



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΝΩΣΙΑΣ & ΧΗΜΕΙΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ
ΑΠΟ ΜΑΛΑΚΟ ΚΟΡΑΛΛΙ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *NERITHEA***

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ, ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ

ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΣΟΦΙΑ ΒΙΤΖΗΛΑΙΟΥ

ΑΘΗΝΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2023

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ

Ευσταθία Ιωάννου

Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Βασίλειος Ρούσσης

Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Όλγα Τζάκου

Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευσταθία Ιωάννου

Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η θαλάσσια βιόσφαιρα είναι η μεγαλύτερη της γης και φιλοξενεί έναν τεράστιο αριθμό διαφορετικών οργανισμών. Οι συνθήκες διαβίωσης διαφέρουν θεμελιωδώς από εκείνες στο χερσαίο περιβάλλον, οπότε η παραγωγή συγκεκριμένων δευτερογενών μεταβολιτών είναι ένας σημαντικός μηχανισμός προσαρμογής των θαλάσσιων οργανισμών για να επιβιώσουν στη θάλασσα. Πολλοί από αυτούς τους μεταβολίτες διαθέτουν βιολογικές ιδιότητες που τους καθιστούν ενδιαφέροντες για τον άνθρωπο ως πιθανά φάρμακα και για πολλές ακόμα εφαρμογές.

Τα μαλακά κοράλλια του γένους *Nerpthea* (οικογένεια Nerpthiidae) παράγουν μεγάλο αριθμό βιοδραστικών ενώσεων, οι οποίες μελετώνται για τις αντικαρκινικές τους, κυρίως, ιδιότητες.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος ενός μαλακού κοραλλιού του γένους *Nerpthea*, ποσότητα του οποίου συλλέχθηκε από την Ερυθρά Θάλασσα στην περιοχή Yanbu της Σαουδικής Αραβίας σε βάθος 6-8 m, τον Νοέμβριο του 2018.

Κατόπιν εξαντλητικής εκχύλισης του οργανισμού με οργανικούς διαλύτες, το εκχύλισμα υποβλήθηκε σε σειρά χρωματογραφικών διαχωρισμών με αποτέλεσμα την απομόνωση δεκατριών μεταβολιτών, από τους οποίους, μέχρι στιγμής, έχουν ταυτοποιηθεί οι οκτώ μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS και σύγκριση τους με τα δεδομένα ανάλογων δομών της βιβλιογραφίας. Οι μεταβολίτες που ταυτοποιήθηκαν ανήκουν στην χημική κατηγορία των τερπενίων, και συγκεκριμένα περιλαμβάνουν πέντε σесκιτερπένια και τρία διτερπένια.

ABSTRACT

The marine biosphere is the largest on earth and hosts a huge number of diverse organisms. Due to the different living conditions in comparison to those in the terrestrial environment, the production of specific secondary metabolites is an important adaptation mechanism of marine organisms in order to survive. Many of these metabolites possess biological properties that make them significant as potential drugs.

Soft corals belonging to the genus *Nephthea* (family Nephtiidae) produce a large number of bioactive compounds, many of which have anticancer properties.

In the framework of the present thesis, the chemical composition of the organic extract of a soft coral of the genus *Nephthea* was studied, specimens of which were collected from the region Yanbu in the Saudi Arabian Red Sea, at the depth of 6-8 m, in November of 2018.

After exhaustive extraction of the soft coral specimens with organic solvents, the extract was subjected to a series of chromatographic separations that led to the isolation of thirteen metabolites, among which eight have been identified so far on the basis of their NMR and MS spectroscopic data and comparison with literature data. Specifically, the identified metabolites include five sesquiterpenes and three diterpenes.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλλαν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας: Και πρώτα απ' όλα, στην επιβλέπουσα καθηγήτρια της διπλωματικής μου εργασίας, την Αναπλ. Καθηγήτρια Ευσταθία Ιωάννου και τον Καθηγητή Βασίλειο Ρούσση για την επιλογή και ανάθεση του θέματος, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, για τη συνεχή καθοδήγηση, την υποστήριξη, τις ουσιώδεις συμβουλές, και την ενθάρρυνση που μου παρείχαν, αλλά και για τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσαν κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Ακόμη θα επιθυμούσα να ευχαριστήσω τις μεταδιδακτορικές ερευνήτριες Δρ. Νατάσα Πετράκη και Δρ. Μαρία Χαριζάνη για την αμέριστη υποστήριξη και βοήθεια που μου προσέφεραν κατά την διάρκεια εκπόνησης της μελέτης, καθώς και για την επιμονή και υπομονή που έδειξαν κατά την διάρκεια της συνεργασίας μας, όπως επίσης και την υποψήφια διδάκτορα Δικαία Βαρλά για τη βοήθειά της, τις χρήσιμες συμβουλές της, την στήριξη, αλλά και την φιλία της.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου, τους μεταπτυχιακούς φοιτητές, υποψήφιους διδάκτορες, μεταδιδακτορικούς ερευνητές και τεχνικούς του εργαστηρίου για την βοήθεια και την φιλία που μου προσέφεραν, αλλά και την άψογη συνεργασία μας καθ' όλη τη διάρκεια που παρέμεινα και εργάστηκα μαζί τους στο εργαστήριο.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα αγαπημένα μου πρόσωπα και τους γονείς μου, που αποδέχθηκαν όλες τις επιλογές μου και με στήριξαν όλο αυτό το διάστημα, γιατί χωρίς την βοήθεια τους τίποτα από όσα έχω καταφέρει μέχρι σήμερα δε θα ήταν πραγματικότητα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	i
ABSTRACT	iii
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	v
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	vii
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	ix
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
1.1. Φαρμακογνωσία και φυσικά προϊόντα	1
1.2. Θαλάσσια φαρμακογνωσία	3
1.3. Κνιδόζωα	10
1.4. Κοράλλια	12
1.4.1. Γενικά	13
1.4.2. Βιοδραστικά συστατικά από κοράλλια	17
1.5. Γένος <i>Nephthea</i>	19
1.5.1. Γενικά στοιχεία	19
1.5.2. Βιοδραστικοί μεταβολίτες του γένους <i>Nephthea</i>	19
1.6. Σκοπός της μελέτης	28
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
2.1. Οργανολογία	29
2.2. Διαλύτες και χημικά αντιδραστήρια	29
2.3. Συλλογή του οργανισμού	30
2.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών	30
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	53
3.1. Μεταβολίτης 1	54
3.2. Μεταβολίτης 2	57
3.3. Μεταβολίτης 3	60
3.4. Μεταβολίτης 4	63
3.5. Μεταβολίτης 5	66
3.6. Μεταβολίτης 6	69
3.7. Μεταβολίτης 7	75
3.8. Μεταβολίτης 8	78
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	81
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	83

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

1D NMR	πείραμα NMR μίας διάστασης
2D NMR	πείραμα NMR δύο διαστάσεων
¹H NMR	1D-NMR πείραμα πυρήνων υδρογόνου (πρωτονίου)
br	ευρεία (NMR)
CDCl₃	δευτεριωμένο χλωροφόρμιο
CH₂Cl₂	διχλωρομεθάνιο
CHCl₃	χλωροφόρμιο
cHex	κυκλοεξάνιο
COSY	2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹ H για ² J και ³ J (Correlated Spectroscopy)
d	διπλή (NMR)
EIMS	φασματομετρία μάζας με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων (Electron Impact Mass Spectrometry)
EtOAc	οξικός αιθυλεστέρας
HMBC	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹³ C για ² J και ³ J (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation)
HPLC	υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography)
HSQC	2D-NMR πείραμα ετεροπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹³ C για ¹ J (Heteronuclear Single Quantum Coherence)
J	σταθερά σύζευξης (σε Hz) (NMR)
m	πολλαπλή (NMR)
MeOH	μεθανόλη
MS	φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry)
m/z	λόγος μάζας προς φορτίο
n-Hept	κανονικό επτάνιο
n-Hex	κανονικό εξάνιο
n-Pent	κανονικό πεντάνιο
NMR	φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance)
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	2D-NMR πείραμα ομοπυρηνικού συσχετισμού ¹ H- ¹ H στο χώρο (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)
RI	δείκτης διάθλασης (Refractive Index)
q	τετραπλή (NMR)
s	απλή (NMR)
t	τριπλή (NMR)
TLC	χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography)
δ	χημική μετατόπιση της απορρόφησης ενός πυρήνα σε σχέση με το τετραμεθυλοσιλάνιο (σε ppm) (NMR)

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. Φαρμακογνωσία και φυσικά προϊόντα

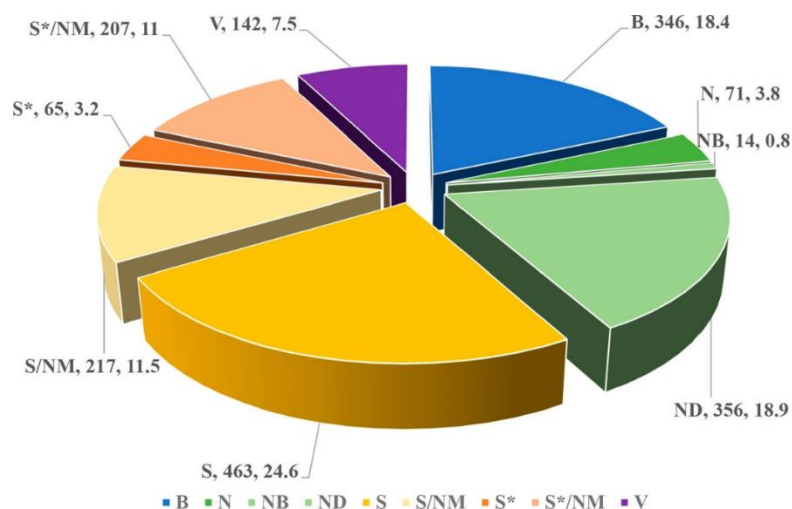
Η φαρμακογνωσία, δηλαδή η επιστήμη των φαρμάκων φυσικής προέλευσης είναι ένας από τους σημαντικότερους κλάδους στις φαρμακευτικές επιστήμες. Η φαρμακογνωσία ορίζεται ως η μελέτη των φυσικών, χημικών, βιοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων των φαρμάκων, φαρμακευτικών ουσιών, ή πιθανών φαρμάκων και φαρμακευτικών ουσιών, καθώς και η έρευνα για νέα φάρμακα από φυσικές πηγές (ASP American Society of Pharmacognosy, 2005). Μέχρι τη δεκαετία του 1950, τα φυτικά φάρμακα, όπως η κινχόνα, η δακτυλίτιδα, η υπεκακούανα και το όπιο, είχαν αντικατασταθεί από τα απομονωμένα ενεργά συστατικά τους (Phillipson, 2007).

Όταν χρησιμοποιείται ο όρος «φυσικό προϊόν» μπορεί να αναφέρεται στον ίδιο τον οργανισμό, σε μέρος αυτού, σε εκχύλισμα ή σε καθαρή ουσία. Ωστόσο, έχει καθιερωθεί ως φυσικά προϊόντα να θεωρούνται οι χημικές ουσίες που παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς, όπως φυτά, μύκητες, ζώα και μικροοργανισμούς.

Η χρήση φυσικών προϊόντων που προέρχονται από διαφορετικές βιολογικές πηγές, δηλαδή φυτά, ζώα ή μικροοργανισμούς, ως φαρμακευτικών παραγόντων είναι τόσο αρχαία όσο και ο ανθρώπινος πολιτισμός. Κάθε πολιτισμός είχε αναπτύξει τοπικές, βασισμένες σε φυσικούς πόρους, πρακτικές για τη θεραπεία ασθενειών, που είναι γνωστές ως συστήματα παραδοσιακής θεραπευτικής. Η παραδοσιακή θεραπευτική αποτελεί μέρος της φαρμακογνωσίας. Πριν από τον 20^ο αιώνα, κυρίως τα ακατέργαστα εκχυλίσματα χρησιμοποιούνταν για την πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας στις αναπτυσσόμενες χώρες, ενώ ακόμα και τώρα σχεδόν το 80% του πληθυσμού στις αναπτυσσόμενες χώρες βασίζεται στην παραδοσιακή ιατρική. Αυτό δείχνει ότι τα φυσικά προϊόντα έχουν τεράστιες δυνατότητες να προσφέρουν οικονομικά προσιτές θεραπευτικές λύσεις.

Η παραδοσιακή ιατρική, παρά την ύπαρξη ορισμένων τεχνικών δυσκολιών, παραμένει ένας από τους βασικούς άξονες για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Ο σωστός ταξινομικός προσδιορισμός, η διαθεσιμότητα πρώτων υλών, οι χαμηλές αποδόσεις και η εποχιακή ή/και γεωγραφική διακύμανση της χημικής σύστασης των παραγωγών οργανισμών, οι οικολογικές και νομικές επιπτώσεις, είναι μερικές από τις κύριες προκλήσεις που σχετίζονται με τη χρήση φυσικών προϊόντων ως πηγή φαρμακευτικών παραγόντων. Ωστόσο, οι παρενέργειες των συνθετικών φαρμάκων, το υψηλό κόστος, η ανθεκτικότητα των στόχων και οι νέες αναδυόμενες ασθένειες ώθησαν τις φαρμακοβιομηχανίες να επενδύσουν και στη μελέτη και

ανάπτυξη των παραδοσιακά χρησιμοποιούμενων φυσικών προϊόντων. Για τον λόγο αυτόν, τις τελευταίες δύο δεκαετίες, έχουν διεξαχθεί εκτενείς έρευνες για τη διερεύνηση της χρησιμότητας των φυσικών προϊόντων ως πηγή νέων φαρμακευτικών παραγόντων, και η χρήση τους στον τομέα της υγείας ολοένα και αυξάνεται παγκοσμίως. Γενικά, πάνω από το 60% των δραστικών συστατικών των φαρμακευτικών σκευασμάτων είναι φυσικά προϊόντα ή συνθετικά τους παράγωγά ή μιμητικά αυτών. Η ανασκόπηση όλων των εγκεκριμένων παραγόντων από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) τις τελευταίες δεκαετίες δείχνει ξεκάθαρα ότι τα φυσικά προϊόντα ως πηγές νέων δομών εξακολουθούν να είναι πολύ χρήσιμα (Kiuru et al., 2014). Στην Εικόνα 1 παρουσιάζεται η συνεισφορά των φυσικών προϊόντων στο σύνολο των φαρμάκων από το 1981 έως το 2019.



Εικόνα 1. Εγκεκριμένα φάρμακα από 01/1981 έως 09/2019. Με N περιγράφονται τα φυσικά προϊόντα, με ND τα ημισυνθετικά παράγωγα φυσικών προϊόντων, με S τα συνθετικά προϊόντα, με NB τα «φυτικά» προϊόντα, με S* τα συνθετικά προϊόντα των οποίων το φαρμακοφόρο τμήμα προέρχεται από φυσικά προϊόντα, με NM τα συνθετικά μόρια που μιμούνται φυσικά προϊόντα, με V τα εμβόλια, με B τα βιολογικά προϊόντα (Newman & Cragg, 2020).

Ορισμένες ενώσεις χρησιμοποιούνται ως δραστικά συστατικά με τη μορφή που έχουν απευθείας όταν απομονώνονται από φυτικά εκχυλίσματα, ενώ άλλα συντίθενται για να μιμηθούν μια ένωση φυσικής προέλευσης. Επομένως, τα φυσικά προϊόντα είναι χρήσιμα μόρια-οδηγοί για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων, καθώς, σε ορισμένες περιπτώσεις, τα φυσικά προϊόντα εμφανίζουν χαμηλή αποτελεσματικότητα, αλλά με δομική τροποποίηση και εφαρμογή χημικών ή βιολογικών μεθόδων μπορούν να παραχθούν αποτελεσματικά φάρμακα. Ένα παράδειγμα αποτελεί η μπακκατίνη III που απομονώθηκε από το *Taxus baccata*, η οποία τροποποιείται σε ταξόλη, ένα ισχυρό αντικαρκινικό φάρμακο. Υπό αυτή την έννοια, οι φυσικές

ενώσεις είναι σίγουρα πολύτιμοι οδηγοί για την ανακάλυψη φαρμάκων και η σημασία των φαρμάκων φυσικής προέλευσης είναι αδιαμφισβήτητη (Orhan, 2014). Η πρόσφατη πρόοδος στην επιστήμη και την τεχνολογία, π.χ. στη μοριακή βιολογία, στη μεταβολομική, στη συνδυαστική χημεία και στη νανοτεχνολογία, μπορεί να συμβάλλει στο να αρθούν οι υπάρχοντες περιορισμοί των φυσικών προϊόντων ως φαρμακευτικών παραγόντων.

Με την αλματώδη ανάπτυξη της χημείας στις αρχές του 19^{ου} αιώνα ξεκίνησε η πιο διεξοδική εξέταση των φυτών ώστε να γίνει κατανοητό για ποιον λόγο είναι ωφέλιμα στην θεραπευτική. Το 1804 πραγματοποιήθηκε η απομόνωση της μορφίνης από το όπιο και βρέθηκε ότι ήταν υπεύθυνη για την αναλγητική και ηρεμιστική δράση του όπιου. Έτσι οδηγήθηκαν αρκετοί ερευνητές στο να αναζητήσουν δραστικές ουσίες φαρμακευτικών φυτών και τον τελευταίο αιώνα έχουν απομονωθεί βιοδραστικά φυσικά προϊόντα από πλήθος φυτών, όπως από τη κινχόνα (κινίνη), τη κόκα (κοκαΐνη), κ.α. Η δυνατότητα προσδιορισμού των χημικών δομών των ουσιών αυτών αναπτύχθηκε με πιο αργούς ρυθμούς, με την δυσδιάστατη δομή της μορφίνης να προσδιορίζεται το 1923, της κινίνης το 1908 και της κοκαΐνης το 1898. Η σύνθεση των ενώσεων αυτών χρειάστηκε πολύ περισσότερο χρόνο για να επιτευχθεί, για παράδειγμα η μορφίνη συντέθηκε για πρώτη φορά το 1956. Μέχρι τώρα, πολλά σημαντικά φάρμακα, όπως είναι η μορφίνη, η ατροπίνη και η γκαλανθαμίνη, έχουν προέλθει από φυσικές πηγές και συνεχίζουν να αποτελούν μόρια-οδηγούς για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων (Beutler, 2009).

1.2. Θαλάσσια φαρμακογνωσία

Το υδάτινο περιβάλλον αποτελεί περισσότερο από το 70% της επιφάνειας της γης και φιλοξενεί έναν τεράστιο αριθμό διαφορετικών οργανισμών. Μέχρι πρόσφατα, οι ωκεανοί και οι θάλασσες θεωρούνταν λανθασμένα ως φτωχά ενδιαιτήματα για την βιοποικιλότητα, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε αλάτι και του φαινομενικά άγονου περιβάλλοντος. Ωστόσο, η πρόοδος της τεχνολογίας κατέστησε δυνατή τη εξερεύνηση του θαλάσσιου οικοσυστήματος και έχει γίνει φανερό ότι οι ωκεανοί φιλοξενούν τη μεγαλύτερη ποικιλία μορφών ζωής στη γη. Η ζωή ξεκίνησε στους ωκεανούς, και ως εκ τούτου δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα 2,7 δισεκατομμύρια χρόνια στην εξελικτική διαδικασία είχαν ως αποτέλεσμα στους ωκεανούς να απαντώνται πιο ιδιαίτερες και ποικίλες μορφές ζωής από ό,τι στην ξηρά (Centre for Marine Biodiversity, 2008). Από όλες τις μορφές ζωής της γης, 36 από τα 38 ζωικά φύλα εκπροσωπούνται στο θαλάσσιο περιβάλλον. Οι θαλάσσιοι οργανισμοί, όπως τα φύκη και τα ασπόνδυλα, παρουσιάζουν τεράστια ποικιλομορφία, με μόνο τα φύκη να περιλαμβάνουν περισσότερα από 100.000 είδη (Chandrashekar et al., 2020).

Η βιοποικιλότητα στη θάλασσα έχει εξερευνηθεί σε περιορισμένο βαθμό. Το

Παγκόσμιο Μητρώο Θαλάσσιων Ειδών (2016, <http://www.marinespecies.org/>) αριθμεί επί του παρόντος περίπου 240.000 γνωστά είδη, ενώ ο προβλεπόμενος συνολικός αριθμός μη καταγεγραμμένων θαλάσσιων ειδών υπερβαίνει τα 2 εκατομμύρια. Οι συνθήκες διαβίωσης στο θαλάσσιο περιβάλλον διαφέρουν θεμελιωδώς από εκείνες στο χερσαίο. Σε αντίθεση με τους χερσαίους οργανισμούς, οι θαλάσσιοι οργανισμοί πρέπει να προσαρμοστούν σε ακραίες συνθήκες πίεσης (1 έως πάνω από 1.000 ατμόσφαιρες), υψηλή αλατότητα, συγκέντρωση θρεπτικών ουσιών, θερμοκρασία (από -2 στην παγωμένη θάλασσα έως 350°C σε βαθιά υδροθερμικά συστήματα), φως (από απόλυτο σκοτάδι έως ευφωτικές ζώνες) και περιεκτικότητα σε οξυγόνο. Οι ειδικές συνθήκες διαβίωσης στο θαλάσσιο περιβάλλον απαιτούν ειδικούς μηχανισμούς προσαρμογής των οργανισμών, οι οποίοι είναι θεμελιωδώς διαφορετικοί από αυτούς των οργανισμών της ξηράς. Ένας σημαντικός μηχανισμός προσαρμογής είναι η παραγωγή βιολογικά δραστικών δευτερογενών μεταβολιτών. Οι διαφορετικοί και ποικίλοι μηχανισμοί προσαρμογής των θαλάσσιων οργανισμών είναι υπεύθυνοι για την χημειοποικιλότητα των θαλάσσιων οργανισμών (Hu et al., 2011), οι οποίοι είναι αποτέλεσμα εκατομμυρίων ετών εξέλιξης και φυσικής επιλογής, ενώ ακόμη και ένα μεμονωμένο είδος αποτελεί μια βιβλιοθήκη δευτερογενών μεταβολιτών (Kiuru et al., 2014). Λειτουργίες τέτοιων μεταβολιτών είναι η ενδοειδική σηματοδότηση, η αποτροπή φυτοφάγων ζώων και αρπακτικών, η καταστολή ανταγωνιστικών ειδών, η αναστολή της εισβολής βακτηρίων και μυκήτων ή η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία. Αυτές οι χημικές ουσίες έχουν τεράστιες δυνατότητες να γίνουν φάρμακα, πειραματικά εργαλεία ή συμπληρώματα διατροφής (Lindequist, 2016).

Αν και τα περισσότερα φάρμακα εξακολουθούν να προέρχονται από χερσαίες πηγές, τα τελευταία χρόνια έχει εντοπιστεί σημαντικός αριθμός φαρμάκων, υποψηφίων φαρμάκων και άλλων μεταβολιτών από θαλάσσιους οργανισμούς. Περισσότερες από 38.000 ενώσεις θαλάσσιας προέλευσης παρατίθενται στη βάση δεδομένων MarinLit (<http://pubs.rsc.org/marinlit/>) επί του παρόντος, και περίπου 1.200 νέες ενώσεις αναφέρονται ετησίως. Συχνά χαρακτηρίζονται από δομική πολυπλοκότητα και ποικιλομορφία (Lindequist, 2016).

Η αναζήτηση νέων θαλάσσιων φυσικών προϊόντων έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες. Εκχυλίσματα και απομονωμένες ουσίες από βακτήρια, μύκητες, μακρο- και μικροφύκη, κυανοβακτήρια, και θαλάσσια ασπόνδυλα μελετώνται για διάφορες βιολογικές ιδιότητες θεραπευτικού και βιομηχανικού ενδιαφέροντος, όπως αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη, αντιική, αντιβακτηριακή, αντιπηκτική, και άλλες (Kiuru et al., 2014). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα φυσικά προϊόντα που απομονώνονται από θαλάσσια ασπόνδυλα είναι συχνά μικροβιακής προέλευσης (π.χ. από συμβιωτικά βακτήρια ή κυανοβακτήρια). Εκτός

από τα ασπόνδυλα και τους μικροοργανισμούς (συμπεριλαμβανομένου του φυτοπλαγκτού), τα μακροφύκη είναι σημαντικοί παραγωγοί βιοδραστικών ενώσεων (Lindequist, 2016).

Καθώς η μεγάλη κλίμακας βιομηχανική καλλιέργεια των περισσότερων θαλάσσιων ασπόνδυλων είναι δύσκολη, οι περισσότερες από τις δομές των βιοδραστικών μεταβολιτών έχουν χρησιμοποιηθεί ως μόρια-οδηγοί για χημική ή βιολογική σύνθεση. Η χρήση της γενετικής μηχανικής ανοίγει έναν νέο δρόμο για την ανάπτυξη πιθανών ενώσεων που απομονώνονται από θαλάσσια ασπόνδυλα καθώς ο εντοπισμός και η κλωνοποίηση των βιοσυνθετικών γονιδίων των βιοδραστικών τους ενώσεων θα καθιστούσε δυνατή την παραγωγή τους σε ετερόλογα συστήματα. Παράλληλα, οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί (συμβιωτικοί και μη συμβιωτικοί) είναι πολλά υποσχόμενοι για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων δεδομένης της σχετικά πιο εύκολης καλλιέργειας σε βιομηχανική κλίμακα και της δυνατότητας εφαρμογής γενετικής μηχανικής και γονιδιακής τεχνολογίας.

Η ανάπτυξη των θαλάσσιων φυσικών προϊόντων ως φαρμακευτικοί παράγοντες ξεκίνησε με την ανακάλυψη των νουκλεοσιδίων **σπογγοθυμιδίνη** και **σπογγοουριδίνη** από τον σπόγγο *Tethya crypta* της Καραϊβικής. Ο συνθετικός αραβινοσίδης της κυτοσίνης, **κυταραμπίνη** (Ara-C, ανάλογο της δεοξυκυτιδίνης με αραβινόζη αντί για δεοξυριβόζη), κυκλοφορεί ως Cytosar-U® από την εταιρεία Bedford Laboratories (USA), αναπτύχθηκε ως ισχυρός αντιλευχαιμικός παράγοντας και εγκρίθηκε από τον FDA το 1969. Θεωρείται το φάρμακο επιλογής για τη θεραπεία της μυελώδους λευχαιμίας, του λεμφώματος μη Hodgkin και της μηνιγγικής λευχαιμίας. Θεωρείται προφάρμακο, καθώς η κυταραμπίνη φωσφορυλιώνεται ενδοκυτταρικά από την κινάση της δεοξυκυτιδίνης και μετατρέπεται στην ενεργή της τριφωσφορική μορφή, η οποία ανταγωνίζεται το φυσιολογικό υπόστρωμα δεοξυκυτιδίνη. Με αυτόν τον τρόπο αναστέλλεται η DNA πολυμεράση και επομένως η σύνθεση του DNA. Η λιποσωμική μορφή της κυταραμπίνης βραδείας αποδέσμευσης, η οποία κυκλοφορεί ως DepoCyte® (Mundipharma, Γερμανία) ενδείκνυται στις περιπτώσεις μηνιγγικής λευχαιμίας (Lindequist, 2016; Ιωάννου, 2020).

Ο συνθετικός αραβινοσίδης της αδενίνης, **βινταραμπίνη** (Ara-A®, ανάλογο της αδενοσίνης με αραβινόζη αντί για ριβόζη), πήρε έγκριση από τον FDA ως αντιικός παράγοντας το 1976 και κυκλοφορεί ως Vira-A® από την εταιρεία King Pharmaceuticals (USA). Παράγεται από καλλιέργεια του ακτινοβακτηρίου *Streptomyces antibioticus*. Εμφανίζει δράση έναντι των ιών του έρπητα και άλλων ιών, επεμβαίνοντας στη σύνθεση του DNA τους, καθώς η δραστική της μορφή δρα ως παρεμποδιστής, αλλά και σαν υπόστρωμα για την DNA πολυμεράση των ιών. Από το 2001 σταμάτησε η κυκλοφορία της στις ΗΠΑ, καθώς σε σύγκριση με άλλους αντιικούς παράγοντες είναι πιο τοξική, με χαμηλότερη σταθερότητα, χαμηλή διαλυτότητα και περιορισμένη βιοδιαθεσιμότητα, ενώ στην ΕΕ εξακολουθεί να χρησιμοποιείται στην

οφθαλμολογία με τη μορφή οφθαλμικών σταγόνων για τη θεραπεία της οξείας κερατοεπιπεφυκίτιδας και της υποτροπιάζουσας επιθηλιακής κερατίτιδας που προκαλείται από τον απλό έρπητα τύπου 1 και 2 (Lindequist, 2016; Ιωάννου, 2020).

