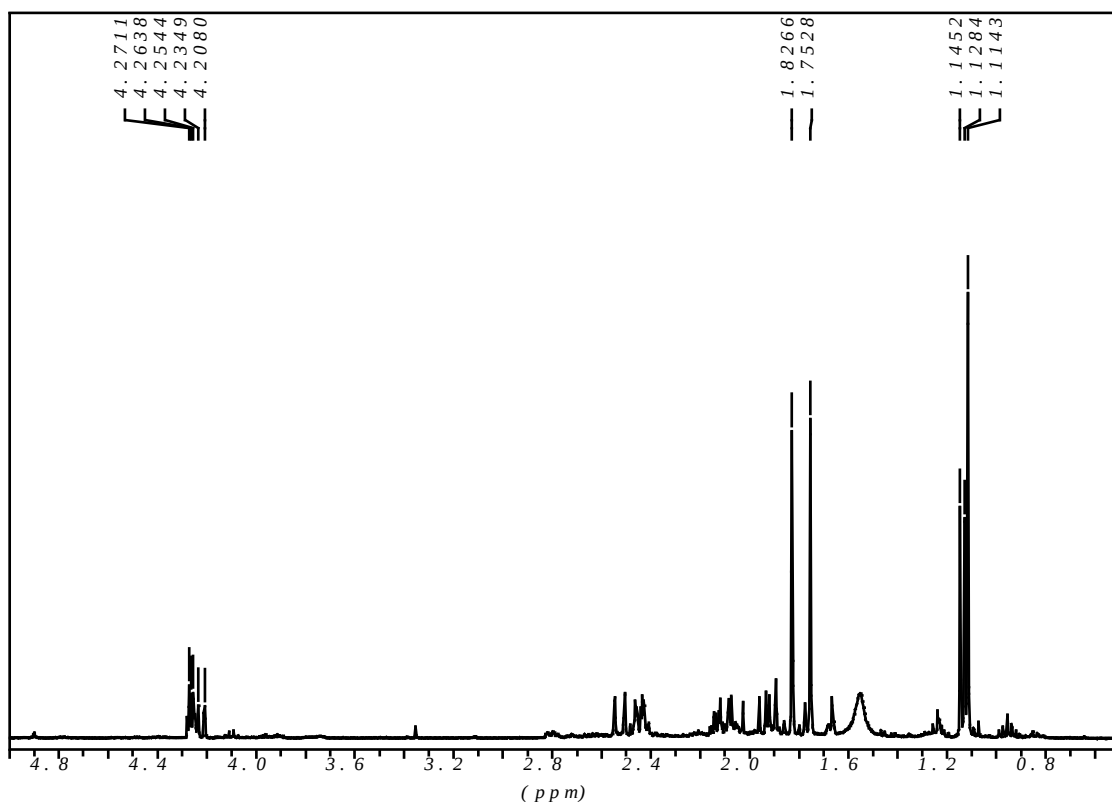


Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη 7 (Εικόνα 41) εμφάνισε θραύσμα σε m/z 314 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 316, 318 και 320 με αναλογία μεταξύ τους που υποδεικνύει την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο.



Εικόνα 41. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη 7.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 7 (Εικόνα 42) παρατηρήθηκαν: (i) τρεις κορυφές που ολοκληρώναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία σε δ 4,27, 4,25 και 4,22 και αντιστοιχούσαν σε αλογονωμένα και οξυγονωμένα μεθίνα, (ii) τρεις απλές κορυφές σε δ 1,83, 1,75 και 1,11, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε τρία μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα, και (iii) μία διπλή κορυφή σε δ 1,14, η οποία ολοκλήρωνε για τρία πρωτόνια και αποδόθηκε σε ένα αλειφατικό μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 42. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 7.

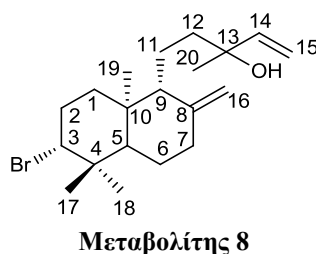
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του 7 οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{ClO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τον ένα από τους τρεις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 7 με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικά σεσκιτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μόριο περφορενόλη (perforenol), το οποίο ανήκει στα περφοράνια και απομονώθηκε πρώτη φορά από το φύκος *L. perforata* (González et al., 1978). Στον Πίνακα 73 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη 7.

Πίνακας 73. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη 7.

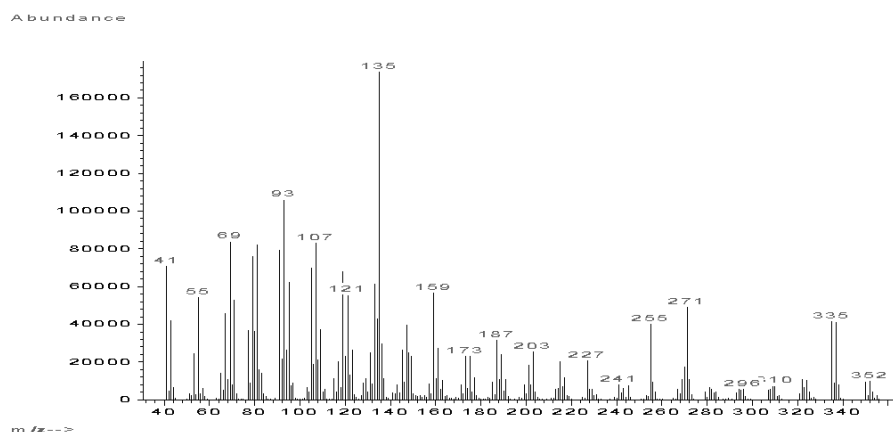
#	^1H
1	
2	
3	4,25 m
4	4,27 m
5	2,12 m
6	
7a	2,53 d (16,1)
7b	1,93 dd (16,1, 10,7)
8	4,22 d (10,7)
9	
10a	2,43 m
10b	2,06 m
11a	2,46 m
11b	1,89 m
12	1,83 s
13	1,14 d (6,8)
14	1,11 s
15	1,75 s

3.8. Μεταβολίτης 8

Ο μεταβολίτης **8** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 3,0 mg.



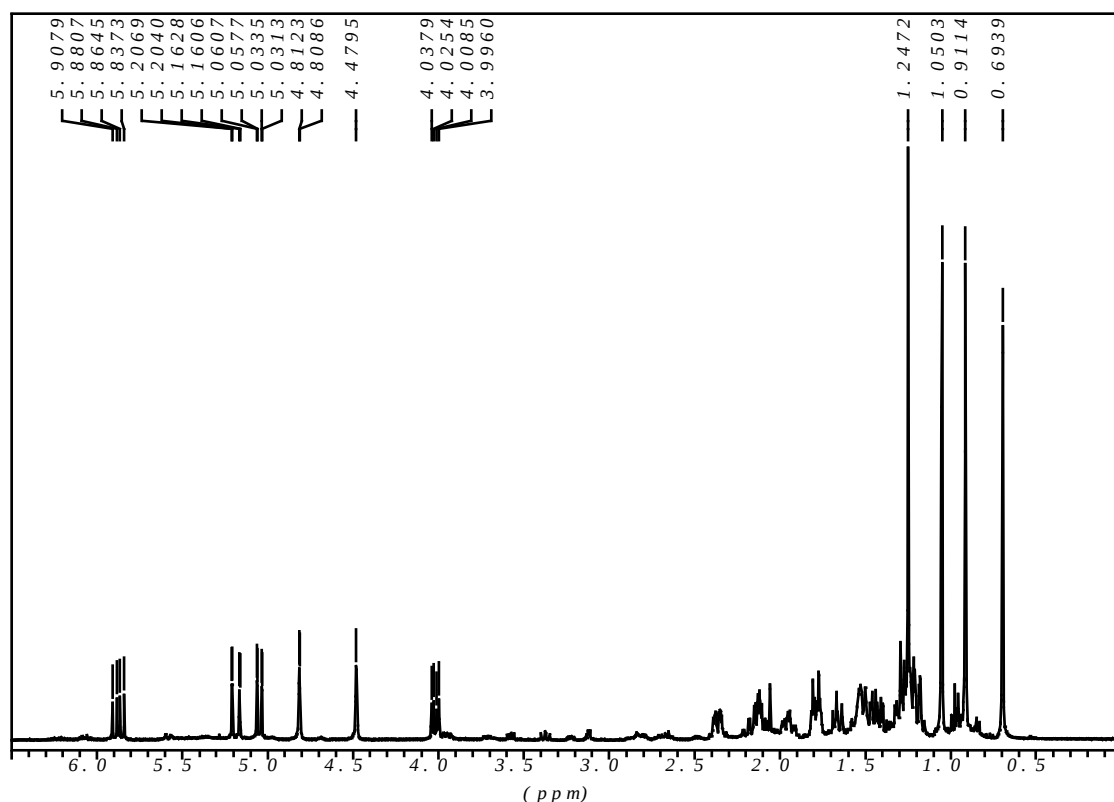
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **8** (Εικόνα 43) εμφάνισε χαρακτηριστικά θραύσματα $[M-H_2O]^+$ και $[M-H_2O-CH_3]^+$ σε m/z 350 (με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 352) και 335 (με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 337) αντίστοιχα, υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου βρωμίου και μίας υδροξυλομάδας στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-H_2O-Br]^+$ σε m/z 271.



Εικόνα 43. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **8**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **8** (Εικόνα 44) παρατηρήθηκαν: (i) σήματα τριών συζευγμένων ολεφινικών πρωτονίων σε δ 5,87 (dd, 17,4, 10,8), 5,18 (dd, 17,4, 1,2) και 5,05 (dd, 10,8, 1,2), τα οποία αντιστοιχούσαν στα πρωτόνια ενός μονοϋποκατεστημένου διπλού δεσμού, (ii) δύο ευρείες απλές κορυφές σε δ 4,81 και 4,48 που ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αποδόθηκαν σε εξωμεθυλένιο, (iii) μια

διπλή διπλών κορυφή που ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα αλογονωμένο μεθίνιο, και (iv) τέσσερις απλές κορυφές σε δ 1,25, 1,05, 0,91 και 0,69, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε τέσσερα αλειφατικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.



Εικόνα 44. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **8**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **8** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{BrO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους δύο από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **8** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικά διτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό λαβδανικό διτερπένιο ισοπιννατόλη Β (isopinnatol B), το οποίο έχει απομονωθεί από το γαστερόποδο *Aplysia dactylomela* (Wessels *et al.*, 2000) και είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από ροδοφύκος του γένους *Laurencia*, ενισχύοντας την

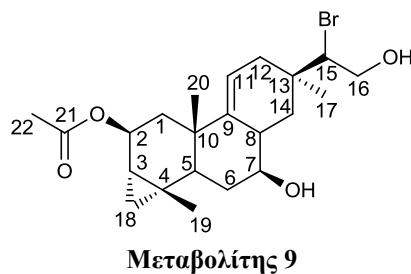
αρχική υπόθεση ότι το γαστερόποδο το προσλαμβάνει από την τροφή του. Στον Πίνακα 74 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **8**.

Πίνακας 74. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **8**.

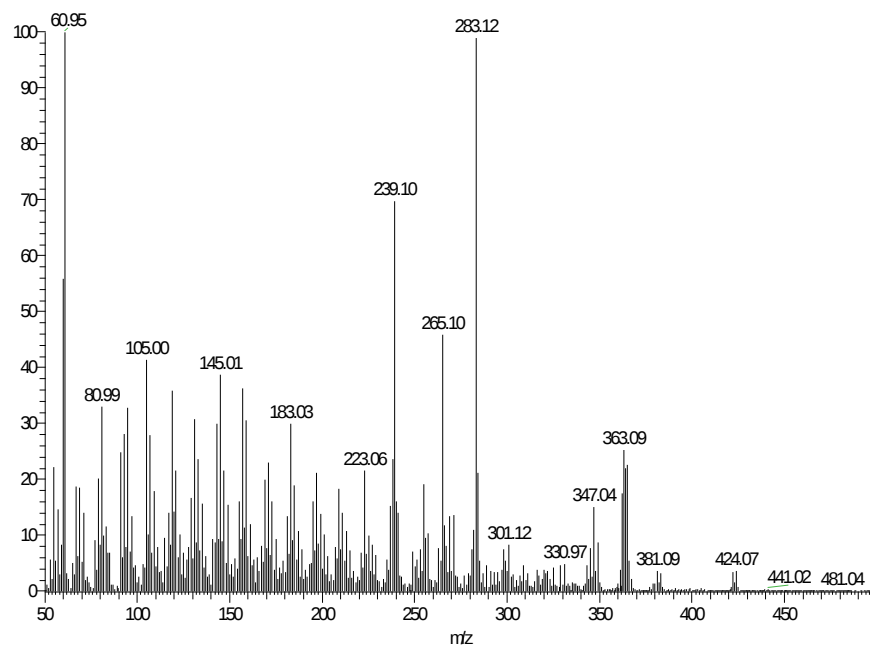
#	^1H
1a	1,79 m
1b	1,20 m
2	2,14 m
3	4,02 dd (11,9, 5,0)
4	
5	1,20 m
6a	1,79 m
6b	1,43 m
7a	2,36 ddd (12,8, 4,3, 2,6)
7b	1,95 ddd (12,8, 12,8, 5,0)
8	
9	1,51 m
10	
11	1,33 m
12a	1,67 m
12b	1,24 m
13	
14	5,87 dd (17,4, 10,8)
15a	5,18 dd (17,4, 1,2)
15b	5,05 dd (10,8, 1,2)
16a	4,81 br s
16b	4,48 br s
17	1,05 s
18	0,91 s
19	0,69 s
20	1,25 s
OH	1,54 br s

3.9. Μεταβολίτης 9

Ο μεταβολίτης **9** απομονώθηκε ως υποκίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 1,2 mg.



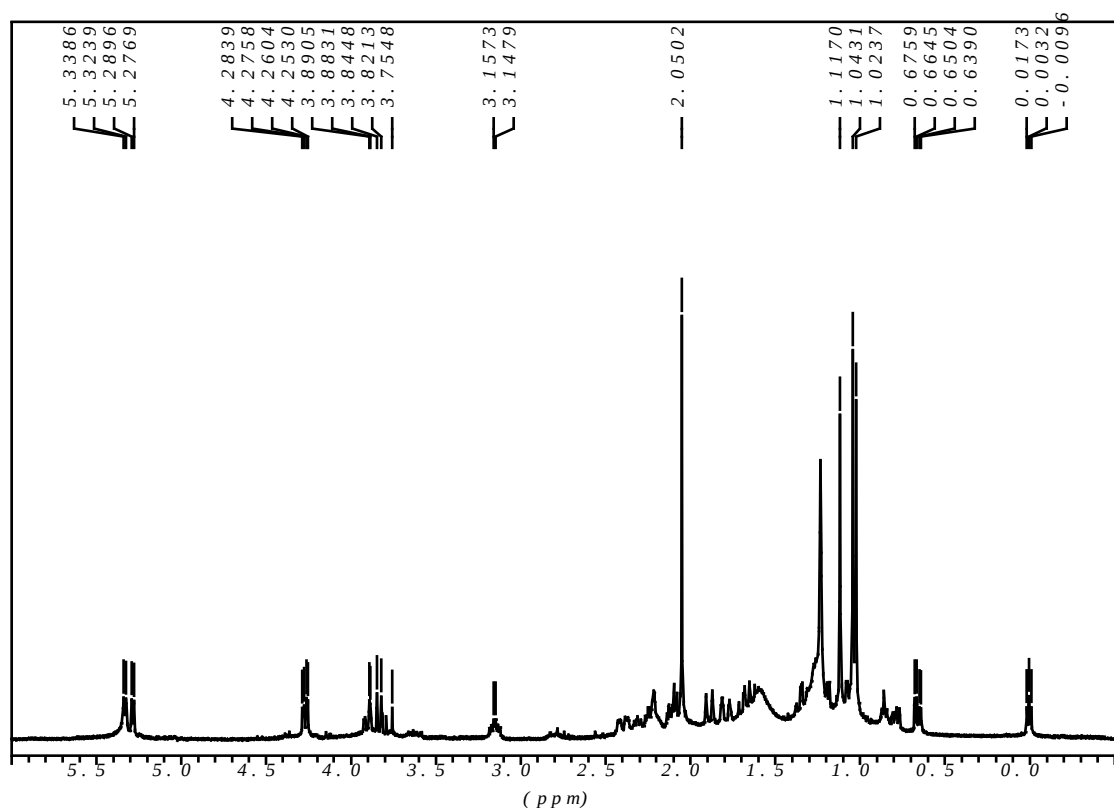
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **9** (Εικόνα 45) εμφάνισε θραύσμα $[M-OH+H]^+$ σε m/z 424 με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 426 υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου βρωμίου στο μόριο.



Εικόνα 45. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη **9**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **9** (Εικόνα 46) παρατηρήθηκαν: (i) δύο σήματα σε πολύ υψηλά πεδία (0,00 και 0,66 ppm) που αντιστοιχούν στο μεθυλένιο μίας

κυκλοπρόπυλο-ομάδας, (ii) ένα ολεφινικό μεθίνιο (5,33 ppm), ένα αλογονωμένο μεθίνιο (4,29 ppm), ένα οξυγονωμένο μεθίνιο (3,15 ppm) και ένα οξυγονωμένο μεθυλένιο (3,90 και 3,83 ppm), (iii) ένα μεθύλιο μιας ακετόξυ-ομάδας (2,05 ppm), η οποία είναι συνδεδεμένη με μεθίνιο (5,28 ppm), και (iv) τρεις απλές κορυφές σε δ 1,11, 1,04 και 1,02, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε τρία αλειφατικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.



Εικόνα 46. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **9**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **9** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{BrO}_4$. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα και το καρβονύλιο ως τους δύο από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι τετρακυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **9** με αυτά της βιβλιογραφίας για τετρακυκλικά δισκίτερπένια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μόριο δεοξυπαργκουερόλη (deoxyparguerol), το

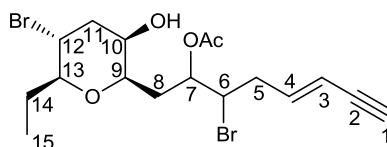
οποίο απομονώθηκε πρώτη φορά από το γαστερόποδο *A. dactylomela* (Schmitz *et al.*, 1982) και επείτα από ροδοφύκη του γένους *Laurencia* (Takeda *et al.*, 1990; Kurata *et al.*, 1998) και το ροδοφύκος *Jania rubens* (Awad, 2004). Έχει αναφερθεί ότι διαθέτει κυτταροτοξική και αντιτροφική δράση. Αξίζει να σημειωθεί ότι είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται από το είδος *L. microcladia*. Στον Πίνακα 75 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **9**.

Πίνακας 75. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **9**.

#	^1H
1ax	1,19 m
1eq	1,89 d (15,1)
2	5,28 br d (5,4)
3	0,79 dd (10,3, 5,4)
4	
5	1,07 m
6ax	1,67 m
6eq	2,12 m
7	3,15 ddd (10,7, 10,7, 4,6)
8	2,22 m
9	
10	
11	5,33 br d (5,9)
12ax	1,79 m
12eq	2,40 m
13	
14ax	1,35 m
14eq	2,25 dd (5,8, 3,1)
15	4,29 dd (9,2, 2,9)
16α	3,83 dd (12,5, 9,2)
16β	3,90 dd (12,5, 2,9)
17	1,04 s
18endo	0,00 dd (6,0, 6,0)
18exo	0,66 dd (10,3, 6,0)
19	1,02 s
20	1,12 s
OAc	2,05 s

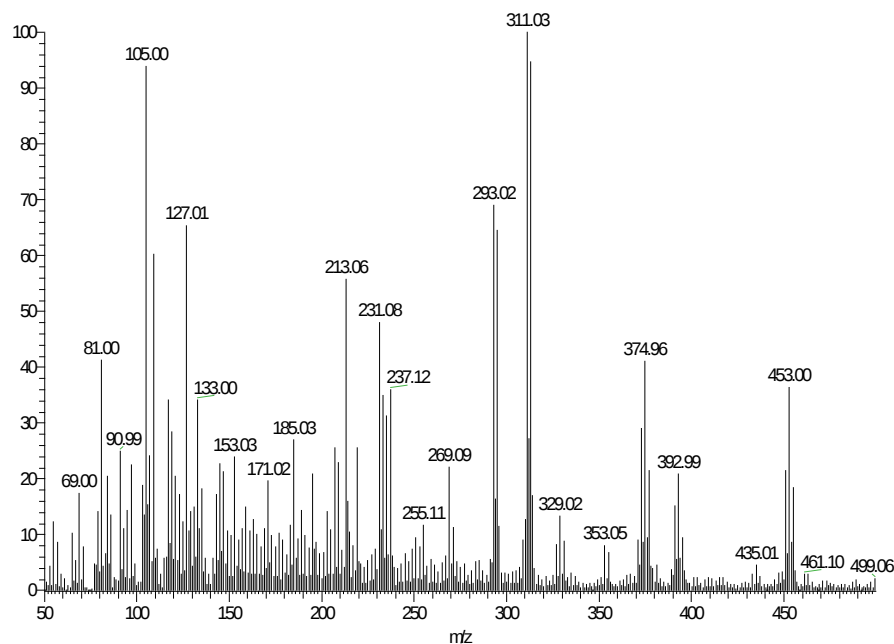
3.10. Μεταβολίτης 10

Ο μεταβολίτης **10** απομονώθηκε ως υποκίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 99,3 mg.



Μεταβολίτης 10

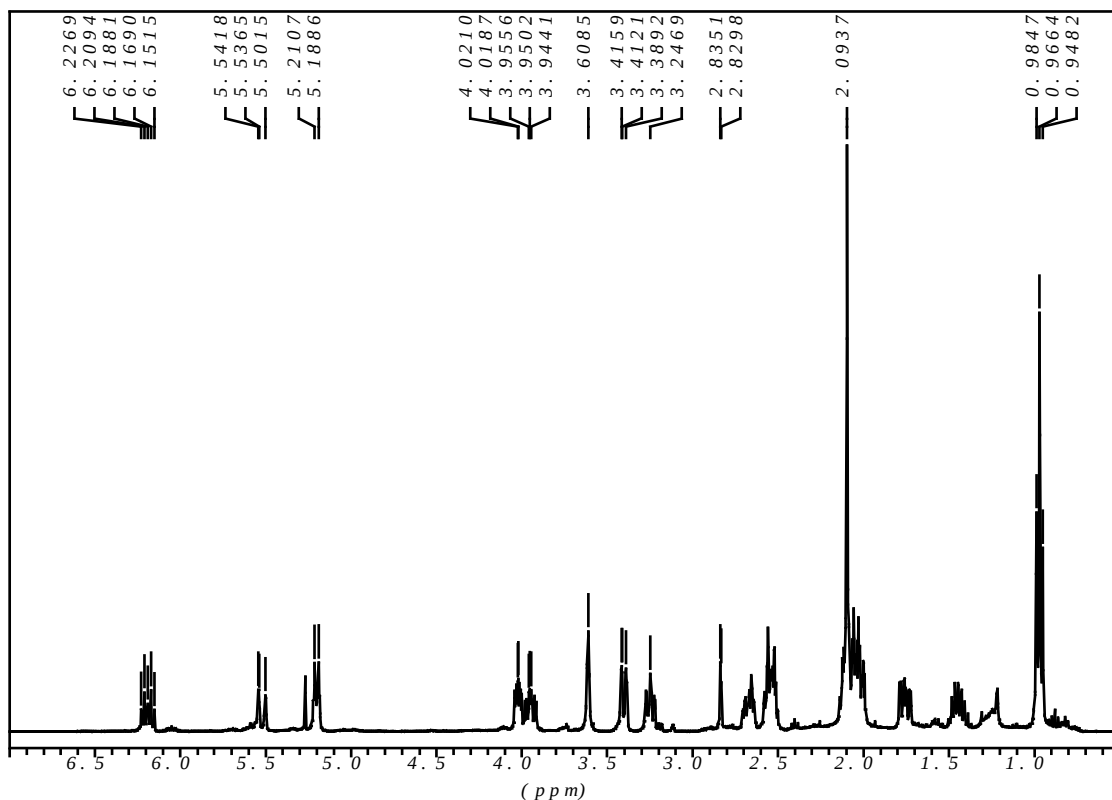
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **10** (Εικόνα 47) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 451, με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 453 και 455 με αναλογία μεταξύ τους 1:2:1, που υποδεικνύει την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου στο μόριο.



