Semiannual Organic Chemistry Journal

Vol. 1, No. 2, Autumn-Winter 2022 (105 – 115)

دوفصلنامه شیمی آلی

سال اول، شماره دوم، پائیز ـ زمستان ۱۴۰۱ ، (۱۰۵ ـ ۱۱۵)

زیست تبدیل آلفا–سنتونین به ۲،۱–دی هیدروسنتونین با استفاده از قارچ Trichoderma virens

منصور شاهدی علی آباد[۱]، زهره حبیبی[۱*]،فاطمه انصاری[۱]، مریم یوسفی[۱]

۱ گروه شیمی آلی و معدنی، دانشکده علوم شیمی و نفت، دانشگاه شهید بهشتی، ص. پ.۱۹۸۳۹۶۹۴۱۱، تهران ، ایران

(تاریخ وصول: ۱۴۰۱/۰۶/۰۷ ـ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۱)

Biotransformation of α-Santonin to 1,2-dihydrosantonin using Trichoderma virens

Mansour Shahedi[1], Zohreh Habibi[1]*, Fatemeh Ansari[1], Maryam Yousefi[1]

1 Department of organic and inorganic Chemistry, Shahid Beheshti University, G.C- P.O.Box 1983969411, Tehran, Iran

(Received: Aug. 29, 2022 - Accepted: May. 22, 2023)

چکیده

با توجه به ویژگی های منحصر به فرد کاتالیزورهای زیستی از جمله ماهیت غیرسمی و زیست تخریب پذیربودن آنها، این کاتالیزورها کاندیدای مناسبی برای واکنش های اکسایش، احیا، هیدرولیز و... می باشند. از طرف دیگر با توجه به اهمیت ترکیبات طبیعی و لزوم ایجاد اصلاحات ساختاری در آن ها به منظور دستیابی به ترکیبات با خواص دارویی بالاتر، این ترکیبات می توانند سوبستراهای مناسبی برای کاتالیزورهای زیستی باشند.

از این رو در این پژوهش واکنش زیست تبدیل ترکیب طبیعی ستونین به وسیله قارچ Trichoderma virens مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۱۲ روز، واکنش جمع آوری شده و محصول جداسازی شد. پس از شناسایی محصول با استفاده از طیف سنجی مغناطیس هسته پروتون و کربن و مقایسه آن با مقالات قبلی، فرآورده ۲،۱–دی هیدروستونین با بازدهی ۴۷.۳٪ به عنوان محصول غالب شناسایی شد. برای احیای پیوند دوگانه کربن–کربن با استفاده از روش های شیمیایی نیاز به استفاده از کاتالیزورهای فلزی و گاز هیدروژن می باشد اما در مطالعه حاضر گونه T. virens توانایی کاتالیزوری بالایی در کاهش پیوند دوگانه کربن کربن از خود نشان داد.

واژگان کلیدی

زیست تبدیل، ترکیبات طبیعی، کاتالیزور زیستی، آلفا ستونین، Trichoderma virens

Abstract

Considering the unique characteristics of biocatalysts, including their non-toxic nature and biodegradability, these catalysts are suitable candidates for reactions such as oxidation, reduction, hydrolysis and etc. On the other hand, considering the importance of natural compounds and the need to create structural modifications in them in order to obtain compounds with higher medicinal properties, these compounds can be suitable substrates for biocatalysts.

Therefore, in this research, the biotransformation of the α-Santonin by Trichoderma virens was investigated. After 12 days, the reaction was collected and the product was isolated. After identifying the product using 1HNMR and 13CNMR and comparing it with previous articles, 1,2-dihydrosantonin was identified as the dominant product with a yield of 47.3%. Reduction of the carbon-carbon double bonds using chemical methods requires the use of metal catalysts and hydrogen gas, but in the present study, T. virens species showed high catalytic ability in reducing the carbon-carbon double bond.

