

## مقاله تحقیقی

### شناسایی ساختار مولکولی چند محصول طبیعی استخراج شده از یک نمونه اسفنج دریایی در سواحل جزیره هرمز (خلیج فارس)

آریا اشجع اردلان<sup>۱</sup>، رامین زیبا سرشت<sup>۲،۳\*</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۲. دانشکده علوم، دانشگاه علوم دریایی امام خمینی (ره) نوشهر
۳. آزمایشگاه بیومتریال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اجا

\*مسئول مکاتبات: بخش شیمی و فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه علوم دریایی امام خمینی (ره)، نوشهر، مازندران، ایران و آزمایشگاه بیومتریال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اجا، تهران، ایران، پست الکترونیک: rzi12@uclive.ac.nz

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه بیومتریال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اجا، تهران.

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۸

## چکیده

برای انجام این تحقیق، گونه‌ای از اسفنج‌های دریایی متعلق به رده Demospongiae و خانواده Hemiasterellidae با نام علمی *Hemiasterella bouillonii* از سواحل اطراف جزیره هرمز در خلیج فارس در فصل بهار ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید. سپس، نمونه‌ها منجمد شده و برای انجام آزمایشات به آزمایشگاه بیومتریال در دانشگاه علوم پزشکی اجا منتقل شد. چند ترکیب از محصولات طبیعی از نمونه موردنظر با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی استخراج گردید و ساختمان‌های مولکولی چهار ترکیب *gracilioether F*، *smenothiazole A*، *cochliomycin A* و *Tokaradine A* از ترکیبات موردنظر با استفاده از روش‌های طیف‌نگاری NMR، طیف‌نگاری جرمی، و طیف‌سنجی IR شناسایی شدند.

**واژه‌های کلیدی:** اسفنج دریایی، *Hemiasterella bouillonii* شناسایی، طیف‌سنجی NMR، طیف‌نگاری جرمی، جزیره هرمز، خلیج فارس.

## مقدمه

*Cryptotethia crypta* از این دسته از ترکیبات بودند

(۱،۲).

تاکنون بیش از ۱۵۰۰۰ محصول طبیعی دریایی از گونه‌های جانوری و گیاهی دریایی تشریح شده‌اند (۳،۴). اسفنج‌های دریایی به لحاظ توانایی در تولید محصولات متنوع طبیعی، بیشترین تولیدکنندگان چنین محصولات

از اوایل دهه ۱۹۵۰ با کشف چندین نوکلئوتید ناشناخته از اسفنج‌های دریایی، توجه زیادی به این موجودات دریایی معطوف گردید. ترکیباتی نظیر اسپانجوتیمیتیدین (spongothymidine) و اسپانجوگوریدین (spongouridine) در اسفنج دریایی

### روش‌های عمومی آزمایشگاهی

تمامی حلال‌ها قبل از مصرف، تقطیر شدند یا به صورت HPLC grade مورد استفاده قرار گرفتند. عملیات استخراج محصولات طبیعی اسفنج مورد نظر، با استفاده از مخلوط حلال دی‌کلرومتان-متانول (۱:۲) و سپس صاف کردن انجام شد که لایه‌های دی‌کلرومتان جمع‌آوری و استخراج شدند. حلال دی‌کلرومتان با استفاده از خلاء بر روی دستگاه تبخیرکننده چرخان، از مخلوط استخراج‌شده جدا شد و خالص‌سازی مخلوط باقیمانده با استفاده از مجموعه‌ای از روش‌های کروماتوگرافی نظیر فلش کروماتوگرافی بر روی سیلیکاژل (اندازه ذرات: ۲۳۰ تا ۴۰۰)، کروماتوگرافی ستونی بر روی سفادکس LH-20 و PTLT انجام شد. بسته فاز برگشتی BakerBond Octadecyl C18 (40µm) برای کروماتوگرافی خلاء و کروماتوگرافی نفوذ ژل Sephadex LH-20 استفاده شد. طیف‌های NMR بر روی دستگاه‌های اسپکترومتر Varian UNITY, XL 300 MHz یا INOVA 500 MHz ثبت شدند. طیف‌های جرمی الکترواسپری (ESIMS) در هر دو مد مثبت و منفی بر روی یک اسپکترومتر جرمی Micromass LCT و اسپکترومتری جرمی ضربه الکترون (EIMS) بر روی یک اسپکترومتر جرمی Kratos MS 80 RFA ثبت شدند. FABMS و HRFABMS نیز بر روی دستگاه اسپکترومتر جرمی Kratos MS 80 RFA ثبت شدند. LC/ESIMS بر روی یک دستگاه Agilent technologies 1100 HPLC-MSD با استفاده از یک ستون Zorbax C8 (2.1mm × 15 cm) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. اسپکترومتر جرمی با استفاده از API-ES (+ve) به کار گرفته شد. طیف UV با استفاده از یک اسپکتروفوتومتر Hewlett-Packard 3452A انجام شد و طیف‌های IR با استفاده از یک اسپکتروفوتومتر Shimadzu FTIR-8201PC ثبت گردیدند. آنالیزهای HPLC بر روی یک ستون

طبیعی هستند (۴). اسفنج‌های دریایی مسئولیت تولید بیش از ۵۳۰۰ محصول مختلف طبیعی را به عهده دارند، ضمن این‌که هر سال صدها ترکیب جدید به فهرست اکتشافات اضافه می‌شوند (۵). خواص بیولوژیک بسیاری از ترکیبات طبیعی استخراج‌شده از اسفنج‌های دریایی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و در این راستا، بیشتر ترکیبات زیست‌فعال حاصل از اسفنج‌های دریایی به شرح زیر دسته‌بندی شده‌اند: ترکیبات ضدالتهاب، ضدتومور، ضد فشارخون مرتبط با بیماری‌های عصبی، ضد ویروس، ضد مالاریا، یا آنتی‌بیوتیک (۳-۸).