Η **τραβεκτεδίνη** (εκτεϊνασιδίνη 743, ET-743), κυκλοφορεί ως Yondelis®, και απομονώθηκε για πρώτη φορά από το ασκίδιο *Ecteinascidia turbinata* στις αρχές της δεκαετίας του 1980. Με βάση πρόσφατα δεδομένα είναι πλέον γνωστό ότι η τραβεκτεδίνη παράγεται στην πραγματικότητα από το συμβιωτικό βακτήριο *Candidatus Endoecteinascidia frumentensis* (Giddings and Newman, 2013; Schofield et al., 2015). Η τραβεκτεδίνη ανήκει στην ομάδα των αλκαλοειδών της τετραϋδροϊσοκινολίνης. Η απόδοση της ET-743 από την φυσική πηγή απομόνωσης της είναι εξαιρετικά χαμηλή, αλλά μπορεί να παραχθεί ικανοποιητικά μέσω ημισυνθετικής τροποποίησης της κυανοσαφρασίνης Β, ενός αντιβιοτικού που παράγεται σε μεγάλες ποσότητες από την καλλιέργεια του βακτηρίου *Pseudomonas fluorescens* (Cuevas and Francesch, 2009). Η τραβεκτεδίνη φαίνεται να αντιπροσωπεύει μια νέα κατηγορία αντινεοπλασματικών ενώσεων που δρουν τόσο στα καρκινικά κύτταρα όσο και στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Η κυτταροστατική του δράση σχετίζεται με την ομοιοπολική πρόσδεση σε συγκεκριμένες θέσεις της μικρής αύλακας DNA και με επακόλουθες επιδράσεις στη ρύθμιση της μεταγραφής και στην επιδιόρθωση του DNA, με αποτέλεσμα την διατάραξη του κυτταρικού κύκλου και τον κυτταρικό θάνατο. Αποτρέπει τη μεταγραφή εμποδίζοντας τη δέσμευση μεταγραφικών παραγόντων και άλλων πρωτεϊνών με το DNA και αλληλοεπιδρώνοντας απευθείας με την RNA πολυμεράση II. Το μικροπεριβάλλον του όγκου επηρεάζεται από τον περιορισμό του αριθμού των μακροφάγων, και την ρύθμιση παραγωγής κυτοκινών και αγγειογενετικών παραγόντων. Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA) ενέκρινε την τραβεκτεδίνη το 2007 και ο FDA το 2015 για τη θεραπεία ενηλίκων ασθενών με προχωρημένο σάρκωμα μαλακών μορίων και καρκίνου των ωοθηκών. Η τραβεκτεδίνη μπορεί να αξιολογηθεί ως πολύτιμη προσθήκη στη θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά την αποτυχία της χημειοθεραπείας πρώτης γραμμής. Ακόμη, βρίσκεται σε προχωρημένα στάδια κλινικών δοκιμών για τη θεραπεία καρκίνου του μαστού, καρκίνου του προστάτη και παιδιατρικών σαρκωμάτων (Glaser & Mayer, 2009; Ιωάννου, 2020).

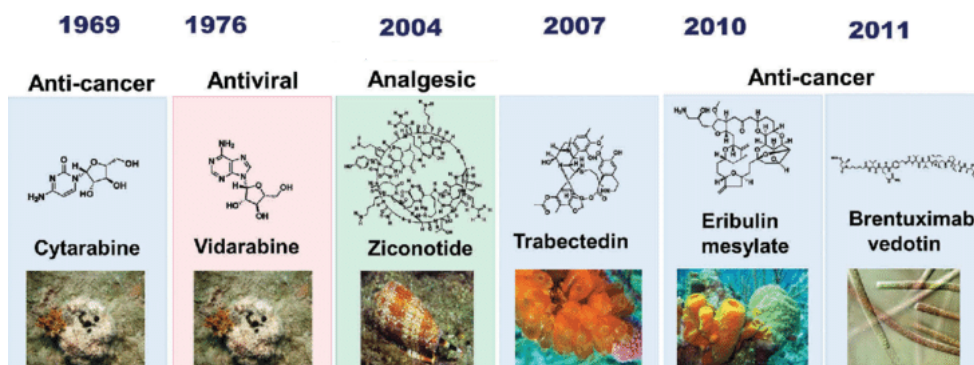
Το **eribulin mesylate** (κυκλοφορεί ως Halaven®, Eisai, Japan) είναι ένα συνθετικό ανάλογο της ισχυρά κυτταροτοξικής χαλιχονδρίνης Β που έχει απομονωθεί από θαλάσσιους σπόγγους, όπως *Halichondria okadai* and *Lyssodendoryx* sp., με πολύ μικρή όμως απόδοση, πρόβλημα το οποίο επιλύθηκε με τη χημική σύνθεση του φαρμακοφόρου τμήματος της ένωσης (Aicher et al., 1992). Σήμερα είναι γνωστό ότι η χαλιχονδρίνη Β πιθανότατα δεν παράγεται από τους σπόγγους, αλλά από συμβιωτικά δινομαστιγωτά. Το φάρμακο εγκρίθηκε από τον FDA το 2010 και από τον EMA το 2011 για ασθενείς με υποτροπιάζοντα μεταστατικού καρκίνου του

μαστού. Το eribulin mesylate αναστέλλει τη φάση ανάπτυξης των μικροσωληνίσκων δεσμεύοντας την τουμπουλίνη, το οποίο οδηγεί σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M, διάλυση των μιτωτικών ατράκτων και απόπτωση (Jiménez, 2018; Ιωάννου, 2020).

Στο **brentuximab vedotin** (κυκλοφορεί ως Adcetris®, Seattle Genetics, USA και Takeda Pharma, Denmark) πραγματοποιείται ο συνδυασμός μιας εξαιρετικά κυτταροτοξικής ένωσης με ένα ειδικό αντίσωμα για τον όγκο. Αποτελείται από την κυτταροτοξική ένωση μονομεθυλο-αουριστατίνη E (monomethyl auristatin E, MMAE) και ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει την πρωτεΐνη CD30, μια πρωτεΐνη που υπάρχει στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων, όπως στο λέμφωμα Hodgkin ή στο αναπλαστικό μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα. Τα δύο μόρια συνδέονται μέσω ενός διπεπτιδίου. Η MMAE είναι ένα συνθετικό ανάλογο της δολαστατίνης 10, η οποία αποτελεί ένα γραμμικό δεψιπεπτίδιο που αρχικά απομονώθηκε με πολύ χαμηλή απόδοση από το γαστερόποδο *Dolabella auricularia* του Ινδικού ωκεανού. Πλέον είναι γνωστό ότι ο πραγματικός παραγωγός οργανισμός των δολαστατινών είναι τα κυανοβακτήρια *Symploca hyrpnoides* και *Lyngbya majuscula*. Λόγω της υψηλής τοξικότητάς του δεν μπορεί να χορηγηθεί μόνο του αλλά με τη βοήθεια του συζευγμένου αντισώματος μπορεί να στοχεύσει απευθείας στα καρκινικά κύτταρα που φέρουν το συγκεκριμένο αντιγόνο. Συνδέεται με την τουμπουλίνη και αναστέλλει τον πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων, προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και απόπτωση. Με διάχυση στο μικροπεριβάλλον των κυττάρων που φέρουν CD30, το MMAE μπορεί να επηρεάσει επίσης τα κύτταρα λεμφώματος που στερούνται της πρωτεΐνης CD30 (Fromm et al., 2012). Πήρε έγκριση από τον FDA το 2011 και τον EMA το 2012 για τη θεραπεία λεμφώματος Hodgkin και αναπλαστικού μεγαλοκυτταρικού λεμφώματος, ενώ είχε χαρακτηριστεί ως «ορφανό φάρμακο» ήδη από το 2009 (Kiuru et al., 2014; Ιωάννου, 2020).

Το **ζικονοτίδιο** (Prialt®, Elan Corporation, Ireland) είναι ένα συνθετικό πεπτίδιο που βασίζεται σε μία ω-κωνοτοξίνη του δηλητηριώδους γαστερόποδου *Conus magus*. Οι κωνοτοξίνες χρησιμεύουν για την άμυνα και τη σύλληψη θηραμάτων, οδηγώντας τα μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα από την προσβολή τους σε παράλυση. Η συγκεκριμένη ω-κωνοτοξίνη αποτελείται από 25 αμινοξέα με 6 κυστεΐνες, οι οποίες ενώνονται μέσω τριών δισουλφιδικών δεσμών, οι οποίοι καθορίζουν την τρισδιάστατη δομή του μορίου που είναι απαραίτητη για την βιολογική του δράση. Στοχεύει επιλεκτικά τους νευροειδικούς διαύλους ασβεστίου στον νωτιαίο μυελό και παράγει ισχυρή αναλγησία με τη διακοπή της μετάδοσης των σημάτων πόνου προς τον εγκέφαλο. Από το 2004 έχει εγκριθεί από τον FDA και από το 2005 από τον EMA για ασθενείς με έντονο χρόνιο πόνο, που σχετίζεται με τον καρκίνο ή το AIDS, συμπεριλαμβανομένου και του νευροπαθητικού άλγους και ιδιαίτερα για όσους ασθενείς είναι ανθεκτικοί στα οπιοειδή. Τα επίπεδα δραστηριότητας του ζικονοτιδίου είναι 1.000 φορές πιο

υψηλά από τα αντίστοιχα της μορφίνης στη αντιμετώπιση ορισμένων μορφών πόνου, και δεν έχει τα μειονεκτήματα των οπιοειδών, όπως είναι η ανάπτυξη εξάρτησης και ανοχής και οι σοβαρές παρενέργειες (Stonik, 2009; Ιωάννου, 2020).



Εικόνα 2. Παραδείγματα εγκεκριμένων φαρμάκων θαλάσσιας προέλευσης (Pereira, 2019).

Το αλκαλοειδές κιναζολίνης **τετροδοτοξίνη** απομονώθηκε αρχικά από ψάρια της οικογένειας Tetraodontidae, αλλά στην πραγματικότητα παράγεται από συμβιωτικά βακτήρια, όπως τα *Pseudoalteromonas tetraodonis*, *Pseudomonas* sp. και *Vibrio* sp. και μέσω της τροφικής αλυσίδας βιοσυσσωρεύεται στα ψάρια. Στοχεύει συγκεκριμένους διαύλους ιόντων Na^+ που βρίσκονται σε νευρώνες, εμποδίζοντας την μεταφορά των ιόντων Na^+ , και συνεπώς την μετάδοση των σημάτων πόνου στον εγκέφαλο. Επί του παρόντος βρίσκεται σε κλινικές δοκιμές φάσης III (Tectin, WEX Pharmaceuticals Inc., Καναδάς) ως καταπραϋντικό σε τελικά στάδια καρκίνου. Ακόμη, γίνονται κλινικές δοκιμές φάσης 2 για την καταπολέμηση του συνδρόμου στέρσης από τα οπιοειδή και για τη μείωση των παρενεργειών από το σύνδρομο στέρσης στην εξάρτηση από ηρωίνη (Kim, 2015; Lindequist, 2016; Ιωάννου, 2020).

Το **δισκοδερμολίδιο**, ένας ανοσοκατασταλτικός και κυτταροτοξικός παράγοντας, απομονώθηκε από το σπόγγο *Discodermia* sp. Η **κρυπτοφυκίνη A**, ένωση που δεσμεύει την τουμπουλίνη απομονώθηκε από κυανοβακτήρια του γένους *Nostoc*. Οι **ψευδοπτεροσίνες**, ισχυροί αντιφλεγμονώδεις και αναλγητικοί παράγοντες, απομονώθηκαν από το μαλακό κοράλλι *Pseudopterogorgia elisabethae* της Καραϊβικής (Prakash et al., 2018).

Πίνακας 1. Παραδείγματα μεταβολιτών θαλάσσιας προέλευσης ή παραγώγων τους που βρίσκονται σε στάδια κλινικών δοκιμών.

Όνομα ένωσης	Πηγή	Χρήση	Μοριακός στόχος
Πλιτιδεψίνη (Aplidin®)	ασκίδιο <i>Aplidium albicans</i>	Αντικαρκινικό (πολλαπλό μύελωμα/ αιματολογικός καρκίνος) Φάση III	πρωτεΐνη eEF1A2
Πλιναμπουλίνη	μύκητας <i>Aspergillus</i> sp., ενδοφυτικός του χλωροφύκους <i>Halimeda lacrimosa</i>	Αντικαρκινικό (μη-μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (NSCLC), καρκίνος του εγκεφάλου) Φάση III	α- και β- τουμπουλίνη
Σαλινοσποραμίδιο A (Marizomib)	βακτήριο <i>Salinispora tropica</i>	Αντικαρκινικό (NSCLC, μελάνωμα, λέμφωμα, γλοιοβλάστωμα) Φάση III	αναστολή του 20S πρωτεασώματος
Βρουοστατίνη-1	βρυόζωο <i>Bugula neritina</i> / βακτήριο <i>Candidatus Endobugula sertula</i>	Αντικαρκινικό (σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες) Φάση II Κατά της νόσου Alzheimer, HIV Φάση II	πρωτεϊνική κινάση C
DMXBΑ (συνθετικό ανάλογο)	θαλάσσιος σκώληκας <i>Amphiporus angulatus</i>	Κατά της σχιζοφρένειας/ Alzheimer Φάση II	α7-νικοτινικοί υποδοχείς
Plocabulin (PM(060)184)	σπόγγος <i>Lithoplocamia lithistoides</i>	Αντικαρκινικό (συμπαγείς όγκοι, προχωρημένος καρκίνος μαστού και ορθοκολικός καρκίνος) Φάση II	β-τουμπουλίνη

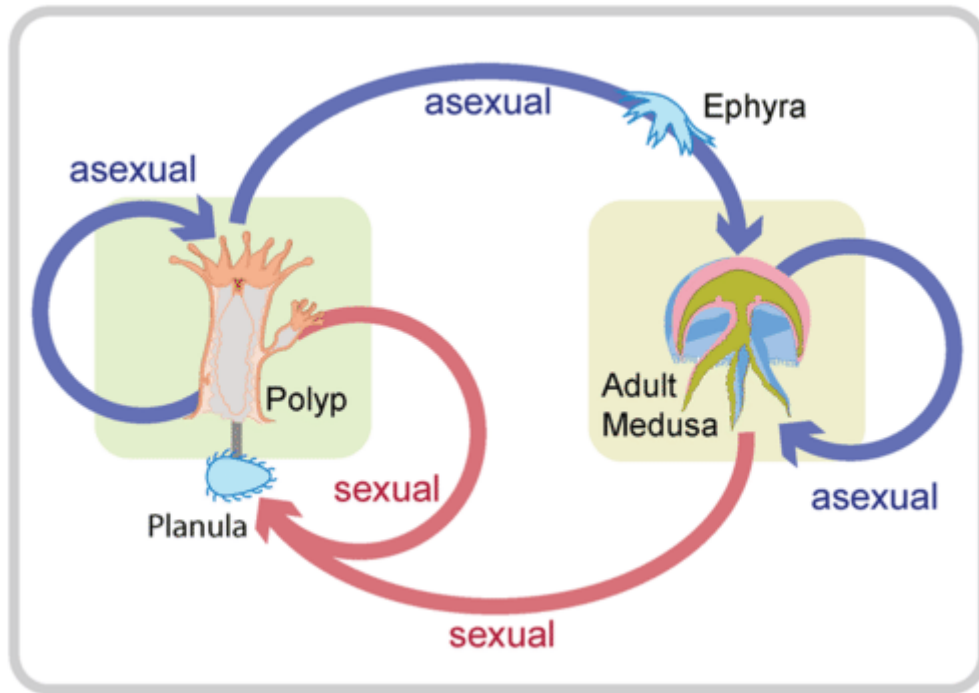
1.3. Κνιδόζωα

Τα κνιδόζωα (λατ. Cnidaria, από το αρχαιοελληνικό κνίδη, που σημαίνει τσουκνίδα, εξαιτίας της ιδιότητάς τους σε επαφή με το δέρμα να δημιουργούν ερεθισμό) είναι μία συνομοταξία που περιλαμβάνει πάνω από 10.000 είδη ασπόνδυλων ζώων που απαντώνται αποκλειστικά σε υδάτινα και κυρίως θαλάσσια περιβάλλοντα και παρουσιάζουν τεράστια ποικιλομορφία. Είναι οι πρώτοι πολυκύτταροι οργανισμοί που έχουν οργάνωση σε επίπεδο ιστού, και για τον λόγο αυτό θεωρούνται πιο εξελιγμένοι οργανισμοί από τους σπόγγους. Το φύλο Cnidaria ανήκει στο βασίλειο Animalia και έχει έξι κλάσεις: Anthozoa, Hydrozoa, Scyphozoa, Cubozoa, Staurozoa και Myxozoa (WoRMS, 2023).

Τα κνιδόζωα είναι ως επί το πλείστο αρπακτικά, αλλά ορισμένα είδη μπορεί επίσης να τρέφονται με νεκρά ζώα ή να λαμβάνουν την απαραίτητη ενέργεια από συμβιωτικά φωτοσυνθετικά μονοκύτταρα φύκη που ονομάζονται ζωοξανθέλλες (zooxanthellae).

Υπάρχουν δύο βασικοί τύποι σώματος στα κνιδόζωα, ο πολύποδας (polyp) και η μέδουσα (medusa). Ο πολύποδας έχει μικροσκοπικό μέγεθος, κυλινδρική ή ασκοειδή μορφή προσκολλημένη στο βυθό και με εκβλαστήσεις σχηματίζεται αποικία. Η μέδουσα έχει κυλινδρικό ή ασκοειδές πεπλατυσμένο σώμα μορφής “καμπάνας” με διάμετρο από 12 mm έως 2 m. Είναι ελεύθερες κολυμβητικές μορφές και φέρουν μακριές λεπτές συλληπτήριες κεραίες, το μήκος των οποίων μπορεί να φθάσει και τα 10 m. Ο πολύποδας προηγήθηκε της μορφής της μέδουσας στην πορεία της εξέλιξης, κάτι το οποίο υποστηρίζει τον ισχυρισμό ότι τα ανθόζωα είναι η βασική υποομάδα των κνιδόζωων, όπως προκύπτει και από μοριακές φυλογενετικές αναλύσεις.

Μερικά είδη κνιδόζωων αλλάζουν μεταξύ των μορφών πολύποδα και μέδουσας, ενώ άλλα είδη υπάρχουν μόνο με τη μία ή την άλλη μορφή. Οι πολύποδες αναπαράγονται συνήθως αγενώς με εκβλάστηση. Ένας τύπος αναπαραγωγής στους πολύποδες οδηγεί στο σχηματισμό νέων μεδουσών. Οι μέδουσες αναπαράγονται συνήθως εγγενώς. Η εγγενής αναπαραγωγή σχηματίζει το ζυγωτό, το οποίο εξελίσσεται σε προνούμφη που ονομάζεται πλάνουλα (planula). Η πλάνουλα, με τη σειρά της, εξελίσσεται σε πολύποδα. Υπάρχουν πολλές παραλλαγές στον γενικό κύκλο ζωής της. Ο πολυμορφισμός αυτός δεν παρατηρείται σ’ όλα τα Κνιδόζωα αλλά στα πιο απλά. Στα εξελιγμένα, όπως είναι τα Ανθόζωα, δεν παρατηρείται το στάδιο της μέδουσας, και ο πολύποδας είναι η μορφή που παράγει γαμέτες. Προφανώς, τα είδη που υπάρχουν μόνο ως πολύποδες ή ως μέδουσα έχουν κύκλο ζωής χωρίς την άλλη μορφή (Douglas and Jennifer, 2022).



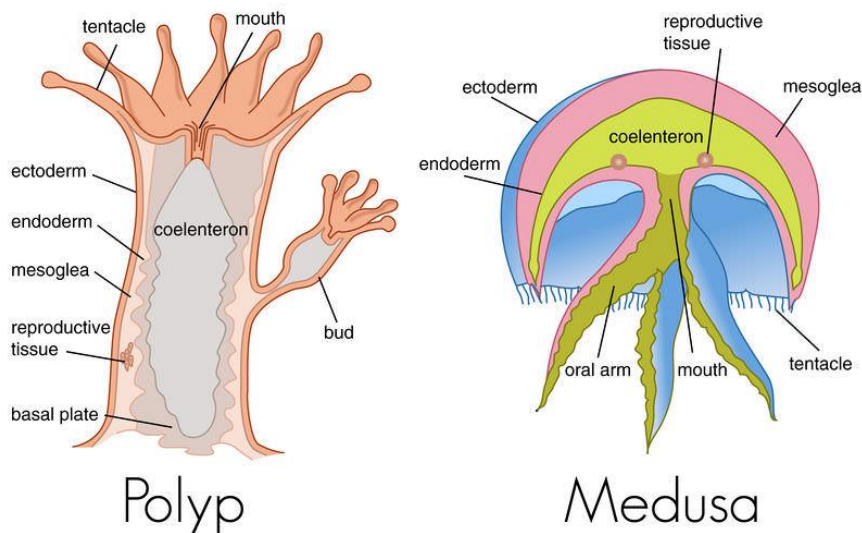
Εικόνα 3. Ο κύκλος ζωής των Κνιδόζων (Douglas and Jennifer, 2022).

Τα κνιδόζωα είναι απλά ζώα με ακτινωτή συμμετρία, το σώμα τους είναι κυλινδρικό και αποτελείται από δύο στοιβάδες κυττάρων, το εξώδερμα και το ενδόδερμα. Μεταξύ τους παρεμβάλλεται ένα άμορφο ζελατινώδες στρώμα, η μεσογλοία (mesogloea), με ένα υποτυπώδες νευρικό δίκτυο. Στο εσωτερικό σχηματίζεται μια κοιλότητα όπου πραγματοποιείται η πέψη της τροφής, η οποία ονομάζεται γαστρική κοιλότητα (enteron) και έχει ένα πτυχωτό εσωτερικό τοίχωμα ώστε να σχηματίζονται κατακόρυφες μεσεντέριες πτυχές. Μέσω των κυττάρων που επενδύουν αυτήν την κοιλότητα απορροφώνται τα θρεπτικά συστατικά και ανταλλάσσονται αέρια. Η γαστρική κοιλότητα έχει μόνο ένα άνοιγμα, το στόμα, το οποίο επίσης χρησιμεύει και σαν έδρα. Το στόμα περιβάλλεται από ακτινωτά διαταγμένες κεραίες για σύλληψη της τροφής. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των κνιδόζων, από το οποίο πήραν το όνομά τους, είναι ότι στο εξώδερμα τους και ιδίως στις κεραίες φέρουν ειδικά κύτταρα, τα κνιδοκύτταρα, τα οποία έχουν διάφορες δομές και λειτουργίες. Τα κύτταρα αυτά διαθέτουν μέσα σε ειδικούς υποκυτταρικούς σχηματισμούς, τις κνιδοκύστες (cnidae), τοξίνες που μπορούν να θανατώσουν μικρούς οργανισμούς και προκαλούν κνησμό σε μεγαλύτερους. Οι κνιδοκύστες είναι τριών ειδών:

- Εισχωρητικές (κυρίως νηματοκύστες)
- Συσπειρωτικές (σπειροκύστες)
- Συγκολλητικές (πτυχοκύστες)

Ενώ τα ανθόζωα έχουν και τους τρεις τύπους κνιδοκυστών, τα μεδουσόζωα (Scyphozoa

και Cubozoa) φέρουν μόνο νηματοκύστες. Οι βιολογικοί ρόλοι των τοξινών που απελευθερώνονται από τις νηματοκύστες περιλαμβάνουν τη σύλληψη και τη θανάτωση των θηραμάτων, τη πέψη, την απώθηση των θηρευτών και τον ενδοειδικό χωρικό ανταγωνισμό. Η σύνθεση των δηλητηρίων των κνιδόζων δεν είναι γνωστή λεπτομερώς, αλλά φαίνεται ότι περιέχουν μια ποικιλία πρωτεϊνικών (πεπτίδια, πρωτεΐνες, ένζυμα και αναστολείς πρωτεϊνών) και μη πρωτεϊνικών ουσιών (πουρίνες, ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου, αμίνες, κ.α.) που δρουν ως νευροτοξίνες, αιμολυσίνες και ένζυμα. Αυτές οι τοξίνες εγχέονται στο θήραμα ή το αρπακτικό μετά από μηχανική ή χημική διέγερση. Στον άνθρωπο, οι τοξίνες προκαλούν καρδιοτοξικότητα, νευροτοξικότητα, δερματίτιδα, τοπικό κνησμό, οίδημα, ερύθημα, παράλυση, πόνο και νέκρωση. Τα κνιδόζωα δεν μελετώνται μόνο για τις τοξίνες τους, αλλά είναι μια πηγή φυσικών ενώσεων με θεραπευτικές ιδιότητες.



Εικόνα 4. Οι δύο βασικοί τύποι σώματος των Κνιδόζων (Douglas and Jennifer, 2022).

Τα κνιδόζωα έχουν ένα απλό νευρικό σύστημα που αποτελείται από ένα νευρωνικό δίκτυο που τους επιτρέπει να ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα για τον εντοπισμό και την κατανάλωση της τροφής τους. Συχνά έχουν και άλλες αισθητήριες δομές. Για παράδειγμα, οι μέδουσες έχουν δομές ανίχνευσης φωτός και δομές ανίχνευσης βαρύτητας (Douglas & Jennifer, 2022).

1.4. Κοράλλια

Στην ταξινόμηση, τα κοράλλια εμπίπτουν στο φύλο Cnidaria, κυρίως στην κλάση Anthozoa (υποκλάσεις Octacorallia και Hexacorallia), αλλά και στην κλάση Hydrozoa (τάξεις Milleporina και Stylasterina). Τα ανθόζωα είναι η πολυπληθέστερη ομάδα κνιδόζων,

εμφανίζονται μόνο υπό μορφή πολύποδα και ζουν είτε μεμονωμένα (π.χ. ανεμώνες) ή σε αποικίες (π.χ. κοράλλια). Τα κοράλλια εμφανίζονται αποκλειστικά με την μορφή του πολύποδα και η γαστραγγειακή κοιλότητα τους χωρίζεται σε 8 ή 6 διαμερίσματα διατεταγμένα ακτινωτά και αντίστοιχα τα πλοκάμια που περιβάλλουν το στόμα είναι 8 ή 6 (ή πολλαπλάσιες του 6). Ο κατά προσέγγιση συνολικός αριθμός ειδών κοραλλιών είναι πάνω από 5.000. Τα κοράλλια που εμφανίζονται σε βάθη μεγαλύτερα των 50 m εκτιμάται ότι είναι περισσότερα από 3.330 είδη ή το 65,6% (NOAA's, 2022).

1.4.1. Γενικά

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι κοραλλιών: τα σκληρά κοράλλια και τα μαλακά κοράλλια. Τα σκληρά κοράλλια συχνά αναφέρονται ως σκληρακτινικά και πετρώδη κοράλλια και ως "κοράλλια οικοδόμησης υφάλων", καθώς είναι αυτά που συμμετέχουν στη δημιουργία των κοραλλιογενών υφάλων. Τα σκληρά κοράλλια έχουν άκαμπτους σκελετούς από ανθρακικό ασβέστιο που εκκρίνουν κάτω από το σώμα τους, το οποίο και τελικά γίνεται σαν βράχος. Ο σκελετός που εναποτίθεται από έναν μεμονωμένο πολύποδα είναι γνωστός ως κοραλλίτης, ο οποίος ενσωματώνεται στην ανατομία του πολύποδα. Με την πάροδο του χρόνου, συσσωρεύεται για να σχηματίσει τη βάση ενός κοραλλιογενούς υφάλου και παρέχει μια δομή πάνω στην οποία μπορούν να εγκατασταθούν άλλα κοράλλια και εάν οι τοπικές απειλές είναι περιορισμένες, τότε τα κοράλλια αυτά θα συσσωρευτούν με την πάροδο του χρόνου και θα δημιουργήσουν έναν υγιή, ζωντανό κοραλλιογενή ύφαλο. Τα σκληρά κοράλλια σχηματίζουν αποικίες, που αποτελούνται από εκατοντάδες έως εκατοντάδες χιλιάδες μεμονωμένους πολύποδες, οι οποίοι συγκολλούνται μεταξύ τους με τους σκελετούς ανθρακικού ασβεστίου που παράγουν. Η αποικία των πολύποδων λειτουργεί ως ένας μεμονωμένος οργανισμός, μοιράζοντας θρεπτικά συστατικά μέσω ενός καλά ανεπτυγμένου γαστραγγειακού δικτύου. Άλλοι τύποι ζώων και φυτών συμβάλλουν επίσης στη δομή των κοραλλιογενών υφάλων. Φύκη, σπόγγοι, ακόμη και μαλάκια, όπως γιγάντια μύδια και στρείδια, και άλλοι οργανισμοί προσθέτουν στην αρχιτεκτονική των κοραλλιογενών υφάλων. Όταν αυτοί οι οργανισμοί πεθαίνουν, χρησιμεύουν επίσης ως «θεμέλια» για νέα κοράλλια (NOAA's, 2022, Coral Reef Alliance, 2022).

Τα μαλακά κοράλλια είναι μαλακά και εύκαμπτα και συχνά μοιάζουν με φυτά ή δέντρα. Αυτό που φαίνεται να είναι ένας μεγάλος οργανισμός είναι στην πραγματικότητα μια αποικία μεμονωμένων πολύποδων που συνδυάζονται για να σχηματίσουν μια μεγαλύτερη δομή. Αυτά τα κοράλλια δεν έχουν σκληρούς σκελετούς και είναι κοράλλια που δεν κατασκευάζουν υφάλους - αντίθετα, αναπτύσσουν πυρήνες που μοιάζουν με ξύλο και σαρκώδη φλοιό για προστασία. Όπως τα σκληρά κοράλλια, τείνουν να ζουν σε αποικίες και απαντώνται και σε

οικοσυστήματα υφάλων (NOAA's, 2022).