Εικόνα 47. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη **10**.

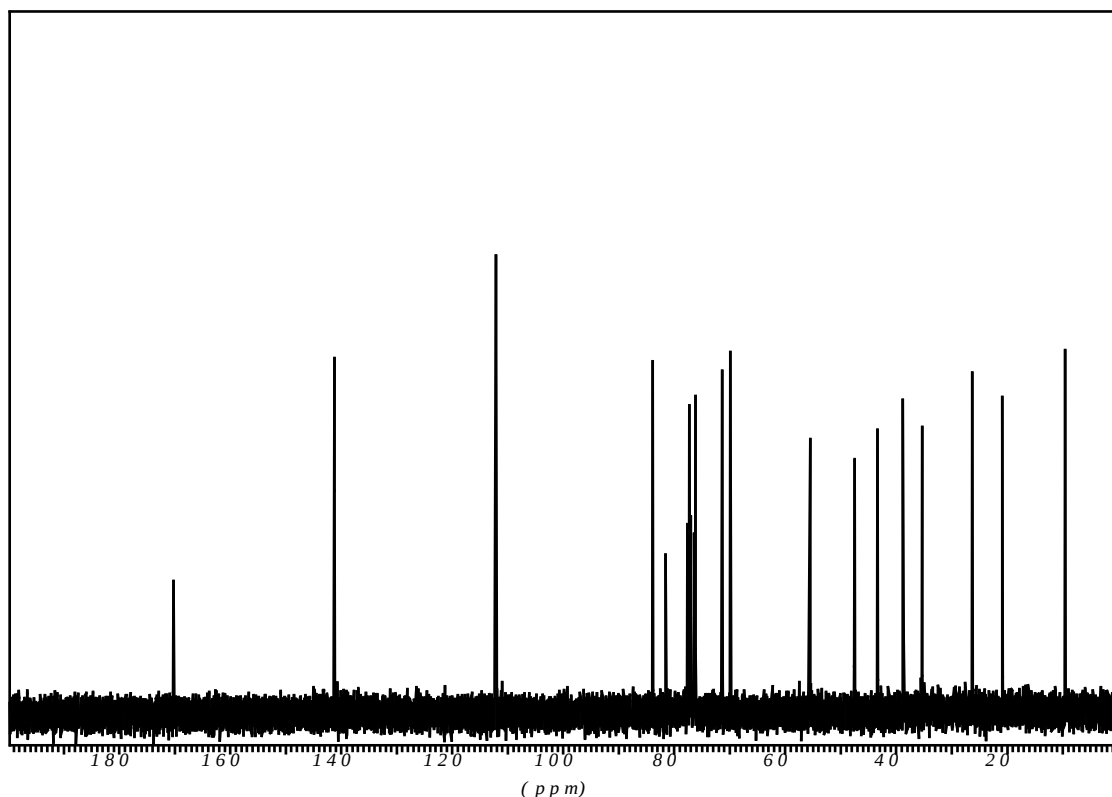
Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **10** (Εικόνα 48) παρατηρήθηκαν: (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,18 και 5,51 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 2,83 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *trans* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii), ένα μεθύλιο μιας ακετόξυ-ομάδας (2,09 ppm), η

οποία είναι συνδεδεμένη με μεθίνιο (5,20 ppm) (iii) πέντε ακόμα αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,02, 3,94, 3,60, 3,39, 3,24), και (iv) μία τριπλή κορυφή σε δ 0,96 που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της ακετογενίνης.



Εικόνα 48. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **10**.

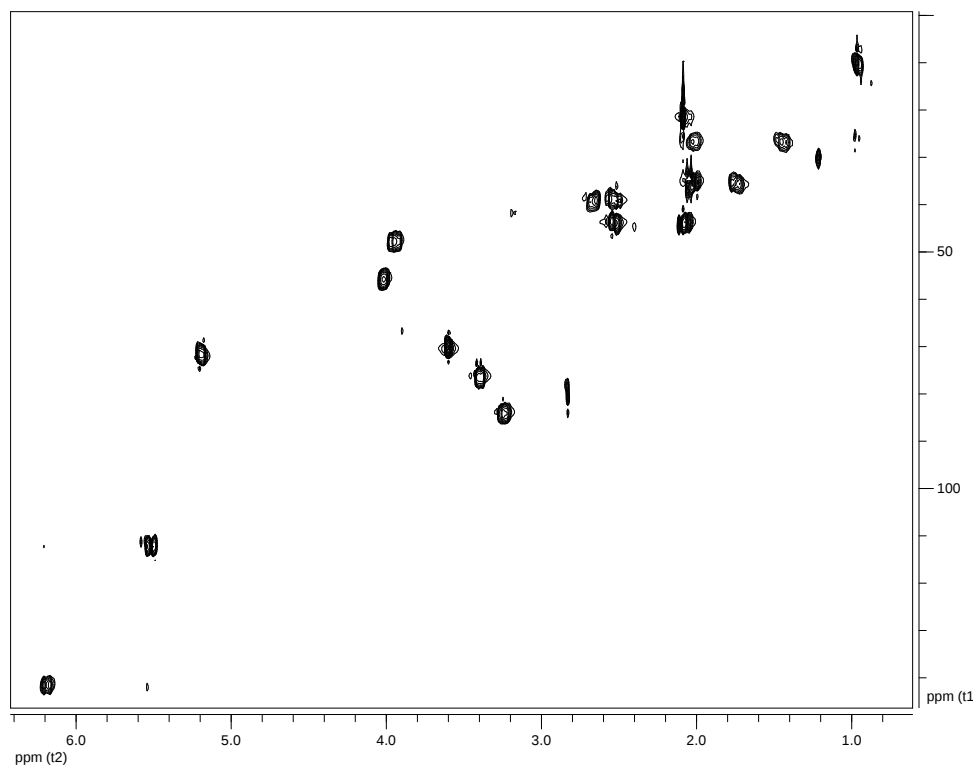
Στο φάσμα ^{13}C NMR του μεταβολίτη **10** (Εικόνα 49) εμφανίσθηκαν 17 κορυφές, οι οποίες σύμφωνα με το πείραμα HSQC-DEPT (Εικόνα 50) αντιστοιχούσαν σε δύο πρωτοταγή, τέσσερα δευτεροταγή, εννιά τριτοταγή και δύο τεταρτοταγή άτομα άνθρακα. Μεταξύ αυτών παρατηρήθηκαν: (i) ένας άνθρακας καρβονυλίου (169,9 ppm), (ii) δύο άνθρακες που συμμετέχουν σε διπλό δεσμό (141,0 και 111,8 ppm), (iii) δύο ακετυλениκοί (81,3 και 76,1 ppm), (iv) τέσσερις οξυγονωμένοι άνθρακες (83,6, 75,9, 71,1 και 69,6 ppm), και (v) δύο αλογονωμένοι άνθρακες (55,2 και 47,3 ppm).



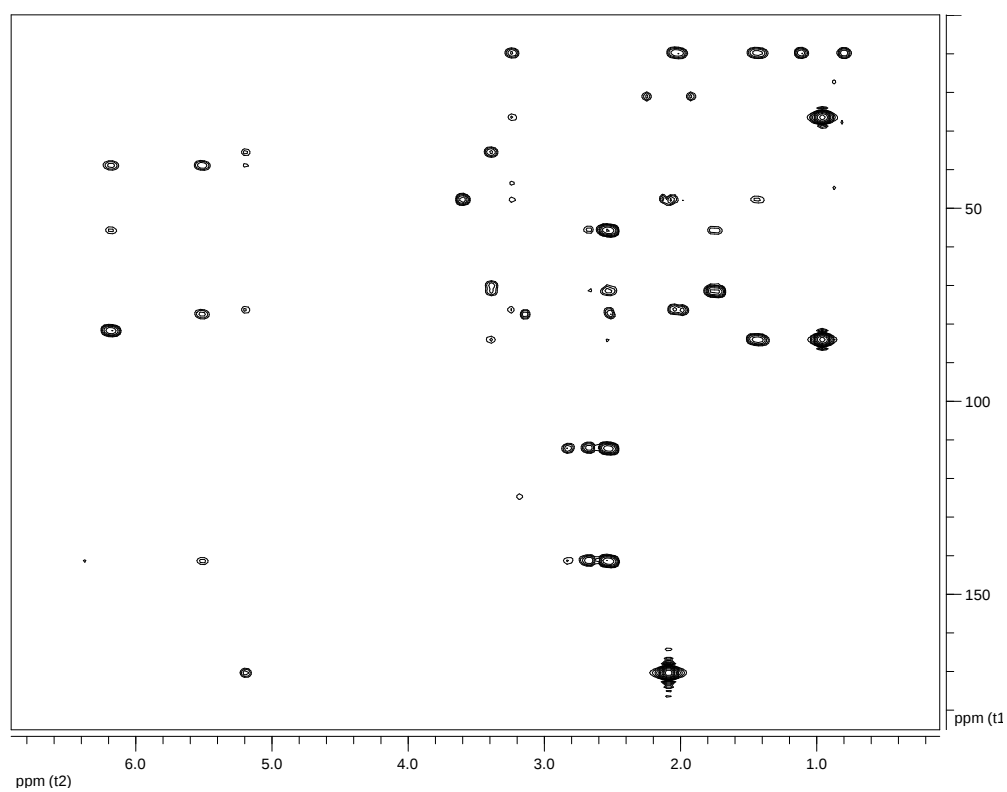
Εικόνα 49. Φάσμα ^{13}C NMR του μεταβολίτη **10**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **10** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{BrClO}_4$. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους τρεις από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό.

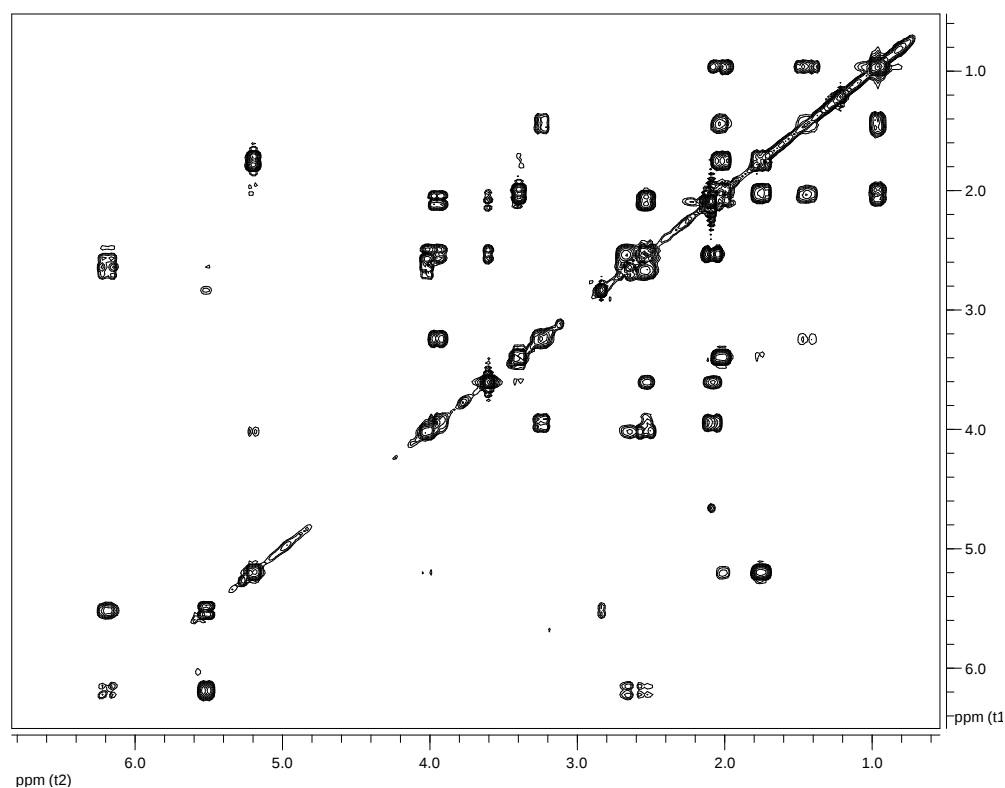
Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **10** αποδόθηκε με τη βοήθεια των φασμάτων HMBC (Εικόνα 51) και COSY (Εικόνα 52). Ιδιαίτερα σημαντικές είναι οι συσχετίσεις HMBC: (i) του C-1 με το H-3 και του C-2 με το H-4, που επιβεβαίωσαν την ύπαρξη και τη θέση της τελικής εν-yne ομάδας, (ii) του C-7 με τα H₃-17 και του C-16 με τα H-7 και H₃-17, που καθόρισαν τη θέση της ακετόξυ-ομάδας, (iii) του C-10 με τα H-8b και H-9 και του C-9 με το H-11b, που συνέδεσαν τα δύο μέρη του μορίου που προέκυπταν από το φάσμα COSY, και (iv) του C-9 με το H-13 και του C-13 με το H-9, που καθόρισαν την ύπαρξη και τη θέση του εξαμελούς κυκλικού δακτυλίου. Στην Εικόνα 53 φαίνεται σχηματικά η απεικόνιση των συζεύξεων ^1H - ^1H COSY και των συσχετίσεων HMBC.



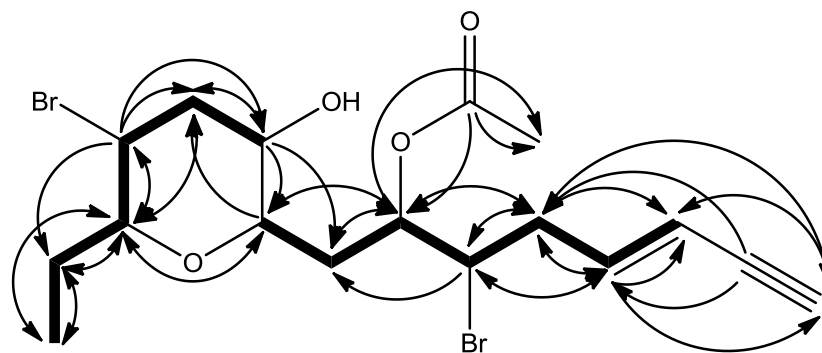
Εικόνα 50. Φάσμα HSQC-DEPT του μεταβολίτη **10**.



Εικόνα 51. Φάσμα HMBC του μεταβολίτη **10**.



Εικόνα 52. Φάσμα COSY του μεταβολίτη **10**.

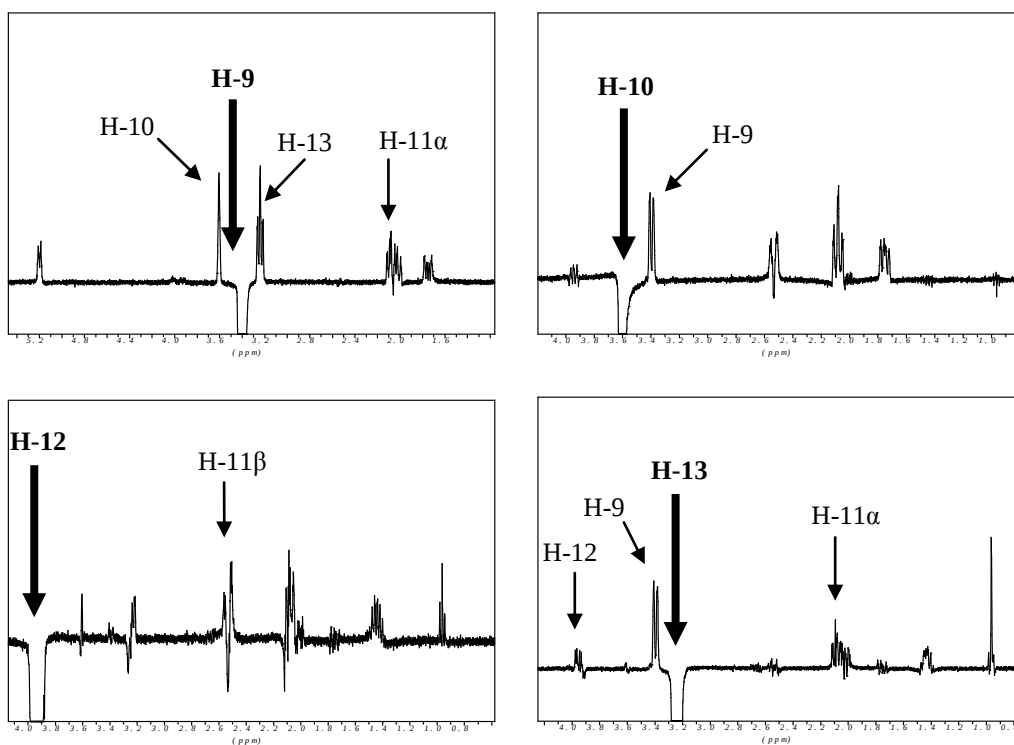
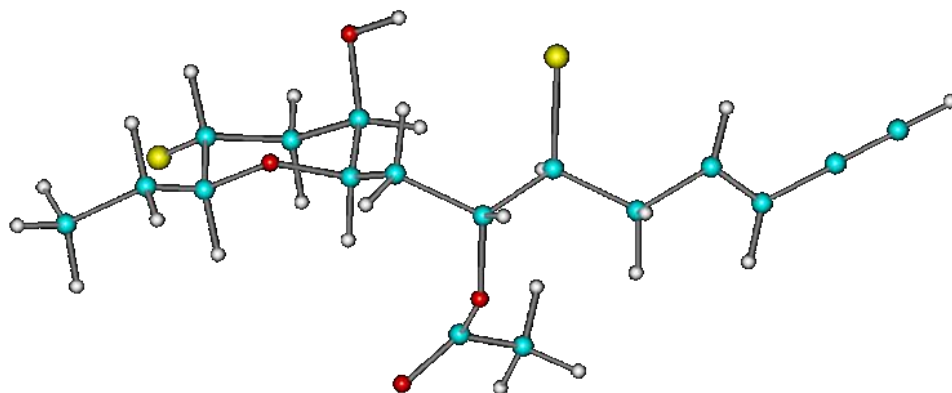


Εικόνα 53. Σχηματική απεικόνιση συζεύξεων ^1H - ^1H COSY και συσχετίσεων HMBC

Η απόδοση της σχετικής στεreoχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη **10** πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια επιλεγμένων πειραμάτων 1D-NOE (Εικόνα 54).

Η συσχέτιση NOE μεταξύ των H-9 και H-13 υποδεικνύει ότι τα δύο πρωτόνια έχουν αξονική διεύθετηση. Το H-11α παρουσιάζει συσχέτιση στο χώρο και με τα δύο αυτά πρωτόνια, ενώ το H-11β έχει με το H-12. Αυτό σε συνδυασμό με τη μεγάλη σταθερά

σύζευξης που παρουσιάζουν μεταξύ τους τα H-12 και H-13 ($J_{12,13}=10,3$ Hz), αλλά και την απουσία συσχέτισης NOE μεταξύ τους υποδηλώνει ότι το H-12 έχει και αυτό αξονική διεύθυνση. Τα H-9 και H-10 εμφανίζουν συσχέτιση NOE, άρα το H-10 βρίσκεται σε ισημερινή διεύθυνση. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη μικρή σταθερά σύζευξης που έχει με τα H-11α και H-11β. Με βάση τις ανωτέρω παρατηρήσεις, η σχετική στεreoχημεία του μορίου αποδόθηκε ως 9*R**,10*R**,12*R**,13*S**.



Εικόνα 54. Φάσματα 1D-NOE του μεταβολίτη **10**.

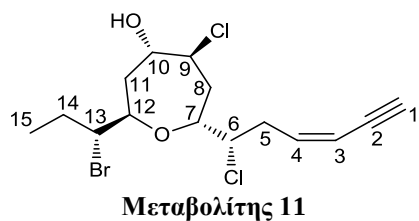
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **10** με αυτά της βιβλιογραφίας για C₁₅ ακετογενίνες με εξαμελή κυκλικό δακτύλιο οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για νέο φυσικό προϊόν. Μέχρι στιγμής έχουν απομονωθεί συνολικά πέντε C₁₅ ακετογενίνες αυτού του τύπου, οι οποίες είναι: (i) η δακτυλίνη (dactylyne) και η ισοδακτυλίνη (isodactylyne) από το γαστερόποδο *A. dactylomela* (McDonald *et al.*, 1975 ; Vanderah and Schmitz, 1976), (ii) η σριλανκενίνη (srilankenyne) από το γαστερόποδο *Aplysia oculifera* (De Silva *et al.*, 1983), (iii) η σκανλονενίνη (scanlonenyne) από το φύκος *L. obtusa* (Suzuki *et al.*, 1997), και (iv) η μπισεζακίνη B (bisezakynine B) από ένα ιαπωνικό είδος *Laurencia sp.* (Suzuki *et al.*, 1999). Στον Πίνακα 76 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **10**.

Πίνακας 76. ¹H και ¹³C NMR δεδομένα του μεταβολίτη **10**.