با توجه به اهمیت اسفنج‌های دریایی به‌عنوان منابع غنی و متمرکز بسیاری از محصولات طبیعی که دارای خواص نهفته بیولوژیک هستند، نمونه‌ای از این گونه جانوری با هدف جداسازی و شناسایی ترکیبات طبیعی آن از اطراف جزیره هرمز در خلیج فارس در اعماق حدود ۲ متری به‌دست آمد و تعداد ۴ محصول طبیعی از تعداد نسبتاً زیاد ترکیبات دیگر، استخراج و به‌روش‌های متعارف نظیر طیف‌نگاری جرمی و طیف‌سنجی NMR مورد شناسایی قرار گرفتند. ترکیبات شناسایی‌شده، شامل یک پلی‌کتاید به نام gracilioether F، یک ترکیب وینیل کلریدی به نام smenothiazole A، یک لاکتون ریسورسیلیک اسید برپایه حلقه ۱۴تایی به نام cochliomycin A، و یک تیروزین اُکسایم به نام Tokaradine A بودند. در این تحقیق، شناسایی ترکیبات مورد اشاره در بالا انجام داده شده است.

### مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق، نمونه‌ای از اسفنج‌های دریایی با نام علمی *Hemiasterella bouillonii* متعلق به رده Demospongiae و خانواده Hemiasterellidae از اعماق حدود ۲ متری در اطراف جزیره هرمز در خلیج فارس در بهار ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید. سپس نمونه‌های منجمدشده برای انجام آزمایشات به مرکز تحقیقات بیومتریال و شیمی دارویی در دانشگاه علوم پزشکی ارتش در تهران منتقل گردید.

## سمتیاژول آ (Smenothiazole A) (۲)

-(2S)-N-متیل-۲-کلرو-۶-بنزیل-۵-(5E,2E)]  
 متیل-۱-اگزو-۱-[(2S)-۲-(۳,۱-تیاژول-۲-ایل)-۱-  
 پیررولیدینیل]-۲-بوتانیل {۵,۲-هگزادای این آمید،  
 مایع بی‌رنگ:

<sup>1</sup>H NMR data (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 7.70 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.29 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.22–7.17 (m, 3H), 6.16 (td, J = 7.4, 1.3 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.48 (dd, J = 8.1, 2.8 Hz, 1H), 4.55 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.04–3.97 (m, 1H), 3.90–3.84 (m, 1H), 3.43 (s, 2H), 3.03 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 2.39–2.30 (m, 1H), 2.22–2.10 (m, 4H), 1.78 (s, 3H), 1.01 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.7 Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR data (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 174.3, 173.4, 172.0, 143.1, 141.2, 139.4, 133.5, 133.3, 130.0, 129.6, 127.8, 120.2, 116.2, 60.2, 58.0, 48.9, 42.0, 33.2, 32.0, 30.2, 25.4, 19.9, 18.8, 13.1. HRMS (ESI-Mass) *m/z* 508.1798 ([M+Na]<sup>+</sup>, calculated for C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>ClN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>S<sup>+</sup>, 508.1796).

## کولچلیومیسین آ (cochliomycin A) (۳)

-(17aS,17S,14E,7S,4E,3aS)]  
 دی‌هیدروکسی-۱۲-متوکسی-۷,۲,۲-تری‌متیل-  
 17a,17,16,7,6,3a  
 -[۵,۴]-۹H-هگزاهیدرو-  
 [۲]بنزاکسایسیکلوتترادسین-۹-آن،

جامد سفیدرنگ:

(mp: 68 °C); IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3405, 2921, 2372, 2307, 1629, 1378 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR data (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 11.49 (s, 1H), 7.17 (dd, J<sub>1/2</sub> 2.0, 15.2 Hz, 1H), 6.48 (d, J<sub>1/2</sub> 2.8 Hz, 1H), 6.40 (d, J<sub>1/2</sub> 2.8 Hz, 1H), 6.00 (ddd, J<sub>1/2</sub> 5.2, 8.0, 15.2 Hz, 1H), 5.73 (ddd, J<sub>1/2</sub> 2.8, 10.4, 15.2 Hz, 1H), 5.53 (dd, J<sub>1/2</sub> 8.8, 15.2 Hz, 1H), 5.42e5.48 (m, 1H), 4.57 (t, J<sub>1/2</sub> 8.4 Hz, 1H), 4.21 (ddd, J<sub>1/2</sub> 2.0, 4.8, 12.0 Hz, 1H), 3.90 (dd, J<sub>1/2</sub> 2.4, 8.0 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.73e2.80 (m, 1H), 2.18e2.55 (m, 4H), 1.45 (d, J<sub>1/2</sub> 6.4 Hz,

Phenomenex Prodigy 5μ ODS با ابعاد ( 100 Å: 250 × 4.6 mm) HPLC فاز برگشتی بر روی دستگاه Shimadzu LC-4A HPLC انجام پذیرفت. خالص‌سازی نهایی بر روی یک ستون Phenomenex Prodigy 5μ ODS با ابعاد ( 100 Å: 250 × 10 mm) و با سرعت جریان ۴ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد.

در این مطالعه، نمونه ۵۰ گرمی از اسفنج دریایی منتقل‌شده به آزمایشگاه توسط مخلوط متانول/دی‌کلرومتان استخراج گردید. جداسازی اولیه مخلوط استخراج‌شده توسط کروماتوگرافی مایع خلاء RP و سپس توسط کروماتوگرافی نفوذی ژل (LH-20) انجام شد و شناسایی ترکیبات استخراج‌شده، با استفاده از مقایسه داده‌های طیف‌سنجی و طیف‌نگاری حاصل از مطالعات مرتبط با ترکیبات استخراج‌شده در این مطالعه با داده‌های موجود در مطالعات انجام‌شده توسط سایر محققان صورت پذیرفت.