Οι κοραλλιογενείς ύφαλοι είναι ένα πολύπλοκο μωσαϊκό θαλάσσιων φυτών και ζώων. Είναι εξαιρετικά πλούσιοι σε βιοποικιλότητα, φιλοξενώντας έως και δύο εκατομμύρια είδη και το 25% του συνόλου της θαλάσσιας ζωής στον πλανήτη. Περίπου 500 εκατομμύρια άνθρωποι εξαρτώνται από τους κοραλλιογενείς υφάλους ως πηγή τροφής και εισοδήματος. Αν και καλύπτουν λιγότερο από το 0,1% της επιφάνειας της γης, οι κοραλλιογενείς ύφαλοι είναι το θαλάσσιο οικοσύστημα με τη μεγαλύτερη βιοποικιλότητα στον κόσμο.

Ένας κοραλλιογενής ύφαλος αποτελείται από: (α) μια σκληρή επιφάνεια, όπως είναι οι βυθισμένοι βράχοι ή άλλες σκληρές επιφάνειες, τα οποία παρέχουν ένα μέρος για να προσκολληθούν τα κοράλλια και χρησιμεύουν ως βιότοπος για πολλά ζώα κοραλλιογενών υφάλων, (β) πολύποδες κοραλλιών, οι οποίοι μπορούν να ζήσουν μεμονωμένα ή σε μεγάλες αποικίες φτιάχνοντας έναν κοραλλιογενή ύφαλο, και (γ) διάφορα άλλα ζώα. Μεταξύ 1 και 8 εκατομμύρια είδη συνδέονται με τα οικοσυστήματα των κοραλλιογενών υφάλων και πολλά από αυτά διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση ενός υγιούς, λειτουργικού και ισορροπημένου υφάλου (Frazão et al., 2012).

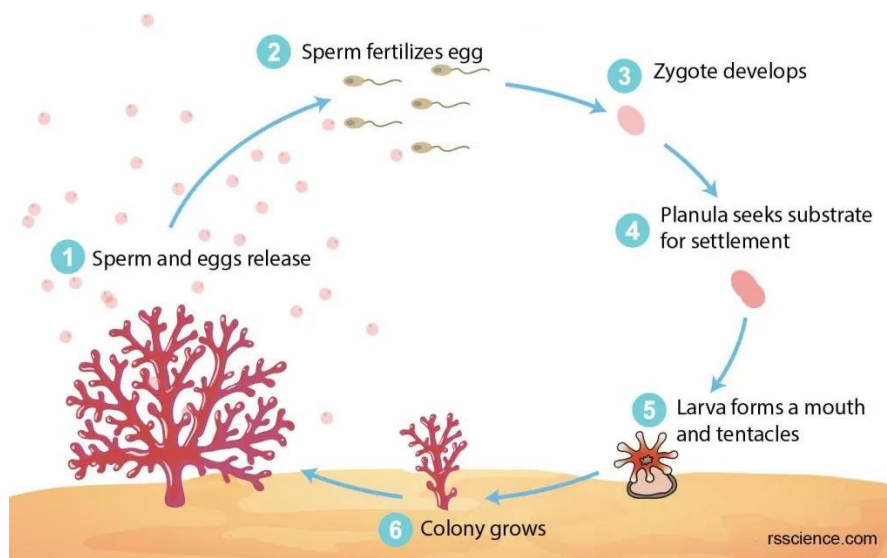
Οι πολύποδες των κοραλλιών μπορούν να τραφούν με δύο διαφορετικούς τρόπους και η μέθοδος με την οποία τρέφονται εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το αν φιλοξενούν στα κύτταρα της εξωδερμίδας τους ζωοξανθέλλες (NOAA's, 2022).

Τα κοράλλια χωρίς ζωοξανθέλλες τρέφονται αποκλειστικά με θηράματα που βρίσκονται στο νερό, χρησιμοποιώντας τα πλοκάμια και τις νηματοκύστες που διαθέτουν. Όταν το ζωντανό θήραμα, όπως το πλαγκτόν, περνά πάνω από τον πολύποδα των κοραλλιών, απελευθερώνονται οι νηματοκύστες για να αναισθητοποιήσουν το θήραμα, το οποίο θα τραβήξει το κοράλλι προς το στόμα του με τα πλοκάμια του. Εκτός από το να τρέφονται με ζωντανά θηράματα, οι πολύποδες των κοραλλιών μπορούν επίσης να τρέφονται με διαλυμένη οργανική ύλη που απορροφούν από το υδάτινο περιβάλλον και με αιωρούμενα σωματίδια και υπολείμματα που παγιδεύονται στο στρώμα βλέννας τους. Αυτές οι ετερότροφες διατροφικές συνήθειες πραγματοποιούνται συνήθως τη νύχτα.

Τα περισσότερα σκληρά κοράλλια έχουν συμβιωτική σχέση με ζωοξανθέλλες. Τα κοράλλια που φιλοξενούν ζωοξανθέλλες βασίζονται για τη διατροφή τους σε μεγάλο βαθμό στην αυτότροφη δραστηριότητα των ζωοξανθέλλων. Οι ζωοξανθέλλες χρησιμοποιούν το διοξείδιο του άνθρακα που εισπνέει ο πολύποδας, το νερό και το ηλιακό φως για να παράγουν θρεπτικά συστατικά υψηλής ενέργειας και οξυγόνο, τα οποία στη συνέχεια τα μοιράζονται με το κοράλλι - ξενιστή τους. Η ενέργεια που παράγεται μπορεί να καλύψει πλήρως τις ανάγκες των ζωοξανθέλλων, καθώς και έως και το 95% της ενέργειας που χρειάζεται το κοράλλι. Εκτός από την παραγωγή ενέργειας για τα κοράλλια-ξενιστές τους, οι ζωοξανθέλλες χρησιμοποιούν

πολλά από τα απόβλητα των πολυπόδων, όπως διοξείδιο του άνθρακα, άζωτο και φώσφορο. Τα οφέλη αυτής της σχέσης γίνονται αισθητά τόσο από τις συμβιωτικές ζωοξανθέλλες όσο και από τον πολύποδα των κοραλλιών, επομένως αποτελεί μια αμοιβαία συμβιωτική σχέση. Λόγω της ανάγκης του ηλιακού φωτός για τη διεξαγωγή της φωτοσύνθεσης, αυτός ο τύπος παραγωγής ενέργειας συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ημέρας. Εκτός από την απόκτηση ενέργειας από τις ζωοξανθέλλες, τα κοράλλια που τις φιλοξενούν μπορούν να τραφούν ετερότροφα τη νύχτα κάτι το οποίο γίνεται περιορισμένα. Το εξελικτικό πλεονέκτημα της συμβίωσης είναι πολύ μεγάλο, αλλά το εξελικτικό κόστος είναι επίσης μεγάλο. Τα κοράλλια με συμβιωτικές ζωοξανθέλλες είναι αναγκασμένα να ζουν κοντά στην επιφάνεια του ωκεανού σε περιβάλλοντα με υψηλό φωτισμό και να ανταγωνίζονται τα μακροφύκη (Veron, 2009).

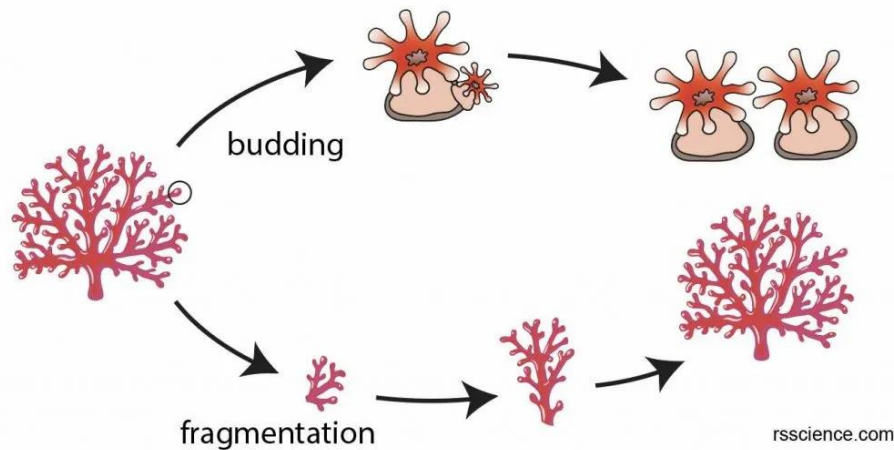
Η αναπαραγωγή των κοραλλιών γίνεται είτε εγγενώς, είτε αγενώς. Η εγγενής αναπαραγωγή περιλαμβάνει τη σύζευξη αρσενικών και θηλυκών γαμετών και την επακόλουθη ανάπτυξη προνυμφών. Όλα τα κοράλλια έχουν την ικανότητα να αναπαράγονται με εγγενή τρόπο. Ανάλογα με το είδος, μια δεδομένη αποικία μπορεί να είναι ερμαφρόδιτη, οπότε παράγει και ωάρια και σπερματοζωίδια, ή γονοχορική, οπότε παράγει είτε ωάρια, είτε σπερματοζωίδια. Η γονιμοποίηση τυπικά συμβαίνει είτε μέσω της ωοτοκίας, κατά την οποία οι γαμέτες απελευθερώνονται ταυτόχρονα στη στήλη του νερού, όπου λαμβάνει χώρα η γονιμοποίηση (broadcast spawning – εκπομπή), ή με γονιμοποίηση (brooding), κατά την οποία τα σπερματοζωίδια απελευθερώνονται στη στήλη του νερού και μεταφέρονται μέσα στον πολύποδα του μητρικού κοραλλιού για να γονιμοποιηθούν τα ωάρια που είναι αποθηκευμένα εκεί. Η ερμαφρόδιτη αναπαραγωγή είναι ο πιο κοινός τρόπος αναπαραγωγής και τα περισσότερα γένη εμφανίζουν μόνο έναν τρόπο αναπαραγωγής. Οι προνύμφες των κοραλλιών (planulae) εγκαθίστανται στην επιφάνεια του υφάλου μέσα σε λίγες ημέρες από τη γονιμοποίηση ή την απελευθέρωση από την αποικία αναπαραγωγής, μετατρέπονται σε μεμονωμένους πολύποδες και ξεκινούν να διαιρούνται για να σχηματίσουν την αποικία (Knowlton & Jackson, 2013).



Εικόνα 5. Ο εγγενής τρόπος αναπαραγωγής των κοραλλιών (Rs' Science, 2022).

Η αγενής αναπαραγωγή γίνεται επίσης με δύο τρόπους. Ο πρώτος είναι η εκβλάστηση, όπου νέοι πολύποδες εκφύονται από τους γονικούς πολύποδες, γεγονός που συμβαίνει όταν ο γονικός πολύποδας φτάσει σε ένα ορισμένο μέγεθος και διαιρεθεί. Αυτή η διαδικασία συνεχίζεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής του κοραλλιού και παράγει πολύποδες που είναι γενετικά πανομοιότυποι με τον γονικό πολύποδα. Ο δεύτερος τρόπος αγενούς αναπαραγωγής είναι η κατάτμηση της αποικίας ώστε να δημιουργηθεί μια νέα. Εάν ένα τμήμα μιας αποικίας αποκοπεί από την κύρια αποικία, για παράδειγμα κατά τη διάρκεια μιας καταιγίδας ή κατά την προσάραξη σκαφών, τα διαχωρισμένα άτομα μπορούν να ξεκινήσουν νέες αποικίες κοραλλιών που είναι γενετικά πανομοιότυπες με τη μητρική αποικία. Ωστόσο, η επιτυχία των αποκομμένων τμημάτων στη δημιουργία μιας νέας αποικίας εξαρτάται από το εάν εκτίθενται σε ευνοϊκές συνθήκες ανάπτυξης (ESI, 2022).

coral asexual reproduction



Εικόνα 6. Ο αγενής τρόπος αναπαραγωγής των κοραλλιών (Rs' Science, 2022).

1.4.2. Βιοδραστικά συστατικά από κοράλλια

Το θαλάσσιο περιβάλλον αντιπροσωπεύει μία ανεξάντλητη πηγή χρήσιμων προϊόντων που περιμένουν να ανακαλυφθούν για να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία πολλών ασθενειών. Μεταξύ των κνιδόζων, το 21% των ειδών περιέχει βιοδραστικές ενώσεις με πιθανή φαρμακολογική δράση. Περίπου το 60% των εκχυλισμάτων τους περιέχει βιοδραστικά μόρια που πιθανόν να βρουν εφαρμογές στη βιοατρική. Από τα είδη μαλακών κοραλλιών που μελετήθηκαν μέχρι το 2008, περισσότερο από το 30% των απομονωμένων συστατικών τους εμφάνισαν κυτταροτοξική δράση (Januar et al., 2017).

Είναι εμφανές ότι τα μαλακά κοράλλια είναι πηγές διάφορων βιοδραστικών ενώσεων. Στερούνται τοξικών νηματοκύστεων, καθώς και του άκαμπτου προστατευτικού σκελετού που έχουν τα σκληρά κοράλλια, αλλά διαθέτουν αλληλοπαθητικές χημικές ουσίες, με τις οποίες ανταγωνίζονται για το χώρο, απωθούν τους θηρευτές τους και μειώνουν το φαινόμενο της βιοεπίστρωσης. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες, ειδικά τα τερπένια που απομονώνονται από μαλακά κοράλλια, προσφέρουν αντιτροφική δράση, προστατεύουν τους παραγωγούς οργανισμούς από μολύνσεις και τραυματισμούς και διαδραματίζουν ποικίλους φυσιολογικούς ρόλους. Οι δευτερογενείς μεταβολίτες που απομονώνονται από τα μαλακά κοράλλια περιλαμβάνουν κατά κύριο λόγο διτερπένια, σεσκιτερπένια, και στεροειδή, και έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν ευρύ φάσμα φαρμακολογικών δράσεων (Januar et al., 2017).

Ενδεικτικά, κάποια παραδείγματα συστατικών μαλακών κοραλλιών με φαρμακολογική δράση είναι:

Η **οξική ευπαλμερίνη** (eupalmerin acetate) είναι μια διτερπενική λακτόνη που έχει

απομονωθεί από τα κοράλλια *Eunicea succinea* and *Eunicea mammosa* της οικογένειας Plexauridae. Η βιοδραστική αυτή ουσία είναι ένας αντικαρκινικός παράγοντας που σε σχετικές μελέτες προκάλεσε απόπτωση σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα γλοιώματος (με IC₅₀ = 5.1-6.9 μmol/L). Η οξική ευπαλμερίνη προκάλεσε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και απόπτωση στα κακοήθη κύτταρα γλοιώματος μέσω της μιτοχονδριακής οδού. Ωστόσο, οι ακριβείς κυτταρικοί στόχοι της οξικής ευπαλμερίνης παραμένουν άγνωστοι (Li et al., 2013).

Ένα διτερπένιο κεμβρανίου, το **λοβοχεδλεολίδιο** (lobohedleolide), που απομονώθηκε από το υδατικό εκχύλισμα κοραλλιών του γένους *Lobophytum*, είχε μέγιστη αντιφλεγμονώδη δράση σε δόση 10 mg/kg, τιμή συγκρίσιμη με εκείνη της ινδομεθακίνης (2 mg/kg). Έχει αναφερθεί επίσης ότι το λοβοχεδλεολίδιο έχει κυτταροτοξική και ανασταλτική δράση έναντι του ιού HIV (EC₅₀ = 3-5 μg/mL). Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι το λοβοχεδλεολίδιο παρουσίασε αντιφλεγμονώδη δράση μέσω της καταστολής της έκφρασης COX-2 *in vitro* και *in vivo*. Ο μηχανισμός αυτός πιθανώς ευθύνεται και για την αντικική του δράση (Uchio et al., 1981).

Η **ελευθεροβίνη** (eleutherobin), ένα τρικυκλικό διτερπένιο από το αυστραλιανό μαλακό κοράλλι *Eleutherobia* sp., αποτελεί έναν ισχυρό επαγωγέα του πολυμερισμού της τουμπουλίνης *in vitro*. Η ελευθεροβίνη έδειξε εκλεκτική κυτταροτοξικότητα προς τις κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού, των νεφρών, των ωοθηκών και του πνεύμονα. Θεραπεία καρκινικών κυττάρων με ελευθεροβίνη είχε όλα τα χαρακτηριστικά αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν με την ταξόλη. Το *Erythropodium caribaeorum* της Καραϊβικής και το μαλακό κοράλλι *Bellonella albiflora* αποτελούν εναλλακτικές πηγές για την ελευθεροβίνη (Kim, 2015).

Οι **ψευδοπτεροσίνες** είναι διτερπενικοί γλυκοσίδες που απομονώθηκαν από το κοράλλι της Καραϊβικής *Pseudopterogorgia elisabethae*, αλλά στην πραγματικότητα παράγονται από συμβιωτικά δινωμαστιγώα του γένους *Symbiodinium*. Το αντιφλεγμονώδες δυναμικό των ψευδοπτεροσινών βρέθηκε να είναι ανώτερο από αυτό των τυπικών φαρμάκων, όπως η ινδομεθακίνη. Ένα ημισυνθετικό παράγωγο ψευδοπτεροσίνης, η μεθοπτεροσίνη, επέδειξε επίσης αντιφλεγμονώδη δράση, και ολοκλήρωσε με επιτυχία κλινικές δοκιμές φάσης II ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας για τοπική χρήση. Ένα μερικώς εξευγενισμένο εκχύλισμα του *P. elisabethae*, πλούσιο σε ψευδοπτεροσίνη E, χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε κρέμα προσώπου με την εμπορική ονομασία Resilience®. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης των ψευδοπτεροσινών παραμένει αδιευκρίνιστος. Εξαιτίας των οικολογικών ανησυχιών για τους ευαίσθητους οικοτόπους των υφάλων στην Καραϊβική τα τελευταία χρόνια έχουν ξεκινήσει πολυάριθμες προσπάθειες με στόχο την ανάπτυξη βιώσιμων μεθόδων παραγωγής για τη προμήθεια των ψευδοπτεροσινών (Kim, 2015; Mydlarz et al., 2003).

1.5. Γένος *Nephthea*

1.5.1. Γενικά στοιχεία

Τα μαλακά κοράλλια του γένους *Nephthea*, ταξινομικά ανήκουν στο βασίλειο Animalia, στο φύλο Cnidaria, στην κλάση Anthozoa, υποκλάση Octocorallia, τάξη Alcyonaceae και οικογένεια Nephthiidae. Κοράλλια του γένους *Nephthea* έχουν βρεθεί σε όλον τον κόσμο, και κυρίως στην περιοχή του Ινδο-Ειρηνικού ωκεανού.

Σχηματίζουν θαμνώδεις ή δενδρώδεις αποικίες. Το στέλεχος τους, το οποίο ονομάζεται πολυπάριο (polyparium), είναι διακλαδισμένο και δύσκαμπτο, και οι πολύποδες διατάσσονται ομαδοποιημένα μόνο στα άνω και έξω μέρη των κλάδων. Εμφανίζουν πολυάριθμους σκληρίτες, οι οποίοι είναι μονόπλευροι, αγκαθωτοί και έχουν ατρακτοειδή μορφή, και συμβιώνουν με ζωοξανθέλες. Το γένος *Nephthea* περιλαμβάνει αρκετά είδη, κάποια από τα οποία είναι τα *Nephthea albida*, *Nephthea armata*, *Nephthea. bayeri*, *Nephthea brassica*, *Nephthea chabrolii*, *Nephthea columnaris*, *Nephthea hainansis*, *Nephthea erecta*, *Nephthea mollis*, *Nephthea pacifica* και *Nephthea sinulata*.

Όπως αναφέρθηκε, τα μαλακά κοράλλια αποτελούν βασικό συστατικό του οικοσυστήματος των κοραλλιογενών υφάλων και αποτελούν σημαντική και πλούσια πηγή πολλά υποσχόμενων δευτερογενών μεταβολιτών, με ποικίλες βιολογικές ιδιότητες. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα είδη του γένους *Nephthea* παράγουν ποικίλους δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως σεσκιτερπένια, διτερπένια και στεροειδή. Μεταξύ των απομονωμένων συστατικών, τα στεροειδή είναι τα πιο άφθονα και ακολουθούν τα διτερπένια και τα σεσκιτερπένια, τα οποία συχνά εμφανίζουν βιολογικές δράσεις, όπως κυτταροτοξική, αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή και αντι-βιοεπιστρωτική.

1.5.2. Βιοδραστικοί μεταβολίτες του γένους *Nephthea*

Σεσκιτερπένια: Από το ακετονικό εκχύλισμα του *N. erecta* απομονώθηκε ένα σεσκιτερπένιο καλαμενανίου, η ερεκταθειόλη (**1**). Ο μεταβολίτης **1**, σε συγκέντρωση 166 μg/δίσκο, εμφάνισε μέτρια αντιβακτηριακή δράση έναντι των βακτηριακών στελεχών *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Yersinia enterocolitica* και *Shigella sonnei*, ενώ είχε μεγαλύτερο αντιβακτηριακό δυναμικό από τον θετικό μάρτυρα (αμπικιλίνη) έναντι του *Salmonella enteritidis*. Η *in vitro* αντιφλεγμονώδης δράση του μεταβολίτη **1** δοκιμάστηκε σε κύτταρα RAW 264.7 διεγερμένα από LPS, το οποίο είχε ως αποτέλεσμα σε συγκέντρωση 10 μM να μειώσει σημαντικά τα επίπεδα της πρωτεΐνης iNOS ($58,0 \pm 6,5\%$ και $12,4 \pm 2,9\%$) και λιγότερο της πρωτεΐνης COX-2 σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου (LPS μόνο) (Cheng et al., 2009a). Από το *N. erecta*, οι Cheng et al. απομόνωσαν επιπλέον δύο σεσκιτερπένια κελσοανίου, την

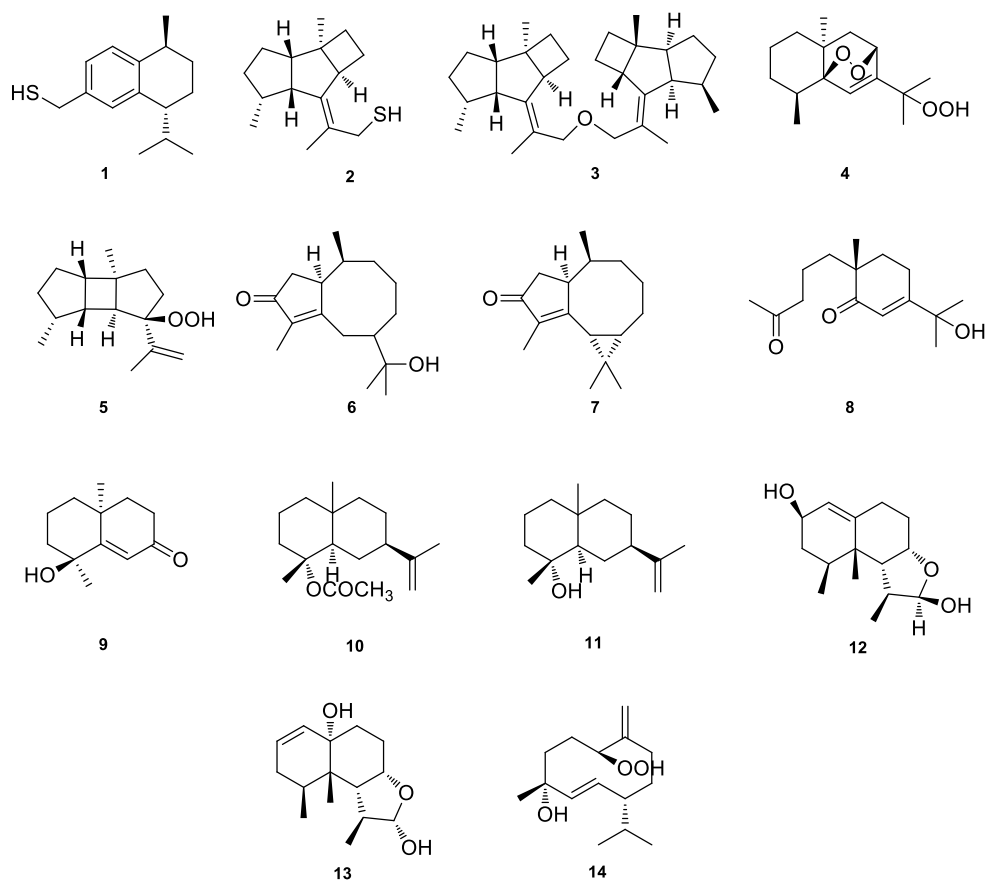
κελσοενεθειόλη (2) και τον δικελσοενυλικό αιθέρα (3). Μόνο η κελσοενεθειόλη έδειξε κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων P-388 (λεμφοκυτταρική λευχαιμία ποντικού) και HT-29 (αδενοκαρκίνωμα ανθρώπινου παχέος εντέρου), με τιμές ED₅₀ 1,3 και 1,8 μg/mL (5,5 και 7,6 μM), αντίστοιχα, λόγω της σουλφυδρυλικής ομάδας (Cheng et al., 2014). Επίσης από το *N. erecta*, οι Cheng et al. απομόνωσαν τα 5β,8β-επιδιοξυ-11-υδροπεροξυ-6-ευδεσμάνιο (4) και 8β-υδροπεροξυπρεσπατάνιο (5). Οι ενώσεις αυτές εμφάνισαν σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων P-388 και HT-29 με ED₅₀ 0.4 και 0.2 μg/mL, και 0.5 και 0.3 μg/mL, αντίστοιχα (Cheng et al., 2007).

Ένα οξυγονωμένο σεσκιτερπένιο, η 12-υδροξυκολορενόνη (6) και η (+)-κυκλοκολορενόνη (7) απομονώθηκαν από το *N. chabrolii* και ελέγχθηκαν για εντομοκτόνο δράση *in vivo* σε προνύμφες του παρασιτικού εντόμου *Spodoptera littoralis*. Η 12-υδροξυκολορενόνη ανέστειλε κατά 94% την ανάπτυξη των προνυμφών του *S. littoralis* σε συγκέντρωση 530 ppm (Handayani et al., 1997). Από το *N. chabrolii*, απομονώθηκαν επίσης οι χαμπρολιδιόνη B (8) και τευχτενόνη A (9) (Su, Dai, et al., 2007). Η τευχτενόνη A, σε *in vivo* μελέτες σε ποντίκια, έδειξε σταδιακή μείωση των επιπέδων γλυκόζης σε διαβητικούς και μη διαβητικούς ποντικούς (Parra-Naranjo et al., 2017). Σε άλλη μελέτη, η χαμπρολιδιόνη B εμφάνισε καλή αντιμυκητιασική δράση έναντι των *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus flavus* και *Aspergillus niger* και μέτρια αντικαρκινική δράση έναντι της καρκινικής σειράς MCF-7. Η τευχτενόνη A είχε υψηλή αντικαρκινική δράση έναντι της καρκινικής κυτταρικής σειράς MCF-7 (22 μM) σε σύγκριση με τη σισπλατίνη (59 μM) (Alarif et al., 2016).

Το (-)-4R-O-ακετυλο-σελιν-11-ένιο (10) από το κοράλλι *N. brassica* παρουσίασε μέτρια κυτταροτοξικότητα έναντι της καρκινικής σειράς P-388, ενώ η (-)-σελιν-11-εν-4R-όλη (11) παρουσίασε κυτταροτοξικότητα έναντι των κυτταρικών σειρών A549 (αδενοκαρκίνωμα ανθρώπινου πνεύμονα) και P-388 (Duh et al., 1999).

Η βιοκατευθυνόμενη κλασματοποίηση του κοραλλιού *Nephthea elongata* είχε ως αποτέλεσμα την απομόνωση και τον χαρακτηρισμό επτά σεσκιτερπενίων, των ελονγκατολών A-G. Οι ελονγκατόλες A (12) και E (13) επέδειξαν κυτταροτοξικότητα έναντι της κυτταρικής σειράς P-388 με ED₅₀ 3,8 και 3,6 mg/mL, αντίστοιχα, ενώ οι υπόλοιπες ελονγκατόλες δεν ήταν κυτταροτοξικές για τη σειρά P-388 (Wang & Duh, 2007).

Η νεφθεοξυδιόλη (14), ένα σεσκιτερπένιο υδροϋπεροξυ-γερμακρανίου από κοράλλια του γένους *Netphthea*, βρέθηκε ότι παρουσιάζει σημαντική ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη κυττάρων μελανώματος B-16 (IC₅₀ 0,14 μg/mL) (Kitagawa et al., 1987).