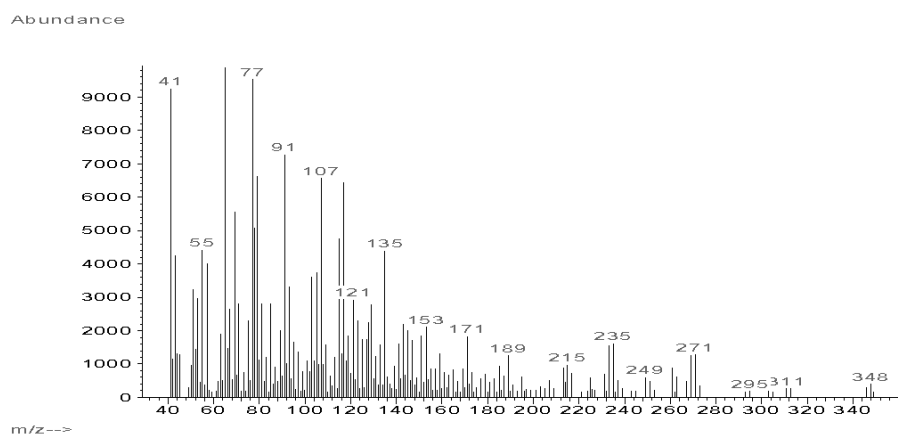
#	¹³ C	¹ H	¹ H- ¹ H COSY	HMBC
1	76,1 d	2,83 d (1,9)	H-1	H-3, H-5b
2	81,3 s	-		H-4, H-5b
3	111,8 d	5,51 dd (15,9, 1,9)	H-1, H-4	H-1, H ₂ -5
4	141,0 d	6,18 ddd (15,9, 7,3, 7,0)	H-3, H-5a, H-5b	H-1, H-3, H ₂ -5, H-6
5a	38,5 t	2,66 m	H-4, H-5b, H-6	H-3, H-4, H-6, H-7
b		2,54 m	H-4, H-5a, H-6	
6	55,2 d	4,02 ddd (8,8, 4,9, 2,8)	H-5a, H-5b, H-7	H-4, H ₂ -5, H ₂ -8
7	71,1 d	5,20 ddd (9,2, 2,8, 2,8)	H-6, H-8a, H-8b	H ₂ -5, H-8b, H-9, H ₃ -17
8a	35,1 t	2,02 m	H-7, H-8b, H-9	H-7, H-9
b		1,75 ddd (14,8, 9,2, 2,1)	H-7, H-8b, H-9	
9	75,9 d	3,39 dd (10,8, 2,1)	H-8a, H-8b	H-8a, H-11α
10	69,6 d	3,60 dd (2,8, 2,8)	H-11α, H-11β	H-8b, H-9, H-11β
11α	43,1 t	2,08 m	H-10, H-11β, H-12	H-10, H-13
β		2,51 m	H-10, H-11α, H-12	
12	47,3 d	3,94 ddd (12,3, 10,3, 4,7)	H-11α, H-11β, H-13	H-10, H ₂ -11, H-13, H ₂ -14
13	83,6 d	3,24 ddd (10,3, 8,7, 2,2)	H-12, H-14b	H-9, H ₂ -11, H-12, H ₂ -14, H ₃ -15
14a	26,0 t	2,00 m	H-14b, H ₃ -15	H-13, H ₃ -15
b		1,44 ddq (14,2, 8,7, 7,2)	H-13, H-14a, H ₃ -15	
15	9,3 q	0,96 t (7,2)	H-14a, H-14b	H-13, H ₂ -14
16	169,9 s	-		H-7, H ₃ -17
17	20,6 q	2,09 s		

3.11. Μεταβολίτης 11

Ο μεταβολίτης **11** απομονώθηκε ως υποκίτρινο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 2,6 mg.



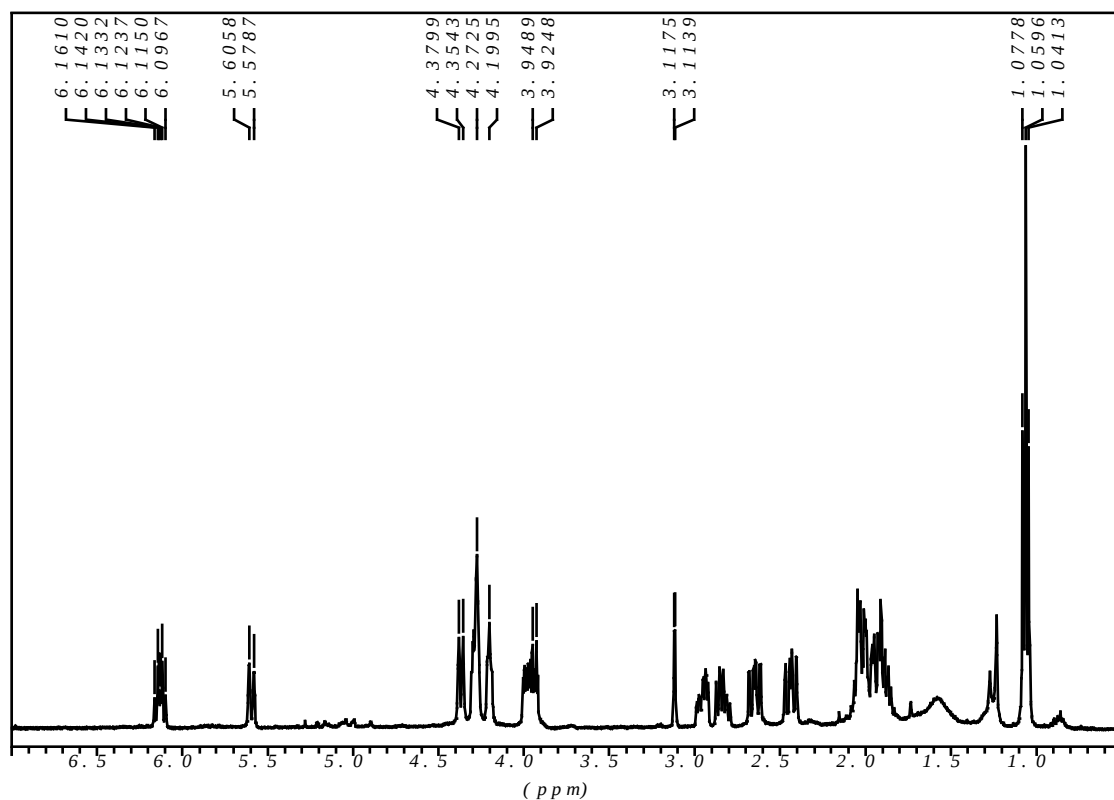
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **11** (Εικόνα 55) εμφάνισε τα εξής χαρακτηριστικά θραύσματα: $[M-HCl]^+$ σε m/z 346 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 348 και 350), $[M-Br]^+$ σε m/z 303 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 305 και 307) και $[M-C_6H_6Cl]^+$ σε m/z 269 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 271 και 273), υποδεικνύοντας την ύπαρξη δύο ατόμων χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου στο μόριο.



Εικόνα 55. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **11**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **11** (Εικόνα 56) παρατηρήθηκαν: (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,13 και 5,59 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 3,12 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *cis* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) έξι αλογωνωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,37, 4,30, 4,27, 4,20, 3,98, 3,94), και (iii) μία τριπλή κορυφή σε δ 1,06 που ολοκληρώνει για

τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της ακετογενίνης.



Εικόνα 56. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **11**.

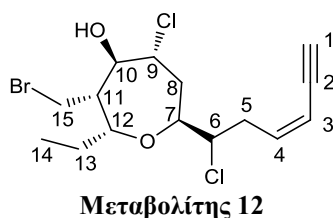
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **11** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{BrCl}_2\text{O}_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους τρεις από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **11** με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη βινυλοακετυλενική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για τη γνωστή επταμελή κυκλική ακετογενίνη ροτζιολοξεπάνη C (rogioloxerane C), η οποία έχει απομονωθεί από το φύκος *L. microcladia* (Guella *et al.*, 1992b). Στον Πίνακα 77 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **11**.

Πίνακας 77. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **11**.

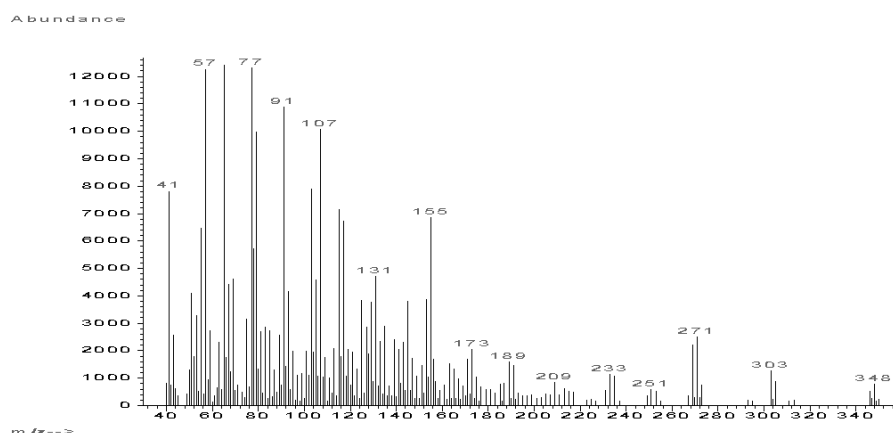
#	^1H
1	3,12 d (1,9)
2	
3	5,59 dd (10,6, 1,9)
4	6,13 ddd (10,6, 7,1, 7,1)
5a	2,95 m
5b	2,83 m
6	3,98 ddd (9,9, 4,5, 2,6)
7	4,37 ddd (10,2, 2,6, 2,6)
8a	2,65 ddd (15,6, 10,2, 2,4)
8b	2,02 m
9	4,27 m
10	4,20 m
11a	2,00 m
11b	2,44 ddd (15,4, 10,3, 1,6)
12	4,30 m
13	3,94 m
14a	1,89 m
14b	2,00 m
15	1,06 t (7,3)

3.12. Μεταβολίτης 12

Ο μεταβολίτης **12** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 1,8 mg.



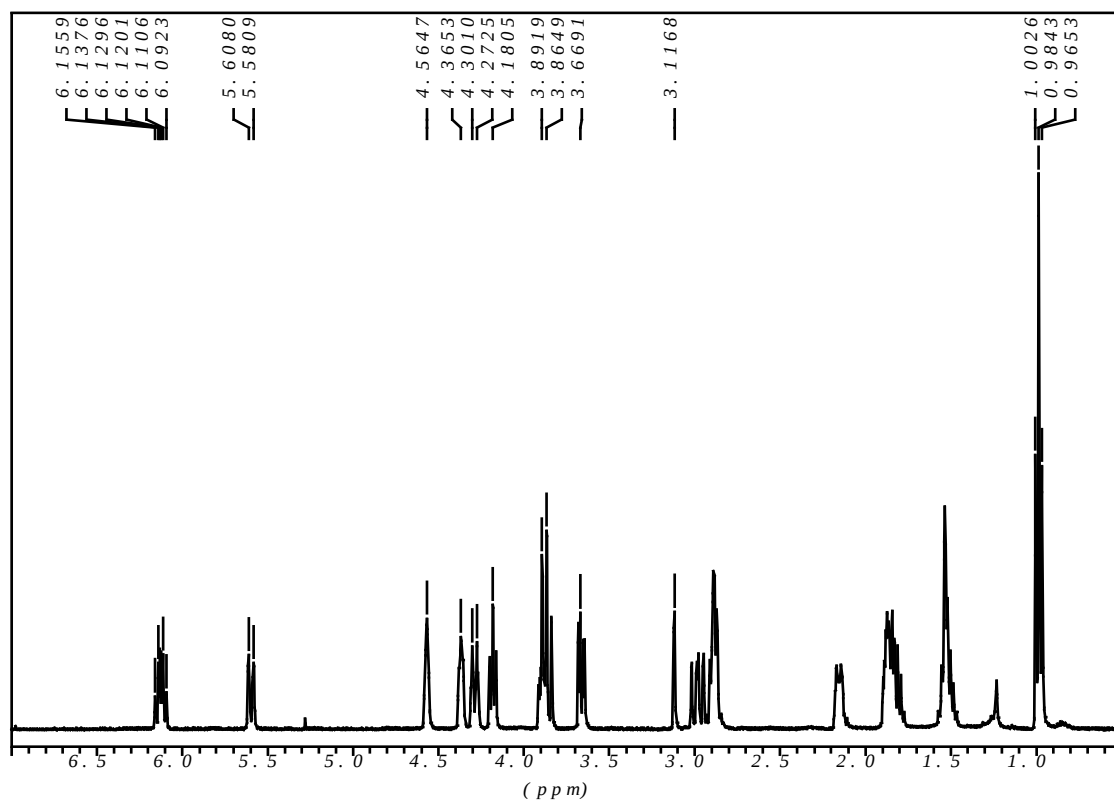
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **12** (Εικόνα 57) εμφάνισε τα ίδια χαρακτηριστικά θραύσματα με το μεταβολίτη **11**, υποδεικνύοντας ότι οι δύο ουσίες είναι πιθανότατα διαστεreoϊσομερή.



Εικόνα 57. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **12**.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **12** (Εικόνα 58) παρατηρήθηκαν: (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,12 και 5,60 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 3,12 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *cis* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) πέντε αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,57, 4,37, 4,29, 4,18, 3,89), (iii) ένα αλογονωμένο μεθυλένιο (δ 3,88, 3,86) που υποδηλώνει την παρουσία πλευρικής αλυσίδας στη γραμμική αλυσίδα της C_{15} ακετογενίνης, και (iv) μία τριπλή κορυφή σε δ 0,98 που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια

και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της ακετογενίνης.



Εικόνα 58. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **12**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **12** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{BrCl}_2\text{O}_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τον ένα διπλό και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους τρεις από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **12** με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη βινυλοακετυλενική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για τη γνωστή διακλαδισμένη επταμελή μονοκυκλική ακετογενίνη ροτζιολενίνη B (rogiolepyne B), η οποία απομονώθηκε αρχικά από το σπόγγο *Spongia zimocca* (Guella *et al.*, 1991) και έπειτα από τα ροδοφύκη *L. microcladia* και *L. obtusa* (Guella *et al.*, 1992a; Aydoğmuş *et al.*, 2004). Οι διακλαδισμένες ακετογενίνες αυτού του τύπου έχει προταθεί ότι προέρχονται βιοσυνθετικά από γραμμικό C_{15} πρόδρομο μόριο που διαθέτει

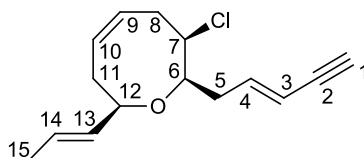
κυκλοπροπυλομάδα, η οποία ανοίγει με πυρηνόφιλη υποκατάσταση βρωμίου σχηματίζοντας έτσι το πλευρικό βρωμομεθυλένιο. Στον Πίνακα 78 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **12**.

Πίνακας 78. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **12**.

#	^1H
1	3,12 d (1,7)
2	
3	5,60 dd (11,0, 1,7)
4	6,12 ddd (11,0, 7,3, 7,3)
5a	2,89 m
5b	2,89 m
6	3,89 m
7	4,29 ddd (11,5, 3,0, 3,0)
8a	2,98 ddd (15,7, 11,5, 1,2)
8b	1,87 m
9	4,37 m
10	4,57 br s
11	2,15 m
12	4,18 m
13a	1,82 m
13b	1,52 m
14	0,98 t (7,4)
15a	3,88 m
15b	3,66 dd (10,8, 4,3)

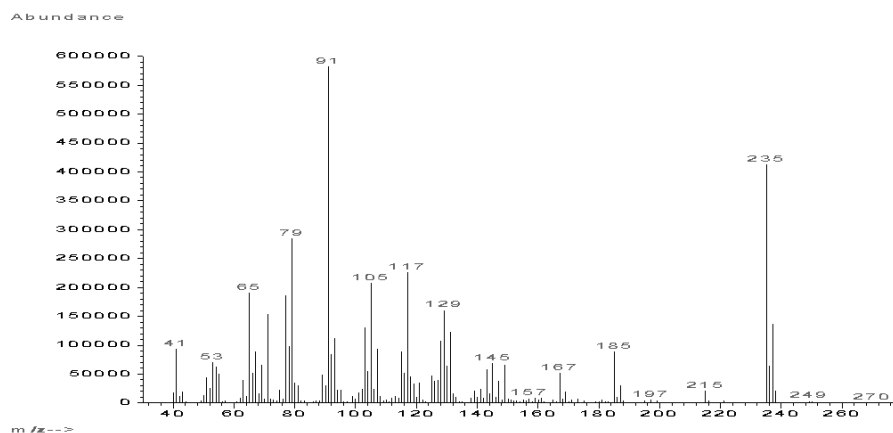
3.13. Μεταβολίτης 13

Ο μεταβολίτης **13** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 24,6 mg.



Μεταβολίτης 13

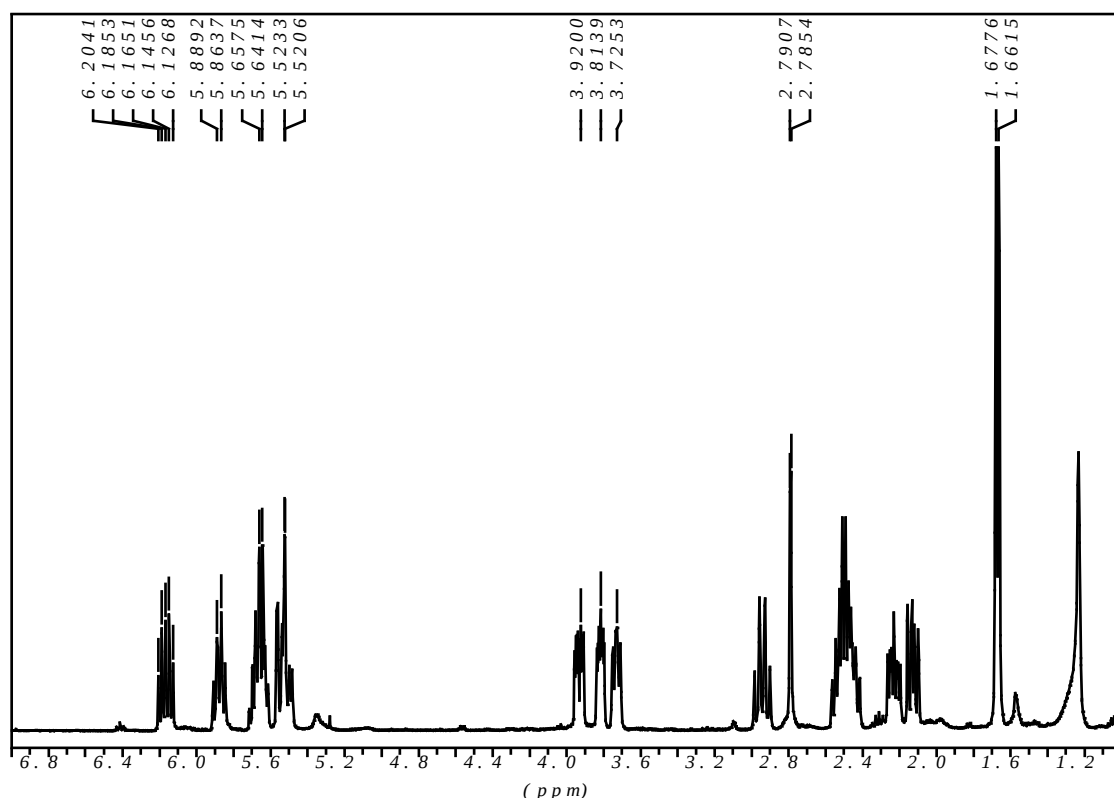
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **13** (Εικόνα 59) εμφάνισε τα εξής χαρακτηριστικά θραύσματα: $[M-CH_3]^+$ σε m/z 235 (με ισοτοπική κορυφή σε m/z 237 με αναλογία μεταξύ τους 3:1), $[M-Cl]^+$ σε m/z 215 και $[M-C_5H_5]^+$ σε m/z 185 (με ισοτοπική κορυφή σε m/z 187 με αναλογία μεταξύ τους 3:1), υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός χλωρίου στο μόριο.



Εικόνα 59. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **13**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **13** (Εικόνα 60) παρατηρήθηκαν: (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,17 και 5,55 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 2,79 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *trans* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) τέσσερα ακόμη ολεφινικά μεθίνια (δ 5,88, 5,67, 5,67, 5,52), που δηλώνουν την ύπαρξη δύο επιπλέον 1,2-διυποκατεστημένων διπλών δεσμών, (iii) τρία αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 3,93, 3,82, 3,73), και (iv) μία

διπλή κορυφή σε δ 1,67 που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της ακετογενίνης, το οποίο πιθανά είναι βινυλικό.



Εικόνα 60. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **13**.

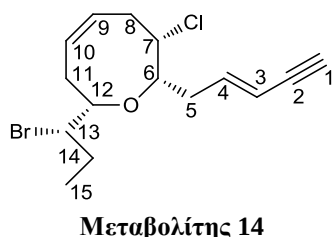
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **13** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους πέντε από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **13** με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη βινυλοακετυλενική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για τη γνωστή οκταμελή κυκλική ακετογενίνη *3E*-λαουρενίνη (*3E*-laurenyne), η οποία έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Falshaw *et al.*, 1980; Overman and Thomson, 1988). Στον Πίνακα 79 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **13**.

Πίνακας 79. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **13**.

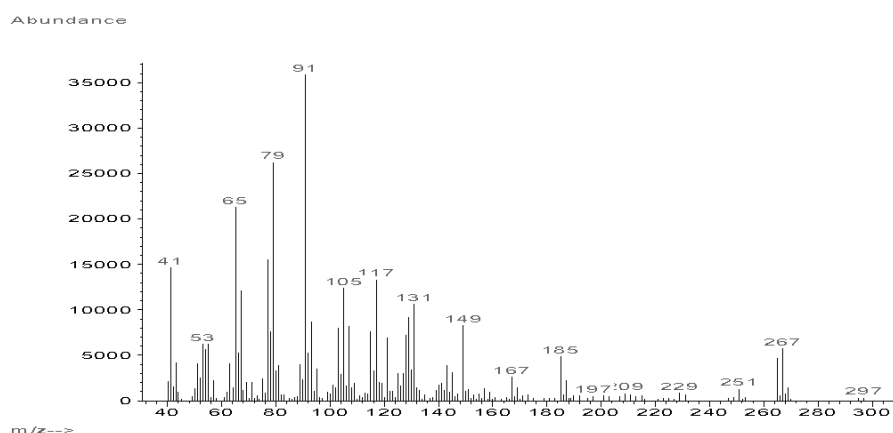
#	^1H
1	2,79 d (2,2)
2	
3	5,55 m
4	6,17 dt (15,4, 7,6)
5	2,49 m
	2,23 dddd (14,0, 8,0, 4,8, 1,1)
6	3,82 ddd (8,6, 4,8, 2,5)
7	3,93 ddd (11,5, 4,9, 2,5)
8	2,94 m
	2,60-2,45 m
9	5,67 m
10	5,88 m
11	2,49 m
	2,13 ddd (14,2, 8,9, 1,5)
12	3,73 dd (8,9, 6,8)
13	5,52 m
14	5,67 m
15	1,67 d (6,5)

3.14. Μεταβολίτης 14

Ο μεταβολίτης **14** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 2,5 mg.