## روش‌های تجربی

## گراسیلیواتر اف (gracilioether F) (۱)

-(6bS,6aR,5R,4aS,2aS)]  
 تری‌اتیل‌هگزاهیدرو-۳,۱-دی‌اگزاسیکلوپنتا[cd]پنتالین-  
 ۴,۲-دی‌آن،  
 مایع بی‌رنگ:

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\max}$  2929 (s), 2859 (m), 1751 (s), 1491 (m), 1446 (m), 1440 (m), 1076 (w), 890 (w) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H NMR data (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 3.42-3.26 (m, 1H), 2.97 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 2.34 (dd, J = 13.9, 6.0 Hz, 1H), 2.18-1.98 (m, 2H), 1.96-1.73 (m, 4H), 1.65 (dd, J = 13.9, 11.7 Hz, 1H), 1.55-1.40 (m, 1H), 1.04-1.01 (m, 6H), 0.99 (t, J = 7.5 Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR data (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 178.2, 175.1, 97.3, 89.1, 54.1, 53.0, 47.2, 45.0, 32.6, 28.8, 28.1, 12.6, 9.1, 7.4. HRMS (ESI-Mass) *m/z* 253.1434 ([H-M]<sup>+</sup>, calculated for C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>O<sub>4</sub>, 253.1434).

J7.7 Hz, 1H), 2.75 (t, J7.3 Hz, 1H), 2.20 (tt, J6.0, 7.7 Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR data (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  165.5, 152.4, 152.0, 140.4, 138.0, 134.7, 134.5, 118.7, 118.3, 71.7, 41.6, 39.0, 35.3, 29.1, 28.9; **HRMS (ESI-Mass)**  $m/z$  806.9037 ( $[\text{M}]^+$ , calculated for  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}^{79}\text{Br}_2^{81}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_4$ , 806.9037).

3H), 1.44 (s, 3H), 1.38 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR data (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.8, 164.8, 164.0, 142.1, 134.1, 132.7, 129.5, 126.4, 108.5, 107.2, 104.4, 100.1, 81.4, 75.3, 70.6, 68.8, 55.4, 37.9, 36.0, 27.0, 27.0, 19.2; **HRMS (ESI-Mass)**  $m/z$  427.1728 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calculated for  $(\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_7\text{Na})$ , 427.1727).

### بحث و نتیجه گیری

در عملیات استخراج و خالص سازی نمونه اسفنج دریایی مورد مطالعه، تعداد چهار محصول طبیعی شامل متابولیت های گراسیلیواتر اف (Gracilioether F) [۱]، سمنتیازول آ (Smenthiazole A) [۲]، کوچلیومایسین آ (Cochliomycin A) [۳] و توکارادین آ (Tokaradine A) [۴] (تصویر ۱) مورد شناسایی قرار گرفتند.

### توکارادین آ (tokaradine A) (۴)

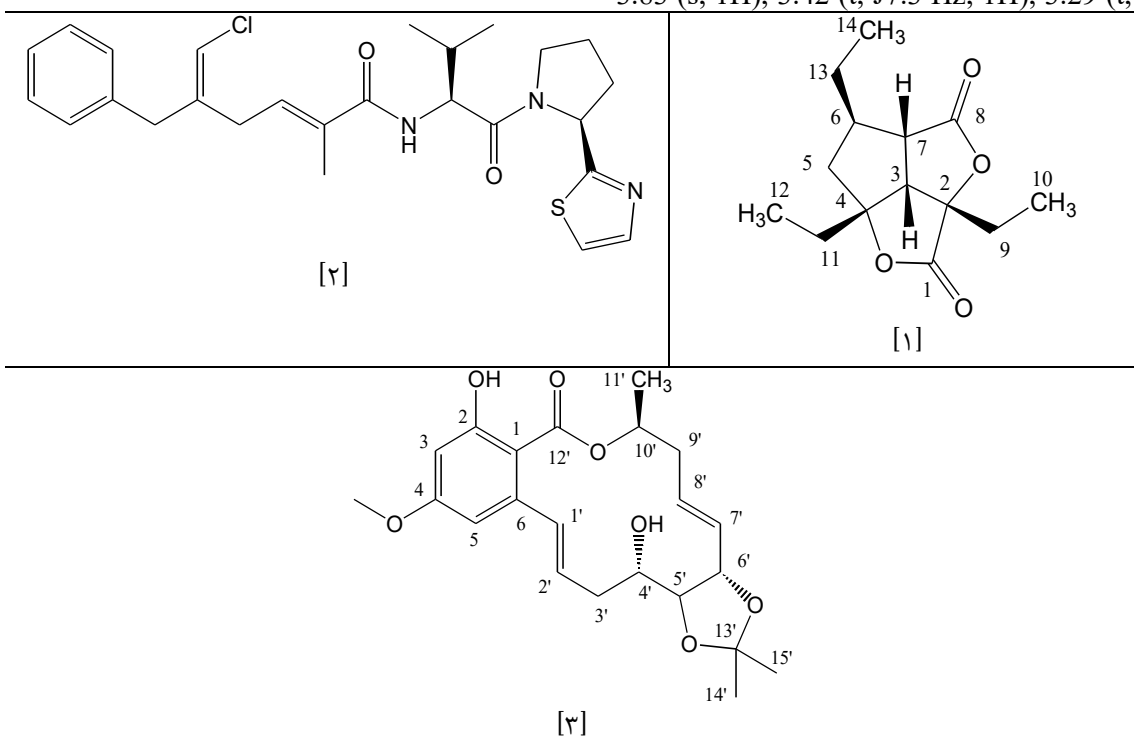
-۱۷,۱۰-(17aS,17S,14E,7S,4E,3aS)]

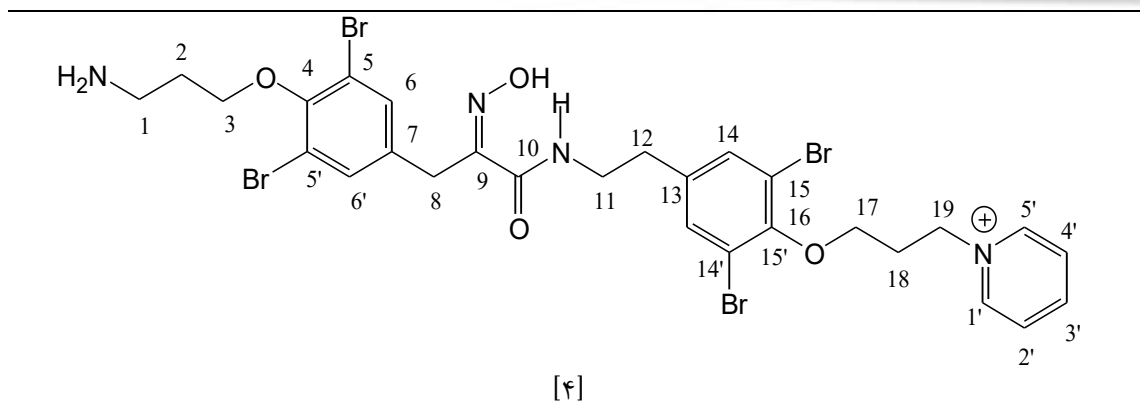
دی هیدروکسی-۱۲-متوکسی-۲,۲,۷-تری متیل-  
-۵,۴]-۹H-هگزاهیدرو-17a,17,16,7,6,3a