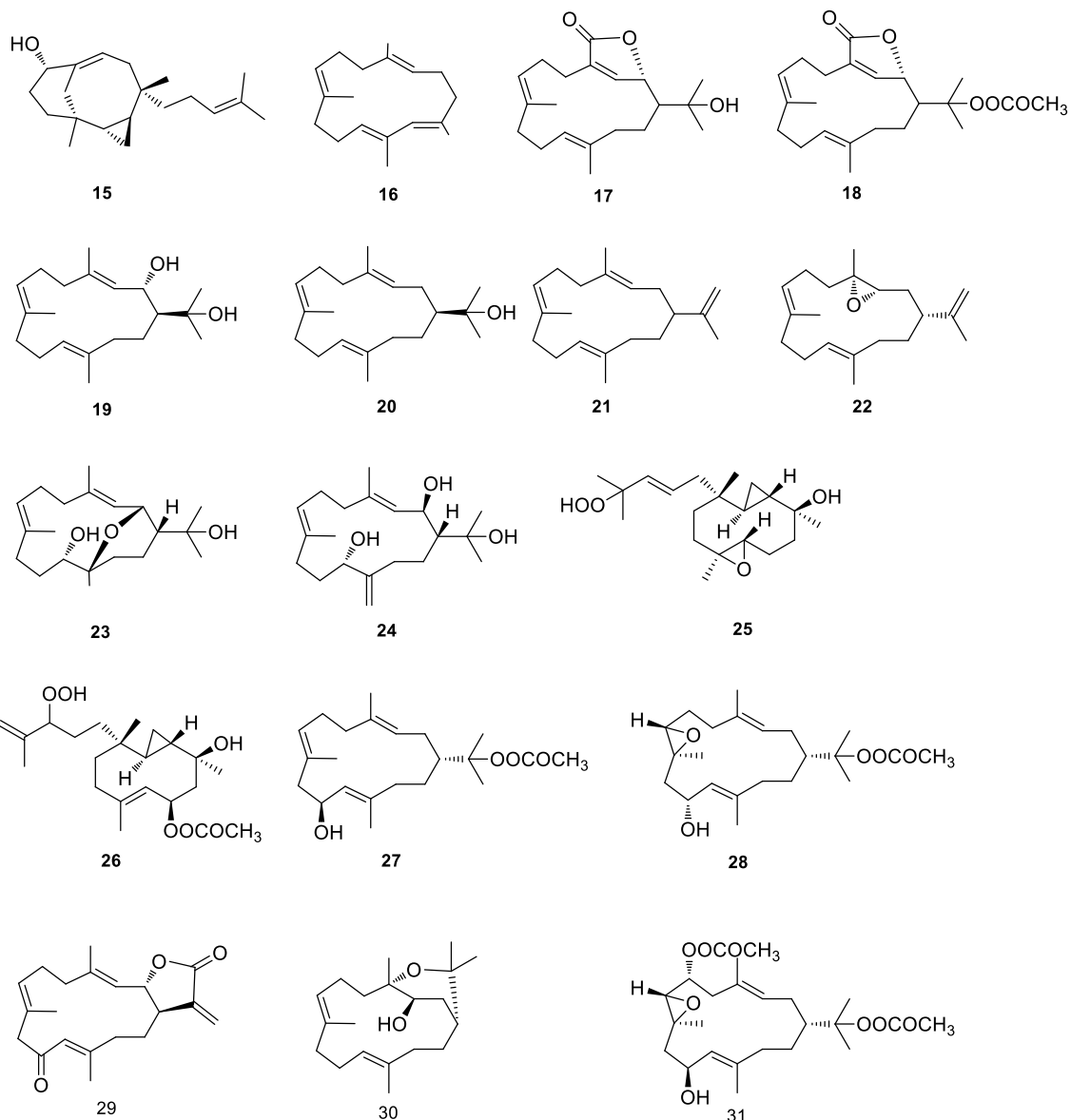
Διτερπένια: Η χαμπρολίνη Α (**15**), από το *N. chabrolii* εμφάνισε κυτταροτοξικότητα έναντι της καρκινικής σειράς P-388, με ED₅₀ 3.18 μg/mL, αλλά δεν ήταν κυτταροτοξική στις κυτταρικές σειρές A549 και HT-29 (Lee et al., 2017). Το νορδιτερπένιο χαμπρολένιο (**16**) εμφάνισε εντομοαπωθητική δράση κατά του παράσιτου του αραβοσίτου *Sitophilus zeamais* στα 25 μg/cm² (Ishii et al., 2018).

Από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του *N. brassica* απομονώθηκαν τα διτερπένια κεμβρανίου μπρασσικολίδιο (**17**), οξικό μπρασσικολίδιο (**18**), 2-υδροξυνεφθενόλη (**19**), νεφθενόλη (**20**), κεμβρένιο Α (**21**) και εποξυκεμβρένιο Α (**22**). Το μπρασσικολίδιο ήταν κυτταροτοξικό έναντι των κυτταρικών σειρών KB (ανθρώπινο επιδερμικό καρκίνωμα) και P-388, και όχι έναντι της A549, ενώ το οξικό του παράγωγο παρουσίασε κυτταροτοξικότητα προς τα κύτταρα A549. Οι υπόλοιπες ενώσεις (**17-22**) εμφάνισαν κυτταροτοξικότητα έναντι των κυτταρικών σειρών A549, HT-29, KB και P-388 (Duh et al., 1999).

Δύο κεμβράνια, οι κολουμναριόλες Α (**23**) και Β (**24**), απομονώθηκαν από το *Nephthea columnaris* και φάνηκαν να έχουν σημαντικό ανασταλτικό ρόλο στη συσσώρευση των προφλεγμονωδών πρωτεϊνών iNOS και COX-2 στα διεγερμένα από LPS κύτταρα μακροφάγων RAW264.7. Επίσης, η ένωση **23** έδειξε μέτρια κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων ανθρώπινου καρκινώματος προστάτη με IC₅₀ 9.80 μg/mL (C. Li et al., 2021).

Από το διχλωρομεθανικό εκχύλισμα του *N. pacifica* απομονώθηκαν 10 διτερπένια, οι πασιφικίνες A-J, εκ των οποίων οι πασιφικίνες C (**25**) και H (**26**) εμφάνισαν κυτταροτοξικότητα έναντι των καρκινικών κυττάρων P-388 με ED₅₀ 1.44 και 2.01 µg/mL, αντίστοιχα. Οι υπόλοιπες ενώσεις δεν εμφάνισαν δράση έναντι των κυτταρικών σειρών P-388 και HT-29 (El-Gamal et al., 2005).

Τα κεμβράνια οξική 10-υδροξυ-νεφθενόλη (**27**) και οξική 7,8-εποξυ-10-υδροξυ-νεφθενόλη (**28**) απομονώθηκαν από κοράλλι του γένους *Nephthea*. Η ένωση **27** εμφάνισε ισχυρή αντιβακτηριακή δράση έναντι των βακτηρίων *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*, ενώ η ένωση **28** εμφάνισε βακτηριοστατική δράση έναντι και των δύο βακτηρίων. Σε μελέτες κυτταροτοξικότητας, οι τιμές IC₅₀ ως προς την αναστολή ανάπτυξης των καρκινικών κυτταρικών σειρών HeLa και MCF-7 ήταν 40 και 25 µg/mL, αντίστοιχα, για την ένωση **27** και 125 και 75 µg/mL, αντίστοιχα για την ένωση **28** (Ishii et al., 2016; Nurrachma et al., 2021). Τα κεμβράνια νεφθεκρασσοκολίδιο A (**29**) και νεφθενόλη (**20**) επέδειξαν αντιμυκητιασική δράση με MIC 12,5 µg/mL έναντι της αναστολής υφών του *Lagenidium thermophilum* (Tani et al., 2019). Η δεκαρυόλη (**30**) έδειξε αξιοσημείωτη δοσοεξαρτώμενη αναστολή της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων HM02 (αδενοκαρκίνωμα στομάχου), HepG2 (καρκίνος του ήπατος) και MCF-7, δρώντας ως αναστολέας του κυτταρικού κύκλου στην φάση G2/M (Gross et al., 2003). Ο μεταβολίτης οξική 6-ακετοξυ-7,8-εποξυ-10-υδροξυ-νεφθενόλη (**31**) απομονώθηκε από αλκοολικό εκχύλισμα κοραλλιών του γένους *Nephthea* και έδειξε αξιοσημείωτη αντιβακτηριακή δράση έναντι του *S. aureus* και του *E. coli*, αλλά και κυτταροτοξική δράση έναντι των κυτταρικών σειρών HeLa και MCF-7 με IC₅₀ 40 και 25 µg/mL, αντίστοιχα (Abdelhafez et al., 2019).



Στεροειδή: Οι αρματινόλες A (**32**) και B (**33**) απομονώθηκαν από εκχύλιμα του *N. armata*. Η αρματινόλη A επέδειξε κυτταροτοξικότητα έναντι καρκινικών κυττάρων A-549, HT-29 και P-388 με IC_{50} 7.6, 6.5 και 6.1 μM , αντίστοιχα, ενώ η αρματινόλη B έδειξε κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων P-388 και HT-29 με IC_{50} 3.2 και 3.1 μM , αντίστοιχα (El-Gamal et al., 2004).

Η 5,6 εποξυλιτοστερόλη (**34**) από το *N. columnaris* έδειξε αντιφλεγμονώδη δράση μέσω καταστολής της παραγωγής ανιόντων υπεροξειδίου και απελευθέρωσης ελαστάσης σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα *in vitro* (Li et al., 2021; Whuang et al., 2017).

Από διχλωρομεθανικά εκχυλίσματα του *N. erecta* απομονώθηκαν έξι κυτταροτοξικές στερόλες, η 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3 β ,15 β , 19-τριόλη (**35**), η 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3 β ,19-διολ-7-όνη (**36**), 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3 β ,19-διόλη (**37**), 7 β -

μονοοξική 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3β,19-διόλη (**38**), 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3β,7β,19-τριόλη (**39**), και 24-μεθυλοχολεστ-24(28)-ενο-3β,5α,6β,19-τετραόλη (**40**). Οι ενώσεις **35** και **37-40** επέδειξαν σημαντική κυτταροτοξική δράση αναστέλλοντας την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων A549, HT-29, KB και P-388, ενώ η ένωση **36** εμφάνισε σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι των κυττάρων P-388 και HT-29 (Duh et al., 1998). Επίσης από το *N. erecta*, απομονώθηκαν το ερεκταστεροειδές F (**41**), η 7,19-διοξική (3β,7β)-εργοστα-5,24(28)-διενο-3β,7β,19-τριόλη (**42**), η 7β-μονοοξική 24-μεθυλοχολεστα-5,24(28)-διενο-3β,19-διόλη (**43**). Σε έλεγχο κυτταροτοξικότητας, οι ενώσεις **41-43** βρέθηκαν να είναι δραστικές έναντι των κυτταρικών σειρών K562 (ανθρώπινη μυελογενής λευχαιμία), Molt-4 (ανθρώπινη οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία), Sup-T1 (ανθρώπινο T-λεμφοβλαστικό λέμφωμα), U937 (ανθρώπινη μυελογενής λευχαιμία), με ισχυρότερη την ένωση **42** (IC₅₀ 7.9, 7.3 και 6.8 μM έναντι των Molt-4, Sup-T1, και U937 καρκινικών κυτταρικών σειρών, αντίστοιχα). Επιπλέον, η ένωση **41** εμφάνισε σημαντική κυτταροτοξική δράση έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών K562, Molt-4 και Sup-T1 (IC₅₀ 6.5, 8.0 και 8.0 μM, αντίστοιχα) (Tsai et al., 2016).

Από το *N. chabrolii* απομονώθηκαν τα νεμπροστεροειδή I, J, L και M (**44-47**). Η *in vitro* αντιφλεγμονώδης δράση τους δοκιμάστηκε χρησιμοποιώντας κύτταρα RAW 264.7 διεγερμένα από LPS στα οποία αυξάνεται η έκφραση των προφλεγμονωδών πρωτεϊνών iNOS και COX-2. Οι ενώσεις **44-47** μείωσαν τα επίπεδα της iNOS και της COX-2 σε σύγκριση με εκείνα των ομάδων ελέγχου (Cheng et al., 2009b). Ο μεταβολίτης χαμπρολοστεροειδές B (**48**) έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζει ασθενή κυτταροτοξικότητα έναντι της καρκινικής κυτταρικής σειράς του ηπατικού καρκινώματος Hep-3B (IC₅₀ 19.9 mg/mL), αλλά δεν είναι δραστικός έναντι της ανάπτυξης άλλων καρκινικών κυττάρων (Su et al., 2007b). Ένα 19-οξυγονωμένο στεροειδές, το νεμπροστεροειδές Q (**49**), μαζί με τα νεμπροστεροειδή R (**50**) και S (**51**), απομονώθηκαν από το ακετονικό εκχύλισμα του *N. chabrolii*. Τα νεμπροστεροειδή Q-S εμφάνισαν σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι της καρκινικής κυτταρικής σειράς P-388 με ED₅₀ 1.1, 1.2 και 1.0 μg/mL, αντίστοιχα (Abdelhafez et al., 2019)

Μια ασυνήθιστη πεντακυκλική ημιακεταλική στερόλη, η νεφθοακετάλη (**52**), απομονώθηκε από μαλακό κοράλλι του γένους *Nephthea* και δοκιμάστηκε για αντιβιοεπιστρωτική δράση έναντι προνυμφών του είδους *Bugula neritina*. Η νεφθοακετάλη ανέστειλε ισχυρά την εγκατάσταση των προνυμφών *B. neritina* με τιμή EC₅₀ 2.5 μg/mL, αλλά επέδειξε επίσης χαμηλή τοξικότητα με LC₅₀>25,0 μg/mL. Ελέγχθηκε επίσης *in vitro* για κυτταροτοξικότητα έναντι κυτταρικής σειράς καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (HeLa), όπου εμφάνισε μέτρια κυτταροτοξικότητα με IC₅₀ 12.3 μg/mL (Zhang et al., 2013).

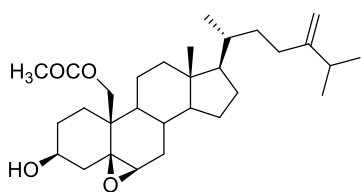
Η κολουμναριστερόλη A (**53**), μια 19-νορστερόλη που έχει απομονωθεί από το *N. columnaris*, παρουσίασε μέτρια *in vitro* κυτταροτοξική δράση έναντι των κυτταρικών σειρών

MOLT-4 και SUP-T1 με τιμές IC₅₀ 18.3 και 25.5 μM, αντίστοιχα. Απομονώθηκαν επίσης οι κλουμαριστερόλες B (**54**) και C (**55**), οι οποίες έδειξαν ασθενή αντιφλεγμονώδη δράση σε μοντέλο ανθρώπινων ουδετερόφιλων με τιμές IC₅₀ άνω των 10 μM (Abdelhafez et al., 2019).

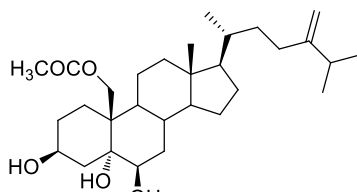
Η 4α,24-διμεθυλο-5α-χολεστ-22E-εν-3β,8β,18-τριόλη (**56**) απομονώθηκε από κοράλλι του γένους *Nephthea* και έδειξε ασθενή κυτταροτοξική δράση έναντι της κυτταρικής σειράς καρκίνου του μαστού MCF-7 (Abdelhafez et al., 2019)

Από το κοράλλι *N. albida* απομονώθηκε η 24-μεθυλενο-χολεστα-3β,5α,6β,19-τετραόλη ή αλλιώς νεφαλστερόλη A (**57**). Η ένωση αυτή εμφάνισε σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι των κυτταρικών σειρών A549, H-29, KB και P-388 με ED₅₀ 0.81, 0.93, 0.39 και 0,34 μg/mL, αντίστοιχα (Abdelhafez et al., 2019; Lu et al., 2004).

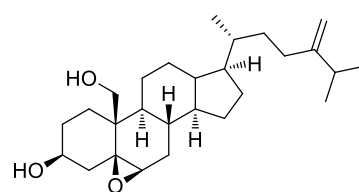
Οι ενώσεις (3β,23S)-εργοστα-5,24(28)-διενο-3,23-διόλη (**58**), (3β,23R)-εργοστα-5,24(28)-διενο-3,23-διόλη (**59**) και (3β,22S)-εργοστα-5,24(28)-διενο-3,17,22-τριόλη (**60**) δοκιμάστηκαν για κυτταροτοξικότητα έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών P-388 και H-29. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ενώσεις **58** και **59** δεν ήταν κυτταροτοξικές έναντι αυτών των δύο καρκινικών κυτταρικών σειρών, ενώ η ένωση **60** εμφάνισε κυτταροτοξικότητα έναντι της κυτταρικής σειράς P-388 με ED₅₀ 3,7 μg/mL. Οι ενώσεις **58** και **60** εμφάνισαν *in vitro* αντιφλεγμονώδη δράση σε συγκέντρωση 10 μM, μειώνοντας σημαντικά τα επίπεδα της πρωτεΐνης iNOS και της πρωτεΐνης COX-2, σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου, σε κύτταρα RAW 264.7 διεγερμένα από LPS. Στην ίδια συγκέντρωση, η ένωση **60** δεν ανέστειλε την έκφραση της πρωτεΐνης COX-2, αλλά ανέστειλε σημαντικά την έκφραση πρωτεΐνης iNOS σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου (Cheng et al., 2009b). Η (12β,22R)-12-ακετοξυ-22-υδροξυ-χολεστα-1,4-διεν-3-όνη (**61**), η (12β,22R)-12-υδροξυ-22-ακετοξυ-χολεστα-1,4-διεν-3-όνη (**62**) και η (22R)-18,22-διακετοξυ-χολεστα-1,4-διεν-3-όνη (**63**) που απομονώθηκαν από κοράλλι του γένους *Nephthea* εμφάνισαν ισχυρή κυτταροτοξική δράση έναντι της κυτταρικής σειράς HeLa (Sang et al., 2019). Επιπλέον, η χαμπροστερόλη (**64**) έδειξε σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση έναντι των διεγερμένων από LPS κυττάρων RAW 264.7 (Cheng et al., 2009b).



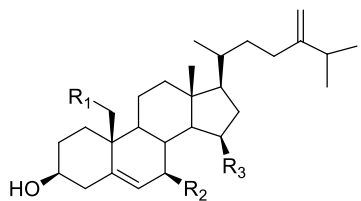
32



33



34



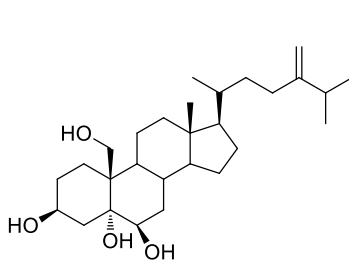
35 R1=OH, R2=H, R3=OH

36 R1=OH, R2=O, R3=H

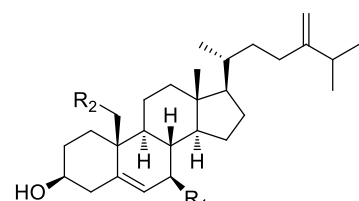
37 R1=OH, R2=H, R3=H

38 R1=OH, R2=OOCOCH3, R3=H

39 R1=OH, R2=OH, R3=H



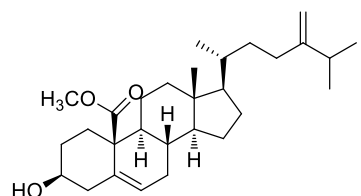
40



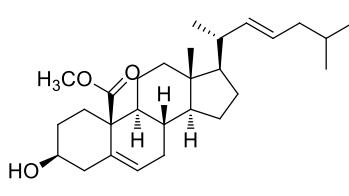
41 R1=OH, R2=OOCOCH3

42 R1=OOCOCH3, R2=OOCOCH3

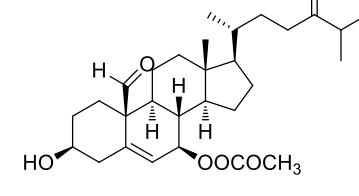
43 R1=OOCOCH3, R2=OH



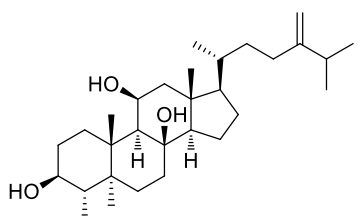
44



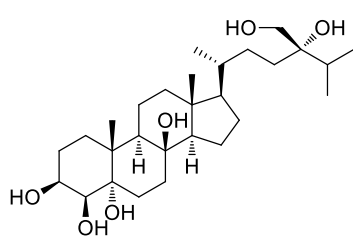
45



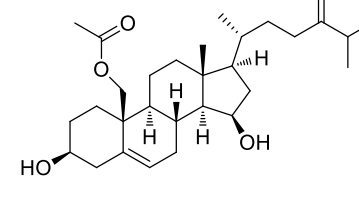
46



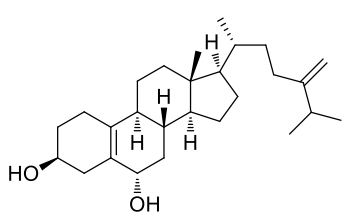
47



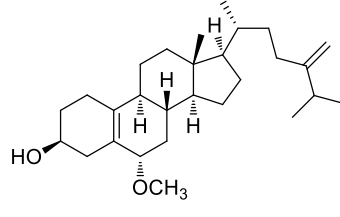
48



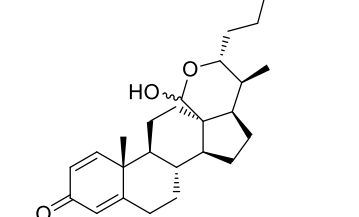
49



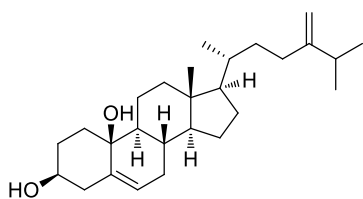
50



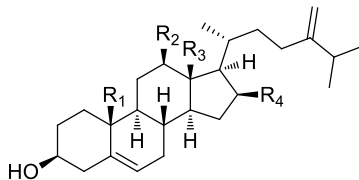
51



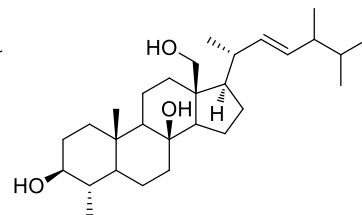
52



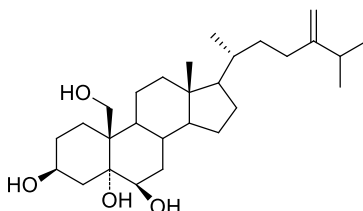
53



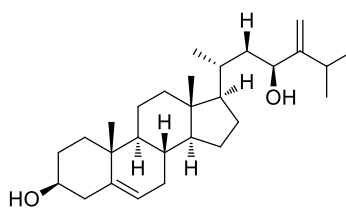
54 R1=R3=CH₃, R2=OH, R4=H
55 R1=CH₃, R2=H, R3=CH₂OH, R4=OH



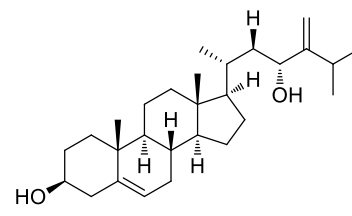
56



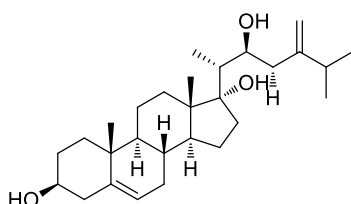
57



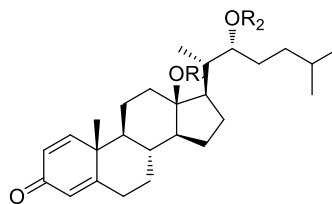
58



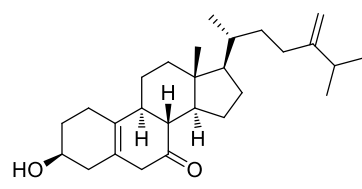
59



60

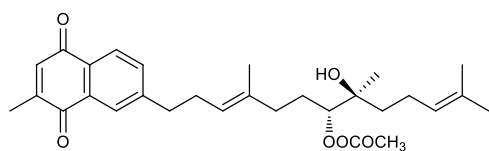


61 R1=OCOCH₃, R2=H
62 R1=H, R2=OCOCH₃
63 R1=OCOCH₃, R2=OCOCH₃

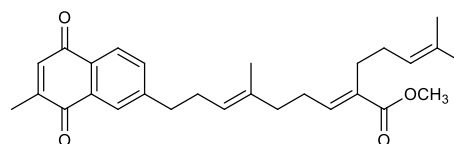


64

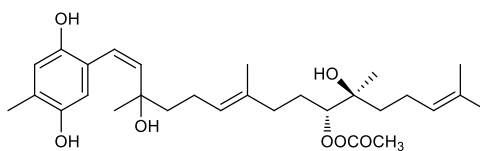
Άλλες ενώσεις: Η χαμπρολοναφθοκινόνη Β (**65**) επέδειξε σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι της καρκινικής κυτταρικής σειράς MDA-MB-231 (IC₅₀ 4.7 μM) και ήπια κυτταροτοξικότητα έναντι των καρκινικών κυττάρων Hep G2 (IC₅₀ 12.4 μM) και A549 (IC₅₀ 33.9 μM). Η χαμπρολοναφθοκινόνη C (**66**) παρουσιάζει ήπια κυτταροτοξικότητα έναντι των καρκινικών κυτταρικών σειρών MDA-MB-231 (IC₅₀ 8.4 mg/mL), MCF-7 (IC₅₀ 11.9 mg/mL), Hep G2 (IC₅₀ 16.4 mg/mL) και A-549 (IC₅₀ 9.3 mg/mL) (Su, Dai, et al., 2007). Η χαμπρολουδροξυβενζοκινόνη G (**67**) εμφάνισε επίσης ήπια κυτταροτοξικότητα σε αυτά τα καρκινικά κύτταρα (Su et al., 2005).



65



66



67

1.6. Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος ενός δείγματος μαλακού κοραλλιού του γένους *Nerpthea* που συλλέχθηκε από την Ερυθρά θάλασσα και η απομόνωση νέων φυσικών προϊόντων με βιολογική δράση ή κάποια άλλη αξιολογή εφαρμογή. Το μαλακό αυτό κοράλλι επιλέχθηκε με βάση το ενδιαφέρον χημικό προφίλ που εμφάνισε το οργανικό του εκχύλισμα στον προκαταρκτικό έλεγχο με φασματοσκοπία ^1H NMR και χρωματογραφία TLC, καθώς και οι αξιολογές βιολογικές δράσεις των ήδη απομονωμένων και ταυτοποιημένων βιοδραστικών προϊόντων από είδη του συγκεκριμένου γένους.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Οργανολογία

Τα φάσματα NMR ελήφθησαν σε φασματογράφο 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 5977B με μέθοδο ιονισμού τον βομβαρδισμό με δέσμη ηλεκτρονίων (EIMS).

Οι χρωματογραφικοί διαχωρισμοί HPLC πραγματοποιήθηκαν σε χρωματογράφο Agilent 1100 Series με τετραπλή αντλία εισαγωγής του συστήματος διαλυτών και ανιχνευτή RI Agilent 1100 Series.

Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς HPLC ήταν στήλη κανονικής φάσης διαστάσεων 25 cm x 10 mm (Supelcosil™ LC-SI Semi-Prep 5μm).

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 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 ψεκάσμο με διάλυμα 5% H₂SO₄ σε MeOH και θέρμανση της πλάκας στους 100°C για περίπου 2 min.

Οι διαλύτες cHex, EtOAc, CH₂Cl₂ και MeOH ήταν καθαρότητας A.R. της εταιρείας LAB-SCAN Analytical Sciences, οι οποίοι πριν από τη χρήση τους αποστάχθηκαν. Οι διαλύτες *n*-Pent, *n*-Hex και *n*-Hept 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 CDCl₃ χωρίς εσωτερικό πρότυπο των εταιρειών Deutero GmbH ή Aldrich-Sigma Chemical Company.

Το H₂O που χρησιμοποιήθηκε ήταν απεσταγμένο που στη συνέχεια διηθήθηκε μέσω συστήματος ρητινών.