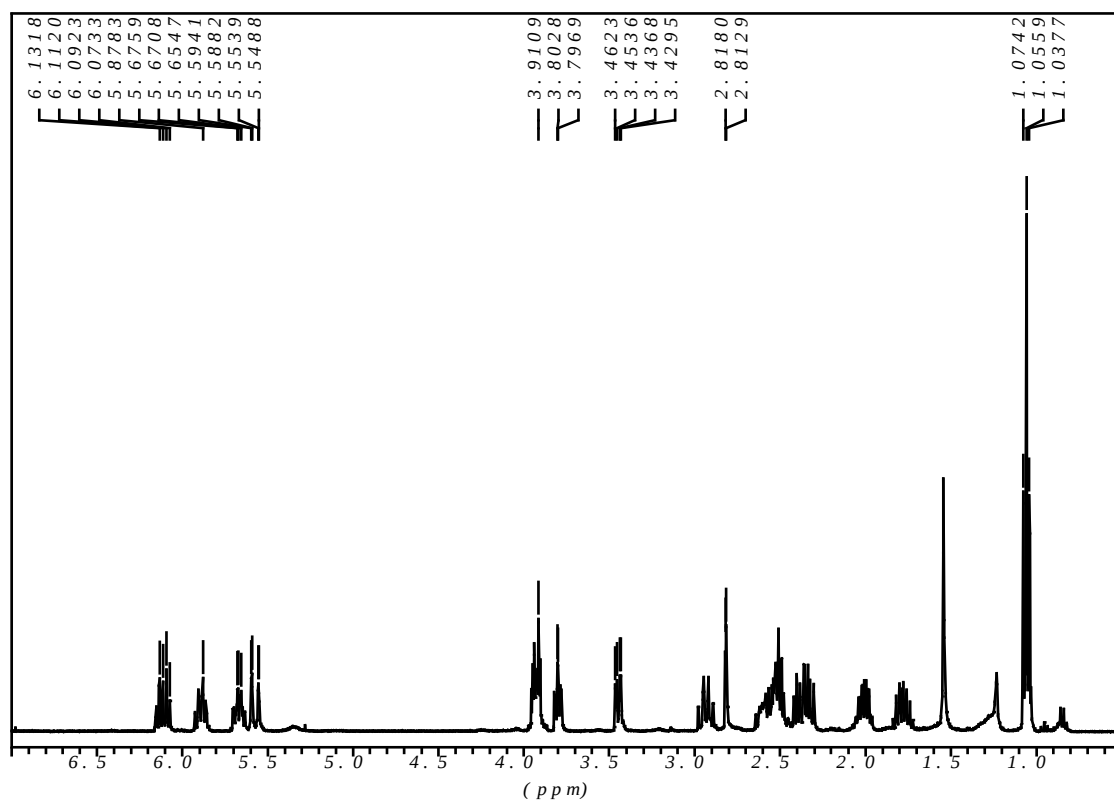
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **14** (Εικόνα 61) εμφάνισε τρία χαρακτηριστικά θραύσματα, $[M-Cl]^+$ σε m/z 295 (με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 297), $[M-C_5H_5]^+$ σε m/z 265 (με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 267 και 269 με χαρακτηριστική αναλογία για ένα άτομο χλωρίου και ένα άτομο βρωμίου) και $[M-Br]^+$ σε m/z 251 (με ισοτοπική κορυφή σε m/z 253 με αναλογία 3:1 μεταξύ τους), υποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου στο μόριο.



Εικόνα 61. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **14**.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **14** (Εικόνα 62) παρατηρήθηκαν: (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,11 και 5,57 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 2,82 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *trans* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) δύο ακόμη ολεφινικά μεθίνια (δ 5,89, 5,67), που

δηλώνουν την ύπαρξη ενός επιπλέον 1,2-διυποκατεστημένου διπλού δεσμού, (iii) τέσσερα αλογωνωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνα (δ 3,92, 3,92, 3,80, 3,45), και (iv) μία τριπλή κορυφή σε δ 1,06 που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της ακετογενίνης.



Εικόνα 62. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **14**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **14** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrClO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους τέσσερις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **14** με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη βινυλοακετυλενική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται είτε για τη γνωστή οκταμελή κυκλική ακετογενίνη *trans*-πιννατιφιδενίνη (*trans*-pinnatifidenyne), η οποία έχει απομονωθεί από το φύκος *L. pinnatifida* (González *et al.*,

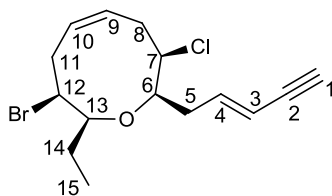
1982b; Norte *et al.*, 1991) και από το γαστερόποδο *A. dactylomela* (Manzo *et al.*, 2005). Είναι η πρώτη φορά που απομονώνεται ο συγκεκριμένος μεταβολίτης από το είδος *L. obtusa*. Στον Πίνακα 80 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **14**.

Πίνακας 80. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **14**.

#	^1H
1	2,82 d (1,8)
2	
3	5,57 dd (15,7, 1,8)
4	6,11 ddd (15,7, 7,6, 7,6)
5a	2,51 m
5b	2,38 m
6	3,80 ddd (7,2, 7,0, 2,5)
7	3,92 m
8a	2,93 m
8b	2,51 m
9	5,67 ddd (9,2, 8,1, 0,7)
10	5,89 m
11a	2,60 m
11b	2,33 m
12	3,45 m
13	3,92 m
14a	2,01 ddq (14,5, 7,2, 3,3)
14b	1,78 ddq (14,5, 7,2, 7,2)
15	1,06 t (7,2)

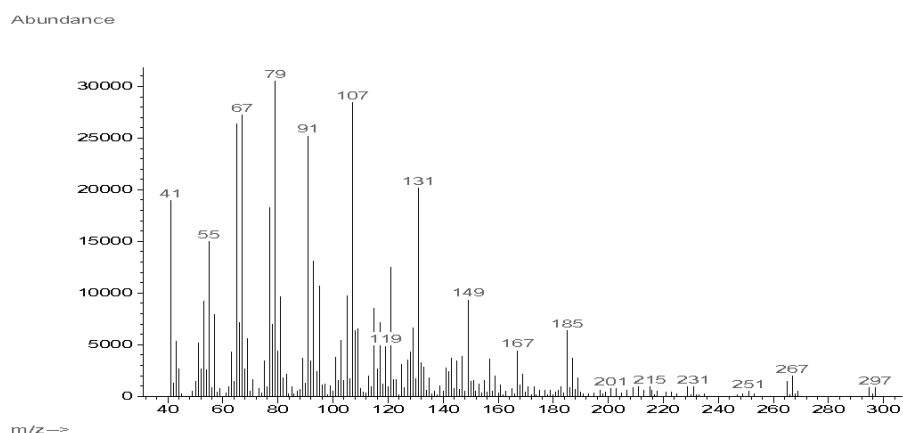
3.15. Μεταβολίτης 15

Ο μεταβολίτης **15** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 5,0 mg.



Μεταβολίτης 15

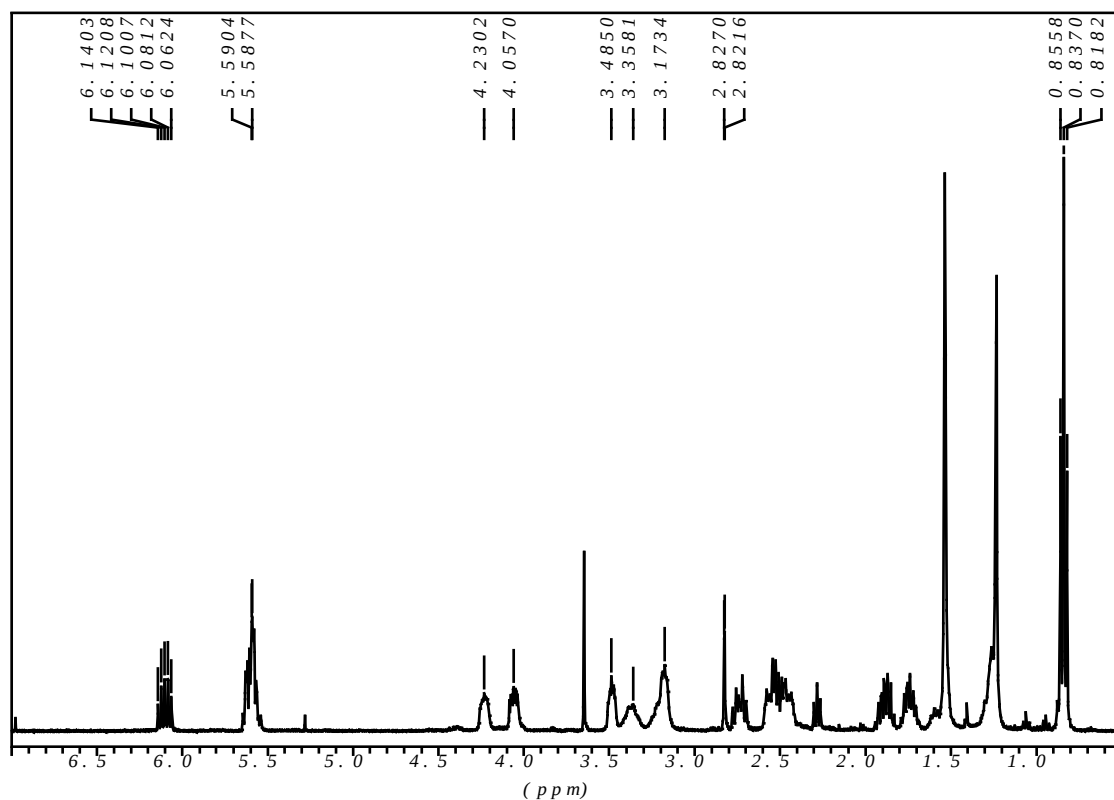
Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **15** (Εικόνα 63) εμφάνισε εμφάνισε τα ίδια χαρακτηριστικά θραύσματα με το μεταβολίτη **14**, υποδεικνύοντας ότι οι δύο ουσίες είναι πιθανότατα ισομερή.



Εικόνα 63. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **15**.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **15** (Εικόνα 64) παρατηρήθηκαν : (i) χαρακτηριστικά σήματα δύο ολεφινικών μεθινίων στα 6,10 και 5,62 ppm και ενός ακετυλενικού πρωτονίου στα 2,84 ppm, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός *trans* en-yne συστήματος σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) δύο ακόμη ολεφινικά μεθίνια (δ 5,59, 5,57), που δηλώνουν την ύπαρξη ενός επιπλέον 1,2-διυποκατεστημένου διπλού δεσμού, (iii) τέσσερα αλογωνωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,23, 4,06, 3,49, 3,18), και (iv) μία τριπλή κορυφή σε δ 0,84 που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί στο τελικό μεθύλιο της

ακετογενίνης.



Εικόνα 64. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 15.

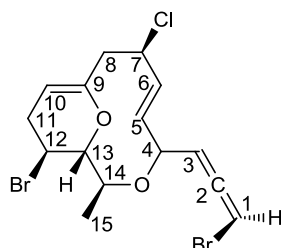
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του 15 οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrClO}$. Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς και τον ένα τριπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως τους τέσσερις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι μονοκυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη 15 με αυτά της βιβλιογραφίας για μονοκυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη βινυλοακετυλενική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για τη γνωστή εννιαμελή κυκλική ακετογενίνη 3*E*,6*R**,7*R** -ομπουσενίνη (3*E*,6*R**,7*R** -obtusenyne) (Norte *et al.*, 1991; Awakura *et al.*, 1999; Manzo *et al.*, 2005). Στον Πίνακα 81 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη 15.

Πίνακας 81. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **15**.

#	^1H
1	2,84 br d (2,1)
2	
3	5,62 m
4	6,10 ddd (15,5, 7,6, 7,6)
5a	2,74 m
5b	2,52 m
6	3,49 m
7	4,06 ddd (10,2, 5,7, 3,2)
8a	3,19 m
8b	2,44 m
9	5,57 m
10	5,59 m
11a	3,37 m
11b	2,58 m
12	4,23 m
13	3,18 m
14a	1,89 ddq (14,9, 9,1, 7,5)
14b	1,74 m
15	0,84 t (7,5)

3.16. Μεταβολίτης 16

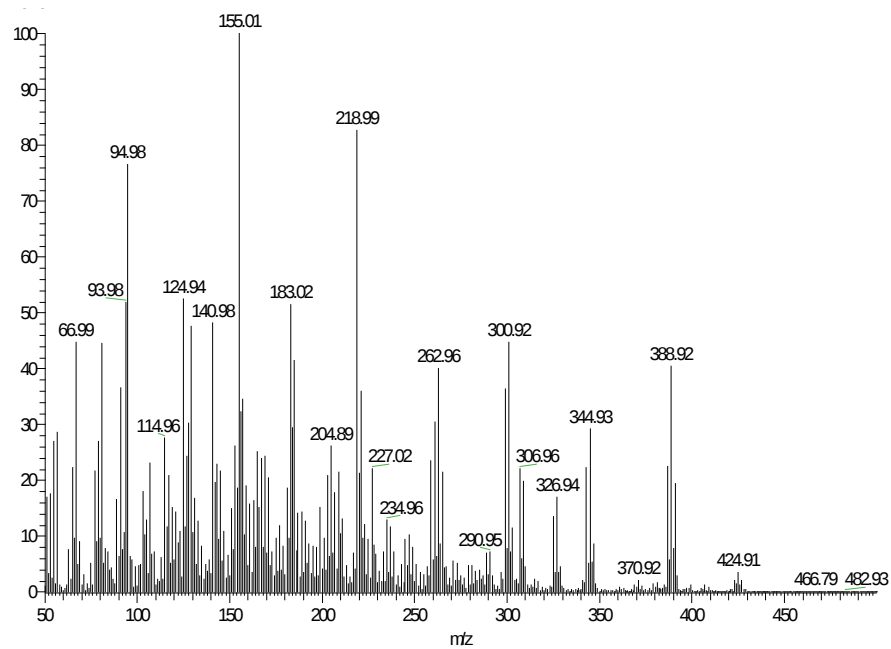
Ο μεταβολίτης **16** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 17,2 mg.



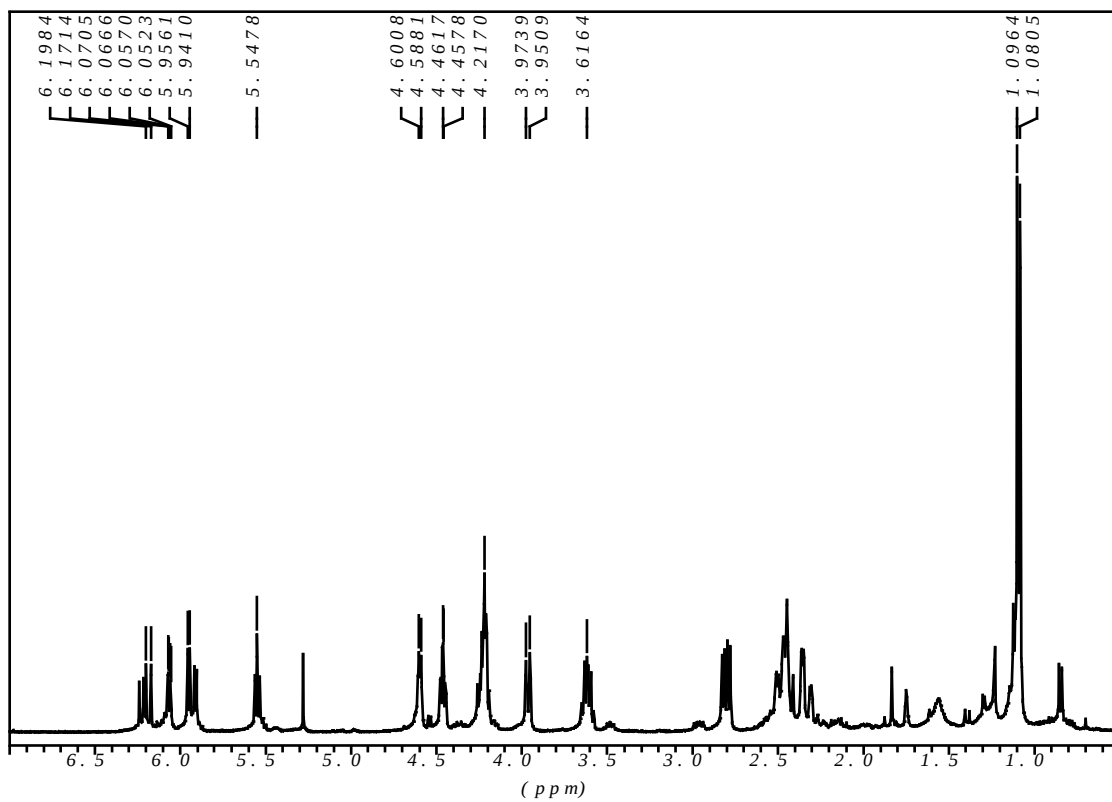
Μεταβολίτης 16

Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **16** (Εικόνα 65) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 422 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 424, 426 και 428, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκαν θραύσματα: (i) $[M-Cl]^+$ σε m/z 387, με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 389 και 391, με αναλογία 1:2:1 μεταξύ τους, και (ii) $[M-Br]^+$ σε m/z 343 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 345 και 347, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου στο θραύσμα.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **16** (Εικόνα 66) παρατηρήθηκαν: (i) δύο σήματα μεθινικών πρωτονίων με μικρή σύζευξη μεταξύ τους, εκ των οποίων το ένα εμφανιζόταν αποθωρακισμένο (δ 6,06 και 5,55, $J=5,9$ Hz), που υποδεικνύει την ύπαρξη βρωμιωμένης τελικής αλλυλικής αλυσίδας σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) τρία ακόμη μεθινικά πρωτόνια σε δ 6,21, 5,93 και 4,59, που δηλώνουν την ύπαρξη δύο ακόμη διπλών δεσμών στο μόριο, (iii) πέντε αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,46, 4,24, 4,21, 3,96, 3,61), και (iv) μία διπλή κορυφή στα 1,09 ppm που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ένα μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 65. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη 16.



Εικόνα 66. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 16.

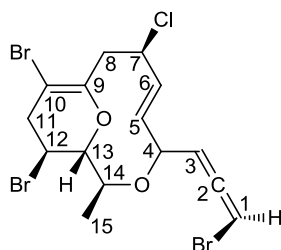
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **16** οδήγησε στον μοριακό τύπο $C_{15}H_{17}Br_2ClO_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τέσσερις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους τέσσερις από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **16** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη αλλυλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπτουςαλλένιο I (obtusallene I), ο οποίος έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Cox *et al.*, 1982; Cox and Howie, 1982; Guella *et al.*, 1997). Στον Πίνακα 82 συνέχεια παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **16**.

Πίνακας 82. 1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **16**.

#	1H
1	6,06 dd (5,9, 1,8)
2	
3	5,55 dd (5,9, 5,9)
4	4,46 ddd (5,9, 5,9, 1,8)
5	5,93 dd (15,8, 6,0)
6	6,21 dd (15,8, 10,5)
7	4,24 m
8a	2,80 dd (13,4, 6,2)
8b	2,44 m
9	
10	4,59 dd (5,2, 1,5)
11a	2,48 m
11b	2,33 ddd (19,1, 5,2, 1,5)
12	4,21 m
13	3,96 m
14	3,61 dq (9,3, 6,4)
15	1,09 d (6,4)

3.17. Μεταβολίτης 17

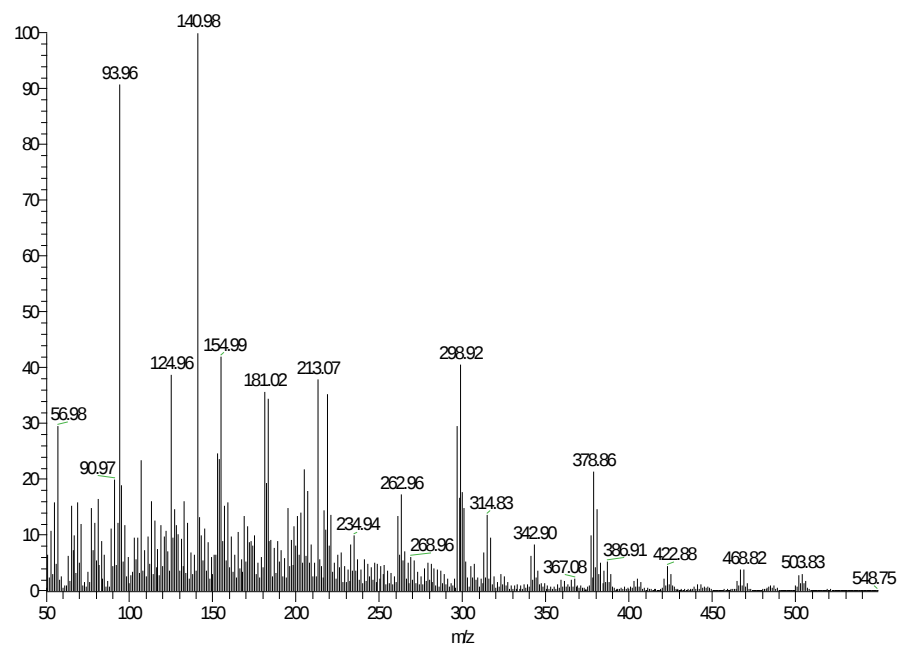
Ο μεταβολίτης **17** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 8,7 mg.



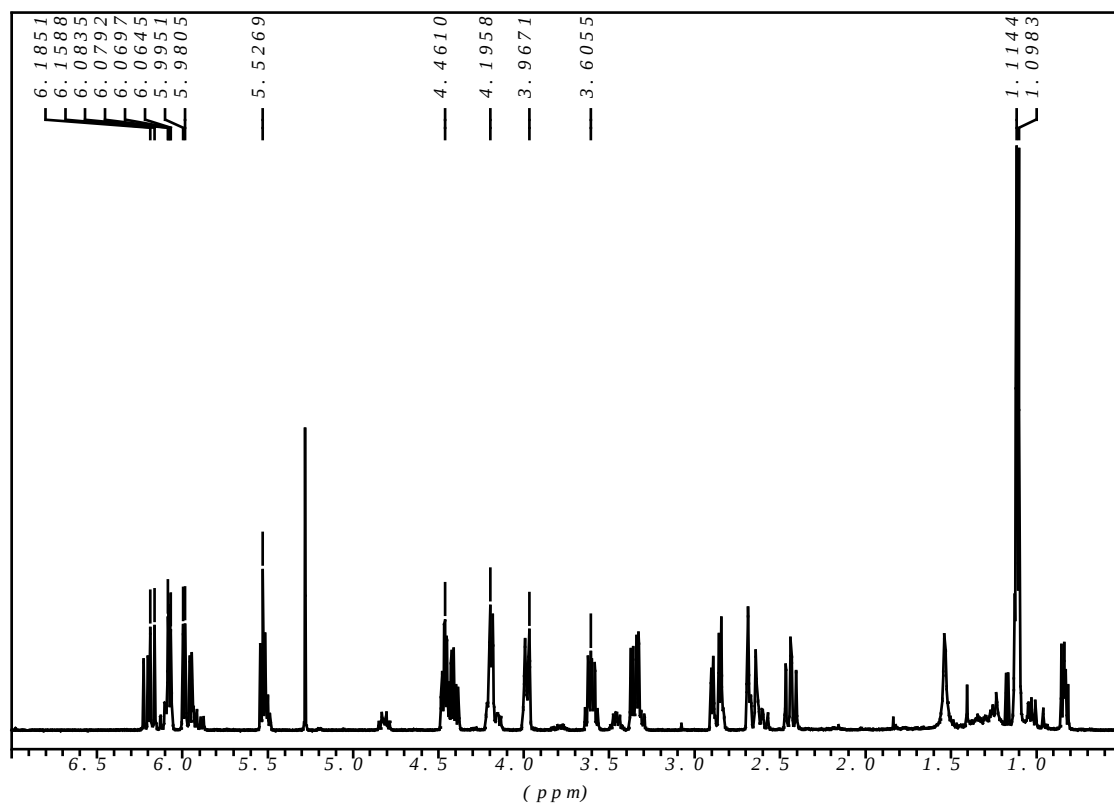
Μεταβολίτης 17

Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **17** (Εικόνα 67) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 500 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 502, 504, 506 και 508, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη τριών ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκαν θραύσματα: (i) $[M-Cl]^+$ σε m/z 465, με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 467, 469 και 471, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης τριών ατόμων βρωμίου, και (ii) $[M-Br]^+$ σε m/z 421 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 423, 425 και 427, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και δύο ατόμων βρωμίου στο θραύσμα.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **17** (Εικόνα 68) παρατηρήθηκαν παρόμοια χημικά σήματα με αυτά του μεταβολίτη **16**. Η διαφορά των δύο μορίων εντοπίζεται στην απουσία ενός ολεφινικού μεθινίου, με παράλληλη αποθωράκιση κάποιων μεθυλενικών πρωτονίων, υποδηλώνοντας υποκατάσταση του διπλού δεσμού με ηλεκτραρνητικό υποκαταστάτη.