[۲]g بنزاکسایکلوتتراداسین-۹-آن،

مایع بی رنگ:

**IR**  $\nu_{\text{max}}$  3395 (N-H), 1671 (C=O)  $\text{cm}^{-1}$ ;  **$^1\text{H}$  NMR** data (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.51 (s, 2H), 7.45 (s, 1H), 4.10 (t, J6.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.42 (t, J7.3 Hz, 1H), 3.29 (t,





تصویر ۱- ساختارهای مولکولی گراسیلیواتر اف (Gracilioether F) [۱]، سمِنْتیازول آ (Smenothiazole A) [۲]، کوچلیومایسین آ (Cochliomycin A) [۳] و توکارادین آ (Tokaradine A) [۴].

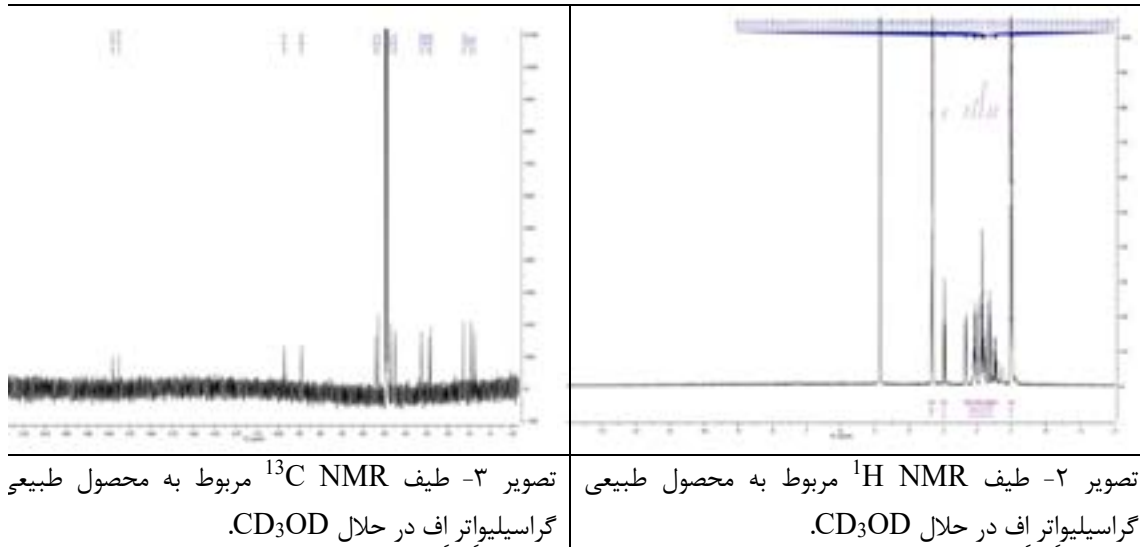
۲ و ۳، به ترتیب، طیف‌های  $^1\text{H NMR}$  و  $^{13}\text{C NMR}$  مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$  را نشان می‌دهند.

همان‌طور که در جدول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود داده‌های طیف‌های  $\text{NMR}$  مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در این مطالعه با داده‌های ارائه شده در مطالعه‌ای که توسط Festa و همکارانش صورت گرفت است (۹)، مطابقت دارند.

ساختارهای مولکولی هر یک از چهار ترکیب حاصل، با استفاده از روش‌های متعارف طیف‌سنجی و طیف‌نگاری نظیر  $\text{HREIMS}$ ،  $\text{HRFABMS}$ ،  $^1\text{H NMR}$  و  $^{13}\text{C NMR}$  به شرح زیر تعیین گردیدند.

#### گراسیلیواتر اف (gracilioether F) (۱)

گراسیلیواتر اف به صورت یک مایع بی‌رنگ جدا شد و وزن مولکولی آن با استفاده از روش  $\text{ESI- HRMS}$  (Mass) و به مقدار  $254/1434$  ( $[\text{H-M}]^+$ ) و با فرمول مولکولی  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}_4$  تایید گردید. از طرفی، تصویرهای



جدول ۱- مقایسه داده‌های طیف  $^1\text{H NMR}$  مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

شماره اتم	داده‌های طیف $^1\text{H NMR}$ مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (در این مطالعه)	داده‌های طیف $^1\text{H NMR}$ مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (۹)
H-3	3.42-3.31 ovl w/ $\text{CD}_3\text{OD}$	3.31 d ( $J = 10.2$ )
H-5	1.65 dd ( $J = 11.7, 13.9$ )	1.64 dd ( $J = 11.7, 13.9$ )
H-6	2.18-1.98 m	2.34 dd ( $J = 5.8, 13.9$ )
H-7	2.97 t ( $J = 9.8$ )	2.11 m
H-9	1.96-1.73 m	2.97 t ( $J = 9.7$ )
H-10	1.04-1.01 m	1.88 m
H-11	1.55-1.40 m	2.07 m
H-12	1.04-1.01 m	1.03 ovl
H-13	1.55-1.40 m	1.49 m
H-14	0.99 t ( $J = 7.5$ )	1.02 ovl
		1.49 m
		1.81 m

d: doublet signals, dd: doublet of doublet signals, m: multiplet signals, t: triplet signals, ovl: overlapped signals

جدول ۲- مقایسه داده‌های طیف  $^{13}\text{C NMR}$  مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