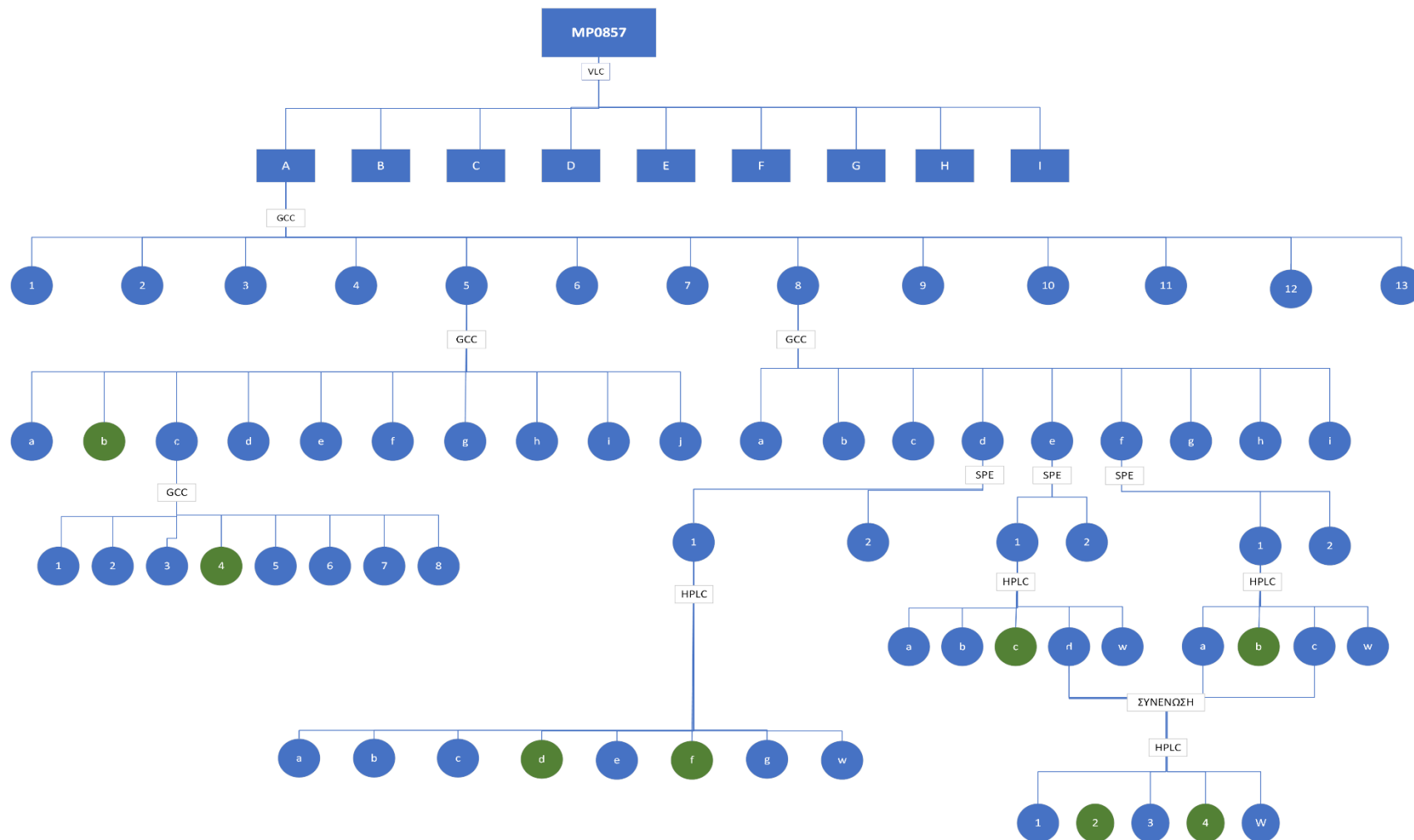
2.3. Συλλογή του οργανισμού

Ποσότητα μαλακού κοραλλιού του γένους *Nephthea* (MP0857) συλλέχθηκε από την Ερυθρά Θάλασσα στην περιοχή Yanbu, σε βάθος 6-8 m, τον Νοέμβριο του 2018. Ο οργανισμός μεταφέρθηκε υπό ψύξη στο Εργαστήριο Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου και διατηρήθηκε στους -20 °C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία του.

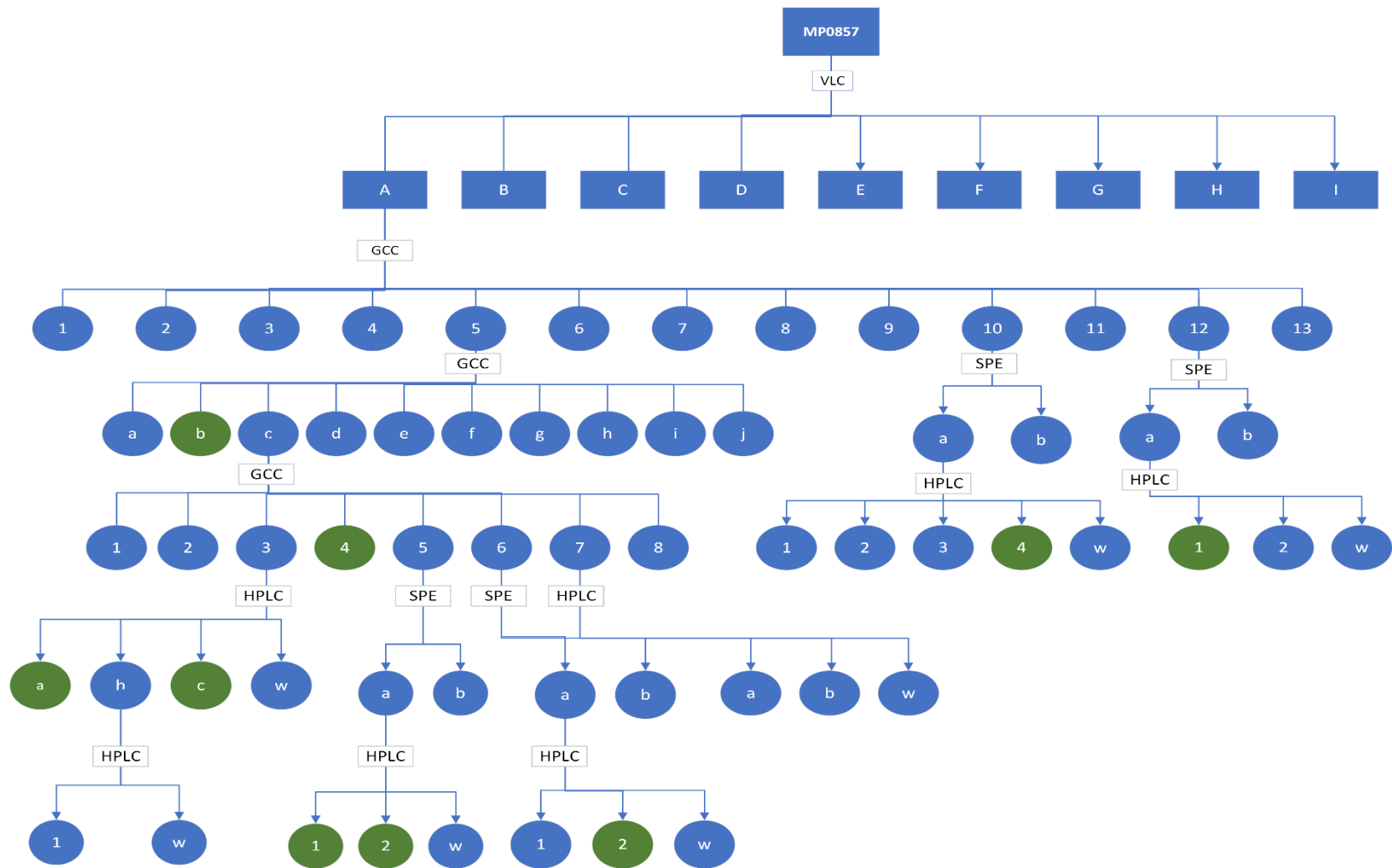
2.4. Χρωματογραφικός διαχωρισμός και απομόνωση δευτερογενών μεταβολιτών

Ποσότητα του οργανισμού υποβλήθηκε σε εξαντλητική εκχύλιση με μίγματα MeOH/CH₂Cl₂ (1η εκχύλιση με MeOH 100%, 2η εκχύλιση με MeOH 100%, 3η εκχύλιση με MeOH/CH₂Cl₂ 75:25, 4η εκχύλιση με MeOH/CH₂Cl₂ 25:75, 5η εκχύλιση με CH₂Cl₂ 100%, 6η εκχύλιση με CH₂Cl₂ 100%). Μετά τη συνένωση των εκχυλισμάτων που προέκυψαν, και αφού ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC οπότε και διαπιστώθηκε ότι εμφάνιζαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά, πραγματοποιήθηκε συμπύκνωση υπό κενό και προέκυψε υπόλειμμα 37.855 g, σκούρου πράσινου χρώματος και ελαιώδους υφής.

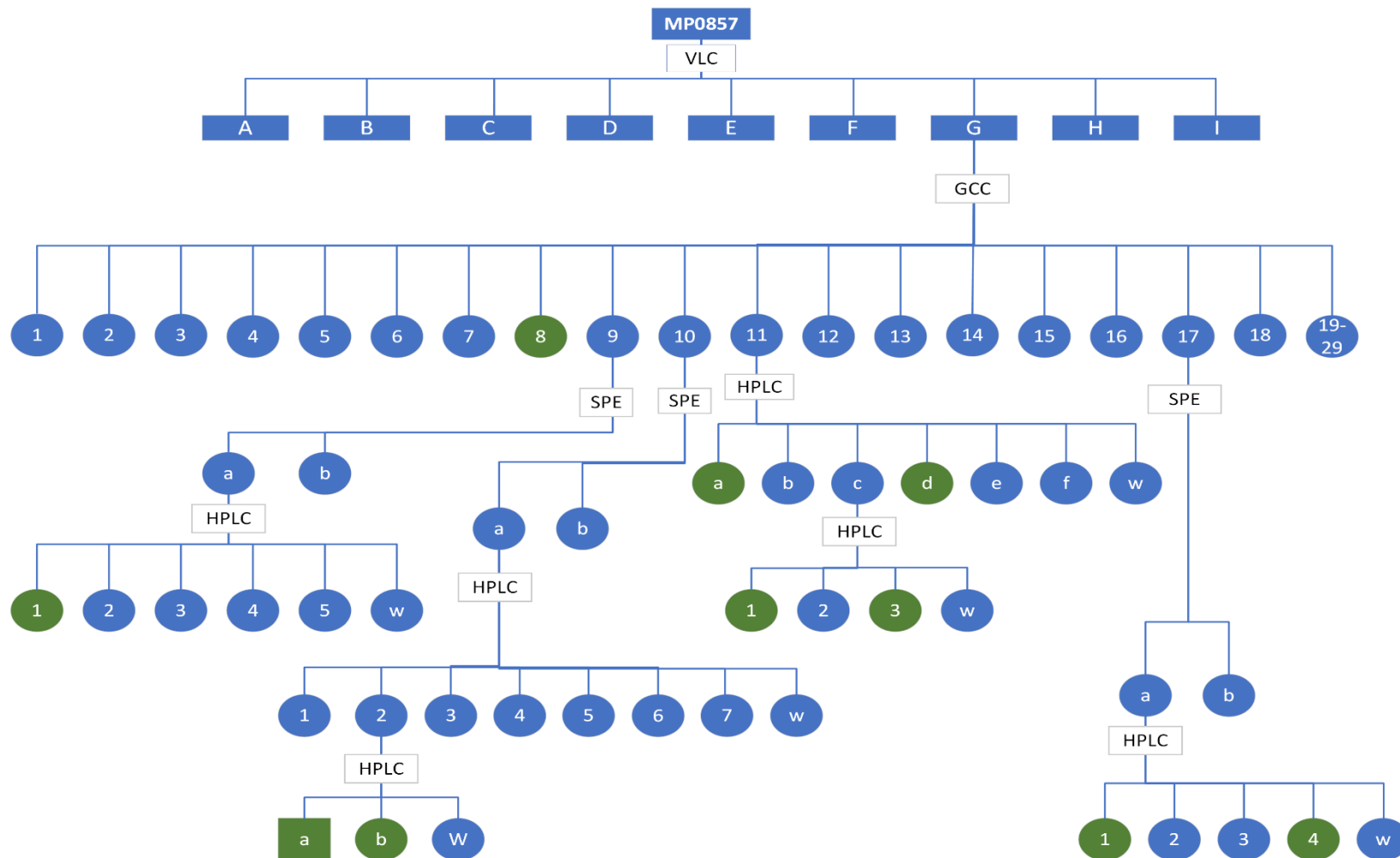
Η συνολική πορεία απομόνωσης των δευτερογενών μεταβολιτών από το αρχικό εκχύλισμα του οργανισμού *Nephthea* sp. παρουσιάζεται διαγραμματικά στα ακόλουθα σχήματα (Εικ. 7-9), ενώ στη συνέχεια περιγράφονται λεπτομερώς όλα τα στάδια της.



Εικόνα 7. Πορεία χρωματογραφικών διαχωρισμών του αρχικού εκχυλίσματος, όπου με πράσινο απεικονίζονται οι απομονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες (μέρος 1).



Εικόνα 8. Πορεία χρωματογραφικών διαχωρισμών του αρχικού εκχυλίσματος, όπου με πράσινο απεικονίζονται οι απομονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες (μέρος 2).



Εικόνα 9. Πορεία χρωματογραφικών διαχωρισμών του αρχικού εκχυλίσματος, όπου με πράσινο απεικονίζονται οι απομονωμένοι δευτερογενείς μεταβολίτες (μέρος 3).

Το αρχικό υπόλειμμα (37.855 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία με υποβοήθηση κενού, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση συστήματα διαλυτών βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας cHex/EtOAc. Συνολικά παρελήφθησαν 27 κλάσματα, τα οποία αρχικά ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC. Τα κλάσματα που εμφάνισαν παρόμοια χρωματογραφικά χαρακτηριστικά συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν στη συνέχεια φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 2).

Πίνακας 2. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλυσης.

Κλάσμα	Σύστημα διαλυτών	Κωδικός υπολείμματος
1	cHex (100%)	MP0857a
2	cHex (100%)	
3	cHex/EtOAc (95:5)	
4	cHex/EtOAc (95:5)	
5	cHex/EtOAc (90:10)	
6	cHex/EtOAc (90:10)	MP0857b
7	cHex/EtOAc (85:15)	
8	cHex/EtOAc (85:15)	
9	cHex/EtOAc (80:20)	
10	cHex/EtOAc (80:20)	
11	cHex/EtOAc (70:30)	MP0857c
12	cHex/EtOAc (70:30)	
13	cHex/EtOAc (60:40)	
14	cHex/EtOAc (60:40)	MP0857d
15	cHex/EtOAc (50:50)	
16	cHex/EtOAc (50:50)	MP0857e
17	cHex/EtOAc (40:60)	
18	cHex/EtOAc (40:60)	MP0857f
19	cHex/EtOAc (20:80)	
20	cHex/EtOAc (20:80)	
21	EtOAc (100%)	MP0857g
22	EtOAc (100%)	
23	EtOAc (100%)	
24	EtOAc (100%)	MP0857h
25	EtOAc/MeOH (50:50)	
26	MeOH (100%)	
27	MeOH (100%)	MP0857i

Το υπόλειμμα MP0857a (8.994 g) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με διαλύτη έκλυσης *n*-Pent. Παρελήφθησαν 33

κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 3) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 12 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 4).

Πίνακας 3. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1-31	<i>n</i> -Pent 100%
32-33	EtOAc 100%

Πίνακας 4. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1-2	MP0857a1	204
3-4	MP0857a2	216
5	MP0857a3	502
6	MP0857a4	1.054
7-8	MP0857a5	1.668
9-10	MP0857a6	1.165
11-12	MP0857a7	730
13-15	MP0857a8	632
16-18	MP0857a9	381
19-26	MP0857a10	418
27-31	MP0857a11	108
32-33	MP0857a12	1.275

Το υπόλειμμα MP0857a5 (502 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με διαλύτη έκλουσης *n*-Hept. Παρελήφθησαν 55 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 5) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a5b ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-01**) (Πίν. 6).

Πίνακας 5. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1-55	<i>n</i> -Hept 100%
56-57	EtOAc 100%

Πίνακας 6. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1-16	MP0857a5a	15.3
17-18	MP0857a5b	80.3
19-20	MP0857a5c	363.3
21-22	MP0857a5d	317.6
23-24	MP0857a5e	176.7
25-30	MP0857a5f	128.0
31-55	MP0857a5g	68.0
56	MP0857a5h	29.0
57	MP0857a5i	533.0

Το υπόλειμμα MP0857a5c (363.3 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με διαλύτη έκλουσης *n*-Hept. Παρελήφθησαν 33 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με GC-MS (Πίν. 7) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 8 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a5c4 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-05**) (Πίν. 8).

Πίνακας 7. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1-17	<i>n</i> -Hept 100%
18-33	EtOAc 100%

Πίνακας 8. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1-8	MP0857a5c1	2.6
9	MP0857a5c2	1.4
10	MP0857a5c3	41.9
11	MP0857a5c4	92.5
12	MP0857a5c5	40.1
13	MP0857a5c6	11.2
14-15	MP0857a5c7	2.1
15-33	MP0857a5c8	3.5

Το υπόλειμμα MP0857a5c6 (11.2 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 5 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν.

9, Πίν. 10).

Πίνακας 9. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 10. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a5c6a	10.7
2	MP0857a5c6b	0.5

Το υπόλειμμα MP0857a5c6a (10.7 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a5c6a2 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-06**) (Πίν. 11).

Πίνακας 11. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a5c6a1	3.0	13.2
MP0857a5c6a2	1.3	13.8

Το υπόλειμμα MP0857a5c7 (2.1 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 12).

Πίνακας 12. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a5c7a	0.2	13.1
MP0857a5c7b	0.1	13.7

Το υπόλειμμα MP0857a5c5 (40.1 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 5 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 13, Πίν. 14).

Πίνακας 13. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 14. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a5c5a	37.0
2	MP0857a5c5b	3.1

Το υπόλειμμα MP0857a5c5a (40.1 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα MP0857a5c5a1 και MP0857a5c5a2 ήταν καθαρές ουσίες (**MP0857-05** και **MP0857-06**, αντίστοιχα) (Πίν. 15).

Πίνακας 15. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a5c5a1	16.6	13.4
MP0857a5c5a2	6.6	13.9

Το υπόλειμμα MP0857a5c3 (41.9 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a5c3c ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-**

01) (Πίν. 16).

Πίνακας 16. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a5c3a	2.7	11.8
MP0857a5c3b	2.9	12.2
MP0857a5c3c	25.5	12.8

Το υπόλειμμα MP0857a5c3b (2.9 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθηκε 1 κλάσμα, το οποίο ζυγίστηκε και ελέγχθηκε φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 17).

Πίνακας 17. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a5c3b	1	12.0

Το υπόλειμμα MP0857a8 (632 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης με διαλύτη έκλουσης *n*-Hept. Παρελήφθησαν 60 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 18) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 9 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 19).

Πίνακας 18. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1-50	<i>n</i> -Hept 100%
51-60	EtOAc 100%

Πίνακας 19. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1-14	MP0857a8a	2.8
15-16	MP0857a8b	41.6
17-18	MP0857a8c	35.6
19-20	MP0857a8d	69.5
21-22	MP0857a8e	87.6
23-26	MP0857a8f	45.0
27-32	MP0857a8g	32.9
33-50	MP0857a8h	2.9
51-60	MP0857a8i	115.7

Το υπόλειμμα MP0857a8f (45.0 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 5 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 20, Πίν. 21).

Πίνακας 20. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 21. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a8f1	38.4
2	MP0857a8f2	6.6

Το υπόλειμμα MP0857a8f1 (38.4 mg) υποβλήθηκε σε HPLC. Συνολικά παρελήφθησαν 3 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a8f1b ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-02**) (Πίν. 22).

Πίνακας 22. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a8f1a	6.3	12.2
MP0857a8f1b	1.4	14.2
MP0857a8f1c	4.0	14.6

Το υπόλειμμα MP0857a8e (87.6 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 14 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 23, Πίν. 24).

Πίνακας 23. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 24. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a8e1	79.5
2	MP0857a8e2	8.1

Το υπόλειμμα MP0857a8e1 (79.5 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a8e1c ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-02**) (Πίν. 25).

Πίνακας 25. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a8e1a	1.1	13.7
MP0857a8e1b	3.6	16.5
MP0857a8e1c	4.0	17.2
MP0857a8e1d	46.9	18.1

Το υπόλειμμα MP0857a8e1d (46.9 mg) συνενώθηκε με τα υπολείμματα MP0857a8f1a (6.3 mg) και MP0857a8f1c (4.0 mg) και υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα MP0857a8e1d2 και MP0857a8e1d4 ήταν καθαρές ουσίες (**MP0857-02** και **MP0857-04**, αντίστοιχα) (Πίν. 26).

Πίνακας 26. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a8e1d1	38.4	14.4
MP0857a8e1d2	4.7	20.8
MP0857a8e1d3	0.3	22.1
MP0857a8e1d4	1.5	24.6

Το υπόλειμμα MP0857a8d (69.5 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 14 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 27, Πίν. 28).

Πίνακας 27. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 28. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a8d1	31.3
2	MP0857a8d2	38.4

Το υπόλειμμα MP0857a8d1 (31.3 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 7 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα MP0857a8d1d και MP0857a8d1f ήταν καθαρές ουσίες (**MP0857-03** και **MP0857-02**, αντίστοιχα) (Πίν. 29).

Πίνακας 29. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a8d1a	7.1	13.3
MP0857a8d1b	0.2	14.4
MP0857a8d1c	0.4	15.2
MP0857a8d1d	2.4	16.0
MP0857a8d1e	1.6	16.7
MP0857a8d1f	4.4	17.3
MP0857a8d1g	12.9	17.7

Μέρος του υπολείμματος MP0857a10 (69.4 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 10 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 30, Πίν. 31).

Πίνακας 30. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 31. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a10a	59.7
2	MP0857a10b	9.7

Το υπόλειμμα MP0857a10a (59.7 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a10a4 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-04**) (Πίν. 32).

Πίνακας 32. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a10a1	9.5	12.2
MP0857a10a2	4.4	15.1
MP0857a10a3	24.7	15.4
MP0857a10a4	8.3	16.4

Το υπόλειμμα MP0857a12 (8 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση *n*-Hex. Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 4 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 33, Πίν. 34).

Πίνακας 33. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	<i>n</i> -Hex 100%
2	CH ₂ Cl ₂ 100%

Πίνακας 34. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857a12a	7.3
2	MP0857a12b	0.7

Το υπόλειμμα MP0857a12a (7.3 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857a12a1 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-04**) (Πίν. 35).

Πίνακας 35. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	<i>n</i> -Hex 100%
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857a12a1	1.4	20.2
MP0857a12a2	2.1	23.4

Το υπόλειμμα MP0857g (2351 mg) υποβλήθηκε σε υγρή χρωματογραφία βαρύτητας σε στήλη γέλης πυριτίου κανονικής φάσης. Το σύστημα των διαλυτών έκλουσης αποτελούταν από μίγματα *c*Hex/EtOAc βαθμιαία αυξανόμενης πολικότητας. Παρελήφθησαν 168 κλάσματα, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 36) και στη συνέχεια συνενώθηκαν ώστε να προκύψουν 29 υπολείμματα, τα οποία ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857g8 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-08**) (Πίν. 37).

Πίνακας 36. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1-21	<i>c</i> Hex/EtOAc (98:2)
22-32	<i>c</i> Hex/EtOAc (95:5)
33-51	<i>c</i> Hex/EtOAc (92:8)
52-89	<i>c</i> Hex/EtOAc (90:10)
90-103	<i>c</i> Hex/EtOAc (85:15)
104-117	<i>c</i> Hex/EtOAc (80:20)
118-129	<i>c</i> Hex/EtOAc (70:30)
130-153	<i>c</i> Hex/EtOAc (50:50)
154-168	EtOAc 100%

Πίνακας 37. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1-32	MP0857g1	9.7
33-35	MP0857g2	132.0
36-38	MP0857g3	164.2
39-40	MP0857g4	107.8
41-42	MP0857g5	14.0
43-44	MP0857g6	23.5
45-49	MP0857g7	75.0
50-51	MP0857g8	44.0

52-54	MP0857g9	60.4
55-58	MP0857g10	53.1
59-63	MP0857g11	47.0
64-67	MP0857g12	35.9
68-71	MP0857g13	16.5
72-75	MP0857g14	11.3
76-81	MP0857g15	81.8
82-87	MP0857g16	171.8
88-93	MP0857g17	45.2
94-95	MP0857g18	10.4
96-100	MP0857g19	74.2
101-105	MP0857g20	44.3
106-107	MP0857g21	14.7
108-109	MP0857g22	13.8
110-112	MP0857g23	38.5
113-121	MP0857g24	182.2
122-126	MP0857g25	104.9
127-132	MP0857g26	61.6
133-136	MP0857g27	115.3
137-144	MP0857g28	69.5
145-168	MP0857g29	21.9

Το υπόλειμμα MP0857g9 (60.4 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση σύστημα διαλυτών cHex/EtOAc (91:9). Παρελήφθησαν 3 κλάσματα, όγκου 3 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 38, Πίν. 39).

Πίνακας 38. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	cHex/EtOAc (91:9)
2	EtOAc 100%

Πίνακας 39. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857g9a	33.7
2	MP0857g9c	20.5

Το υπόλειμμα MP0857g9a (33.7 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 5 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR,

οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857g9a1 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-08**) (Πίν. 40).

Πίνακας 40. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (91:9)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g9a1	14.4	18.1
MP0857g9a2	4.6	19.8
MP0857g9a3	0.8	21.0
MP0857g9a4	0.4	22.1
MP0857g9a5	0.9	27.1

Το υπόλειμμα MP0857g10 (53.1 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση σύστημα διαλυτών cHex/EtOAc (91:9). Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 8 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 41, Πίν. 42).

Πίνακας 41. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	cHex/EtOAc (91:9)
2	EtOAc 100%

Πίνακας 42. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857g10a	30.6
2	MP0857g10b	22.0

Το υπόλειμμα MP0857g10a (30.6 mg) υποβλήθηκε σε HPLC. Συνολικά παρελήφθησαν 7 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR (Πίν. 43).

Πίνακας 43. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (91:9)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g10a1	2.0	17.7
MP0857g10a2	3.0	18.4
MP0857g10a3	5.4	20.0
MP0857g10a4	6.2	21.1
MP0857g10a5	0.9	22.2
MP0857g10a6	1.6	23.6
MP0857g10a7	1.5	27.2

Το υπόλειμμα MP0857g10a2 (3.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ^1H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857g10a2b ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-13**) (Πίν. 44).

Πίνακας 44. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (91:9)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g10a2a	0.9	18.2
MP0857g10a2b	1.1	18.8

Το υπόλειμμα MP0857g11 (47.0 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 6 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ^1H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα MP0857g11a και MP0857g11d ήταν καθαρές ουσίες (**MP0857-09** και **MP0857-10**, αντίστοιχα) (Πίν. 45).

Πίνακας 45. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (90:10)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g11a	1.3	19.3
MP0857g11b	1.4	20.1
MP0857g11c	8.8	20.8
MP0857g11d	14.0	21.2
MP0857g11f	1.2	22.5
MP0857g11e	9.2	23.4

Το υπόλειμμα MP0857g11c (8.8 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 2 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ¹H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι το κλάσμα MP0857g11c1 ήταν καθαρή ουσία (**MP0857-07**) (Πίν. 46).

Πίνακας 46. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (90:10)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g11c1	2.2	18.6
MP0857g11c2	3.1	19.1

Το υπόλειμμα MP0857g17 (45.2 mg) υποβλήθηκε σε εκχύλιση στερεάς φάσης, χρησιμοποιώντας ως στατική φάση γέλη πυριτίου κανονικής φάσης και ως κινητή φάση σύστημα διαλυτών cHex/EtOAc (85:15). Παρελήφθησαν 2 κλάσματα, όγκου 6 mL, τα οποία ελέγχθηκαν χρωματογραφικά με TLC (Πίν. 47, Πίν. 48).

Πίνακας 47. Κλάσματα που παρελήφθησαν με τα αντίστοιχα συστήματα διαλυτών έκλουσης.

Κλάσματα	Σύστημα διαλυτών
1	cHex/EtOAc (85:15)
2	EtOAc 100%

Πίνακας 48. Υπολείμματα που προέκυψαν μετά από συνένωση και οι μάζες αυτών.

Συνενωμένα κλάσματα	Κωδικός υπολείμματος	Μάζα (mg)
1	MP0857g17a	38.9
2	MP0857g17b	8.0

Το υπόλειμμα MP0857g17a (38.9 mg) υποβλήθηκε σε HPLC κανονικής φάσης. Συνολικά παρελήφθησαν 4 κλάσματα, τα οποία ζυγίστηκαν και ελέγχθηκαν φασματοσκοπικά με ^1H NMR, οπότε και διαπιστώθηκε ότι τα κλάσματα MP0857g17a1 και MP0857g17a4 ήταν καθαρές ουσίες (**MP0857-12** και **MP0857-11**, αντίστοιχα) (Πίν. 49).

Πίνακας 49. Συνθήκες χρωματογραφίας, κλάσματα που παρελήφθησαν, χρόνοι έκλουσης και μάζες αυτών.

Συνθήκες χρωματογραφίας	
Στήλη	Supelcosil™ LC-SI SemiPrep
Διαλύτης έκλουσης	cHex/EtOAc (85:15)
Ροή διαλύτη	1.5 mL/min

Κωδικός κλάσματος	Μάζα (mg)	Χρόνος έκλουσης (min)
MP0857g17a1	4.8	16.7
MP0857g17a2	2.9	21,0
MP0857g17a3	8.2	23.9
MP0857g17a4	14.9	24.5

Συνολικά από το οργανικό εκχύλισμα του μαλακού κοραλλιού *Nephthea* sp. απομονώθηκαν 13 μεταβολίτες, οι οποίοι παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 50.

Πίνακας 50. Απομονωμένοι μεταβολίτες και μάζες αυτών.