Keywords

Biotransformation, Natural products, Biocatalyst, α-Santonin, Trichoderma virens

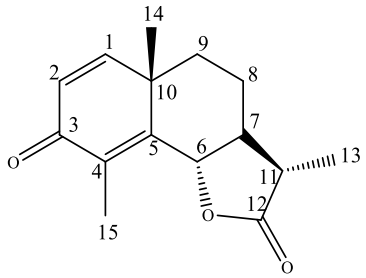
***نویسنده مسئول: زهره حبیبی**

***Corresponding Author: Zohreh Habibi**

Email: z-habibi@sbu.ac.ir

مقدمه

سزکوئی ترپن لاکتون ها دسته ی وسیعی از ترکیبات طبیعی هستند که دارای خواص بیولوژیکی و دارویی فراوان از قبیل خواص ضد سرطانی، ضد ایدز و ضد تومور می باشند. این خواص به خاطر زنجیره های جانبی α–متیلن–γ–لاکتون وکتون α وβ- غیراشباع مجاور به α–متیلن–γ–لاکتون می باشد[۱]. آلفا–سنتونین (شکل ۱) به عنوان ارزان ترین و در دسترس ترین سزکوئی ترپن لاکتون که در بسیاری از گونه های آرتمیزیا یافت می شود و به علت داشتن گروه های عاملی متفاوت در ساختار خود یکی از مهمترین مواد اولیه در سنتز بسیاری از ترکیبات ترپنوییدی با خواص دارویی متنوع شناخته شده است [۲].



شکل ۱- ساختار شیمیایی ترکیب آلفا–سنتونین

کاتالیزور های زیستی به صورت کلی به دو دسته سلول های کامل و آنزیم های جداسازی شده تقسیم بندی می شوند. این کاتالیزورها می توانند در کنار سازگار بودن با محیط زیست جایگزین خوبی در واکنش های فضا گزین و ناحیه گزین باشند [۳]. زیست تبدیل ترکیبات طبیعی همچون سزکوئی ترپن لاکتون ها به ترکیبات جدید با دارای خواص دارویی متنوع امروزه توجه زیادی به خود جلب کرده است [۴–۷].

زیست تبدیل سنتونین طیف وسیعی از واکنش ها شامل اپوکسید دار کردن، آب دار کردن، احیا کردن و هیدروکسیل دار کردن را شامل می شود. مطالعاتی که تاکنون بر روی این ترکیب انجام شده و ساختار متابولیت های حاصل (شکل ۲) در جدول ۱ جمع آوری شده است.

در تهیه ترکیبات جدید از سنتونین از روش های شیمیایی نیز استفاده شده است. به عنوان مثال در احیا پیوند دو گانه کربن–کربن آلفا–سنتونین به روش شیمیایی کاتالیزورهایی همچون کاتالیزور ویلکینسون مورد نیاز می باشد. استفاده از فلزات سنگین به عنوان کاتالیزور می تواند معایب زیادی به همراه داشته باشد. از جمله این معایب می توان به گران قیمت بودن و سمی بودن آن¬ها اشاره نمود[۸].

مواد و روش ها:

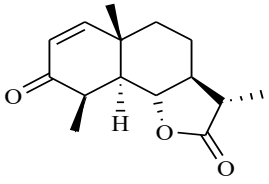
مشخصات دستگاه های مورد استفاده

صفحات لازم جهت انجام کروماتوگرافی لایه نازک در آزمایشگاه به صورت صفحات شیشه ای ۲۰×۲۰ cm و با قطر ۰/۳ mm از سیلیکاژل (Silica gel 60 GF_{254}, Merck) تهیه شدند. دمای ذوب فرآورده ها با استفاده از دستگاه بارن–استد/ الکترونرمال ۹۲۰۰ اندازه گیری شد.

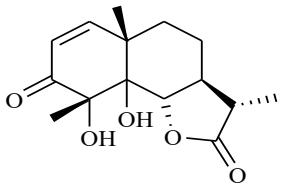
طیف ^1H NMR و ^{13}C NMR با استفاده از طیف سنج Bruker AQS AVANCE به ترتیب در فرکانس‌های ۳۰۰ و ۷۵ مگاهرتز ثبت گردید. حلال مورد استفاده در طیف های NMR کلروفرم دوتره بود و جا به جایی های شیمیایی بر حسب ppm گزارش شد.

آماده سازی محیط های کشت

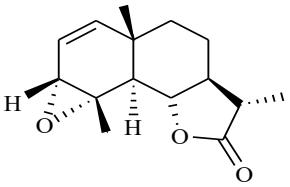
قارچ های مذکور به صورت لیوفیلیزه شده از مجموعه کشت موسسه تحقیقاتی علمی و صنعتی ایران خریداری گردید. نمونه های لیوفیلیزه شده به وسیله آب مقطر پس از تهیه یک سوسپانسیون در شرایط کاملا استریل به محیط کشت جامد جهت رشد اولیه انتقال داده شدند. محیط کشت قارچ های استفاده شده یکسان بوده و متشکل از ۳۰۰ گرم سیب زمینی پخته ، ۲۰ گرم گلوکز و ۱۵ گرم آگار در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب بود.