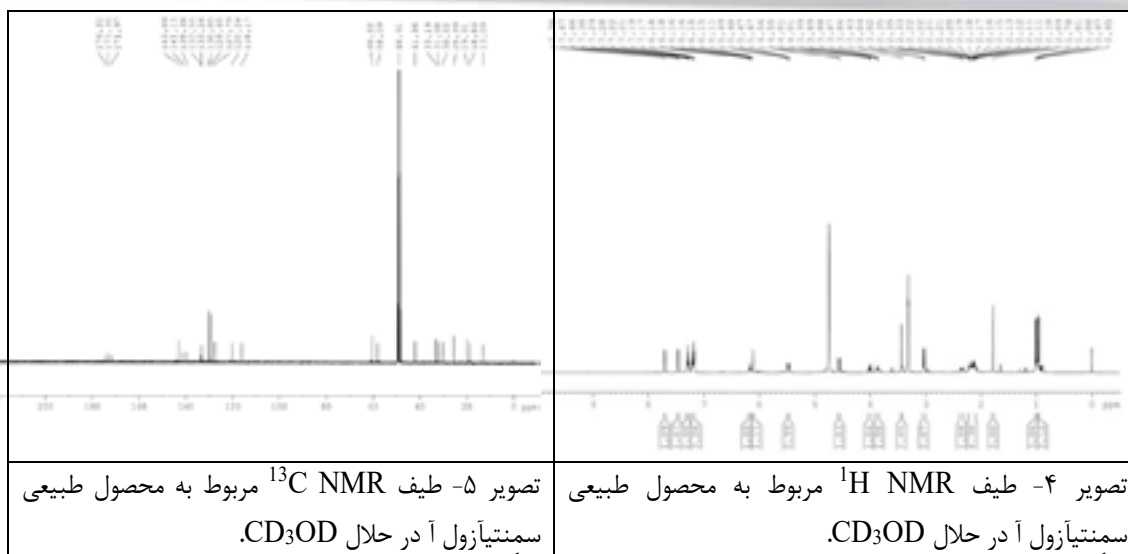
شماره اتم	داده‌های طیف $^{13}\text{C NMR}$ مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (در این مطالعه)	داده‌های طیف $^{13}\text{C NMR}$ مربوط به محصول طبیعی گراسیلیواتر اف در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (۹)
C-1	175.1	174.9
C-2	89.1	88.9
C-3	54.1	53.8
C-4	97.3	96.9
C-5	45.0	44.8
C-6	47.2	47.0
C-7	53.0	52.6
C-8	178.2	177.9
C-9	28.8	28.8
C-10	7.4	7.2

Mass) و به مقدار  $([\text{M}+\text{Na}]^+)$   $508/1798$  و با فرمول مولکولی  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}^+$  تایید گردید. از طرفی، تصویرهای ۴ و ۵، به ترتیب، طیف‌های  $^1\text{H NMR}$  و  $^{13}\text{C NMR}$  مربوط به محصول طبیعی سمِنتیازول آ در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$  را نشان می‌دهند.

مطالعات مقایسه‌ای، ساختار مولکولی این ترکیب را تایید می‌کنند.

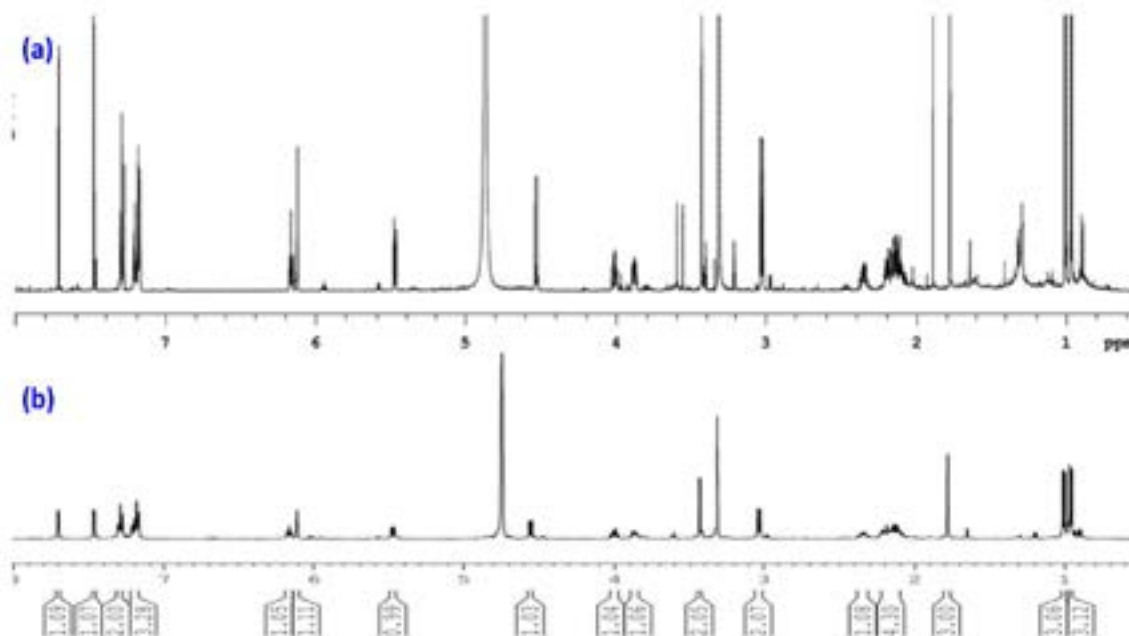
### سمِنتیازول آ (Smenothiazole A) (۲)

سمِنتیازول آ به صورت یک مایع بی‌رنگ جدا شد و وزن مولکولی آن با استفاده از روش HRMS (ESI-



همان‌طور که در تصویر ۶ مشاهده می‌شود، طیف‌های NMR مربوط به محصول طبیعی سمیتیاژول آ در این مطالعه با داده‌های ارائه شده در مطالعه‌ای که توسط Esposito و همکارانش صورت گرفته است (۱۰)، مطابقت دارند.

همان‌طور که در تصویر ۶ مشاهده می‌شود، طیف‌های NMR مربوط به محصول طبیعی سمیتیاژول آ در این مطالعه با داده‌های ارائه شده در مطالعه‌ای که توسط Esposito و همکارانش صورت گرفته است (۱۰)، مطابقت دارند.