Μεταβολίτης	Κωδικός	Κλάσματα	Μάζα (mg)
1	MP0857-02	MP0857a8f1b, MP0857a8e1c, MP0857a8e1d2, MP0857a8d1f	1.4, 4.0, 4.7, 4.4
2	MP0857-04	MP0857a8e1d4, MP0857a10a4, MP0857a12a1	1.5, 8.3, 1.4
3	MP0857-08	MP0857g8, MP0857g9a1, MP0857g10a1	59.3
4	MP0857-01	MP0857a5b, MP0857a5c2, MP0857a5c3a	80.3, 1.4, 2.7
5	MP0857-07	MP0857g11c1	2.2
6	MP0857-05	MP0857a5c4, MP0857a5c3c, MP0857a5c5a1	92.5, 25.5, 16.6
7	MP0857-03	MP0857a8d1d	2.4
8	MP0857-11	MP0857g17a4	14.9
	MP0857-06	MP0857a5c5a2, MP0857a5c6a2	6.6, 1.2
	MP0857-09	MP0857g11d, MP0857g11c3	14.0, 3.1
	MP0857-10	MP0857g11a	1.3
	MP0857-12	MP0857g17a1	4.8
	MP0857-13	MP0857g10a2b	1.1

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

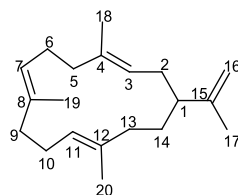
Δείγμα του *Nerpthea* sp. συλλέχθηκε από την Ερυθρά Θάλασσα, από την περιοχή Yanbu της Σαουδικής Αραβίας, σε βάθος 6-8m, τον Νοέμβριο του 2018. Ο οργανισμός εκχυλίστηκε εξαντλητικά με μίγματα CH_2Cl_2 και MeOH και το οργανικό εκχύλισμα που προέκυψε υποβλήθηκε σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς με αποτέλεσμα την απομόνωση 13 δευτερογενών μεταβολιτών, εκ των οποίων μέχρι στιγμής έχουν ταυτοποιηθεί οι οκτώ (**1–8**).

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 **1–8** και περιγράφεται ο καθορισμός της χημικής τους δομής.

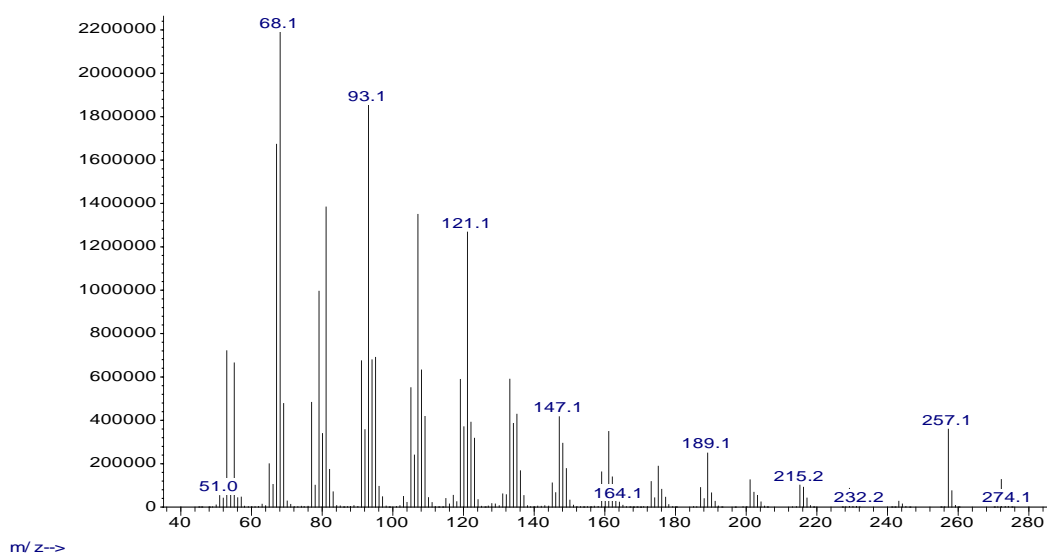
3.1. Μεταβολίτης 1

Ο μεταβολίτης **1** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως άχρωμο υπόλειμμα συνολικής μάζας 14.5 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **1** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₂₀H₃₂.



1

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **1** (Εικ. 10) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 272 και θραύσμα [M-CH₃]⁺ σε *m/z* 257.

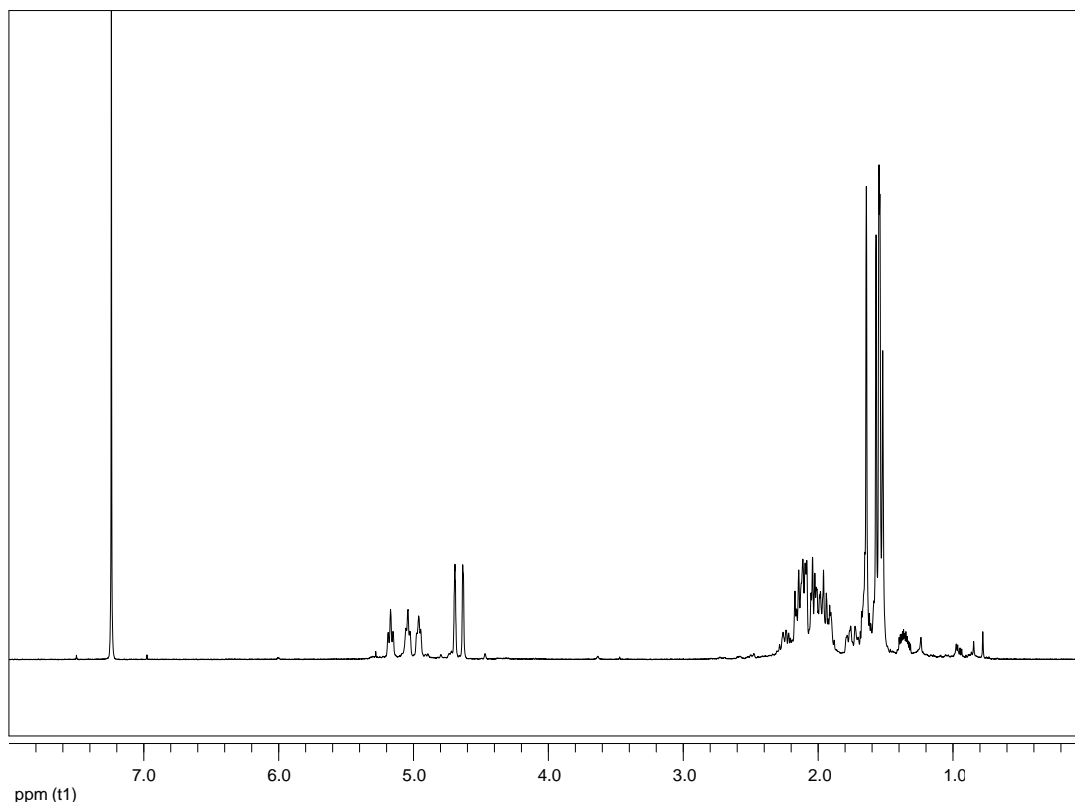


Εικόνα 10. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **1**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **1** (Εικ. 11) παρατηρήθηκαν:

- Τέσσερις απλές κορυφές σε δ 1.54, 1.55, 1.57 και 1.64, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τεσσάρων βινυλικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Δύο ευρείες απλές κορυφές σε δ 4.63 και 4.69, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε δύο ολεφινικά πρωτόνια και υπεδείκνυαν την παρουσία ενός εξωμεθυλενικού διπλού δεσμού στο μόριο.

- Τρεις τριπλές κορυφές σε δ 5.16, 5.04 και 4.96, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε τρία ολεφινικά μεθίλια και υπεδείκνυαν την παρουσία τριών τρισυποκατεστημένων διπλών δεσμών άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.



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

Λαμβάνοντας υπόψη τους τέσσερις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τέσσερις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι μονοκυκλικό.

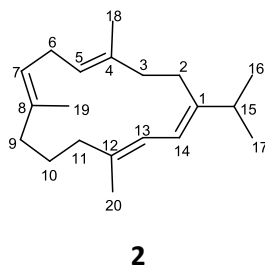
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **1** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν κεμβρένιο **A**, το οποίο έχει παρουσιάσει κυτταροστατική δράση *in vitro* και ικανότητα αναστολής της κυκλοοξυγενάσης **2**, όπου ήταν 60% δραστικότερο από γνωστά μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Alf et al., 2013). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **1** παρατίθενται στον Πίνακα 51.

Πίνακας 51. Φασματοσκοπικά δεδομένα ¹H NMR του μεταβολίτη **1** σε CDCl₃ (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

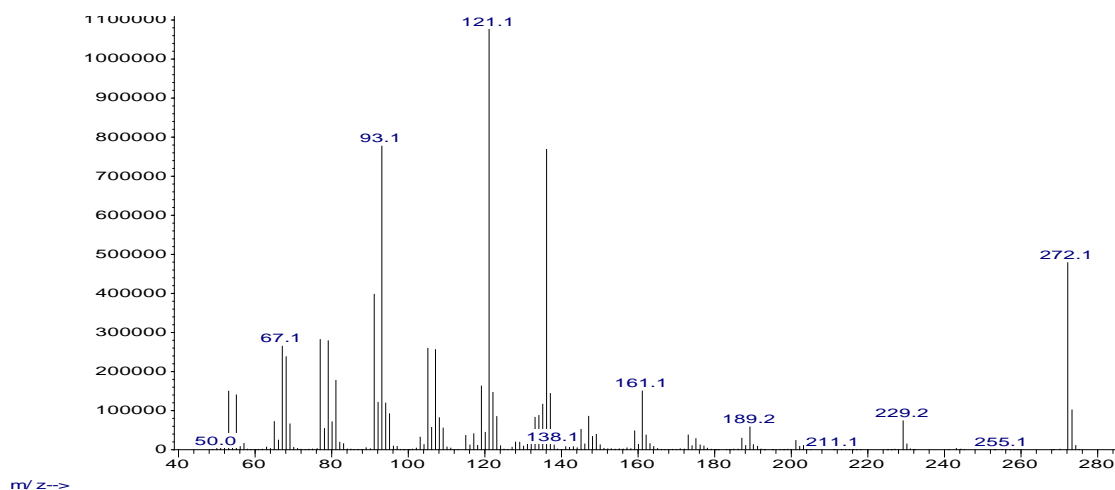
Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Ravi & Faulkner, 1978)
3	5.04 t (6.2)	5.07 t (7.0)
7	5.16 t (7.0)	5.19 t (7.0)
11	4.96 t (6.0)	4.98 t (7.0)
16a, 16b	4.69 s	4.72 s
	4.63 s	4.66 s
17	1.64 s	1.66 s
18	1.54 s	1.55 s
19	1.55 s	1.55 s
20	1.57 s	1.59 s

3.2. Μεταβολίτης 2

Ο μεταβολίτης **2** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως υποκίτρινο υπόλειμμα συνολικής μάζας 11.2 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **2** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₂₀H₃₂.



Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **2** (Εικ. 12) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 272 και θραύσμα [[M-CH(CH₃)₂]⁺ σε *m/z* 229.



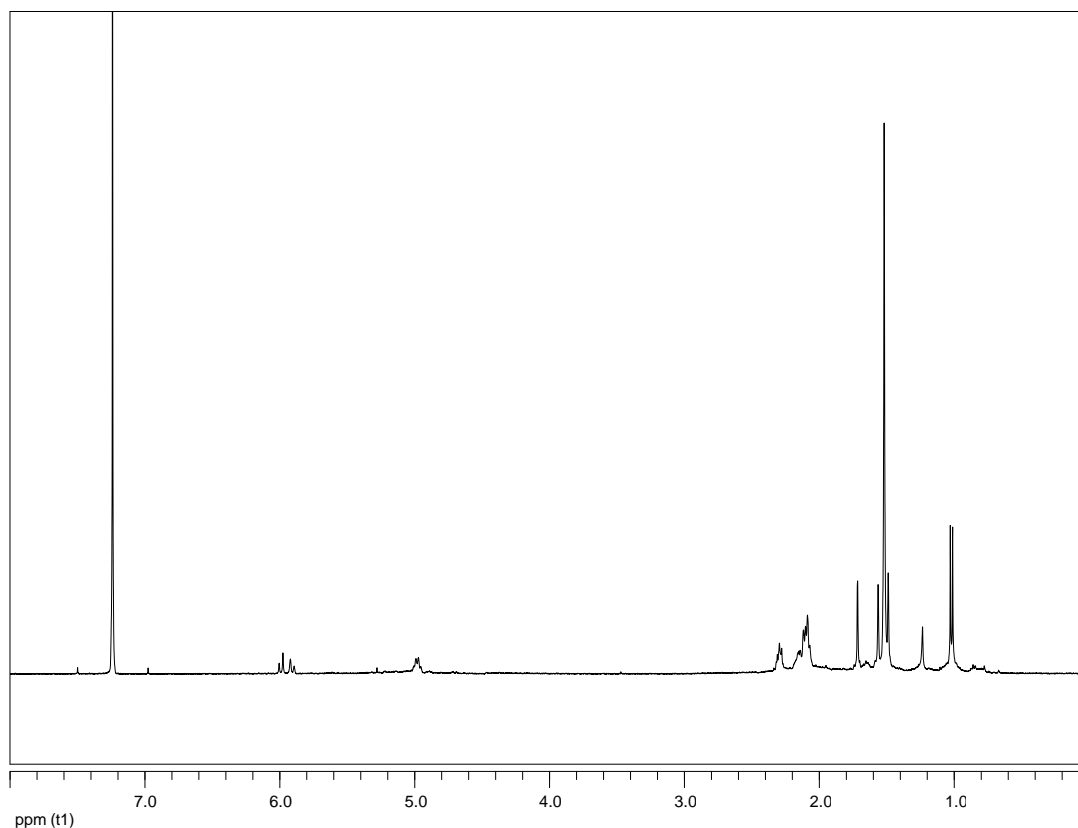
Εικόνα 12. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **2**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **2** (Εικ. 13) παρατηρήθηκαν:

- Τρεις απλές κορυφές σε δ 1.72, 1.56 και 1.49, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τριών βινυλικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μια διπλή κορυφή σε δ 1.02, η οποία ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.
- Δύο διπλές κορυφές σε δ 5.99 και 5.91, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε δύο πρωτόνια ολεφινικών μεθινίων σε συζυγία και

υπεδείκνυαν την παρουσία δύο τρισυποκατεστημένων διπλών δεσμών άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.

- Μια πολλαπλή κορυφή σε δ 4.98, η οποία ολοκλήρωνε για δύο πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε δύο ολεφινικά μεθίλια, υποδεικνύοντας την παρουσία δύο επιπλέον τρισυποκατεστημένων διπλών δεσμών άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.



Εικόνα 13. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **2**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους τέσσερις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τέσσερις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι μονοκυκλικό.

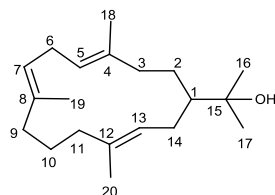
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **2** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν κεμβρένιο C, το οποίο έχει αντιφλεγμονώδη δράση (Nurrachma et al., 2021). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **2** παρατίθενται στον Πίνακα 52.

Πίνακας 52. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **2** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Al-Footy et al., 2015)
5, 7	4.99 m	5.07 m
13, 14	5.99 d (11.1)	6.06 d (10.8)
	5.91 d (11.1)	5.99 dd (10.2, 1.2)
16, 17	1.02 d (6.8)	1.09 d (6.6)
	1.02 d (6.8)	1.10 d (6.6)
18, 19	1.56 s	1.63 s
	1.49 brs	1.55 d (4.2)
20	1.72 brs	1.78 brs

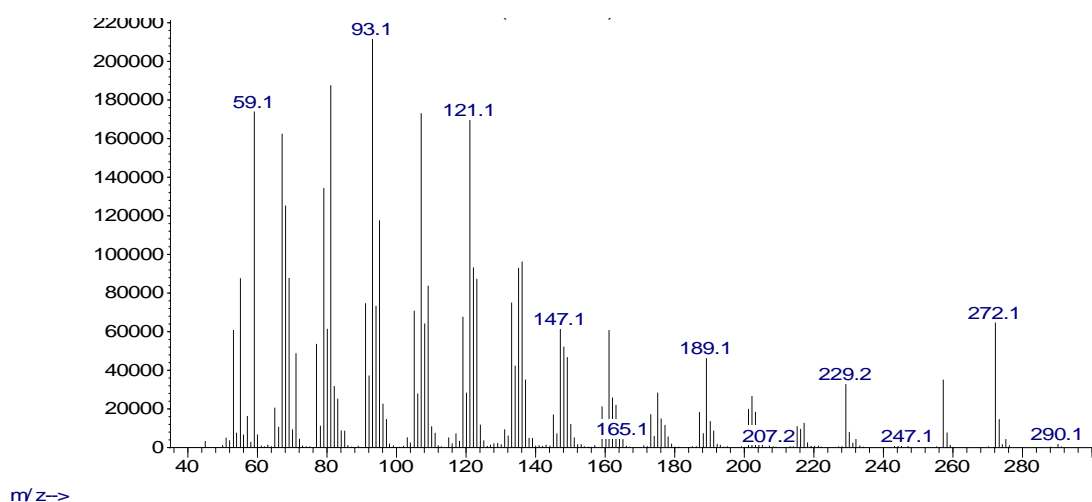
3.3. Μεταβολίτης 3

Ο μεταβολίτης **3** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως κίτρινο υπόλειμμα συνολικής μάζας 59.3 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **3** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₂₀H₃₄O.



3

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **3** (Εικ. 14) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 290 και θραύσμα [M-H₂O]⁺ σε *m/z* 272.

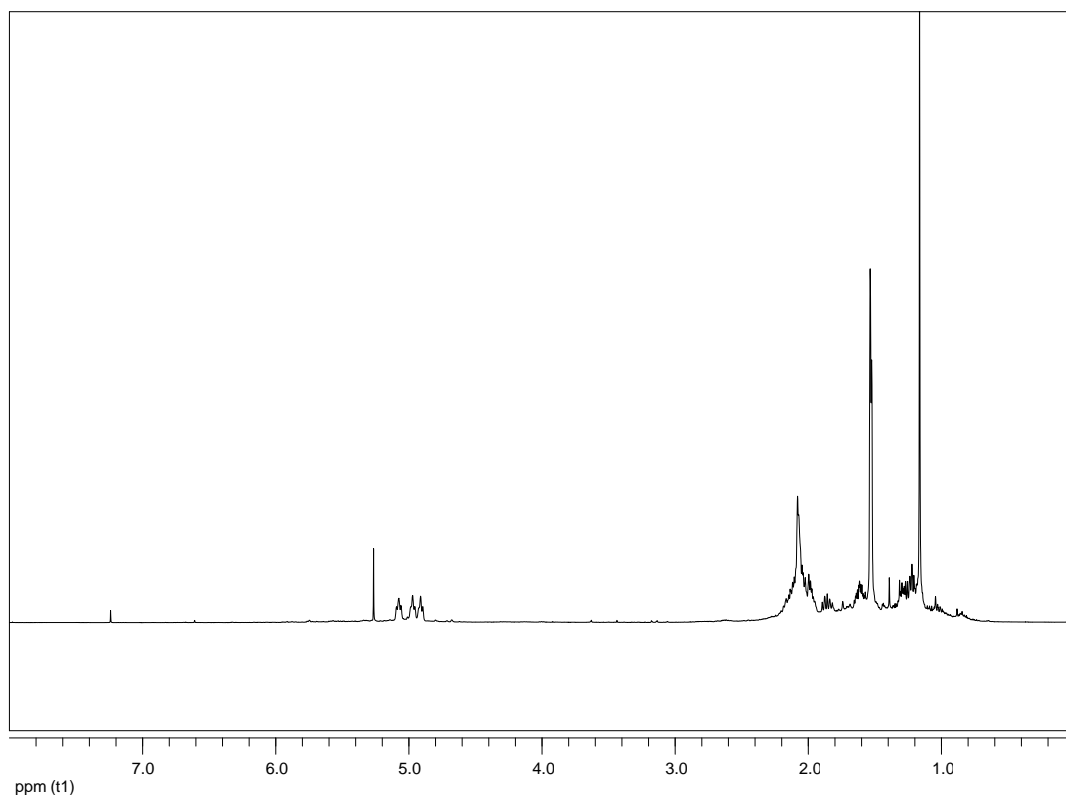


Εικόνα 14. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **3**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **3** (Εικ. 15) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.53 και 1.52, οι οποίες ολοκλήρωναν για έξι και τρία πρωτόνια η κάθε μια, αντίστοιχα, και αποδόθηκαν σε πρωτόνια τριών βινυλικών μεθυλίων.
- Μια απλή κορυφή σε δ 1.13, η οποία ολοκλήρωνε για έξι πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τεταρτοταγές άτομο άνθρακα.
- Τρεις τριπλές κορυφές σε δ 5.07, 4.97 και 4.91, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε τρία ολεφινικά μεθίλια, υποδεικνύοντας

την παρουσία τριών τρισυποκατεστημένων διπλών δεσμών άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.



Εικόνα 15. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **3**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους τρεις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τρεις από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι μονοκυκλικό.

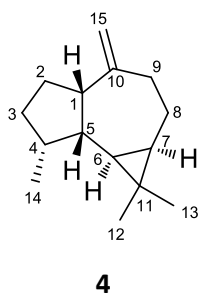
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **3** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν νεφθενόλη, το οποίο έχει δείξει κυτταροτοξική δράση σε διάφορες ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές (Shaker et al., 2010). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **3** παρατίθενται στον Πίνακα 53.

Πίνακας 53. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **3** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

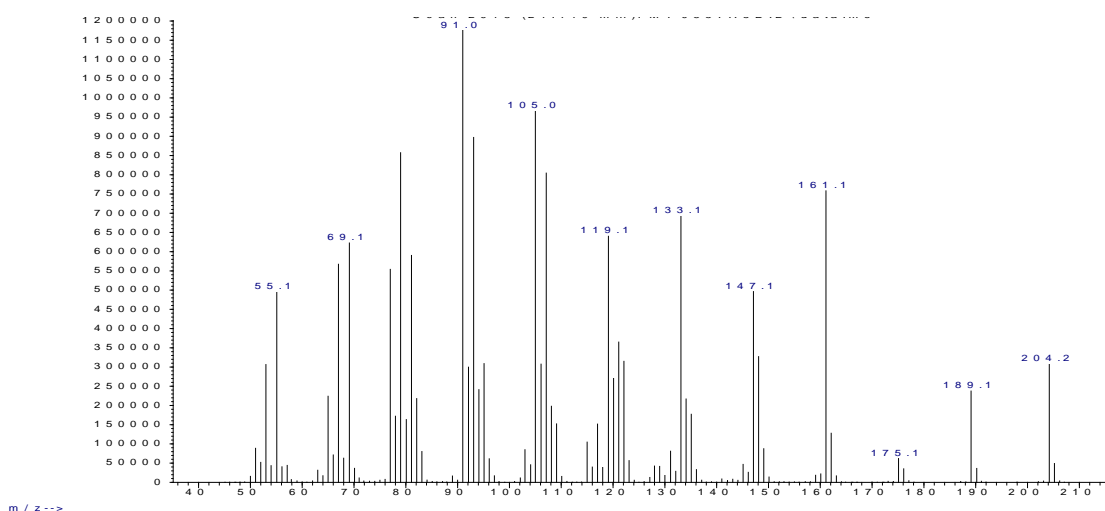
Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Kobayashi et al., 1989)
3, 7, 11	5.07 t (7.0)	5.11 t (6.5-7.5)
	4.97 t (6.2)	5.01 t (6.5-7.5)
	4.91 t (6.0)	4.95 t (6.5-7.5)
16, 17	1.16 s	1.20 s
18, 19, 20	1.53 s	1.57 s
	1.52 s	1.57 s

3.4. Μεταβολίτης 4

Ο μεταβολίτης **4** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως άχρωμο υπόλειμμα συνολικής μάζας 84.4 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **4** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₅H₂₄.



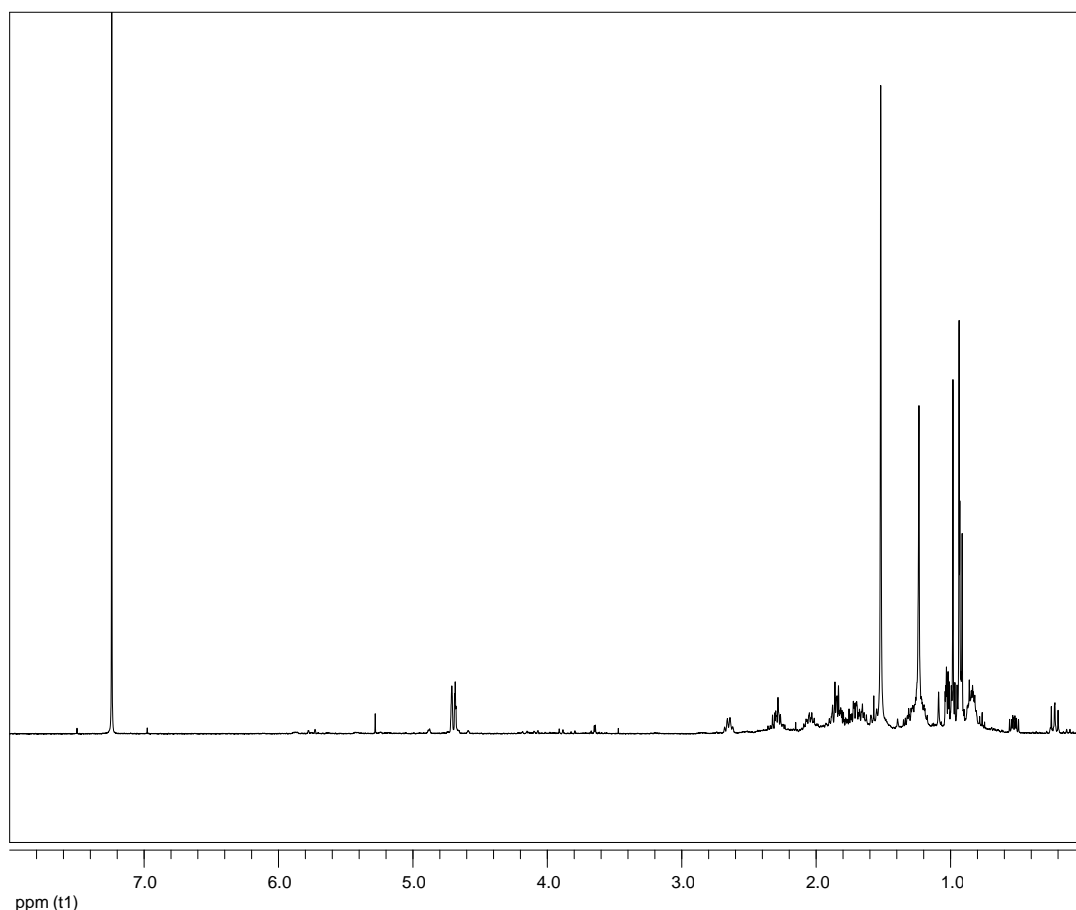
Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **4** (Εικ. 16) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 204 και θραύσμα [M-CH₃]⁺ σε *m/z* 189.



Εικόνα 16. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **4**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **4** (Εικ. 17) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 0.98 και 0.94 και μια διπλή κορυφή σε δ 0.92, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια τριών αλειφατικών μεθυλιών σε τεταρτοταγή και τριτοταγή άτομα άνθρακα, αντίστοιχα.
- Δυο ευρείες απλές κορυφές σε δ 4.71 και 4.68, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε δύο ολεφινικά πρωτόνια εξωμεθυλενίου.



Εικόνα 17. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **4**.

Λαμβάνοντας υπόψη τον έναν διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα ως έναν από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι τρικυκλικό.

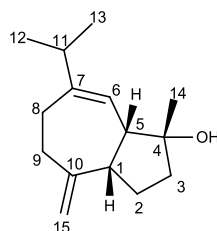
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **4** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν αλλο-αρωμαδενδρένιο, το οποίο έχει παρουσιάσει αντιοξειδωτική δράση *in vitro* (Yu et al., 2014). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **4** παρατίθενται στον Πίνακα 54.

Πίνακας 54. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **4** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (de Rosa et al., 1988)
6	0.23 dd (10.7, 9.5)	0.25 dd (11.0, 9.6)
7	0.53 m	0.56 m
12	0.98 s	1.00 s
13	0.94 s	0.96 s
14	0.92 d (6.9)	0.94 d (7.2)
15a, 15b	4.71 brs,	4.73 brs
	4.68 brs	4.71 brs

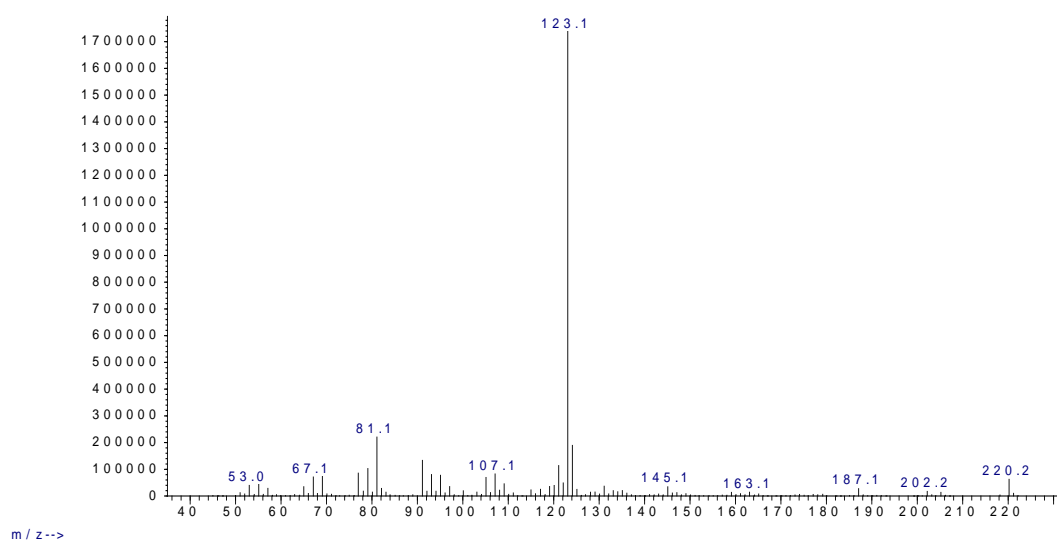
3.5. Μεταβολίτης 5

Ο μεταβολίτης **5** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως υποκίτρινο υπόλειμμα συνολικής μάζας 2.2 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **5** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₅H₂₄O.