Εικόνα 67. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη 17.



Εικόνα 68. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 17.

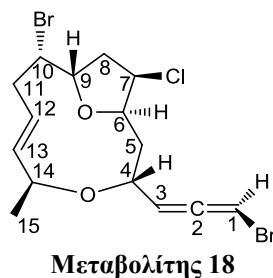
Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **17** οδήγησε στον μοριακό τύπο $C_{15}H_{16}Br_3ClO_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τέσσερις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους τέσσερις από τους έξι βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **17** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη αλλυλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη 10-βρώμο-ομπτουςαλλένιο I (10-bromo-obtusallene I), ο οποίος έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Öztunç *et al.*, 1991b; Guella *et al.*, 1997). Στον Πίνακα 83 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **17**.

Πίνακας 83. 1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **17**.

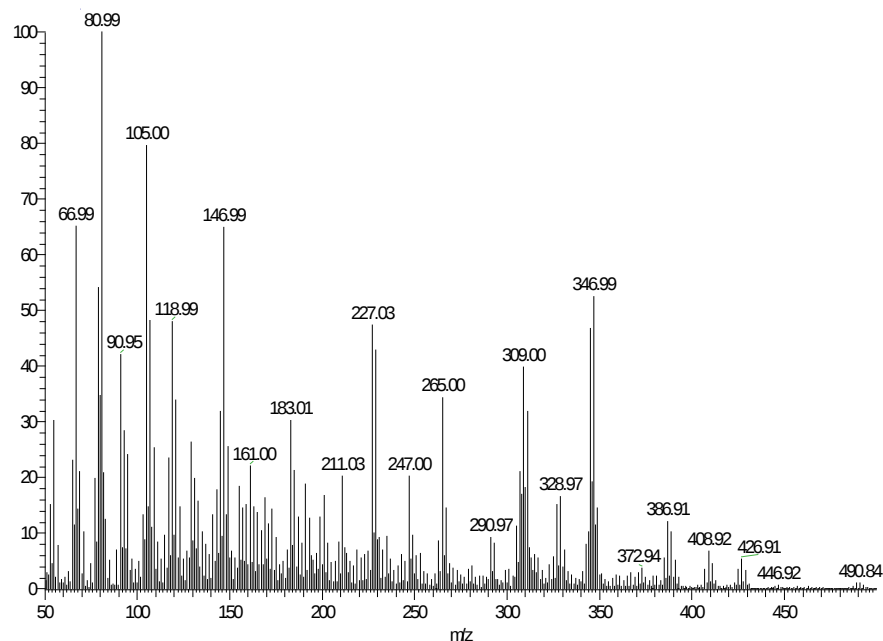
#	1H
1	6,07 dd (5,9, 1,8)
2	
3	5,53 dd (5,9, 5,9)
4	4,46 ddd (5,9, 5,9, 1,8)
5	5,97 dd (15,8, 5,9)
6	6,19 dd (15,8, 10,5)
7	4,42 ddd (11,1, 10,5, 5,6)
8a	3,35 dd (13,2, 5,6)
8b	2,44 dd (13,2, 11,1)
9	
10	
11a	2,87 dd (18,8, 5,3)
11b	2,68 dd (18,8, 1,5)
12	4,19 ddd (5,3, 1,5, 1,5)
13	3,98 m
14	3,60 dq (9,3, 6,4)
15	1,11 d (6,4)

3.18. Μεταβολίτης 18

Ο μεταβολίτης **18** απομονώθηκε ως άχρωμο ελαιώδες υπόλειμμα, συνολικής μάζας 3,7 mg.

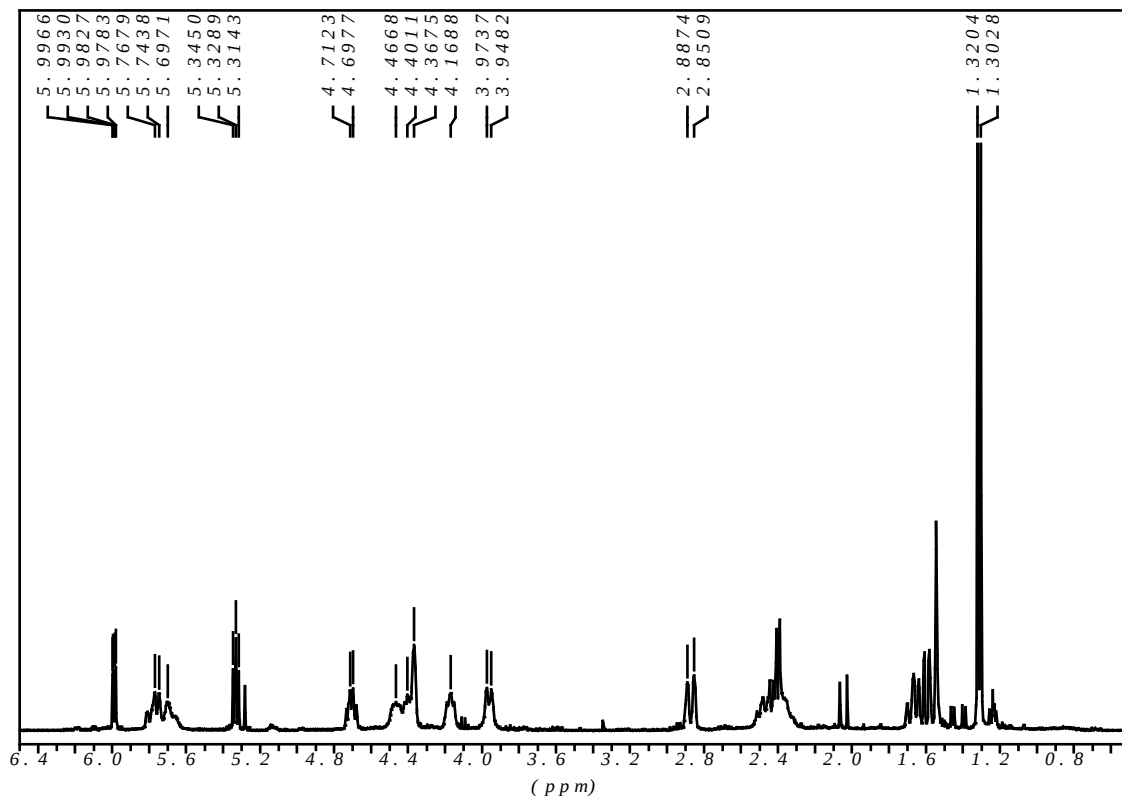


Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **18** (Εικόνα 69) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 424 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 426, 428 και 430, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-Br]^+$ σε m/z 345 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 347 και 349, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου.



Εικόνα 69. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη **18**.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **18** (Εικόνα 70) παρατηρήθηκαν: (i) δύο σήματα μεθινικών πρωτονίων με μικρή σύζευξη μεταξύ τους, εκ των οποίων το ένα εμφανιζόταν αποθωρακισμένο (δ 5,59 και 5,33, $J=5,7$ Hz), που υποδεικνύει την ύπαρξη βρωμιωμένης τελικής αλλυλικής αλυσίδας σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) δύο ακόμη μεθινικά πρωτόνια σε δ 5,78 και 5,67, που δηλώνουν την ύπαρξη ενός ακόμη διπλού δεσμού στο μόριο, (iii) έξι αλογωνωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,71, 4,47, 4,40, 4,37, 4,17, 3,96), και (iv) μία διπλή κορυφή στα 1,31 ppm που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ένα αποθωρακισμένο μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 70. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **18**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **18** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{ClO}_2$. Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους τρεις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό

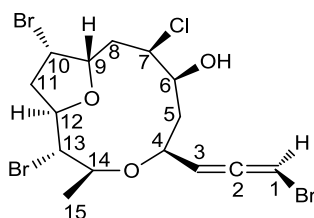
εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **18** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικές C₁₅ ακετογενίνες με συζευγμένη αλλυλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπουσαλλένιο IV (obtusallene IV), ο οποίος έχει απομονωθεί από τα φύκη *L. obtusa* και *L. marilzae* (Guella *et al.*, 1997; Gutiérrez-Cepeda *et al.*, 2011) και από το γαστερόποδο *A. dactylomela* (Ciavatta *et al.*, 1997). Έχει αναφερθεί ότι διαθέτει ιχθυοτοξική και αντιτροφική δράση. Στον Πίνακα 84 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **18**.

Πίνακας 84. ¹H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **18**.

#	¹ H
1	5,99 dd (5,7, 1,7)
2	
3	5,33 dd (6,4, 5,7)
4	4,17 m
5α	1,60 m
5β	1,67 m
6	3,96 br d (10,0)
7	4,37 m
8α	2,43m
8β	2,43 m
9	4,71 ddd (8,0, 7,9, 5,6)
10	4,47 m
11α	2,42 m
11β	2,87 m
12	5,78 m
13	5,67 m
14	4,40 m
15	1,31 d (7,0)

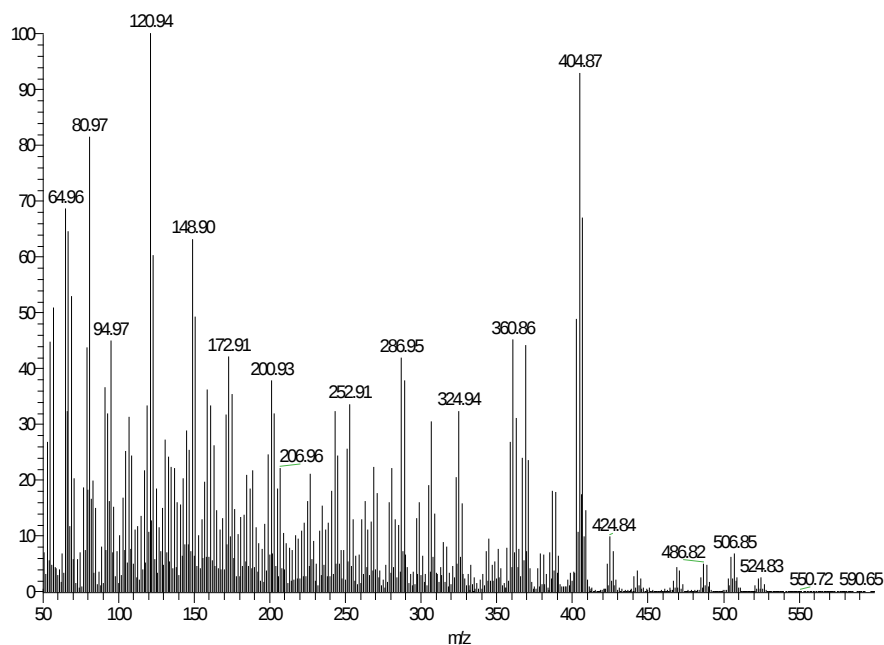
3.19. Μεταβολίτης 19

Ο μεταβολίτης **19** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 2,6 mg.



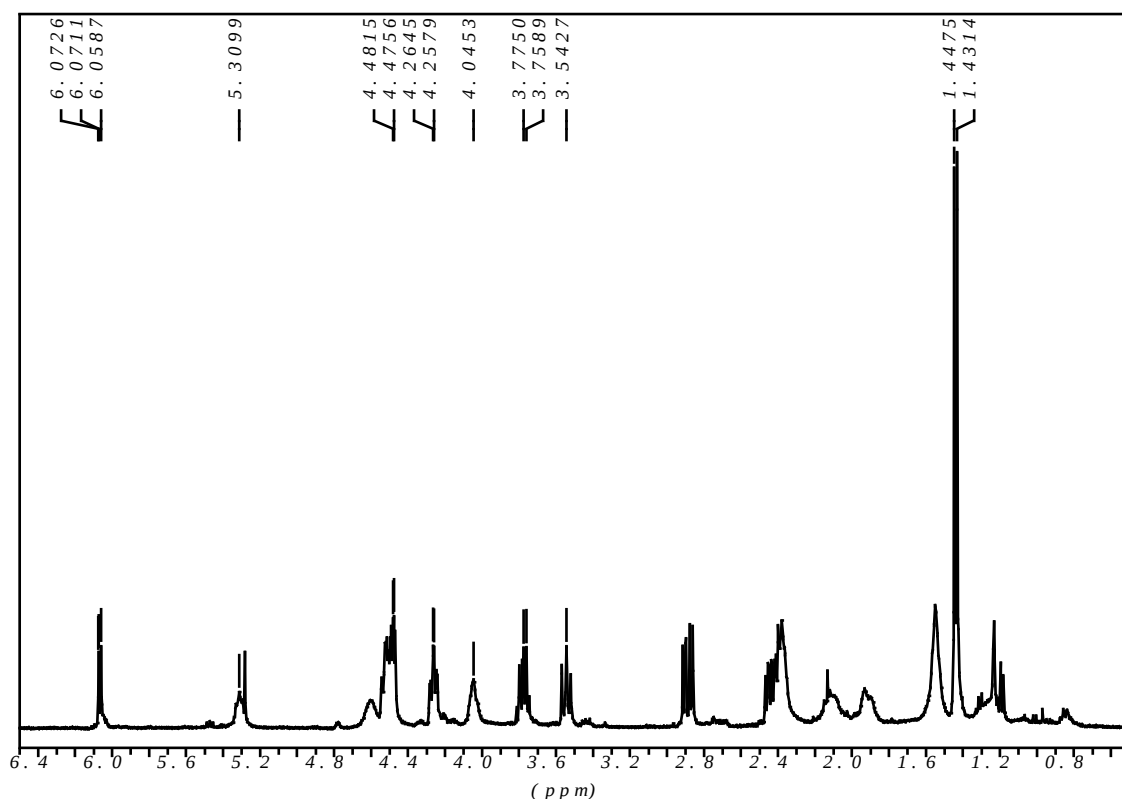
Μεταβολίτης 19

Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **19** (Εικόνα 71) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 520 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 522, 524, 526 και 528, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη τριών ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-C_3H_2Br]^+$ σε m/z 403 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 405, 407 και 409, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και δύο ατόμων βρωμίου στο θραύσμα.



Εικόνα 71. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη **19**.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **19** (Εικόνα 72) παρατηρήθηκαν: (i) δύο σήματα μεθινικών πρωτονίων με μικρή σύζευξη μεταξύ τους, εκ των οποίων το ένα εμφανιζόταν αποθωρακισμένο (δ 6,06 και 5,31, $J=5,6$ Hz), που υποδεικνύει την ύπαρξη βρωμιωμένης τελικής αλλυλικής αλυσίδας σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) οκτώ αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,60, 4,52, 4,51, 4,48, 4,26, 4,05, 3,78, 3,54), και (iii) μία διπλή κορυφή στα 1,44 ppm που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ένα αποθωρακισμένο μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 72. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **19**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **19** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{Br}_3\text{ClO}_3$. Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους δύο από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι δικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **19** με αυτά της βιβλιογραφίας για δικυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη

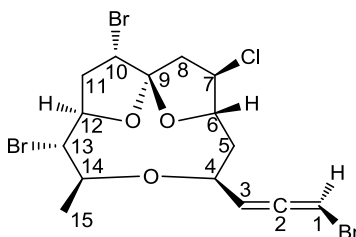
αλληλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπουσαλλένιο VII (obtusallene VII), ο οποίος έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Guella *et al.*, 2000; Braddock *et al.*, 2009). Στον Πίνακα 85 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **19**.

Πίνακας 85. ^1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **19**.

#	^1H
1	6,06 dd (5,6, 0,6)
2	
3	5,31 dd (6,7, 5,6)
4	4,60 br m
5 α	1,91 m
5 β	2,11 m
6	4,05 m
7	4,52 m
8 α	2,38 m
8 β	2,38 m
9	4,26 td (6,9, 2,7)
10	4,48 m
11 α	2,89 dd (15,0, 6,5)
11 β	2,44 ddd (15,0, 7,9, 5,4)
12	4,51 m
13	3,54 dd (10,1, 9,1)
14	3,78 dq (8,8, 6,4)
15	1,44 d (6,4)

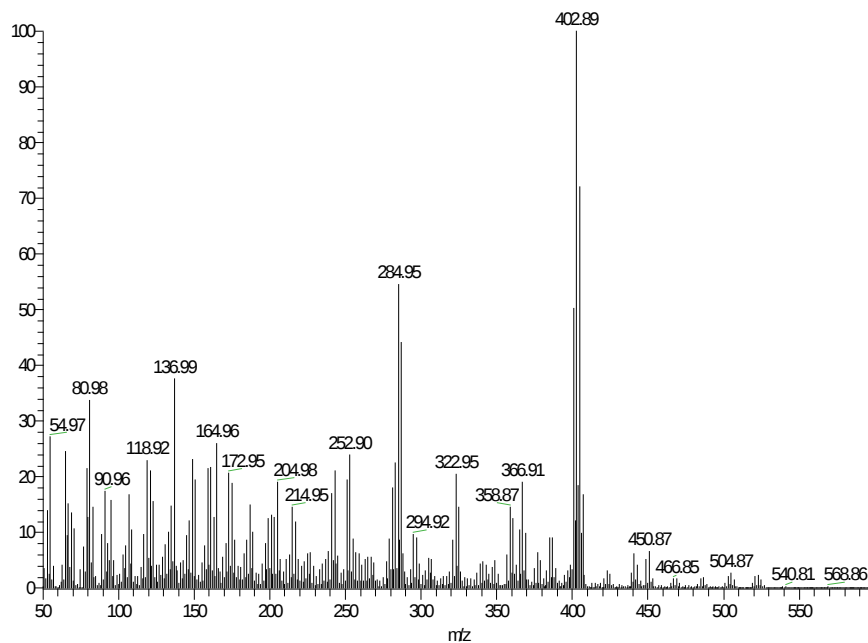
3.20. Μεταβολίτης 20

Ο μεταβολίτης **20** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 4,1 mg.



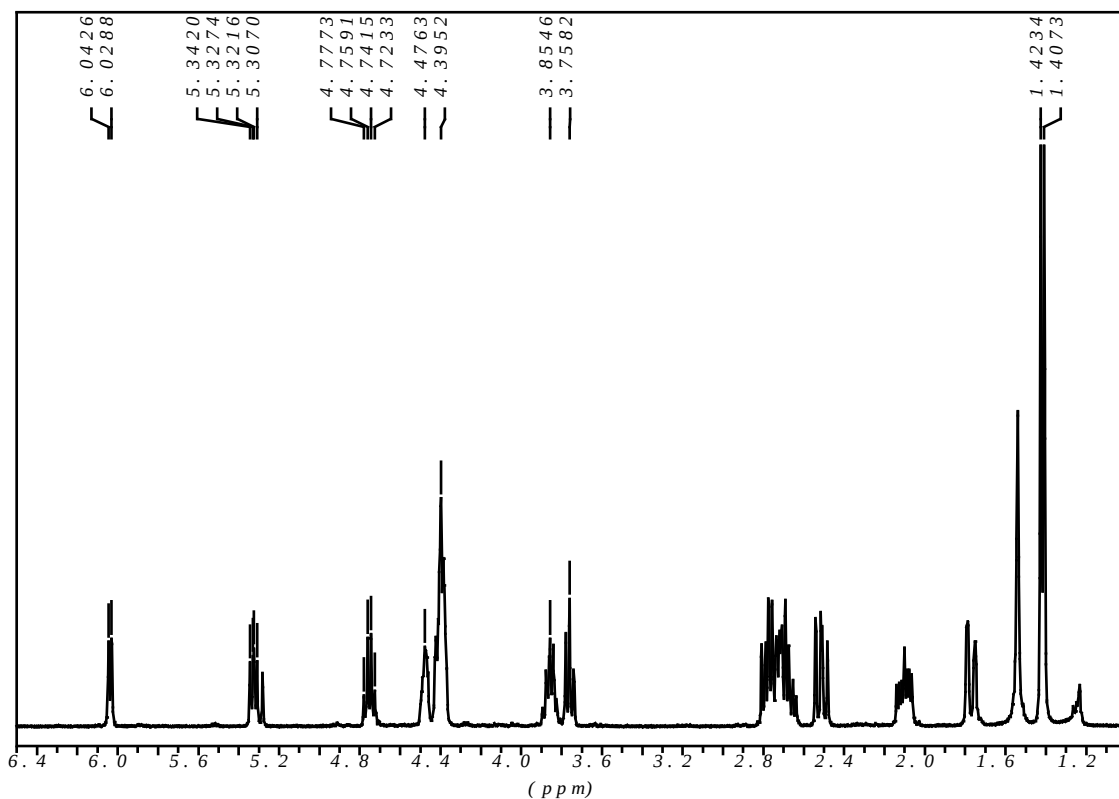
Μεταβολίτης 20

Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **20** (Εικόνα 73) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 518 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 520, 522, 524 και 526, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη τριών ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-C_3H_2Br]^+$ σε m/z 401 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 403, 405 και 407, με αναλογία χαρακτηριστική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και δύο ατόμων βρωμίου στο θραύσμα.



Εικόνα 73. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη **20**.

Στο φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **20** (Εικόνα 74) παρατηρήθηκαν: (i) δύο σήματα μεθινικών πρωτονίων με μικρή σύζευξη μεταξύ τους, εκ των οποίων το ένα εμφανιζόταν αποθωρακισμένο (δ 6,04 και 5,33, $J=5,6$ Hz), που υποδεικνύει την ύπαρξη βρωμιωμένης τελικής αλλυλικής αλυσίδας σε μία C_{15} ακετογενίνη, (ii) επτά αλογονωμένα ή οξυγονωμένα μεθίνια (δ 4,75, 4,48, 4,42, 4,42, 4,39, 3,86, 3,76), και (iii) μία διπλή κορυφή στα 1,42 ppm που ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχεί σε ένα αποθωρακισμένο μεθύλιο σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.