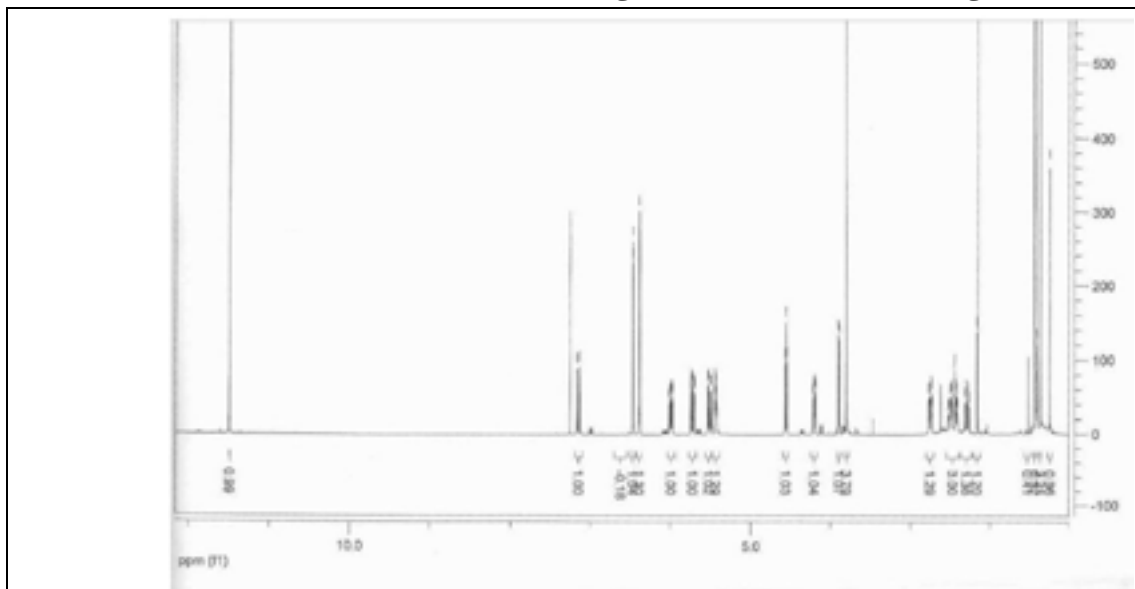
تصویر ۶- طیف‌های  $^1\text{H}$  NMR مربوط به محصول طبیعی سمیتیاژول آ در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$ . (a) طیف مربوط به مطالعه انجام‌شده توسط Esposito و همکارانش (700 MHz) (۱۰)؛ (b) طیف مربوط به این مطالعه (500 MHz).

مطالعات مقایسه‌ای، ساختار مولکولی این ترکیب را تایید می‌کنند.

کوچلیومیاسین آ (cochliomycin A) (۳)

تصویرهای ۷ و ۸، به ترتیب، طیف‌های  $^1\text{H}$  NMR و  $^{13}\text{C}$  NMR مربوط به محصول طبیعی سم‌تیا‌زول آ در حلال  $\text{CDCl}_3$  را نشان می‌دهند.

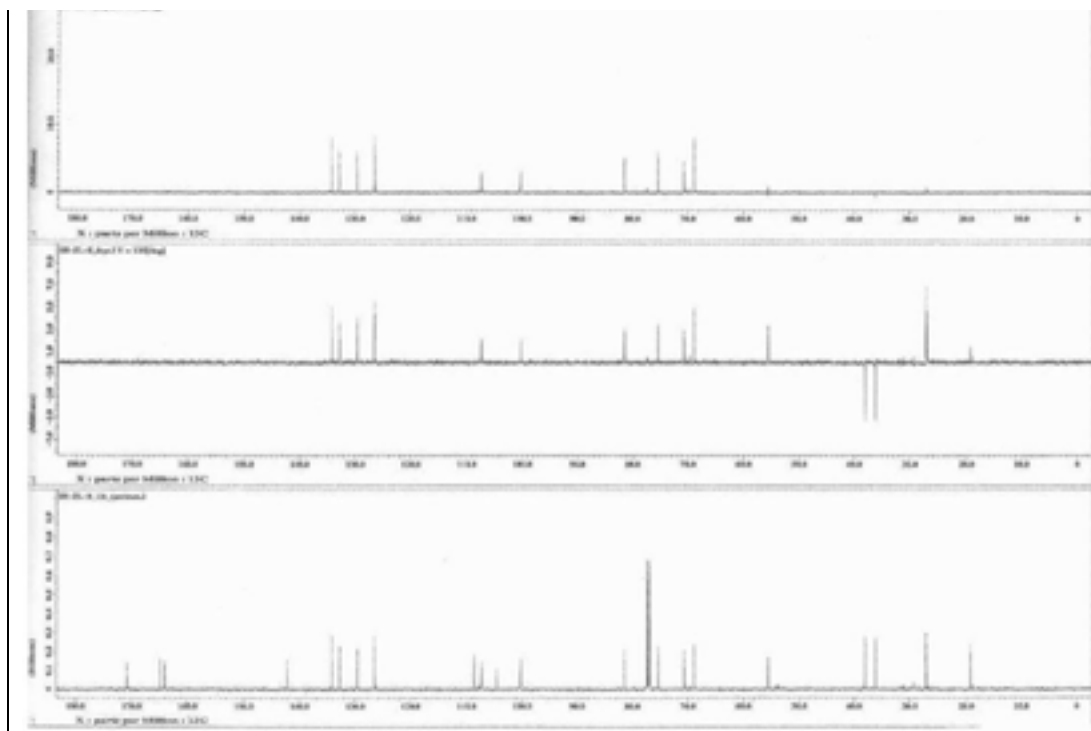
کوچلیومایسین آ به صورت یک ماده جامد سفیدرنگ جدا شد و وزن مولکولی آن با استفاده از روش HRMS (ESI-Mass) و به مقدار  $427/1728$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ) و با فرمول مولکولی  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_7$  تایید گردید. از طرفی،



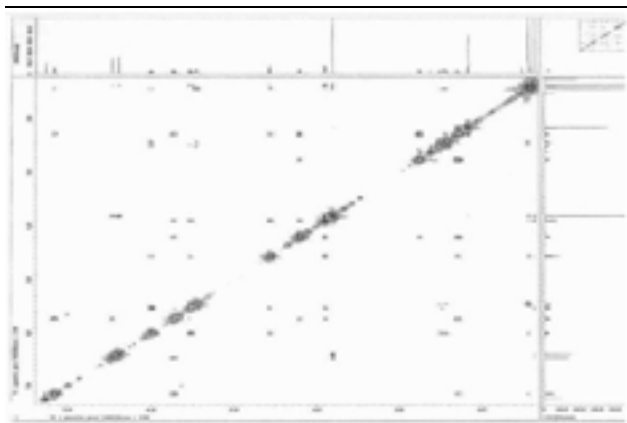
تصویر ۷- طیف  $^1\text{H}$  NMR مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .

به منظور انجام مطالعات مربوط به NMR، طیف‌های دوبعدی COSY، NOESY، HMQC و HMBC مطابق تصویرهای ۹ تا ۱۲ انجام شد.

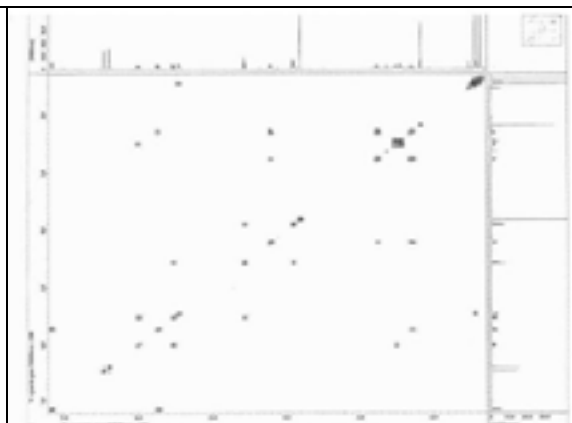




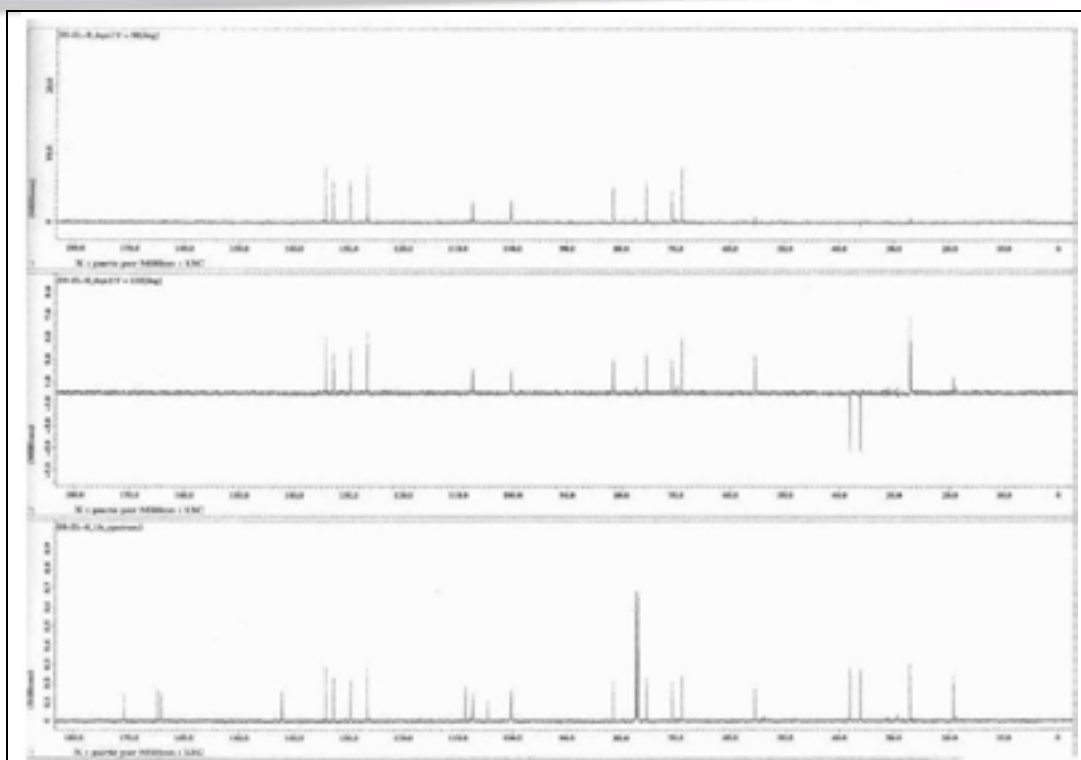
تصویر ۸- طیف  $^{13}\text{C}$  NMR مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .



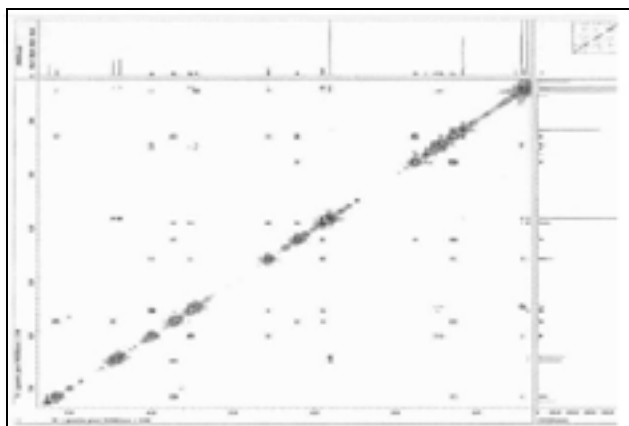
تصویر ۱۰- طیف NOESY مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .



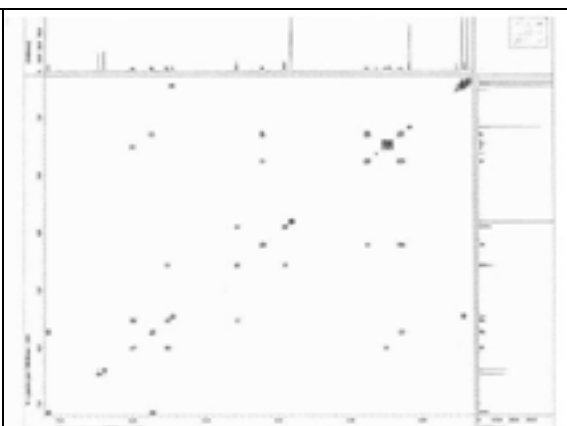
تصویر ۹- طیف  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .



تصویر ۸- طیف  $^{13}\text{C}$  NMR مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .



تصویر ۱۰- طیف NOESY مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .



تصویر ۹- طیف  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY مربوط به محصول طبیعی کوچلیومایسین آ در حلال  $\text{CDCl}_3$ .

جدول ۳- مقایسه داده‌های طیف  $^1\text{H NMR}$  مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

شماره اتم	داده‌های طیف $^1\text{H NMR}$ مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (در این مطالعه)	داده‌های طیف $^1\text{H NMR}$ مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (۱۱)
1	3.29, t (7.7)	3.28, t(7.7)
2	2.20, tt (6.0, 7.7)	2.19, tt (5.7, 7.7)
3	4.10, t (6.0)	4.08, t (5.7)
4		
5, 5'		
6, 6'	7.51, s	7.49, s
7		
8	3.83, s	3.82, s
9		
10	3.42, t (7.3)	3.41, t (7.1)
11	2.75, t (7.3)	2.74, t (7.1)
12	7.45, s	7.43, s
13		
14, 14'		
15, 15'		
16		
17	4.12, t (5.7)	4.10, t (5.4)
18	2.62, tt (5.7, 7.1)	2.60, tt (5.4, 6.9)
19	5.00, t (7.1)	4.99, t (6.9)
1''	9.15, d (5.8)	9.13, d (5.8)
2'', 4''	8.14, , dd (5.8, 7.8)	8.14, , dd (5.8, 7.7)
3''	8.62, t (7.8)	8.60, t (7.7)

جدول ۴- مقایسه داده‌های طیف  $^{13}\text{C NMR}$  مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

شماره اتم	داده‌های طیف $^{13}\text{C NMR}$ مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (در این مطالعه)	داده‌های طیف $^{13}\text{C NMR}$ مربوط به محصول طبیعی توکارادین آ در حلال $\text{CD}_3\text{OD}$ (۱۱)
1	39.0, CH2	38.9, CH2
2	28.9, CH2	29.0, CH2
3	71.7, CH2	71.6, CH2
4	152.4, C	152.2, C
5, 5'	118.7, C	117.8, C
6, 6'	134.5, CH	134.4, CH
7	138.0, C	137.9, C
8	29.1, CH2	29.0, CH2
9	152.0, C	151.9, C
10	165.5, C	165.5, C
11	41.6, CH2	41.5, CH2
12	35.3, CH2	35.2, CH2
13	140.4, C	140.3, C
14, 14'	134.7, CH	134.6, CH
15, 15'	118.3, C	118.7, C
16	152.5, C	152.4, C
17	71.0, CH2	70.8, CH2

1.5, CH2	32.7, CH2	18
1.9, CH2	61.0, CH2	19
16.4, CH	146.5, CH	1", 5"
19.5, CH	129.6, CH	2", 4"
17.1, CH	147.2, CH	3"

تیروزین اُکسایم به نام Tokaradine A از نمونه اسفنج موردنظر، استخراج، جداسازی و شناسایی شدند.

#### تقدیر و تشکر

از افرادی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند سپاسگزاری می شود.

مطالعات مقایسه‌ای، ساختار مولکولی این ترکیب را تایید می‌کنند. با توجه به مطالعات انجام شده مطابق آنچه در بالا تشریح شد، می‌توان نتیجه گرفت که چهار محصول طبیعی شامل یک پلی‌کتاید به نام gracilioether F، یک ترکیب وینیل کلریدی به نام smenothiazole A، یک لاکتون ریسورسیلیک اسید برپایه حلقه ۱۴ تایی به نام cochliomycin A و یک

#### منابع مورد استفاده

- Bergmann, W., Feeney, R. J., 1950. The isolation of a new thymine pentoside from sponges. *J Am Chem Soc* 72: 2809-2810.
- Bergmann, W., Feeney, R. J., 1951. Contributions to the study of marine products. XXXII. The nucleosides of sponges. I. *J Org Chem* 16: 981-987.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Hu, W. P., Munro, M. H. G., Northcote, P. T., Prinsep, M. R., 2009. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 26: 170-244.
- Gordaliza, M., 2010. Review: cytotoxic terpene quinones from marine sponges. *Mar Drugs* 8: 2849-2870.
- Faulkner, D. J., 2002. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 19: 1-48.
- Zhu, Y. M., Shen, J. K., Wang, H. K., Cosentino, L. M., Lee, K. H., Synthesis and anti-HIV activity of oleanolic acid derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 11: 3115-3118.
- Hsu, Y. L., Kuo, P. L., Lin, C. C., 2004. Proliferative inhibition, cell-cycle dysregulation and induction of apoptosis by ursolic acid in human non-small cell lung cancer A549 cell. *Life Sci* 75: 2303-2316.
- Yogeeswari, P., Sriram, D., 2005. Betulinic acid and its derivatives: a review on their biological properties. *Curr Med Chem* 12: 657-666.
- Festa, C., De Marino, S., D'Auria, M. V., Deharo, E., Gonzalez, G., Deyssard, C., Petek, S., Bifulco, G., Zampella, A., 2012. New oxygenated polyketides from the marine sponge *Plakinastrella mamillaris*. *Tetrahedron* 68: 10157.
- Esposito, G., Teta, R., Miceli, R., Ceccarelli, L. S., Sala, G. D., Camerlingo, R., Irollo, E., Mangoni, A., Pirozzi, G., Costantino, V., 2015. Isolation and assessment of the in vitro anti-tumor activity of smenothiazole A and B, chlorinated thiazole-containing peptide/polyketides from the Caribbean sponge, *Smenospongia aurea*. *Mar Drugs* 13: 444-459.
- Fusetani, N., Masuda, Y., Nakao, Y., Matsunaga, S., van Soest, R. W. M., 2001. *Tetrahedron* 57: 7507-7511.