5

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **5** (Εικ. 18) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 220 και θραύσμα [M-H₂O]⁺ σε *m/z* 202.

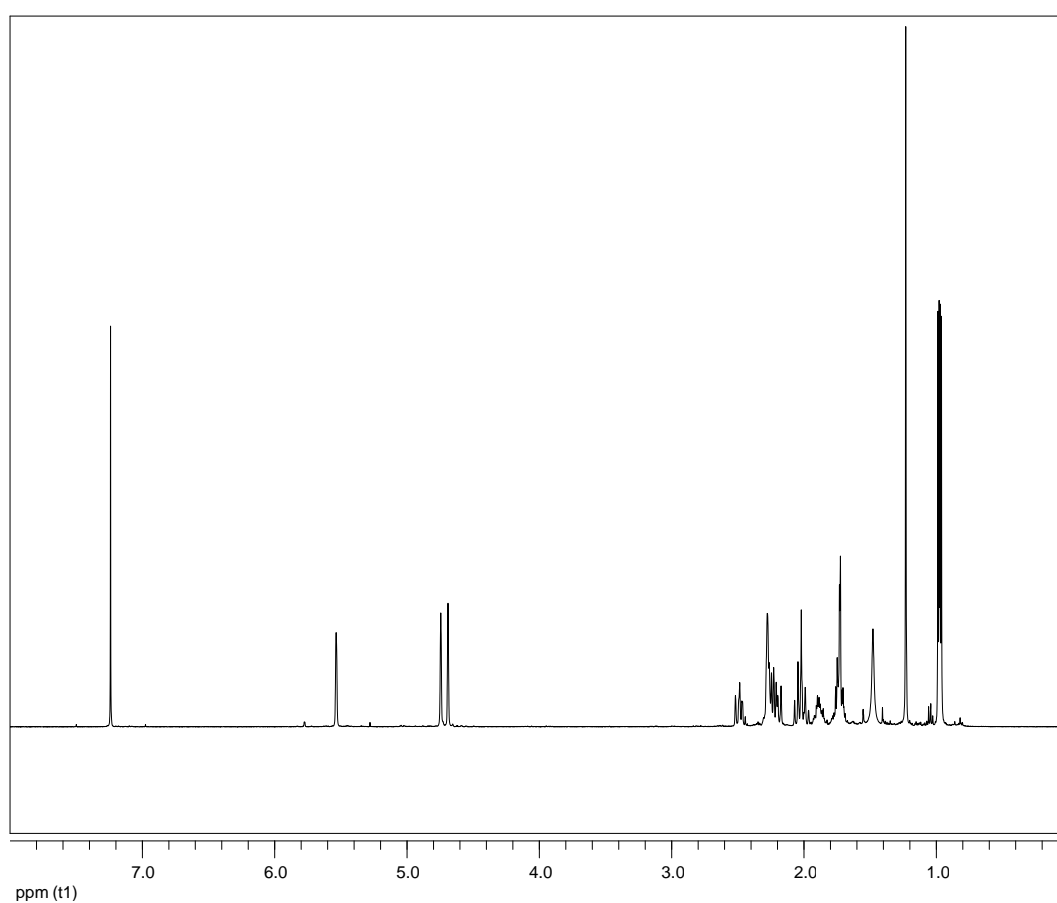


Εικόνα 18. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **5**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **5** (Εικ. 19) παρατηρήθηκαν:

- Μια απλή κορυφή σε δ 1.23, η οποία ολοκληρώνει για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια ενός μεθυλίου σε τεταρτοταγές οξυγονωμένο άτομο άνθρακα.
- Δύο διπλές κορυφές σε δ 0.98 και 0.97, οι οποίες ολοκληρώναν για τρία πρωτόνια η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια δύο αλειφατικών μεθυλίων σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.

- Δύο απλές κορυφές σε δ 4.74 και 4.69, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε δύο πρωτόνια ενός ολεφινικού μεθυλενίου και υπεδείκνυαν την παρουσία ενός 1,1-δισυποκατεστημένου διπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.
- Μια ευρεία απλή κορυφή σε δ 5.53, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα ολεφινικό μεθίλιο, υποδεικνύοντας την παρουσία ενός τρισυποκατεστημένου διπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.



Εικόνα 19. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **5**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως δύο από τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι δικυκλικό.

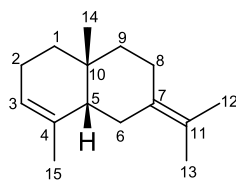
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **5** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν αλισμόλη, το οποίο έχει αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση *in vitro* (Shi et al., 2017). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **5** παρατίθενται στον Πίνακα 55.

Πίνακας 55. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **5** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Oshima et al., 1983)
6	5.53 s	5.52 brs
12	0.98 d (6.8)	0.98 d (6.5)
13	0.97 d (6.8)	0.98 d (6.5)
14	1.23 s	1.24 s
15a, 15b	4.74 brs	4.75 brs
	4.69 brs	4.68 brs

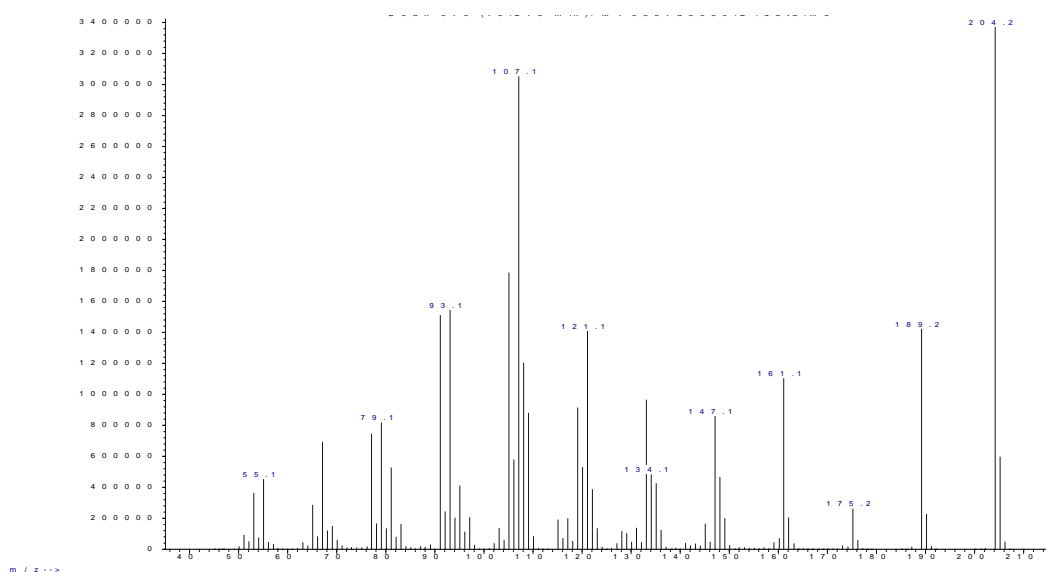
3.6. Μεταβολίτης 6

Ο μεταβολίτης **6** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως άχρωμο υπόλειμμα συνολικής μάζας 134.6 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **6** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₅H₂₄.



6

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **6** (Εικ. 20) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 204 και θραύσμα [M-CH₃]⁺ σε *m/z* 189.

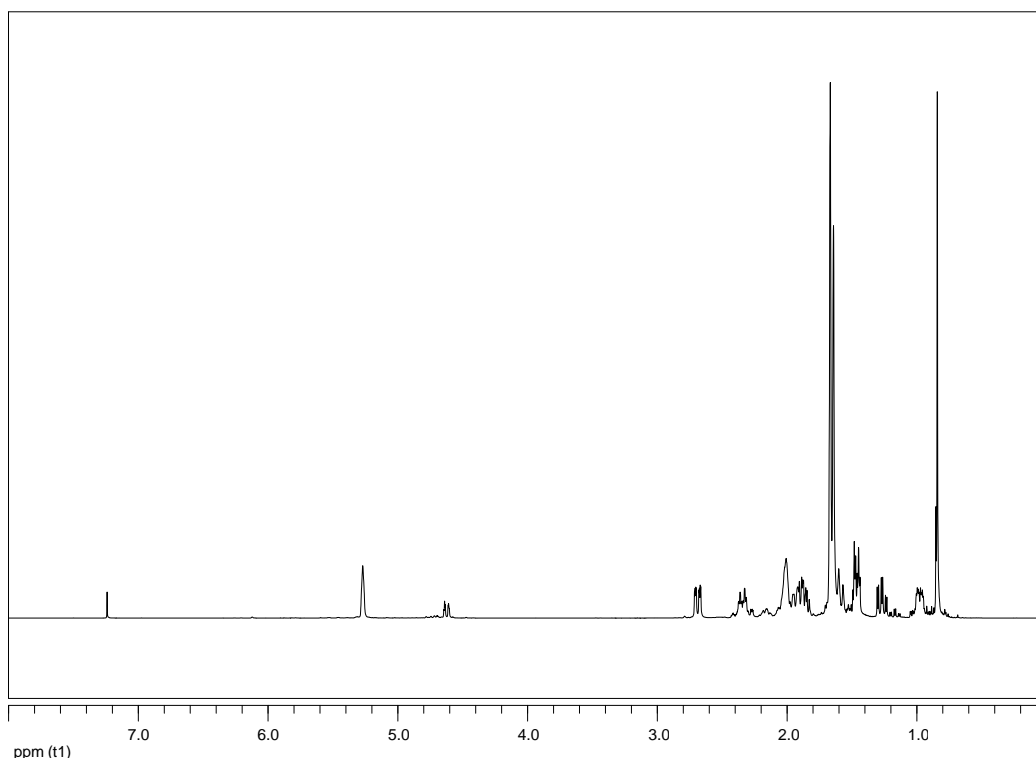


Εικόνα 20. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **6**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **6** (Εικ. 21) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 0.84 και 1.64, οι οποίες ολοκλήρωναν για τρία πρωτόνια η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε πρωτόνια ενός αλειφατικού και ενός βινυλικού μεθυλίου σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Μια απλή κορυφή σε δ 1.67, η οποία ολοκλήρωνε για 6 άτομα άνθρακα και αντιστοιχούσε σε δύο βινυλικά μεθύλια σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.

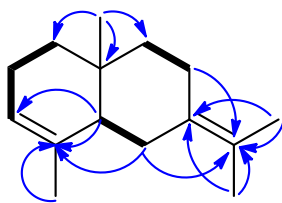
- Μια ευρεία διπλή κορυφή σε δ 5.27 η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα ολεφινικό μεθίλιο σε τριτοταγή διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα.



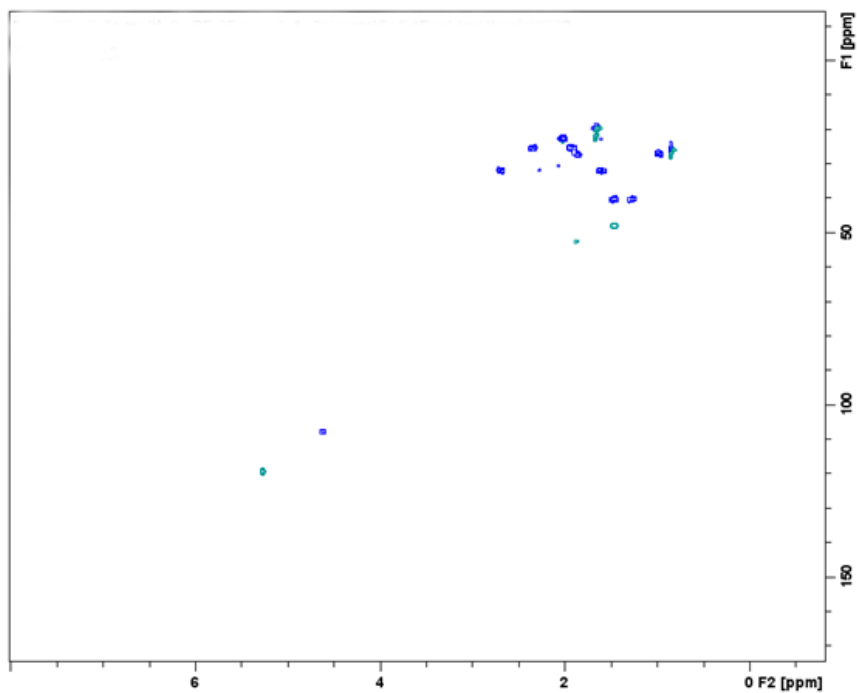
Εικόνα 21. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **6**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους δύο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως δύο από τους τρεις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι δικυκλικό.

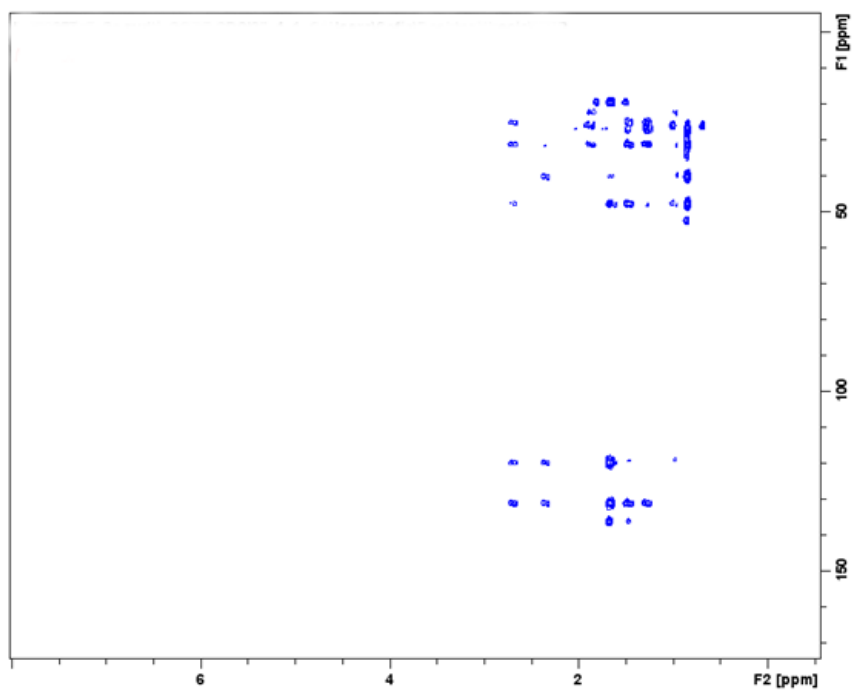
Η δισδιάστατη χημική δομή του μεταβολίτη **6** αποδόθηκε με τη βοήθεια των συσχετίσεων (Εικ. 22) που παρατηρήθηκαν στα φάσματα HSQC-DEPT (Εικ. 23), HMBC (Εικ. 24) και COSY (Εικ. 25). Οι ομοπυρηνικές συζεύξεις COSY αποκάλυψαν τρία spin συστήματα από τον C-1 έως τον C-3, από τον C-5 έως τον C-6 και από τον C-8 έως τον C-9, ενώ οι ετεροπυρηνικές συζεύξεις HMBC βοήθησαν στον συνδυασμό των παραπάνω συστημάτων και την απόδοση της δυσδιάστατης δομής. Οι σημαντικότερες ήταν μεταξύ των πρωτονίων H_3 -14 και του τεταρτοταγούς άνθρακα C-10, του τριτοταγούς C-5 και των δευτεροταγών C-9 και C-1, καθώς έδειξαν τη συμπύκνωση των δύο δακτυλίων στο μόριο. Επίσης σημαντικές συζεύξεις εμφάνισαν τα πρωτόνια H_3 -12 και H_3 -13 με τους άνθρακες C-11 και C-7, καθώς και τα H_2 -6 και H_2 -8 με τον C-11.



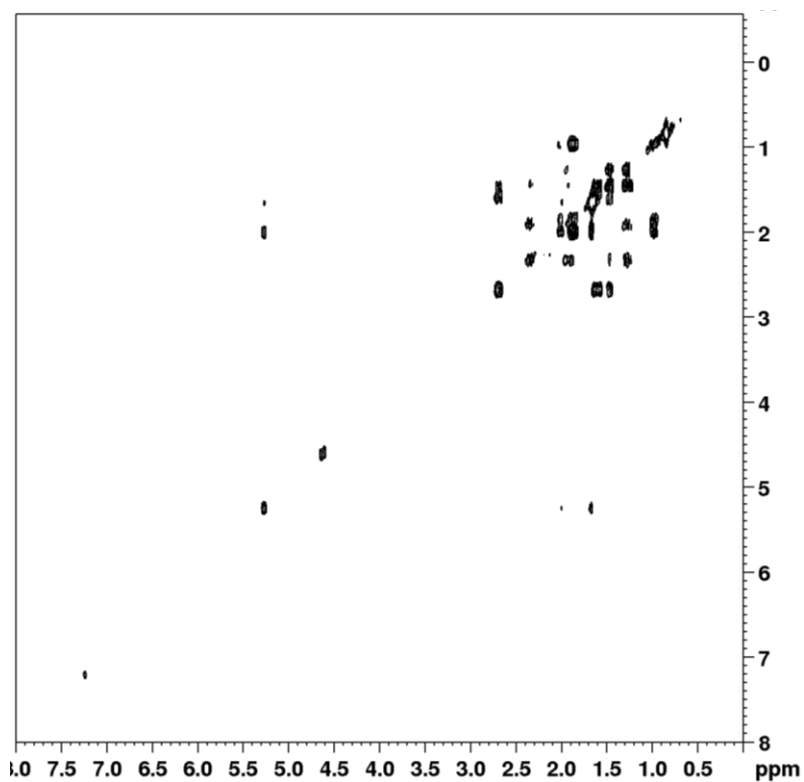
Εικόνα 22. Ομοπυρηνικές συζεύξεις COSY και οι πιο σημαντικές ετεροπυρηνικές συζεύξεις HMBC για τον μεταβολίτη **6**



Εικόνα 23. Φάσμα HSQC-DEPT του μεταβολίτη **6**.



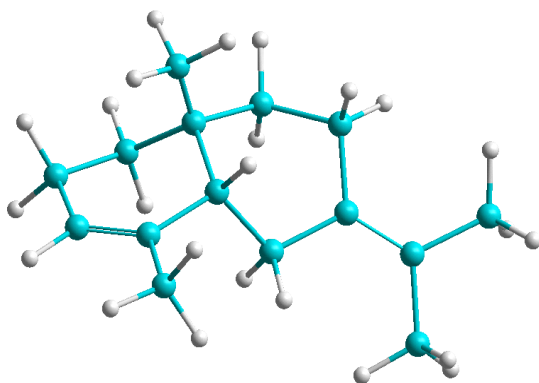
Εικόνα 24. Φάσμα HMBC του μεταβολίτη 6.



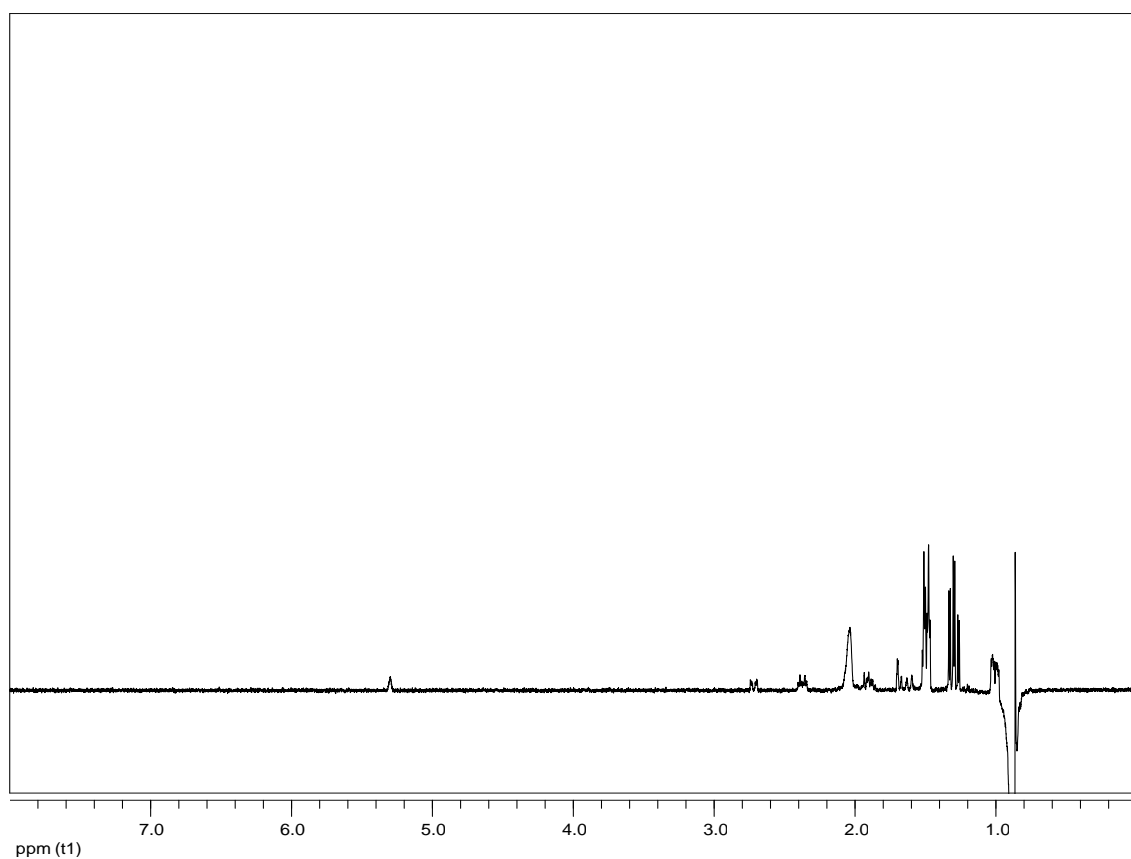
Εικόνα 25. Φάσμα COSY του μεταβολίτη 6.

Η απόδοση της σχετικής στεreoχημείας των ασύμμετρων κέντρων του μεταβολίτη 6 (Εικ. 26) πραγματοποιήθηκε με βάση τις συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν στο φάσμα 1D NOE

(Εικ. 27). Συγκεκριμένα, οι συσχετίσεις NOE των πρωτονίων H₃-14 και του H-5 κατέδειξαν την *cis* συμπύκνωση των δύο εξαμελών δακτυλίων.



Εικόνα 26. Στερεοχημική διαμόρφωση δομής ελάχιστης ενέργειας και οι πιο σημαντικές συσχετίσεις NOE για τον μεταβολίτη **6**.



Εικόνα 27. Φάσμα 1D NOE του μεταβολίτη **6** (ακτινοβόληση του H₃-14).

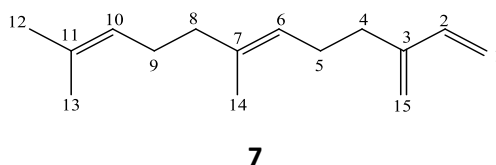
Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **6** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό σεσκιτερπένιο *cis*-σελινα-3,7(11)-διένιο, για το οποίο όμως δεν έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR, τα οποία παρατίθενται στον Πίνακα 56.

Πίνακας 56. Φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **6** σε CDCl₃ (δ σε ppm, πολλαπλότητα, *J* σε Hz).

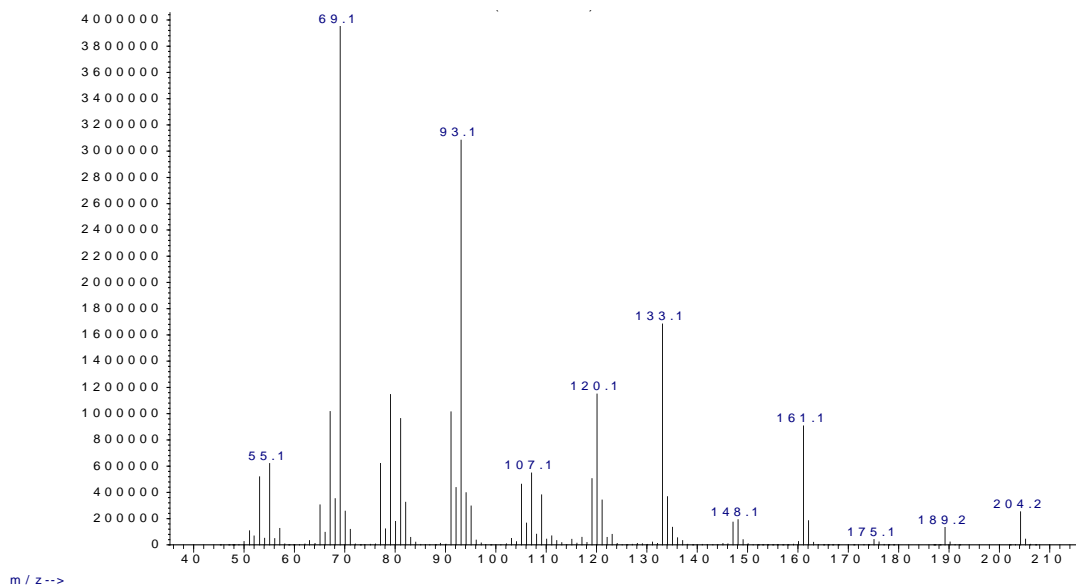
Θέση	δ_c	δ_H
1	27.3	1.87 m, 0.98 m
2	22.8	2.01 brs
3	119.6	5.27 brs
4	136.4	
5	48.1	1.46 m
6	32.2	2.69 ddd (13.8, 4.0, 1.8), 1.60 m
7	131.1	
8	25.6	2.34 m, 1.92 m
9	40.5	1.46 m, 1.27 m
10	31.1	
11	120.1	
12	20.1	1.66 s
13	20.0	1.64 s
14	26.6	0.84 s
15	22.6	1.67 s

3.7. Μεταβολίτης 7

Ο μεταβολίτης **7** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως διαφανές υπόλειμμα συνολικής μάζας 2.4 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **7** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₅H₂₄.



Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **7** (Εικ. 28) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 204 και θραύσμα [M-CH₃]⁺ σε *m/z* 189.



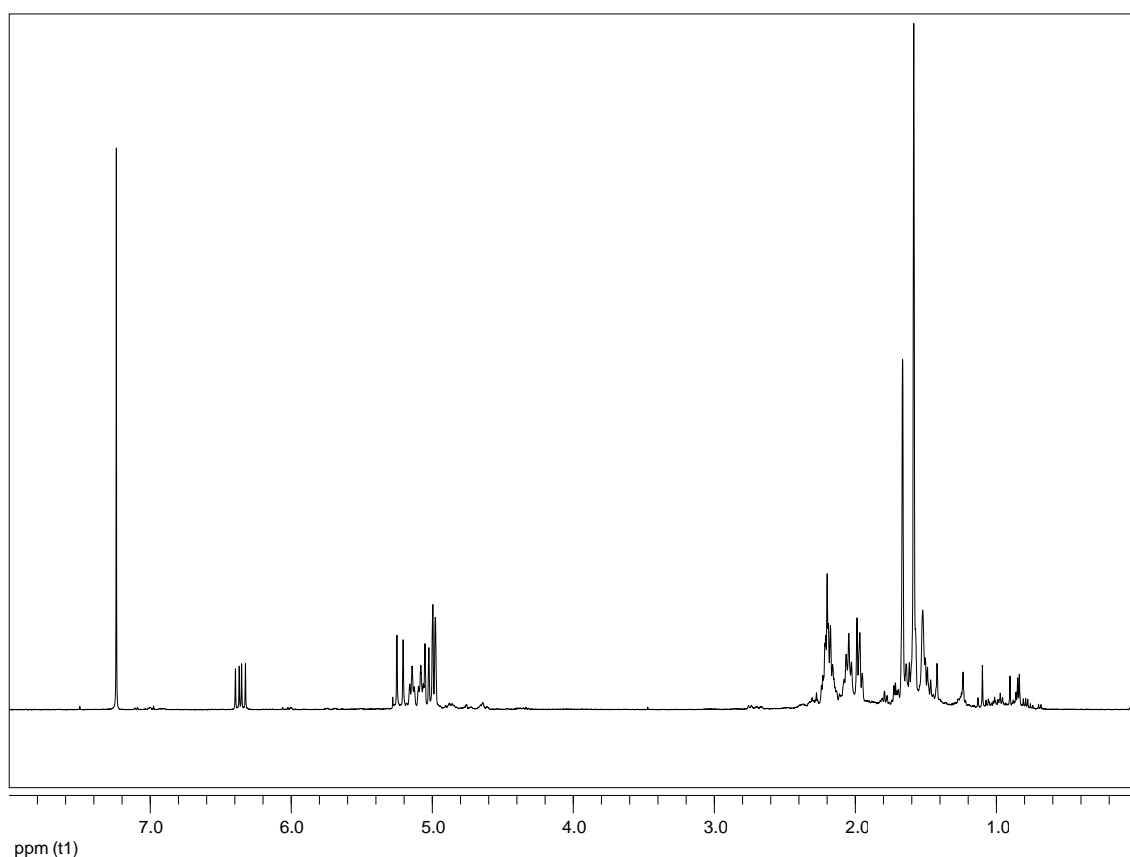
Εικόνα 28. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **7**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **7** (Εικ. 29) παρατηρήθηκαν:

- Δύο απλές κορυφές σε δ 1.58 και 1.66, οι οποίες ολοκλήρωναν για έξι και τρία πρωτόνια, αντίστοιχα, και αποδόθηκαν σε πρωτόνια τριών βινυλικών μεθυλίων σε τεταρτοταγή άτομα άνθρακα.
- Δύο ευρείες διπλές κορυφές σε δ 5.23 (17.6 Hz) και 5.04 (11.0 Hz) και μια διπλή διπλών κορυφή σε δ 6.35 (17.6, 11.0 Hz), οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε τρία ολεφινικά πρωτόνια, ενός μεθυλενίου και ενός μεθινίου,

και υπεδείκνυαν την παρουσία ενός μονοϋποκατεστημένου διπλού δεσμού άνθρακα άνθρακα στο μόριο.