Εικόνα 74. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **20**.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **20** οδήγησε στον μοριακό τύπο $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{Br}_3\text{ClO}_3$. Λαμβάνοντας υπόψη δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους δύο από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι τρικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη

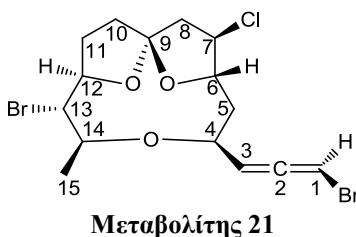
20 με αυτά της βιβλιογραφίας για τρικυκλικές C₁₅ ακετογενίνες με συζευγμένη αλλυλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπτουςαλλένιο V (obtusallene V), ο οποίος έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Guella *et al.*, 2000; Braddock *et al.*, 2009). Στον Πίνακα 86 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **20**.

Πίνακας 86. ¹H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **20**.

#	¹ H
1	6,04 d (5,6)
2	
3	5,33 dd (8,2, 5,6)
4	4,42 m
5α	1,77 m
5β	2,10 ddd (15,3, 9,5, 4,8)
6	4,48 m
7	4,42 m
8α	2,78 dd (13,2, 7,2)
8β	2,51 dd (13,2, 10,1)
9	
10	4,39 m
11α	2,73 m
11β	2,68 m
12	4,75 br q (7,2)
13	3,76 m
14	3,86 m
15	1,42 d (6,3)

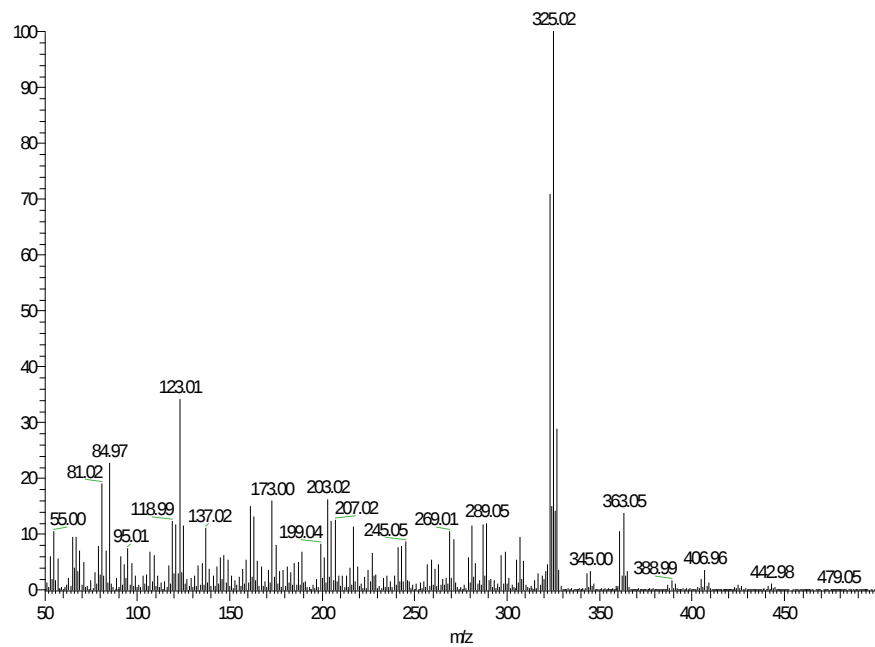
3.21. Μεταβολίτης 21

Ο μεταβολίτης **21** απομονώθηκε ως λευκό κρυσταλλικό στερεό υπόλειμμα, συνολικής μάζας 6,1 mg.

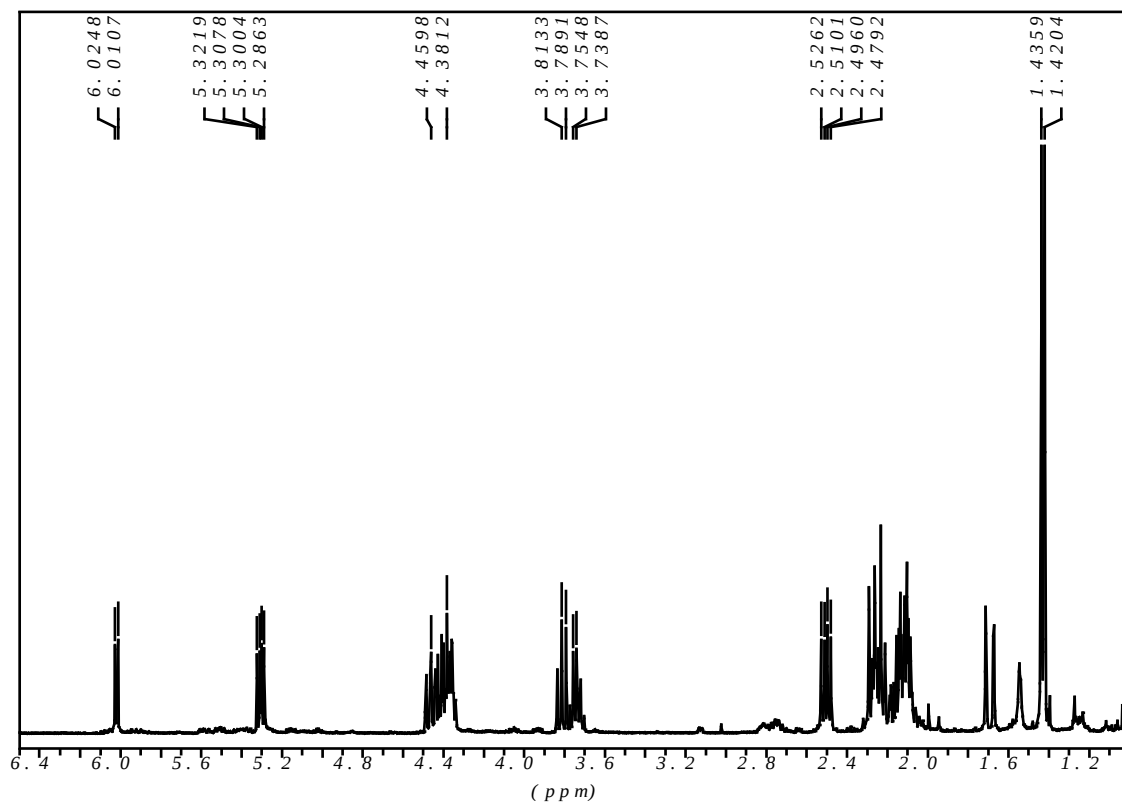


Συγκεκριμένα, το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **21** (Εικόνα 75) εμφάνισε ψευδομοριακό ιόν $[M+H]^+$ σε m/z 440 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 442, 444 και 446, σε αναλογία χαρακτηριστική για την ύπαρξη δύο ατόμων βρωμίου και ενός ατόμου χλωρίου στο μόριο. Επίσης παρατηρήθηκαν θραύσματα: (i) $[M-Cl]^+$ σε m/z 405, με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 407 και 409, με αναλογία 1:2:1 μεταξύ τους, (ii) $[M-Br]^+$ σε m/z 361 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 363 και 365 και $[M-C_3H_2Br]^+$ σε m/z 323 με ισοτοπικές κορυφές σε m/z 325 και 327, με αναλογία ενδεικτική της ύπαρξης ενός ατόμου χλωρίου και ενός ατόμου βρωμίου στα θραύσματα. Επίσης παρατηρήθηκε το θραύσμα $[M-C_3H_2Br-HCl]^+$ σε m/z 287, με ισοτοπική ισοϋψή κορυφή σε m/z 289.

Στο φάσμα 1H NMR του μεταβολίτη **21** (Εικόνα 76) παρατηρήθηκαν παρόμοια σήματα με αυτά του μεταβολίτη **20**. Η διαφορά των δύο μορίων εντοπίζεται στην απουσία ενός αλογονωμένου μεθινίου και στην αύξηση των μεθυλενικών πρωτονίων του μορίου κατά δύο.



Εικόνα 75. Φάσμα μάζας (PCIMS) του μεταβολίτη 21.



Εικόνα 76. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη 21.

Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **21** οδήγησε στον μοριακό τύπο $C_{15}H_{19}Br_2ClO_3$. Λαμβάνοντας υπόψη δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους δύο από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο υπό εξέταση έπρεπε να είναι τρικυκλικό. Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **21** με αυτά της βιβλιογραφίας για τρικυκλικές C_{15} ακετογενίνες με συζευγμένη αλλυλική πλευρική αλυσίδα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό μεταβολίτη ομπτουςαλλένιο VI (obtusallene VI), ο οποίος έχει απομονωθεί από το φύκος *L. obtusa* (Guella *et al.*, 2000; Braddock *et al.*, 2009). Στον Πίνακα 87 παραθέτονται τα φασματοσκοπικά δεδομένα του μεταβολίτη **21**.

Πίνακας 87. 1H NMR δεδομένα του μεταβολίτη **21**.

#	1H
1	6,02 dd (5,6, 0,4)
2	
3	5,30 dd (8,6, 5,6)
4	4,46 m
5α	2,13 m
5β	1,69 br d (15,4)
6	4,38 m
7	4,40 m
8α	2,50 dd (12,2, 6,7)
8β	2,24 m
9	
10α	2,22 m
10β	2,10 m
11α	2,26 m
11β	2,09 m
12	4,36 m
13	3,81 dd (9,7, 8,2)
14	3,74 dd (8,2, 6,3)
15	1,43 d (6,3)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση δύο οργανικών εκχυλισμάτων από τα ροδοφύκη *L. microcladia* και *L. obtusa*, που συλλέχθηκαν από τη νήσο Τήνο των Κυκλάδων, σε βάθος 0,5 – 2 m, το Σεπτέμβριο του 2011.

Από τα οργανικά εκχυλίσματα με χρωματογραφικούς διαχωρισμούς απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν συνολικά 21 δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι ταυτοποιήθηκαν με τη βοήθεια φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS.

Συνολικά απομονώθηκαν:

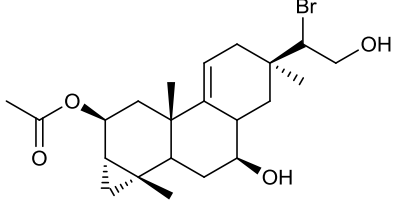
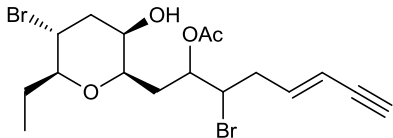
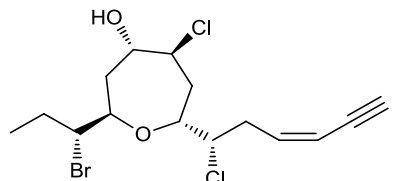
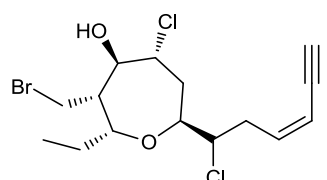
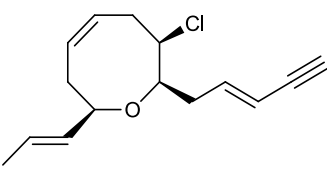
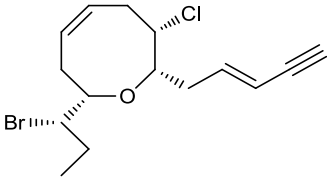
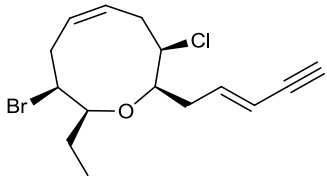
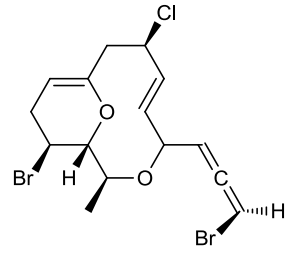
- i. επτά σεσκιτερπένια: ένα γραμμικό (1), δύο μονοκυκλικά με σκελετό μπισαμπολανίου (2,3), δύο αρωματικά με σκελετό λαουρανίου (4,5), ένα μπραζίλανικού τύπου (6) και ένα με σκελετό περφορανίου (7),
- ii. δύο διτερπένια: ένα με λαβδανικό σκελετό (8) και ένα παράγωγο παργκουαρανίου (9), και
- iii. δώδεκα C₁₅ ακετογενίνες: μία με τετραϋδροπυρανικό δακτύλιο που αποτελεί νέο φυσικό προϊόν (10), δύο με επταμελή δακτύλιο (η μία εκ των οποίων είναι διακλαδισμένη) (11,12), δύο με οκταμελή δακτύλιο (13,14), μία με εννιαμελή δακτύλιο (15) και έξι ομπτουσαλλένια (16,17,18,19,20,21).

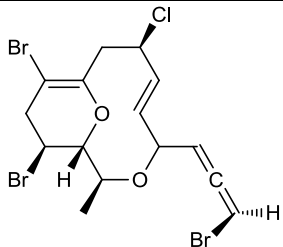
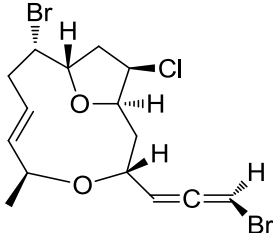
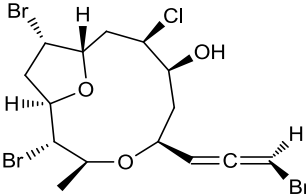
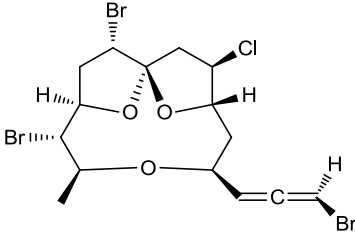
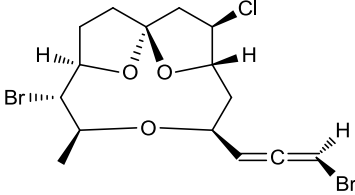
Οι μεταβολίτες 6 και 9 αναφέρονται πρώτη φορά στο είδος *L. microcladia*, ενώ οι μεταβολίτες 14 και 15 αναφέρονται πρώτη φορά στο είδος *L. obtusa*. Ο μεταβολίτης 8 αναφέρεται πρώτη φορά στο γένος *Laurencia*.

Στον Πίνακα 88 παρουσιάζονται συνολικά οι ταυτοποιημένοι μεταβολίτες.

Πίνακας 88. Ταυτοποιημένοι μεταβολίτες.

Μεταβολίτης	Οργανισμός	Χημική Δομή
<i>trans</i> -Νερολιδόλη (<i>trans</i> -nerolidol) (1)	<i>L. microcladia</i>	
α -Σνυδερόλη (α -snyderol) (2)	<i>L. microcladia</i>	
Ομπουσενόλη (obtusenol) (3)	<i>L. microcladia</i>	
Ισολαουρενισόλη (Isolaurenisol) (4)	<i>L. microcladia</i> <i>L. obtusa</i>	
Βρωμολαουρενισόλη (Bromolaurenisol) (5)	<i>L. microcladia</i> <i>L. obtusa</i>	
(1 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *,6 <i>S</i> *,8 <i>R</i> *,9 <i>S</i> *)-8-χλώρο-1,6-επόξυ-5-ισοπρόπυλο-3,3,9-τριμέθυλοδίκυκλο[4.3.0]νοναν-9-όλη ((1 <i>S</i> *,5 <i>R</i> *,6 <i>S</i> *,8 <i>R</i> *,9 <i>S</i> *)-8-chloro-1,6-epoxy-5-isopropyl-3,3,9-trimethylbicyclo[4.3.0]nonan-9-ol) (6)	<i>L. microcladia</i>	
Περφορενόλη (perforenol) (7)	<i>L. obtusa</i>	
Ισοπιννατόλη Β (Isopinnatol B) (8)	<i>L. microcladia</i>	

Δεόξυπαργκουερόλη (Deoxyparguerol) (9)	<i>L. microcladia</i>	
Νέο φυσικό προϊόν (10)	<i>L. microcladia</i>	
Ροτζιολοξεπάνιο C (rogioxepane C) (11)	<i>L. microcladia</i>	
Ροτζιολενίνη B (rogiolenine B) (12)	<i>L. microcladia</i> <i>L. obtusa</i>	
3 <i>E</i> -Λαουρενίνη (3 <i>E</i> -laurenyne) (13)	<i>L. obtusa</i>	
<i>trans</i> -Πιννατιφιδενίνη (<i>trans</i> -pinnatifidenyne) (14)	<i>L. obtusa</i>	
3 <i>E</i> ,6 <i>R</i> *,7 <i>R</i> *-Ομπτουςενίνη (3 <i>E</i> ,6 <i>R</i> *,7 <i>R</i> *-obtusenyne) (15)	<i>L. obtusa</i>	
Ομπτουςαλλένιο I (obtusallene I) (16)	<i>L. obtusa</i>	

10-Βρώμο-ομπτουσαλλένιο I (10-bromo-obtusallene I) (17)	<i>L. obtusa</i>	
Ομπτουσαλλένιο IV (obtusallene IV) (18)	<i>L. obtusa</i>	
Ομπτουσαλλένιο VII (obtusallene VII) (19)	<i>L. obtusa</i>	
Ομπτουσαλλένιο V (obtusallene V) (20)	<i>L. obtusa</i>	
Ομπτουσαλλένιο VI (obtusallene VI) (21)	<i>L. obtusa</i>	

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γαλάτης Β., Αποστολάκος Π., Κατσαρός Χ. Εισαγωγή στη Βοτανική. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, **1998**.
2. Γεωργιάδης Θ. Συστηματική Βοτανική. Εκδόσεις Πανεπιστημίου Πατρών, **1994**.
3. Γιαννίτσaros Α., Τζάκου Ο. Σημειώσεις για το μάθημα: *Φαρμακευτική Βοτανική (Μαθήματα Συστηματικής Βοτανικής για τους φοιτητές του Φαρμακευτικού Τμήματος)*. ΕΚΠΑ, Αθήνα, **2003**.
4. Ιωάννου Ε. Σημειώσεις για το μάθημα: *Χημεία Φυσικών Προϊόντων*. ΕΚΠΑ, Αθήνα.
5. Κλαδή Μ. Απομόνωση και φαρμακολογική αξιολόγηση βιοδραστικών μεταβολιτών από θαλάσσια Ροδοφύκη: Μελέτη ειδών από τα γένη *Laurencia*, *Asparagopsis* και *Falkenbergia*. Διδακτορική Διατριβή στη Φαρμακογνωσία Φυσικών Προϊόντων, Αθήνα, **2006**.
6. Ρούσσης Β., Βάγιας Κ. Σημειώσεις για το μάθημα: *Χημική οικολογία-Θαλάσσια Φαρμακογνωσία*. ΕΚΠΑ, Αθήνα, **2008**.
7. Ρούσσης Β. Θαλάσσιοι Πόροι. ΕΚΠΑ, Αθήνα, **1999**.
8. Τζάκου Ο., Κωνσταντινίδης Θ. Σημειώσεις για το μάθημα: *Συστηματική χερσαίων και θαλάσσιων φυτικών οργανισμών-μεθοδολογία προδιορισμού τους*. ΕΚΠΑ, Αθήνα, **2009**.
9. Abdel-Rahman F.H., Alaniz N.M., Saleh M.A. Nematicidal activity of terpenoids, *J. Environ. Sci. Health*, **2013**, B48, 16-22.
10. Alarif W.M., Al-Lihaibi S.S., Abdel-Lateff A., Ayyad S.E. New antifungal cholestane and aldehyde derivatives from the red alga *Laurencia papillosa*. *Nat. Prod. Commun.*, **2011**, 6, 1821-1824.
11. 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.
12. André J., Gyuris E., Lawler I.R. Comparison of the diets of sympatric dugongs and green turtles on the Orman Reefs, Torres Strait, Australia. *Wildlife Res.*, **2005**, 32, 53-62.
13. Araújo M.J.C., Câmara C.A.G., Born F.S., Moraes M.M., Badjil C.A. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.*, **2012**, 57, 139-155.
14. Arroyo P., Valencia E., Valenzuela E., Zarraga M. A new cyclic ether from *Laurencia chilensis*. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, **1995**, 40, 221-222.
15. Arruda D.C., D’Alexandri F.L., Katzin A.M., Uliana S.R.B. Antileishmanial activity of terpene nerolidol. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49, 1679-1687.
16. Awad N.E. Bioactive brominated diterpenes from the marine red alga *Jania rubens* (L.) Lamx. *Phytother. Res.*, **2004**, 18, 275-279.
17. Awakura D., Fujiwara K., Murai A. Determination of the absolute configurations of Norte’s obtusenynes by total syntheses of (12R,13R)-(-)- and (12S,13R)-(+)-obtusenynes. *Chem. Lett.*, **1999**, 28, 461-462.

18. Aydoğmuş Z., Imre S., Ersoy L., Wray V. Halogenated secondary metabolites from *Laurencia obtusa*. *Nat. Prod. Res.*, **2004**, 18, 43-49.
19. Bansemir A., Just N., Michalik M., Lindequist U., Lalk M. Extracts and sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia chondrioides* with antibacterial activity against fish and human pathogenic bacteria. *Chem. Biodivers.*, **2004**, 1, 463-467.
20. Baran A., Baysal Ş.H., Sukatar A. Removal of Cr 6+ from aqueous solution by some algae. *J. Env. Biol.*, **2005**, 26, 329-333.
21. Beach K.S., Smith C.M. Ecophysiology of tropical rhodophytes. I. Microscale acclimation in pigmentation. *J. Phycol.*, **1996a**, 32, 701-710.
22. Beach K.S., Smith C.M. Ecophysiology of tropical rhodophytes. II. Microscale acclimation in photosynthesis. *J. Phycol.*, **1996b**, 32, 710-718.
23. Behringer D.C., Butler I.V., M.J. Stable isotope analysis of production and trophic relationships in a tropical marine hard-bottom community. *Oecologia*, **2006**, 148, 334-341.
24. Bernart M., Gerwick W.H. Isolation of 12-(S)-hepe from the marine red alga *Murrayella pericladus* and revision of structure of an acyclic icosanoid from *Laurencia hybrida*. Implications to the biosynthesis of the marine prostanoid hybridolactone. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 2015-2018.
25. Bernart M.W., Gerwick W.H., Corcoran E.E., Lee A.Y., Clardy J. Laurencione, a heterocycle from the red alga *Laurencia spectabilis*. *Phytochem.*, **1992**, 31, 1273-1276.
26. Bittner M., Gonzalez F., Valdebenito H., Silva M., Paul V.J., Fenical W., Chen M.H.M., Clardy J. A novel tetracyclic polyketal from the marine red alga *Laurencia chilensis*. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 4031-4032.
27. Bleckwenn A., Gil-Rodríguez M.C., Medina M., Schnetter R. Possible significance of different DNA content ranges of gametophytic and tetrasporophytic nuclei in two species of *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Eur. J. Phycol.*, **2003**, 38, 307-314.
28. Blunt J.W., Hartshorn M.P., McLennan T.J., Munro M.H.G., Robinson W.T., Yorke S.C. Thysiferol; a squalene-derived metabolite of *Laurencia thysifera*. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 0, 69-72.
29. Boaventura D., Alexander M., Della Santina P., Smith N.D., Ré P., Da Fonseca L.C., Hawkins S.J. The effects of grazing on the distribution and composition of low-shore algal communities on the central coast of Portugal and on the southern coast of Britain. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **2002**, 267, 185-206.
30. Boettcher A.A., Targett N.M. Induction of metamorphosis in queen conch, *Strombus gigas* Linnaeus, larvae by cues associated with red algae from their nursery grounds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1996**, 196, 29-52.
31. Braddock D.C., Millan D.S., Pérez-Fuertes Y., Pouwer R.H., Sheppard R.N., Solanki S., White A.J.P. Bromonium ion induced transannular oxonium ion formation-fragmentation in model obtusallene systems and structural reassignment of obtusallenes V-VII. *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 1835-1841.