- Δύο ευρείες απλές κορυφές σε δ 4.99 και 4.97, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μία και αντιστοιχούσαν σε δύο πρωτόνια ενός εξωμεθυλενίου.
- Δύο τριπλές κορυφές σε δ 5.14 και 5.08, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο η κάθε μια και αντιστοιχούσαν σε δύο ολεφινικά μεθίλια και υπεδείκνυαν την παρουσία δύο τρισυποκατεστημένων διπλών δεσμών άνθρακα άνθρακα στο μόριο.



Εικόνα 29. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **7**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους τέσσερις διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα ως τους τέσσερις βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι γραμμικό.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **7** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν *trans*- β -φαρνεσένιο, το οποίο αποτελεί φερομόνη συναγερού για αρκετά είδη αφίδων και χρησιμοποιείται στην γεωργία ως απωθητικό για τα έντομα αυτά, αλλά προσελκύει, επίσης, προνύμφες και ενήλικα άτομα του *Adalia bipunctata*, ενός αρπακτικού των αφίδων (Baeckstrom et al., 1990). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **7**

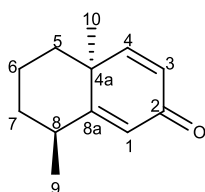
παρατίθενται στον Πίνακα 57.

Πίνακας 57. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **7** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Arkoudis & Stratakis, 2008)
1	5.23 d (17.6)	5.25 d (17.5)
	5.04 d (11.0)	5.06 d (11.0)
2	6.35 dd (17.6, 11.0)	6.38 dd (17.5, 11.0)
6, 10	5.14 t (6.9)	5.17 t (7.0)
	5.08 t (6.9)	5.10 t (7.0)
12, 13, 14	1.58 s	1.61 s
	1.66 s	1.68 s
15	5.00 s	5.02 s
	4.98 s	5.00 s

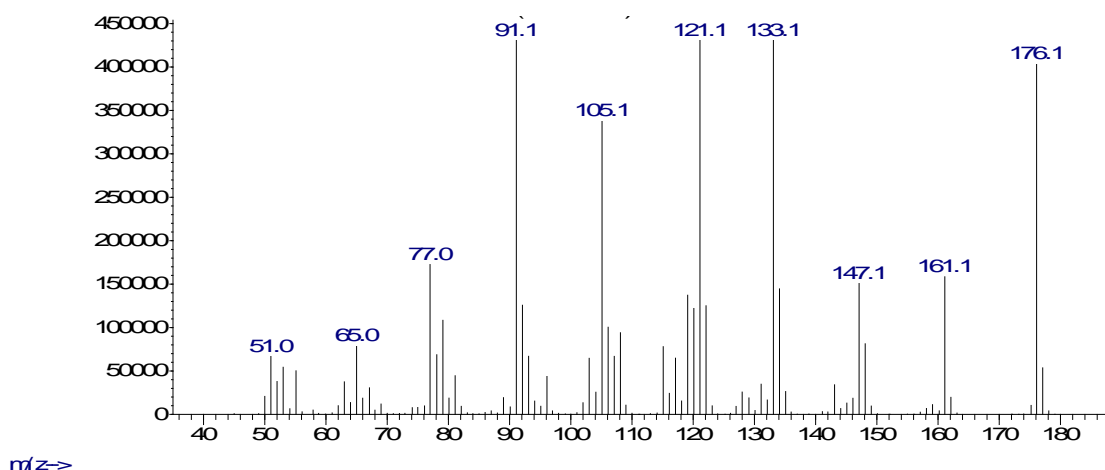
3.8. Μεταβολίτης 8

Ο μεταβολίτης **8** απομονώθηκε κατόπιν σειράς χρωματογραφικών διαχωρισμών ως λευκό κρυσταλλικό υπόλειμμα συνολικής μάζας 14.9 mg. Ο συνδυασμός των φασματοσκοπικών δεδομένων (NMR και MS) του **8** οδήγησε στον μοριακό τύπο C₁₂H₁₆O.



8

Το φάσμα μάζας του μεταβολίτη **8** (Εικ. 30) εμφάνισε μοριακό ιόν [M]⁺ σε *m/z* 176 και θραύσμα [M- CH₃]⁺ σε *m/z* 161.

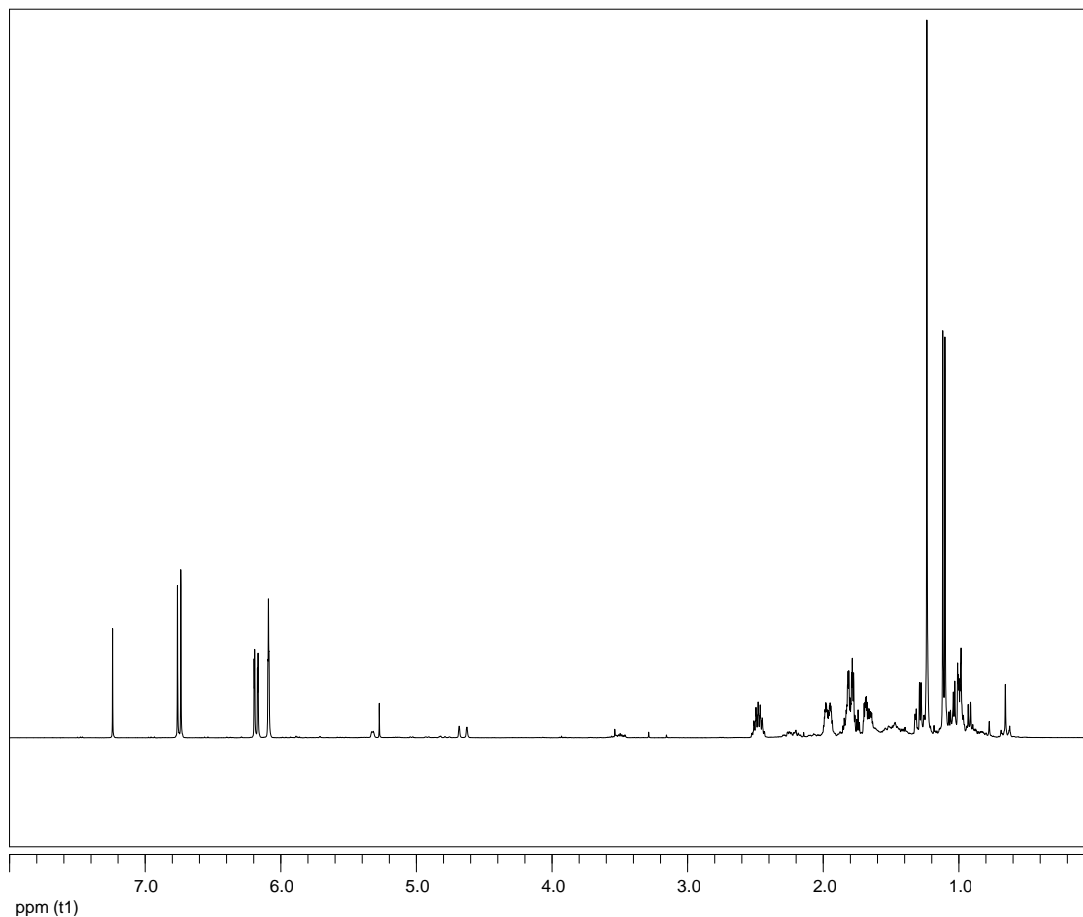


Εικόνα 30. Φάσμα μάζας (EIMS) του μεταβολίτη **8**.

Στο φάσμα ¹H NMR του μεταβολίτη **8** (Εικ. 31) παρατηρήθηκαν:

- Μια διπλή κορυφή σε δ 1.11, η οποία ολοκλήρωνε για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια ενός αλειφατικού μεθυλίου σε τριτοταγές άτομο άνθρακα.
- Μια απλή κορυφή σε δ 1.23, η οποία ολοκλήρωνε για τρία πρωτόνια και αντιστοιχούσε σε πρωτόνια ενός αλειφατικού μεθυλίου σε τεταρτοταγές άτομο άνθρακα.
- Μια διπλή κορυφή σε δ 6.75 και μια διπλή διπλών κορυφή σε δ 6.18, οι οποίες ολοκλήρωναν για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσαν σε δύο ολεφινικά μεθίλια, υποδεικνύοντας την παρουσία ενός διπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.

- Μια ευρεία απλή κορυφή σε δ 6.09, η οποία ολοκλήρωνε για ένα πρωτόνιο και αντιστοιχούσε σε ένα ολεφινικό μεθίνιο, υποδεικνύοντας την παρουσία ενός ακόμα τρισυποκατεστημένου διπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα στο μόριο.



Εικόνα 31. Φάσμα ^1H NMR του μεταβολίτη **8**.

Λαμβάνοντας υπόψη τους δυο διπλούς δεσμούς άνθρακα-άνθρακα και την ύπαρξη καρβονυλίου ως τρεις από τους πέντε βαθμούς ακορεστότητας, το μόριο θα έπρεπε να είναι δicyclic.

Σύγκριση των φασματοσκοπικών δεδομένων του μεταβολίτη **8** με αυτά της βιβλιογραφίας για αντίστοιχα μόρια οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για το γνωστό φυσικό προϊόν (4*S*,8*S*)-5,6,7,8-τετραϋδρο-4*α*,8-διμεθυλοναφθαλεν-2(4*α*H)-όνη (Cheng et al., 2009c). Τα φασματοσκοπικά δεδομένα NMR του μεταβολίτη **8** παρατίθενται στον Πίνακα 58.

Πίνακας 58. Φασματοσκοπικά δεδομένα ^1H NMR του μεταβολίτη **8** σε CDCl_3 (δ σε ppm, πολλαπλότητα, J σε Hz).

Θέση	Πειραματικά δεδομένα	Βιβλιογραφικά δεδομένα (Cheng et al., 2009c)
1	6.09 t (1.5)	6.12 d (1.5)
3	6.18 dd (9.9, 1.5)	6.22 dd (10.0, 1.5)
4	6.74 d (9.9)	6.78 d (10.0)
9	1.11 d (6.5)	1.14 d (7.0)
10	1.23 s	1.27 s

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

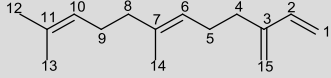
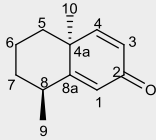
Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας μελετήθηκε η χημική σύσταση του οργανικού εκχυλίσματος του *Nerpthea sp.* που συλλέχθηκε στην Ερυθρά Θάλασσα, στην περιοχή Υαθυ της Σαουδικής Αραβίας, σε βάθος 6-8 m, τον Νοέμβριο του 2018

Από το οργανικό του εκχύλισμα απομονώθηκαν με χρωματογραφικούς διαχωρισμούς 13 δευτερογενείς μεταβολίτες, εκ των οποίων μέχρι στιγμής ταυτοποιήθηκαν οι οκτώ (1-8) μέσω φασματοσκοπικών μεθόδων NMR και MS.

Συνολικά, απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν τρία διτερπένια (1-3) και πέντε οσεκιτερπένια (4-8).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι απομονωθέντες μεταβολίτες.

Μεταβολίτης	Δομή
1	
2	
3	
4	
5	
6	

7	
8	

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdelhafez O. H., Fahim J. R., Desoukey S. Y., Kamel M. S., & Abdelmohsen U. R. Recent Updates on Corals from *Nephtheidae*. *Chemistry and Biodiversity*, **2019**, 16(6).
- Al-Footy K. O., Alarif W. M., Asiri F., Aly M. M., & Ayyad S. E. N. Rare pyrane-based cembranoids from the Red Sea soft coral *Sarcophyton trocheliophorum* as potential antimicrobial-antitumor agents. *Medicinal Chemistry Research*, **2015**, 24(2), 505–512.
- Alarif W. M., Al-Footy K. O., Zubair M. S., Halid Ph M., Ghandourah M. A., Basaif S. A., Al-Lihaibi S. S., Ayyad S. E. N., & Badria F. A. The role of new eudesmane-type sesquiterpenoid and known eudesmane derivatives from the red alga *Laurencia obtusa* as potential antifungal-antitumour agents. *Natural Product Research*, **2016**, 30(10), 1150–1155.
- Alf S. I., Zhang C. R., Mohamed A. A., El-Baz F. K., Hegazy A. K., Kord M. A., & Nair M. G. Major constituents of *Bosweilla carteri* resin exhibit cyclooxygenase enzyme inhibition and antiproliferative activity. *Natural Product Communications*, **2013**, 8(10), 1365–1366.
- Arkoudis E., & Stratakis M. Synthesis of Cordiaquinones B, C, J, and K on the Basis of a Bioinspired Approach and the Revision of the Relative Stereochemistry of Cordiaquinone C. *The Journal of Organic Chemistry*, **2008**, 7, 4484–4490.
- Baeckstrom P., Li L., Wickramaratne M., & Norin T. A synthesis of trans- β - farnesene from myrcene which includes a modified work up method for dibah reductions of esters to aldehydes. *Synthetic Communications*, **1990**, 20(3), 423–429.
- Beutler J. A. Natural products as a foundation for drug discovery. *Current Protocols in Pharmacology*, **2009**, SUPPL. 46, 1–21.
- Neelam M. N., Chandrashekar M., Indra R. G., Bharat M., Chaitanya G. J., **2020**, Marine Niche: Applications in Pharmaceutical Sciences, Springer Singapore.
- Cheng S. Y., Dai C. F., & Duh C. Y. Sesquiterpenoids and artificial 19-oxygenated steroids from the formosan soft coral *Nephthea erecta*. *Journal of Natural Products*, **2007**, 70(9), 1449–1453.
- Cheng S. Y., Huang Y. C., Wen Z. H., Chiou S. F., Wang S. K., Hsu C. H., Dai C. F., & Duh C. Y. Novel sesquiterpenes and norergosterol from the soft corals *Nephthea erecta* and *Nephthea chabroli*. *Tetrahedron Letters*, **2009a**, 50(7), 802–806.
- Cheng S. Y., Huang Y. C., Wen Z. H., Hsu C. H., Wang S. K., Dai C. F., & Duh C. Y. New 19-oxygenated and 4-methylated steroids from the Formosan soft coral *Nephthea chabroli*.

- Steroids*, **2009b**, 74(6), 543–547.
- Cheng S. Y., Shih N. L., Hou K. Y., Ger M. J., Yang C. N., Wang S. K., & Duh C. Y. Kelsoenethiol and dikelsoenyl ether, two unique kelsoane-type sesquiterpenes, from the Formosan soft coral *Nephthea erecta*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2014**, 24(2), 473–475.
 - Cheng S. Y., Wen Z. H., Wang S. K., Chiang M. Y., El-Gamal A. A. H., Dai C. F., & Duh C. Y. Revision of the absolute configuration at C(23) of lanostanoids and isolation of secondary metabolites from formosan soft coral *Nephthea erecta*. *Chemistry and Biodiversity*, **2009c**, 6(1), 86–95.
 - Coral Reef Alliance, Coral Polyps, **2022**, available at: <https://coral.org/en/coral-reefs-101/coral-polyyps/>
 - Coralreef.noaa., **2022**. NOAA's Coral Reef Conservation Program, available at: <https://coralreef.noaa.gov>. 74
 - Douglas W. and Jennifer B. **2022**, CK-12 Foundation 2020, available at: <https://www.ck12.org>
 - Duh C. Y., Wang S. K., Chu M. J., & Sheu J. H. Cytotoxic sterols from the soft coral *Nephthea erecta*. *Journal of Natural Products*, **1998**, 61(8), 1022–1024.
 - Duh C. Y., Wang S. K., Weng Y. L., Chiang M. Y., & Dai C. F. Cytotoxic terpenoids from the formosan soft coral *Nephthea brassica*. *Journal of Natural Products*, **1999**, 62(11), 1518–1521.
 - El-Gamal A. A. H., Wang S. K., Dai C. F., Chen I. G., & Duh C. Y. Prenylbicyclogermacrane diterpenoids from the formosan soft coral *Nephthea pacifica*. *Journal of Natural Products*, **2005**, 68(1), 74–77.
 - El-Gamal A. A. H., Wang S. K., Dai C. F., & Duh C. Y. New nardosinanes and 19-oxygenated ergosterols from the soft coral *Nephthea armata* collected in Taiwan. *Journal of Natural Products*, **2004**, 67(9), 1455–1458.
 - ESI, Endangered Species International, Coral Reefs, **2022**, available at: <https://www.endangeredspeciesinternational.org/>
 - Frazão B., Vasconcelos V., & Antunes A. Sea anemone (cnidaria, anthozoa, actiniaria) toxins: An overview. *Marine Drugs*, **2012**, 10(8), 1812–1851.
 - Glaser K. B., & Mayer A. M. S. A renaissance in marine pharmacology: From preclinical curiosity to clinical reality. *Biochemical Pharmacology*, **2009**, 78(5), 440–448.
 - Gross H., Kehraus S., Nett M., König G. M., Beil W., & Wright A. D. New cytotoxic cembrane based diterpenes from the soft corals *Sarcophyton cherbonnieri* and

- Nephthea sp.* *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2003**, 1(6), 944–949.
- Handayani D., Edrada R. A., Proksch P., Wray V., Witte L., Van Ofwegen L., & Kunzmann A. New oxygenated sesquiterpenes from the Indonesian soft coral *Nephthea chabrolii*. *Journal of Natural Products*, **1997**, 60(7), 716–718.
 - Hernández-Hernández J. D., García-Gutiérrez H. A., Román-Marín L. U., Torres-Blanco Y. I., Cerda-García-Rojas C. M., & Joseph-Nathan P. Absolute configuration of cembrane diterpenoids from *Bursera multijuga*. *Natural Product Communications*, **2014**, 9(9), 1249–1252.
 - Hu G. P., Yuan J., Sun L., She Z. G., Wu J. H., Lan X. J., Zhu X., Lin Y. C., & Chen S. P. Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008. *Marine Drugs*, **2011**, 9(4), 514–525.
 - Ishii T., Kamada T., Phan C. S., & Vairappan C. S. Chabrolene, a novel norditerpene from the bornean soft coral *Nephthea sp.* *Sains Malaysiana*, **2018**, 47(2), 319–322.
 - Ishii T., Kamada T., & Vairappan C. S. Three new cembranoids from the Bornean soft coral *Nephthea sp.* *Journal of Asian Natural Products Research*, **2016**, 18(5), 415–422.
 - Januar H. I., Zamani N. P., Soedharma D., & Chasanah E. New cytotoxic cembranoid from Indonesian soft coral *Sarcophyton sp.* *Pharmacognosy Research*, **2017**, 9(1), 65–68.
 - Jiménez C. Marine Natural Products in Medicinal Chemistry. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **2018**, 9(10), 959–961.
 - Kim S.-K. *Springer Handbook of Marine Biotechnology*, 1st ed., **2015**, Springer Berlin Heidelberg.
 - Kitagawa I., Kyogoku Y., Cui Z., Son B. W., & Kobayashi M. Marine Natural Products. XVII. Nephtheoxydiol, a New Cytotoxic Hydroperoxy-Germacrane Sesquiterpene, and Related Sesquiterpenoids from an Okinawan Soft Coral of *Nephthea sp.* (*Nephtheidae*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1987**, 35(1), 124–135.
 - Kiuru P., Valeria D’Auria M., Muller C. D., Tammela P., Vuorela, H., & Yli-Kauhaluoma J. Exploring marine resources for bioactive compounds. *Planta Medica*, **2014**, 80(14), 1234–1246.
 - Kobayashi M., & Osabe K. Marine terpenes and terpenoids. VII. Minor cembranoid derivatives, structurally related to the potent anti-tumor-promoter sarcophytol A, from the soft coral *Sarcophyton glaucum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1989**, 37(3), 631–636.
 - Knowlton N., & Jackson J. Corals and Coral Reefs. In *Encyclopedia of Biodiversity*, 2nd ed., **2013**, Academic Press Inc. Cambridge, Massachusetts, United States

- Lee Y. S., Duh T. H., Siao S. S., Chang R. C., Wang S. K., & Duh C. Y. New cytotoxic terpenoids from soft corals *Nephthea chabrolii* and *Paralemnalia thyrsoides*. *Marine Drugs*, **2017**, *15*(12), 1–9.
- Li C., Ma Q.-Y., Gao X., Wang X., & Zhang B. Research Progress in Anti-Inflammatory Bioactive Substances Derived from Marine Microorganisms, Sponges, Algae, and Corals. *Marine Drugs*, **2021**, *19*(10), 572.
- Li J., Cisar J. S., Zhou C.-Y., Vera B., Williams H., Rodríguez A. D., Cravatt B. F., & Romo D. Simultaneous structure–activity studies and arming of natural products by C–H amination reveal cellular targets of eupalmerin acetate. *Nature Chemistry*, **2013**, *5*(6), 510–517.
- Lindequist U. Marine-derived pharmaceuticals - challenges and opportunities. *Biomolecules and Therapeutics*, **2016**, *24*(6), 561–571.
- Lu W., Zeng L., & Su J. Synthesis of polyhydroxysterols (IV): Synthesis of 24-methylene-cholesta- 3 β ,5 α ,6 β ,19-tetrol, a cytotoxic natural hydroxylated sterol. *Steroids*, **2004**, *69*(7), 445–449.
- MarinLit. (2022) A database of the marine natural products literature. Available online at: <http://pubs.rsc.org/marinlit/>
- Mydlarz L. D., Jacobs R. S., Boehnlein J., & Kerr R. G. Pseudopterosin Biosynthesis in *Symbiodinium sp.*, the Dinoflagellate Symbiont of *Pseudopterogorgia elisabethae*. *Chemistry & Biology*, **2003**, *10*(11), 1051–1056.
- Newman D. J., & Cragg G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, **2020**, *83*(3), 770–803.
- Nurrachma M. Y., Sakaraga D., Nugraha A. Y., Rahmawati S. I., Bayu A., Sukmarini L., Atikana A., Prasetyoputri A., Izzati F., Warsito M. F., & Putra M. Y. Cembranoids of Soft Corals: Recent Updates and Their Biological Activities. *Nat. Prod. Bioprospect.*, **2021**, *11*, 243–306.
- Orhan I. E. Pharmacognosy: Science of natural products in drug discovery. *BiolImpacts*, **2014**, *4*(3), 109–110.
- Oshima Y., Iwakawa T., & Hikino H. Alismol and alismoxide, sesquiterpenoids of *Alisma rhizomes*. *Phytochemistry*, **1983**, *22*(1), 183–185.
- Parra-Naranjo A., Delgado-Montemayor C., Fraga-López A., Castañeda-Corral G., Salazar-Aranda R., Acevedo-Fernández J. J., & Waksman N. Acute hypoglycemic and antidiabetic effect of teuhetenone a isolated from *Turnera diffusa*. *Molecules*, **2017**,

- 22(4), 1–13.
- Pereira F. Have marine natural product drug discovery efforts been productive and how can we improve their efficiency? *Expert Opinion on Drug Discovery*, **2019**, 14(8), 717–722.
 - Phillipson J. D. Phytochemistry and pharmacognosy. *Phytochemistry*, **2007**, 68(22–24), 2960–2972.
 - Prakash B., Kujur A., & Yadav A. Drug synthesis from natural products: a historical overview and future perspective. In *Synthesis of Medicinal Agents from Plants*, **2018**, Elsevier
 - Rs' science, **2022**, available at: <https://rsscience.com/>
 - Ravi B. N., & Faulkner D. J. Cembranoid diterpenes from a South Pacific soft coral. *The Journal of Organic Chemistry*, **1978**, 43(11), 2127–2131.
 - Salvatore de R., Salvatore de S., Scarpelli P. & Zavodnik N. Terpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius* of the north Adriatic Sea. *Phytochemistry*, **1988**, 27(6), 1875–1878.
 - Shaker K. H., Müller M., Ghani M. A., Dahse H. M., & Seifert K. Terpenes from the soft corals *Litophyton arboreum* and *Sarcophyton ehrenbergi*. *Chemistry and Biodiversity*, **2010**, 7(8), 2007–2015.
 - Shi D., Song X., Guo Y., Xu J., Liu Y., Zhang J., Cui C. A., & Jin D. Q. Alismol, a Sesquiterpenoid Isolated from *Vladimiria souliei*, Suppresses Proinflammatory Mediators in Lipopolysaccharide-Stimulated Microglia. *Journal of Molecular Neuroscience*, **2017**, 62(1), 106–113.
 - Stonik V. A. Marine Natural Products: A Way to New Drugs. *Acta Naturae*, **2009**, 1(2), 15–25.
 - Su J. H., Ahmed A. F., Sung P. J., Wu Y. C., & Sheu J. H. Meroditerpenoids from a formosan soft coral *Nephthea chabrolii*. *Journal of Natural Products*, **2005**, 68(11), 1651–1655.
 - Su J. H., Dai C. F., Huang H. H., Wu Y. C., Sung P. J., Hsu C. H., & Sheu J. H. Terpenoid-related metabolites from a formosan soft coral *Nephthea chabrolii*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **2007a**, 55(4), 594–597.
 - Su J. H., Lin F. Y., Huang H. C., Dai C. F., Wu Y. C., Hu W. P., Hsu C. H., & Sheu J. H. Novel steroids from the soft coral *Nephthea chabrolii*. *Tetrahedron*, **2007b**, 63(3), 703–707.
 - Tani K., Kamada T., Phan C. S., & Vairappan C. S. New cembrane-type diterpenoids from Bornean soft coral *Nephthea* sp. with antifungal activity against *Lagenidium thermophilum*. *Natural Product Research*, **2019**, 33(23), 3343–3349.

- Tsai T., Huang Y., Chou S., & Shih M. Cytotoxic Oxygenated Steroids from the Soft Coral *Nephthea erecta*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **2016**, 64(10), 1519–1522.
- Uchio Y., Toyota J., Nozaki H., Nakayama M., Nishizono Y., & Hase T. Lobohedleolide and (7Z)-lobohedleolide, new cembranolides from the soft coral *Lobophytum hedleyi* whitelegge. *Tetrahedron Letters*, **1981**, 22(41), 4089–4092.
- Vanderah D. J., Rutledge N., Schmitz F. J., & Ciereszko L. S.. Marine Natural Products: Cembrene-A and Cembrene-C from a Soft Coral, *Nephthea sp.* *Journal of Organic Chemistry*, **1978**, 43(8), 1614–1616.
- Veron J. E. N. Corals and Coral Reefs. *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*, **2009**, 198–206, Springer Netherlands.
- Wang S.-K., & Duh C.-Y. Nardosinane Sesquiterpenoids from the Formosan Soft Coral *Nephthea elongata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **2007**, 55(5), 762–765.
- Whuang T. Y., Tsai H. C., Su Y. Di, Hwang T. L., & Sung P. J. Sterols from the octocoral *Nephthea columnaris*. *Marine Drugs*, **2017**, 15(7), 1–7.
- Yu C. W., Li W. H., Hsu F. L., Yen P. L., Chang S. T., & Liao V. H. C. Essential oil alloaromadendrene from mixed-type *Cinnamomum osmophloeum* leaves prolongs the lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2014**, 62(26), 6159-6165.
- Zhang J., Li L. C., Wang K. L., Liao X. J., Deng Z., & Xu S. H. Pentacyclic hemiacetal sterol with antifouling and cytotoxic activities from the soft coral *Nephthea sp.* *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **2013**, 23(4), 1079–1082.
- WoRMS, **2022**, World Register of Marine Species, available at: <http://www.marinespecies.org>.
- Ιωάννου Ε. Σημειώσεις για το μάθημα: Θαλάσσια Φαρμακογνωσία, ΕΚΠΑ Αθήνα, **2020**.