32. Brehm-Stecher B.F., Johnson E.A., Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol and apritone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47, 3357-3360.
33. Brennan M.R., Kim I.K., Erickson K.L. Kahukuenes, new diterpenoids from the marine alga *Laurencia majuscula*. *J. Nat. Prod.*, **1993**, 56, 76-84.
34. Briand A., Kornprobst J.M., Aleasa H.S., Rizk A.F.M., Toupet L. (-)-Paniculatol, a new ent-labdane bromoditerpene from *Laurencia paniculata*. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 3399-3400.
35. Bülow N., König W. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: investigations of acid catalysed, phytochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochem.*, **2000**, 55, 141-168.
36. Cabrita M.T., Vale C., Rauter A.P. Halogenated compounds from marine algae. *Mar. Drugs*, **2010**, 8, 2301-2317.
37. 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.
38. Caccamese S., Toscano R.M., Cerrini S., Gavuzzo E. Laurencianol, a new halogenated diterpenoid from marine alga *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 3415-3418.
39. Campos A., Souza C.B., Lhullier C., Falkenberg M., Schenkel E.P., Ribeiro-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.
40. Cane D.E., Ha H.-J., McIlwaine D.B., Pascoe K.O. The synthesis of (3*R*)-nerolidol. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 7553-7554.
41. 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.
42. Cardellina J.H., Moore R.E. Sphingosine derivatives from red algae of the Ceramiales. *Phytochem.*, **1978**, 17, 554-555.
43. Carter G.T., Rinehart K.L., Li L.H., Kuentzel S., Connor J.L. Brominated indoles from *Laurencia brongniartii*. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 46, 4479-4482.
44. Carter-Franklin J.N., Butler A. Vanadium bromoperoxidase-catalyzed biosynthesis of halogenated marine natural products. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 15060-15066.
45. Cassano V., De-Paula J.C., Fujii M.T., Da Gama B.A.P., Teixeira V. L. Sesquiterpenes from the introduced red seaweed *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biochem. Syst. Ecol.*, **2008**, 36, 223-226.
46. Cassano V., Metti Y., Millar A.J. K., Gil-Rodríguez M.C., Senties A., Díaz-Larrea J., Oliveira M.C., Fujii M.T. Redefining the taxonomic status of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil and the Canary Islands. *Eur. J. Phycol.*, **2012a**, 47, 67-81.
47. Cassano V., Oliveira M.C., Gil-Rodríguez M.C., Senties A., Díaz-Larrea J., Fujii M.T. Molecular support for the establishment of the new genus *Laurenciella* within the *Laurencia* complex

- (Ceramiales, Rhodophyta). *Bot. Mar.*, **2012b**, 55, 349-357.
48. Chantraine J.-M., Laurent D., Ballivian C., Saavedra G., Ibañez R., Vilaseca L.A. Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phytother. Res.*, **1998**, 12, 350-354.
 49. Chatter R., Kladi M., Tarhouni S., Maatoug R., Kharrat R., Vagias C., Roussis V. Neorogioltriol: a brominated diterpene with analgesic activity from *Laurencia glandulifera*. *Phytochem. Lett.*, **2009**, 2, 25-28.
 50. Chatter R., Othman R.B., Rabhi S., Kladi M., Tarhouni S., Vagias C., Roussis V., Lamia Guizane-Tabbane L., Kharrat R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of neorogioltriol, a new diterpene extracted from the red algae *Laurencia glandulifera*. *Mar. Drugs*, **2011**, 9, 1293-1306.
 51. Chittiboyina A.G., Kumar G.M., Carvalho P.B., Liu Y., Zhou Y.-D., Nagle D.G., Avery M.A. Total synthesis and absolute configuration of laurenditerpenol: a hypoxia inducible factor-1 activation inhibitor. *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 6299-6302.
 52. Ciavatta M.L., Gavangin M., Puliti R., Cimino G., Martínez E., Ortea J., Mattia C.A. Dactylallene: a novel dietary C₁₅ bromoallene from the atlantic anaspidean mollusc *Aplysia dactylomela*. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 17343-17350.
 53. Coen L.D. Herbivory by Caribbean majid crabs: feeding ecology and plant susceptibility. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1988**, 122, 257-276.
 54. 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.
 55. Cox F., Imre S., Islimyeli S., Thomson R.H. Obtusallene I, a new halogenated allene from *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 579-580.
 56. Cox P., Howie R.A. X-ray structure analysis of obtusallene. *Acta Crystallogr. B*, **1982**, 38, 1368-1387.
 57. Cruz Adames V.M., Ballantine D.L. Asexual reproduction in *Laurencia poiteau* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Bot. Mar.*, **1996**, 39, 75-77.
 58. 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.
 59. 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.
 60. 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.
 61. 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.
 62. De Silva E.D., Schwartz R.E., Scheuer P.J. Srilankenyne, a new metabolite from the sea hare *Aplysia oculifera*. *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 395-396.

63. 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 S.d.O. Trypanocidal action of (-)-elatol involves an oxidative stress triggered by mitochondria dysfunction. *Mar. drugs*, **2012**, 10, 1631-1646.
64. Dias T., Brito I., Moujir L., Paiz N., Darias J., Cueto M. Cytotoxic sesquiterpenes from *Aplysia dactylomela*. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 1677-1679.
65. Díaz J.G., Goedken V.L., Herz W. Sesquiterpene lactones and other constituents of *Mikania rimachii* and *Mikania microptera*. *Phytochem.*, **1992**, 31, 597-608.
66. 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.
67. Díez I., Secilla A., Santolaria A., Gorostiaga J.M. Phytobenthic intertidal community structure along an environmental pollution gradient. *Mar. Pollut. Bull.*, **1999**, 38, 463-472.
68. Dorta E., Díaz-Marrero A.R., Cueto M., D' Croz L., Maté J.L., Darias J., Chamigrenelactone, a polyoxygenated sesquiterpene with a novel structural type and devoid of halogen from *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 7065-7068.
69. 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.
70. El Sayed K.A., Dunbar D.C., Perry T.L., Wilkins S.P., Hamann M.T., Greenplate J.T., Wideman M.A. Marine natural products as prototype insecticidal agents. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, 45, 2735-2739.
71. El-Gamal A.A., Wang W.L., Duh C.Y. Sulfur-containing polybromindoles from the Formosan red alga *Laurencia Brongniartii*. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 815-817.
72. Erickson K.L., Beutler J.A., Gray G.N., Cardellina J.H.II, Boyd M.R. Majapolene A, a cytotoxic peroxide, and related sesquiterpenes from the red alga *Laurencia majuscula*. *J. Nat. Prod.*, **1995**, 58, 1848-1860.
73. Erwin P.M., López-Legentil S., Schuhmann P.W. The pharmaceutical value of marine biodiversity for anti-cancer drug discovery. *Ecol. Econ.*, **2010**, 70, 445-451.
74. Estrada D.M., Martin J.D., Perez R., Rivera P., Rodriguez M.L., Ruano J.Z. Furocaespitane and related C12 metabolites from *Laurencia caespitosa*. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 687-688.
75. 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.
76. Faulkner D.J. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, **2002**, 19, 1-48.
77. Feldmann J., Feldmann G. Some cytological characteristics of *Janczewskia verrucaeformis* Solms-Laub., parasite of *Laurencia obtusa* (Huds.) Lamour. [Sur quelques particularités cytologiques du *Janczewskia verrucaeformis* Solms-Laub., parasite du *Laurencia obtusa* (Huds.) Lamour.]. *C.R. Hebd. Sean. Acad. Sci.*, **1951**, 233, 1385-1386.

78. Fenical W. Halogenation in the Rhodophyta, a review. *J. Phycol.*, **1975**, 11, 245-259.
79. Fenical W., Howard B., Gifkins K.B., Clardy J. Irieol A and Iriediol; Dibromoditerpenes of a new skeletal class from *Laurencia*. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 46, 3983-3986.
80. Fenical W., Norris J.N. Chemotaxonomy in marine algae: chemical separation of some *Laurencia* species (Rhodophyta) from the gulf of California. *J. Phycol.*, **1975**, 11, 104-108.
81. 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.
82. Fernandez J.J., Souto M.L., Gil L.V., Norte M. Isolation of naturally occurring dactylomelane metabolites as *Laurencia* constituents. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8910-8915.
83. Fernández J.J., Souto M.L., Norte M. Evaluation of the cytotoxic activity of polyethers isolated from *Laurencia*. *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6, 2237-2243.
84. Fox R.J., Sunderland T.L., Hoey A.S., Bellwood D.R. Estimating ecosystem function: Contrasting roles of closely related herbivorous rabbitfishes (Siganidae) on coral reefs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **2009**, 385, 261-269.
85. Fujii M.T., Cassano V., Senties A., Díaz-Larrea J., Machín-Sánchez M., Candelaria Gil-Rodríguez M. Comparative analysis of the *corps en cerise* in several species of *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.*, **2012**, 22, 795-804.
86. Fujii M.T., Cassano V., Stein É.M., Carvalho L.R. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the *Laurencia* complex (Ceramiales, rhodophyta) from Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.*, **2011**, 21, 268-282.
87. Fujii M.T., Guimarães S.M.P.B. Morphological studies of the parasitic red alga *Janczewskia moriformis* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil. *Phycologia*, **1999**, 38, 1-7.
88. Fujii M.T., Guimarães S.M.P.B., Gurgel C.F.D., Fredericq S. Characterization and phylogenetic affinities of the red alga *Chondrophyucus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil on the basis of morphological and molecular evidence. *Phycologia*, **2006**, 45, 432-441.
89. Fujita K., Hallock P. A comparison of phytal substrate preferences of *Archaias angulatus* and *Sorites orbiculus* in mixed macroalgal-seagrass beds in Florida Bay. *J. Foramin. Res.*, **1999**, 29, 143-151.
90. Fukuzawa A., Miyamoto M., Kumagai Y., Abiko A., Takaya Y., Masamune T. Structure of new bromoditerpenes, pinnatols, from the marine red alga *Laurencia pinnata* Yamada. *Chem. Lett.*, **1985**, 1259-1262.
91. 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.
92. González A.G., Aguiar J.M., Darias J., González E., Martín J.D., Martín V.S., Pérez C., Fayos J., Martínez-Ripoli M. Perforenol, a new polyhalogenated sesquiterpene from *Laurencia perforata*. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 3931-3934.

93. González A.G., Martín J.D., Martín V.S., Norte M., Pérez R. Biomimetic approach to the syntheses of rhodolaureol and rhodolauradiol, *Tetrahedron Lett.*, **1982a**, 23, 2395-2398.
94. González A.G., Martín J.D., Martín V.S., Norte M., Pérez R., Ruano J.Z., Drexler S.A., Clardy J. Non-terpenoid C-15 metabolites from the red seaweed *Laurencia pinnatifida*. *Tetrahedron*, **1982b**, 38, 1009-1014.
95. González A.G., Martín J.D., Martín V.S., Pérez R., Tagle B., Clardy J. Rhodolaureol and rhodolauradiol, two new halogenated tricyclic sesquiterpenes from a marine alga. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1985**, 0, 260-261.
96. González del Val A., Platas G., Basilio A., Cabello A., Gorrochategui J., Suay I., Vicente F., Portillo E., del Río M.J., Reina G.G. Peláez F., Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *Int. Microbiol.*, **2001**, 4, 35-40.
97. González A.G., Aguiar J.M., Martín J.D., Norte M. Three new sesquiterpenoids from the marine alga *Laurencia perforate*. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 29, 2499-2502.
98. Granado I., Caballero P. Feeding rates of *Littorina striata* and *Osilinus atratus* in relation to nutritional quality and chemical defenses of seaweeds. *Marine Biol.*, **2001**, 138, 1213-1224.
99. Gressler V., Yokoya N.S., Fujii M.T., Colepicolo P., Filho J.M., Torres R.P., Pinto E. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chem.*, **2010**, 120, 585-590.
100. 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.
101. 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.
102. Guella G., Mancini I., Chiasera G., Pietra F. Rogiolenyne D, the likely intermediate precursor of rogiolenyne A and B, branched C15 acetogenins isolated from the red seaweed *Laurencia microcladia* of Il Rogiolo, conformation and absolute configuration in the whole series. *Helv. Chim. Acta*, **1992a**, 75, 303-309.
103. 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.
104. Guella G., Pietra F. 5. 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.
105. Guella G., Pietra F. A new skeleton diterpenoid, new prenylbisabolanes, and their putative biogenetic precursor, from the red seaweed *Laurencia microcladia* from Il Rogiolo: assigning the absolute configuration when two chiral halves are connected by single bonds. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 2946-2952.

106. 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 microladia* from the bay of Calenzana, Elba Island. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 723-725.
107. 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.
108. 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**, B 57, 1147-1151.
109. 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.
110. 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.
111. Hamdy A.A. Biosorption of heavy metals by marine algae. *Curr. Microbiol.*, **2000**, 41, 232-238.
112. Hernández Almeida O.U., Siqueiros Beltrones D.A. Variaciones en la estructura de asociaciones de diatomeas epifitas de macroalgas en una zona subtropical [Variations in the structure of epiphytic diatom assemblages in subtropical macroalgae]. *Hidrobiologica*, **2008**, 18, 51-61.
113. Hernandez-Gonzalez M.C., Gil-Rodriguez M.C. Existence of plants bearing tetrasporangia and spermatangial receptacles (mixed phases) in the genus *Laurencia* Lamouroux (Rhodomelaceae). *Nova Hedwigia*, **1994**, 59, 189-194.
114. Herren L.W., Walters L.J., Beach K.S. Fragment production and recruitment ecology of the red alga *Laurencia poiteau* in Florida Bay, USA. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **2013**, 440, 192-199.
115. Hick A.J., Luszniak M.C., Pickett J.A. Volatile isoprenoids that control insect behaviour and development. *Nat. Prod. Rep.*, **1999**, 16, 39-54.
116. Higgs M.D. Antimicrobial components of the red alga *Laurencia hybrida* (Rhodophyta; Rhodomelaceae). *Tetrahedron*, **1981**, 37, 4255-4258.
117. Higgs M.D., Mulheirn L.J. Hybridolactone; an unusual fatty acid metabolite from red alga *Laurencia hybrida* (Rhodophyta; Rhodomelaceae). *Tetrahedron*, **1981**, 37, 4259-4262.
118. Holmquist J.G. Benthic macroalgae as a dispersal mechanism for fauna: Influence of a marine tumbleweed. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1994**, 180, 235-251.
119. Horta, P.A., Vieira-Pinto, T., Martins, C.D.L., Sissini, M.N., Ramlov, F., Lhullier, C., Scherner, F., Sanches P.F., Farias J.N., Bastos E., Bouzon J.L., Munoz P., Valduga E., Arantes N.P., Batista M.B., Ruil P., Almeida R.S., Paes E., Fonseca A., Schenkel E.P., Rorig L., Bouzon Z., Barufi J.B., Colepicolo P., Yokoya N., Copertino M.S., de Oliveira, E.C. Evaluation of impacts of climate change and local stressors on the biotechnological potential of marine macroalgae - A brief theoretical discussion of likely scenarios. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.*, **2012**, 22, 768-774.

- 120.Howard B.M., Fenical W. Obtusadiol; a unique bromoditerpenoid from the marine red alga *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 28, 2453-2456.
- 121.Howard B.M., Fenical W. α - and β -snyderol, new bromo-monocyclic sesquiterpenes from the seaweed *Laurencia*. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 17, 41-44.
- 122.Howard B.M., Nonomura A.M., Fenical W. Chemotaxonomy in marine algae: secondary metabolite synthesis by *Laurencia* unialgal culture. *Biochem. Syst. Ecol.*, **1980**, 8, 329-336.
- 123.<http://www.algaebase.org>
- 124.<http://www.discoverlife.org>
- 125.Iliopoulou D., Mihopoulos N., Vagias C., Papazafiri P., Roussis V. Novel cytotoxic brominated diterpenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 7667-7674.
- 126.Iliopoulou D., Vagias C., Galanakis D., Argyropoulos D., Roussis V. Brasilane-type sesquiterpenoids from *Laurencia obtusa*. *Org. Lett.*, **2002**, 4, 3263-3266.
- 127.Imre S., Islimyeli S., Öztunç A., Thomson R.H. Obtusenol, a sesquiterpene from *Laurencia obtusa*. *Phytochem.*, **1981**, 20, 833-834.
- 128.Ishihara J., Murai A. Biosynthesis of cyclic bromo-ethers, derived from red algae. *Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi/J. Syn. Org. Chem. Jpn.*, **2001**, 59, 1181-1198.
- 129.Ji N., Li X., Ding L., Wang B. Aristolane sesquiterpenes and highly brominated indoles from the marine red alga *Laurencia similis* (Rhodomelaceae). *Helv. Chim. Acta*, **2007a**, 90, 385-391.
- 130.Ji N.Y., Li X.M., Cui C.M., Wang B.G. Two new brominated diterpenes from *Laurencia decumbens*. *Chin. Chem. Lett.*, **2007b**, 18, 957-959.
- 131.Ji N.Y., Li X.M., Ding L.P., Wang B.G. Two new aristolane sesquiterpenes from *Laurencia similis*. *Chin. Chem. Lett.*, **2007c**, 18, 178-180.
- 132.Juagdan E.G., Kalidindi R., Scheuer P. Two new chamigranes from a Hawaiian red alga, *Laurencia cartilaginea*. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 521-528.
- 133.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.
- 134.Khotimchenko S.V., Gusarova I.S. Red algae of Peter the Great Bay as a source of arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Russ. J. Mar. Biol.*, **2004**, 30, 183-187.
- 135.Kigoshi H., Ojika M., Shizuri Y., Niwa H., Yamada K. (10R, 11R)-(+)-squalene-10,11-epoxide: isolation from *Laurencia okamurai* and the asymmetric synthesis. *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 5413-5414.
- 136.Kigoshi H., Ojika M., Shizuri Y., Niwa H., Yamada K. Isolation of (10R,11R)-(+)-squalene-10,11-epoxide from the red alga *Laurencia okamurai* and its enantioselective synthesis. *Tetrahedron*, **1986**, 42, 3789-3792.
- 137.Kilar J.A., Lou R.M. Ecological and behavioral studies of the decorator crab, *Microphrys bicornutus* Latreille (Decapoda : Brachyura): A test of optimum foraging theory. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1984**, 74, 157-167.

- 138.Kilar J.A., Lou R.M. The subtleties of camouflage and dietary preference of the decorator crab, *Microphrys bicornutus* Latreille (Decapoda: Brachyura). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1986**, 101, 143-160.
- 139.Kladi M., Vagias C., Furnari G., Moreau D., Roussakis C., Roussis V. Cytotoxic cuparene sesquiterpenes from *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 5723-5726.
- 140.Kladi M., Vagias C., Papazafiri P., Brogi S., Tafi A., Roussis V. Tetrahydrofuran acetogenins from *Laurencia glandulifera*. *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72, 190-193.
- 141.Kladi M., Vagias C., Papazafiri P., Furnari G., Serio D., Roussis V. New sesquiterpenes from the red alga *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 7606-7611.
- 142.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.
- 143.Kladi M., Xenaki H., Vagias C., Papazafiri P., Roussis V. New cytotoxic sesquiterpenes from the red algae *Laurencia obtusa* and *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 182-189.
- 144.Klopell F.C., Lemos M., Sousa J.P.B., Comunello E., Maistro E.L., Bastos J.K., De Andrade S.F. Z. *Naturforsch.*, **2007**, 62, 537-542.
- 145.König G.M., Wright A.D. *Laurencia rigida*: Chemical investigations of its antifouling dichloromethane extract. *J. Nat. Prod.*, **1997**, 60, 967-970.
- 146.Kubota N.K., Iwamoto H., Fukazawa Y., Uchio Y. Five new sulfur-containing polybrominated bisindoles from the red alga *Laurencia brongniartii*. *Heterocycles*, **2005**, 65, 2675-2682.
- 147.Kuffner I.B., Walters L.J., Becerro M.A., Paul V.J., Ritson-William, R., Beach K.S. Inhibition of coral recruitment by macroalgae and cyanobacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **2006**, 323, 107-117.
- 148.Kurata K., Taniguchi K., Agatsuma Y., Suzuki M. Diterpenoid feeding-deterrents from *Laurencia saitoi*. *Phytochem.*, **1998**, 47, 363-369.
- 149.Kurosawa E., Fukuzawa A., Irie T. trans- and cis-laurediol, unsaturated glycols from *Laurencia nipponica* Yamada. *Tetrahedron Lett.*, **1972**, 21, 2121-2124.
- 150.König G., Wright A.D. New C₁₅ acetogenins and sesquiterpenes from the red alga *Laurencia* sp. cf. *L. gracilis*. *J. Nat. Prod.*, **1994**, 57, 477-485.
- 151.Lapczynski A., Bhatia S.P., Letizia C.S., Api A.M. Fragrance material review on nerolidol (isomer unspecified). *Food Chem. Toxicol.*, **2008**, 46, S247-S250.
- 152.Lapointe B.E., Barile P.J., Matzie W.R. Anthropogenic nutrient enrichment of seagrass and coral reef communities in the Lower Florida Keys: Discrimination of local versus regional nitrogen sources. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **2004**, 308, 23-58.
- 153.Lee S.-J., Han J.-I., Lee G.-S., Park M.-J., Choi I.-G., Na K.-j., Jeung E.-B. Antifungal effect of eugenol and nerolidol against *Microsporum gypseum* in a Guinea pig model. *Biol. Pharm. Bull.*, **2007**, 30, 184-188.
- 154.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.
155. Li C., Li X., Cui C., Wang B. Brominated metabolites from the marine red alga *Laurencia similis*. *Z. Naturforsch. B*, **2010a**, 65, 87-89.
 156. Li Y.-X., Li Y., Lee S.-H., Qian Z.-J.I., Kim S.E.-K. Inhibitors of oxidation and matrix metalloproteinases, floridoside, and D-Lsofloridoside from marine red alga *Laurencia undulata*. *J. Agric. Food Chem.*, **2010b**, 58, 578-586.
 157. Little R.D., Nishiguchi G.A. Synthetic efforts toward, and biological activity of, thyriferol and structurally-related analogues. *Stud. Nat. Prod. Chem.*, **2008**, 35, 3-56.
 158. Littler M.M., Littler D.S., Taylor P.R. Animal-plant defense associations: Effects on the distribution and abundance of tropical reef macrophytes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **1987**, 105, 107-121.
 159. Littler M.M., Taylor P.R., Littler D.S. Algal resistance to herbivory on a Caribbean barrier reef. *Coral Reef*, **1983**, 2, 111-118.
 160. Littler M.M., Taylor P.R., Littler D.S. Plant defense associations in the marine environment. *Coral Reef*, **1986**, 5, 63-71.
 161. Loizzo M.R., Tundis R., Statti G.A., Menichini F. Jacaranone: a cytotoxic constituent from *Senecio ambiguus subsp. ambiguus* (Biv.) DC. against renal adenocarcinoma LNCaP cells. *Archives of Pharmaceutical Research*, **2007**, 30, 701-707.
 162. Lwande W., Ndakala A.J., Hassanali A., Moreka L., Nyandat E., Ndungu M., Amiani H., Gitu P.M., Malonza M.M., Punyua D.K. *Gynandropsis gynandra* essential oil and its constituents as tick (*Phipicephalus appendiculatus*) repellents. *Phytochem.*, **1999**, 50, 401-405.
 163. Lyakhova E.G., Kalinovsky A.I., Kolesnikova S.A., Vaskovsky V.E., Stonik V.A. Halogenated diterpenoids from the red alga *Laurencia nipponica*. *Phytochem.*, **2004**, 65, 2527-2532.
 164. Mahdi F., Falkenberg M., Ioannou E., Roussis V., Zhou Y.D., Nagle D.G. Thyriferol inhibits mitochondrial respiration and HIF-1 activation. *Phytochem. Lett.*, **2011**, 4, 75-78.
 165. Manzo E., Ciavatta M.L., Gavangin M., Puliti R., Mollo E., Guo Y.-W., Mattia C.A., Mazzarella L., Cimino G. Structure and absolute stereochemistry of novel C₁₅-halogenated acetogenins from the anaspidean mollusc *Aplysia dactylomela*. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7456-7460.
 166. 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.
 167. MarinLit Database, February **2013**, Department of Chemistry, University of Canterbury, New Zealand: <http://www.chem.canterbury.ac.nz/marinlit/marinlit.shtml>
 168. Martin-Lescanne J., Rousseau F., De Reviers B., Payri C., Couloux A., Cruaud C., Le Gall L. Phylogenetic analyses of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae, Ceramiales) support recognition of five genera: *Chondrophyucus*, *Laurencia*, *Osmundea*, *Palisada* and *Yuzurua* stat. nov. *Eur. J. Phycol.*, **2010**, 45, 1, 51-66.
 169. Maru N., Ohno O., Koyama T., Yamada K., Uemura D. Papillamide, a novel fatty acid amide from the red alga *Laurencia papillosa*. *Chem. Lett.*, **2010**, 39, 366-367.
 170. Masuda M., Abe T., Saito S., Suzuki T., Suzuki M. Diversity of secondary metabolites in the red

- algae *Laurencia nipponica* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *J. Phycol.*, **1997**, 33, 196-208.
171. Masuda M., Abe T., Suzuki T., Suzuki M. Morphological and chemotaxonomic studies on *Laurencia composita* and *Laurencia okamurai* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia*, **1996**, 35, 550-562.
 172. Matsuo Y., Suzuki M., Masuda M. Enshuol, a novel squalene-derived pentacyclic triterpene alcohol from a new species of the red algal genus *Laurencia*. *Chem. Lett.*, **1995**, 24, 1043-1044.
 173. Matsuzawa S., Kawamura T., Mitsuhashi S., Suzuki T., Matsuo Y., Suzuki M., Mizuno Y., Kikuchi K. Thyriferyl 23-acetate and its derivatives induce apoptosis in various T- and B- leukemia cells. *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, 7, 381-387.
 174. Matsuzawa S., Suzuki T., Suzuki M., Matsuda A., Kawamura T., Mizuno Y., Kikuchi K. Thyriferyl 23-acetate is a novel specific inhibitor of protein phosphatase PP2A. *FEBS Lett.*, **1994**, 356, 272-274.
 175. Mayer A.M.S., Paul V.J., Fenical W., Norris J.N., De Carvalho M.S., Jacobs R.S. Phospholipase A₂ inhibitors from marine algae. *Hydrobiologia*, **1993**, 260, 521-529.
 176. McClanahan T.R., Cokos B.A., Sala E. Algal growth and species composition under experimental control of herbivory, phosphorus and coral abundance in Glovers Reef, Belize. *Mar. Poll. Bull.*, **2002**, 44, 441-451.
 177. McDonald F.J., Campbell D.C., Vanderah D.J., Schmitz F.J., Washecheck D.M., Burks J.E., Van der Helm D. Marine Natural Products: Dactylone, an acetylenic dibromochloroether from the sea hare *Aplysia dactylomela*. *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 665-666.
 178. Mihopoulos N., Vagias C., Mikros E., Scoullou M., Roussis V. Prevezols A and B: new brominated diterpenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 3749-3752.
 179. Mohammed K.A., Hossain C.F., Zhang L., Bruick R.K., Zhou Y.D., Nagle D.G. Laurenditerpenol, a new diterpene from the tropical marine alga *Laurencia intricata* that potently inhibits HIF-1 mediated hypoxic signaling in breast tumor cells. *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 2002-2007.
 180. Morita H., Kishi E., Takeya K., Itokawa H., Iitaka Y. Squalene derivatives from *Eurycoma longifolia*. *Phytochem.*, **1993**, 34, 765-771.
 181. Muñoz J., Fotedar R. Epiphytism of *Gracilaria cliftonii* (Withell, Millar & Kraft) from Western Australia. *J. Appl. Phycol.*, **2010**, 22, 371-379.
 182. Nam K.W. Morphology of *Chondrophyucus undulata* and *C. parvipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *Eur. J. Phycol.*, **1999**, 35, 5, 455-468.
 183. Nam K.W. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov. from Korea. *J. Appl. Phycol.*, **2006**, 18, 679-697.
 184. Navarro-Moll C., Romero C., Montilla P., Valero A. In vitro and in vivo activity of three sesquiterpenes against L₃ larvae of *Anisakis* type I. *Exp. Parasitol.*, **2011**, 127, 405-408.
 185. Newman D.J., Gragg G.M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod.*, **2007**, 70, 461-477.
 186. Nibret E., Wink M. Trypanocidal and antileukaemic effect of essential oils of *Hagenia abyssinica*,

- Leonotis ocymifolia*, *Moringa stenopetala*, and their main individual constituents. *Phytomedicine*, **2010**, 17, 911-920.
187. Nibret E., Wink M. Trypanocidal and antileukaemic effect of essential oils of *Hagenia abyssinica*, *Leonotis ocymifolia*, *Moringa stenopetala*, and their main individual constituents. *Phytomedicine*, **2010**, 17, 911-920.
188. 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.
189. Norte M., González A.G., Cataldo F., Rodríguez M.L., Brito I. New examples of acyclic and cyclic C-15 acetogenins from *Laurencia pinnatifida*, reassignment of the absolute configuration for the E and Z pinnatifidienyne. *Tetrahedron*, **1991**, 47, 9411-9418.
190. Norte M., Souto M.L., Fernandez J.J. Viridiols, two new diterpenes from *Laurencia viridis*. *Nat. Prod. Lett.*, **1996**, 8, 263-269.
191. Nyland G.M., Pavia H. Inhibitory effects of red algal extracts on larval settlement of the barnacle *Balanus improvisus*. *Marine Biol.*, **2003**, 143, 875-882.
192. Overman L.E., 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.
193. Öztunç A., Imre S., Lotter H., Wagner H. Two C15 bromoallenes from the red alga *Laurencia obtusa*. *Phytochem.*, **1991a**, 30, 255-257.
194. Öztunç A., Imre S., Wagner H., Norte M., Fernández J.J., González. A new haloether from *Laurencia* possessing a lauroxacyclododecane ring, structural and conformational studies. *Tetrahedron*, **1991b**, 47, 2273-2276.
195. Pacheco-Ruiz I., Zertuche-González J.A. The commercially valuable seaweeds of the Gulf of California. *Bot. Mar.*, **1996**, 39, 201-206.
196. 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.
197. Paradas W.C., Salgado L.T., Sudatti D.B., Crapez M.A., Fujii M.T., Coutinho R., Pereira R.C., Amado Filho G.M. Induction of halogenated vesicle transport in cells of the red seaweed *Laurencia obtusa*. *Biofouling*, **2010**, 26, 277-286.
198. Park H.-M., Kim J., Chang K.-S., Kim B.-S., Yang Y.-J., Kim G.-H., Shin S.-C., Park I.-K. Larvicidal activity of *Myrtaceae* essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna* and aqueous residue. *J. Med. Entomol.*, **2011**, 48, 405-410.
199. Park M.J., Gwak K.S., Yang I., Kim K.W., Jeung E.B., Chang J.W., Choi I.G. Effect of citral, eugenol, nerolidol and alpha-terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia*, **2009**, 80, 290-296.
200. Pec M.K., Moser-Thier K., Fernández J.J., Souto M.L., Kubista E. Growth inhibition by dehydrothysiferol-a non-Pgp modulator, derived from a marine red alga – in human breast cancer cell lines. *Inter. J. Oncol.*, **1999**, 14, 739-743.

201. 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.
202. Priestley C.M., Burgess I.F., Williamson E.M. Lethality of essential oil constituents towards the human louse, *Pediculus humanus*, and its eggs. *Fitoterapia*, **2006**, 77, 303-309.
203. Qin J.C., Su H., Zhang Y.M., Gao J.M., Zhu L., Wu X.A., Pan H.Y., Li X.A. Highly brominated metabolites from marine red alga *Laurencia similis* inhibit protein tyrosine phosphatase 1B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 7152-7154.
204. Rindi F., Maltagliati F., Rossi F., Acunto S., Cinelli F. Algal flora associated with a *Halophila stipulacea* (Forsskal) ascherson (Hydrocharitaceae, Helobiae) stand in the western Mediterranean. *Oceanol. Acta*, **1999**, 22, 421-429.
205. Robaina R.R., Garcia-Reina G., Luque A. The effects of the physical characteristics of the culture medium on the development of red seaweeds in tissue culture. *Hydrobiologia*, **1990**, 204-205, 137-142.
206. Rochfort S.J., Capon R.J. Parguerenes revisited: new brominated diterpenes from the southern Australian marine red alga *Laurencia filiformis*. *Aust. J. Chem.*, **1996**, 49, 19-26.
207. Rogers C.N., De Nys R., Charlton T.S., Steinberg P.D. Dynamics of algal secondary metabolites in two species of sea hare. *J. Chem. Ecol.*, **2000**, 26, 721-744.
208. Rogers C.N., De Nys R., Steinberg P.D. Effects of algal diet on the performance and susceptibility to predation of the sea hare *Aplysia parvula*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **2002**, 236, 241-254.
209. Roussis V., Chinou I., Tsitsimpikou C., Vagias C., Petrakis P.V. Antibacterial activity of volatile secondary metabolites from Caribbean soft corals of the genus *Gorgonia*. *Flavour and Fragr. J.*, **2001**, 16, 364-366.
210. Sakemi S., Higa T., Jefford C.W., Bernardinelli G. Venustatriol. A new antiviral triterpene tetracyclic ether from *Laurencia venusta*. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4287-4290.
211. Salgado L.T., Viana N.B., Andrade L.R., Leal R.N., da Gama B.A.P., Attias M., Pereira R.C., Amado Filho G.M. Intra-cellular storage, transport and exocytosis of halogenated compounds in marine red alga *Laurencia obtusa*. *J. Struct. Biol.*, **2008**, 162, 345-355.
212. San Martin A., Rovirosa J., Muñoz O., Chen M.H.M., Guneratne R.D., Clardy J. The isolation and structure determination of chilenone A, a putative dimer of 2-methyl-3(2H)-furanone from the marine alga *Laurencia chilensis*. *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 4063-4066.
213. San-Martín A., Rovirosa J., Xu C., Lu H.S.M., Clardy J. Further structural studies on the 2-methyl-3(2H)-furanone derived metabolites of the marine alga *Laurencia chilensis*. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6013-6014.
214. Sarà G., Vizzini S., Mazzola A. Sources of carbon and dietary habits of new Lessepsian entry *Brachidontes pharaonis* (Bivalvia, Mytilidae) in the western Mediterranean. *Marine Biol.*, **2003**, 143, 713-722.
215. Schmitz F.J., Michaud D.P., Schmidt P.G. Marine Natural Products: Parguerol, deoxyparguerol and isoparguerol, new brominated diterpenes with modified pimarane skeletons from the sea hare

- Aplysia dactylomela*. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 6415-6423.
216. Schnetter R., Gil-Rodríguez M.C., Medina M., Döring J., Henne K.-D., Hernández-González M.C. Distinction of gametophytes and tetrasporophytes by microfluorometry in *Osmundea pinnatifida* (Rhodophyta) from Canary Islands. *Phycologia*, **2000**, 39, 147-152.
217. Shen S., Wu X., Yan B., He L. Tissue culture of three species of *Laurencia* complex. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **2010**, 28, 514-520.
218. Shizuri Y., Yamada K. Laurebiphenyl, a dimeric sesquiterpene of the cyclolaurane-type from the red alga *Laurencia nidifica*. *Phytochem.*, **1985**, 24, 1385-1386.
219. Silkin V.A., Evstigneeva I.K. Productivity of two morphological forms of *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grev. (Rhodophyta) in culture. *International Journal on Algae* **2005**, 7, 108-117.
220. Simionatto E., Porto C., Dalcol I.I., da Silva U.F., Morel A.F. Essential oil from *Zanthoxylum hyemale*. *Planta Med.*, **2005**, 71, 759-763.
221. 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.
222. Sims J.J., Lin G.H.Y., Wing R.M., Fenical W. Marine natural products. Concinndiol, a bromoditerpene alcohol from the red alga *Laurencia concinna*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1973**, 470-471.
223. Snyder S.A., Treitler D.S., Brucks A.P., Sattler W. A general strategy for the stereocontrolled preparation of diverse 8- and 9-membered *Laurencia* -type bromoethers, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 15898-15901.
224. Stallard M.O., Fenical W., Kittredge J.S. The brasilenols, rearranged sesquiterpene alcohols isolated from the marine opisthobranch *Aplysia brasiliensis*. *Tetrahedron*, **1978**, 34, 2077-2081.
225. Stein E.M., Andreguetti D.X., Rocha C.S., Fujii M.T., Baptista M.S., Colepicolo P., Indig G.L. Search for cytotoxic agents in multiple *Laurencia* complex seaweed species (Ceramiales, rhodophyta) harvested from the Atlantic ocean with emphasis on the Brazilian state of Espírito Santo. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.*, **2011**, 21, 239-243.
226. Stoner A.W., Waite J.M. Trophic biology of *Strombus gigas* in nursery habitats: Diets and food sources in seagrass meadows. *J. Mollus. Stud.*, **1991**, 57, 451-460.
227. Su H., Yuan Z.H., Li J., Guo S.J., Deng L.P., Han L.J., Zhu X.B., Shi D.Y. Two new bromoindoles from red alga *Laurencia similis*. *Chin. Chem. Lett.*, **2009**, 20, 456-458.
228. Suárez-Castillo O.R., Beiza-Granados L., Meléndez-Rodríguez M., Álvarez-Hernández A., Morales-Ríos M.S., Joseph-Nathan P. Synthesis of bromoindole alkaloids from *Laurencia brongniartii*. *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69, 1596-1600.
229. Sudatti D.B., Fujii M.T., Rodrigues S.V., Turra A., Pereira R.C. Effects of abiotic factors on growth and chemical defenses in cultivated clones of *Laurencia dendroidea* J. Agarth (Ceramiales, Rhodophyta). *Marine Biol.*, **2011**, 158, 1439-1446.
230. Sun J., Shi D., Ma M., Li S., Wang S., Han L., Yang Y., Fan X., Shi J., He L. Sesquiterpenes from the red alga *Laurencia tristicha*. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 915-919.

231. Sun J., Shi D.-Y., Li S., Wnag 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.
232. Sun L.-L., Wang C.-Y., Dai H.-F., Shao C.-L., Mei W.-L., Tao-Liu, Ma Z.-D. Chemical constituents of *Chondrophycus papillosus* and their cytotoxicity in vitro. *Chem. Nat. Compd.*, **2011**, 47, 650-653.
233. Suzuki M., Kurosawa E. Halogenated and non-halogenated aromatic sesquiterpenes from the red alga *Laurencia okamurai* Yamada. *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1979b**, 52, 3352-3354.
234. Suzuki M., Kurosawa E. Halogenated sesquiterpene phenols and ethers from the red alga *Laurencia glandulifera* Kützinger. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1979a**, 52, 3349-3351.
235. Suzuki M., Kurosawa E., Kurata K. (*E*)-2-Tridecyl-2- heptadecenal, an unusual metabolite from the red alga *Laurencia* species. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, 60, 3793-3794.
236. Suzuki M., Matsuo Y., Takeda S., Suzuki T. Intricatetraol, a halogenated triterpene alcohol from the red alga *Laurencia intricata*. *Phytochem.*, **1993**, 33, 651-656.
237. Suzuki M., Nakano S., Takahashi Y., Abe T., Masuda M. Bisezakayne-A and -B, halogenated C-15 acetogenins from a japanese *Laurencia* sp.. *Phytochem.*, **1999**, 51, 657-662.
238. 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.
239. Suzuki T., Suzuki M., Furusaki A., Matsumoto T., Kato A., Imanaka Y., Kurosawa E. Teurilene and thyriferyl 23-acetate, meso and remarkably cytotoxic compounds from the marine red alga *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux. *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 26, 1329-1332.
240. Sylvestre M., Pichette A., Lavoie S., Longtin ., Legault J. Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter. *Phytother. Res.*, **2007**, 21, 536-540.
241. Takahashi Y., Suzuki M., Abe T., Masuda M. Anhydroaplysiadiol from *Laurencia japonensis*. *Phytochem.*, **1998**, 48, 987-990.
242. Takeda S., Kurosawa E., Komiyama K., Suzuki T. The structures of cytotoxic diterpenes containing bromine from the marine red alga *Laurencia obtusa* (Hudson) Lamouroux. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1990**, 63, 3066-3072.
243. Tanaka J., Higa T., Bernardinelli G., Jefford C.W. Sulfur-containing polybromoindoles from the red alga *Laurencia brongniartii*. *Tetrahedron*, **1989**, 45, 7301-7310.
244. Tanaka J., Higa T., Bernardinelli G., Jefford C.W. Itomanindoles A and B. Methylsulfinylindoles from *Laurencia brongniartii*. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 6091-6094.
245. Togashi N., Hamashima H., Shiraishi A., Inoue Y., Takano A. Antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* of terpene alcohols with aliphatic carbon chains. *J. Essent. Oil Res.*, **2010**, 22, 263-269.
246. 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.
247. Turna I.I., Ertan Ö.O., Cormaci M., Furnari G. Seasonal variations in the biomass of macro-algal communities from the gulf of Antalya (North-Eastern Mediterranean). *Turk. J. Bot.*, **2002**, 26, 19-29.

- 248.Vairappan C.S. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biomol. Eng.*, **2003**, 20, 255-259.
- 249.Vairappan C.S., Anangdan S.P., Matsunaga S. Diet-derived halogenated metabolite from the sea hare *Aplysia parvula*. *Malaysian Journal of Science*, **2009**, 28, 269-273.
- 250.Vairappan C.S., Anangdan S.P., Tan K.L., Matsunaga S. Role of secondary metabolites as defense chemicals against ice-ice disease bacteria in biofouler at carrageenophyte farms. *J. Appl. Phycol.*, **2010**, 22, 305-311.
- 251.Vairappan C.S., Daitoh M., Suzuki M., Abe T., Masuda M. Antibacterial halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia* species. *Phytochem.*, **2001b**, 58, 291-297.
- 252.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**.
- 253.Vairappan C.S., Kawamoto T., Miwa H., Suzuki M. Potent antibacterial activity of halogenated compounds against antibiotic-resistant bacteria. *Planta Med.*, **2004**, 70, 11, 1087-1090.
- 254.Vairappan C.S., Suzuki M., Abe T., Masuda M. Halogenated metabolites with antibacterial activity from the Okinawan *Laurencia* species. *Phytochem.*, **2001a**, 58, 517-523.
- 255.Van Zyl R.L., Seatholo S.T., Van Vuuren S.F., Viljoen A.M. The biological activities of 20 nature identical essential oil constituents. *J. Essent. Oil Res.*, **2006**, 18, 129-133.
- 256.Vanderah D.J., Schmitz F.J. Marine Natural Products: Isodactylone, a halogenated acetylenic ether from the sea hare *Aplysia dactylomela*. *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 3480-3481.
- 257.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.
- 258.Villanueva R.D., Romero J.B., Ragasa A.L.R., Montaña M.N.E. Agar from the red seaweed, *Laurencia flexilis* (Ceramiales, Rhodophyta) from northern Philippines. *Phycol. Res.*, **2010**, 58, 151-156.
- 259.Vroom P.S., Braun C.L. Benthic composition of a healthy subtropical reef: baseline species-level cover, with an emphasis on algae, in the Northwestern Hawaiian Islands. *PLOS One*, **2010**, e9733.
- 260.Wattenberg, L.W. Inhibition of azoxymethane-induced neoplasia of the large bowel by 3-hydroxy-3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatriene (nerolidol). *Carcinogenesis*, **1991**, 12, 151-152.
- 261.Wessels M., Kö nig G.M., Wright A.D. New natural product isolation and comparison of the secondary metabolite content of three distinct samples of the sea hare *Aplysia dactylomela* from Tenerife. *J. Nat. Prod.*, **2000**, 63, 920-928.
- 262.Wiedenfeld H., Knoch F., Koch M. Die kristallstruktur von spiro-bis-pinnaketol, einer neuen spiroverbindung aus *Laurencia pinnatifida* Lamouroux. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1985**, 318, 289-293.
- 263.Wratten S.J., Faulkner D.J. Metabolites of the red alga *Laurencia subopposita*. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 3343-3349.

264. Wright A.D., Goclik E., König G.M. Three new sesquiterpenes from the red alga *Laurencia perforata*. *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66, 3, 435-437.
265. Wright A.D., König G.M. Antimalarial activity: The search for marine-derived natural products with selective antimalarial activity. *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 710-716.
266. Young D.N., Howard B.M., Fenical W. Subcellular localization of brominated secondary metabolites in the red alga *Laurencia snyderae*. *J. Phycol.*, **1980**, 16, 182-185.

Πηγές Εικόνων

☞ <http://www.discoverlife.org>

☞ <http://www.biodiversidadvirtual.org/peces/Laurencia-obtusa-Hudson-JVLamouroux-img839.html>