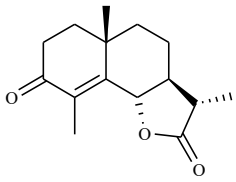
4,5-Dihydro-α-santonin



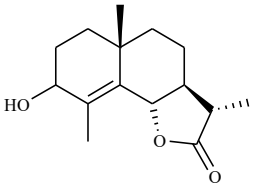
4,5- Dihydro-α-santonin



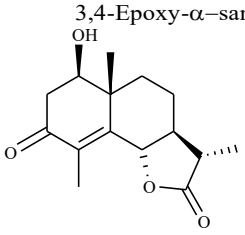
3,4-Epoxy-α–santonin



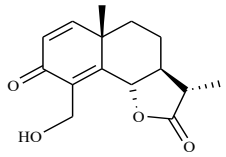
1,2– Dihydro-α–santonin



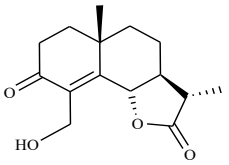
8-Hydroxy-3,5α, 9–trimethyl-3α,4,5,5α,6,7,8,9,β –octahydro-3h-naphtho (1,2β)furan-2-one



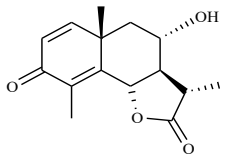
6-Hydroxy-3,5α,9–trimethyl-3α,5,5α,6,7,9β– hexahydro-3H,4H-naphtho(1,2β)furan -2,8-dione



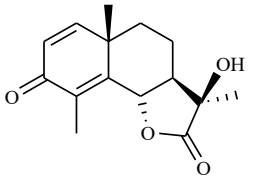
15-Hydroxy-α-santonin



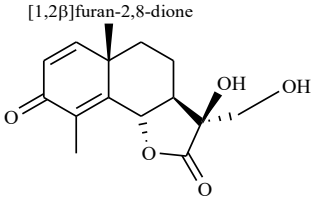
9-Hydroxymethyl-3,5α-dimethyl-3α,5,5α, 6 ,7,9β-hexahydro-3H,4H-naphtho [1,2β]furan-2,8-dione



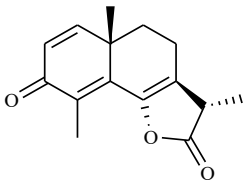
8α-Hydroxy-α-santonin



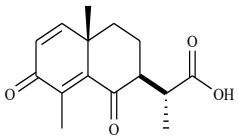
11β-Hydroxy-α-santonin



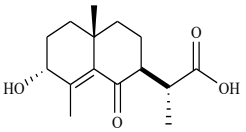
11β,13-Hydroxy-α-santonin



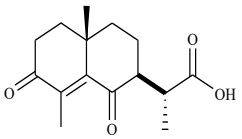
6,7-Dehydosantonin



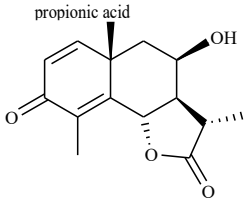
2-(4α,8-Dimethyl-1,7-dioxo-1,2,3,4,4α,7-hexahydro-naphthalen-2-yl)-propionic acid



2-(7-Hydroxy-4α,8-dimethyl-1-oxo-1,2,3,4, 4α,5,6,7-octahydro-naphthalen-2-yl)-propionic acid



2-(4α,8-Dimethyl-1,7-dioxo-1,2,3,4,4α,5,6,7 -octahydro-naphthalen-2-yl)-propionic acid



8β-Hydroxy-α -santonin

شکل ۲- ساختار متابولیت های شناسایی شده از زیست تبدیل آلفا–سنتونین

جدول ۱- نتایج زیست تبدیل های انجام شده بر روی آلفا–سنتونین

میکروارگانیسم	محصول	منابع
Pseudomonas strains S ATCC 43388 **Pseudomonas S (ATCC 41388)**	1,2-Dihydro-α-santonin 4,5- Dihydroxy-α-santonin 11-Demethyl-eudesm-4-ene-3,6-dione	[۵]
Cunninghamella spp	8β-Hydroxy-α-santonin	[۶]
Acremonium chrysogenum PTCC 5271	1,2-Dihydro-α-santonin 30% 8α-Hydroxy-α-santonin 22% 15-Hydroxy-α-santonin 15% 4,5-dihydro-α-santonin 10%	[۴]
Rhizomucor pusillus PTCC 5134	1,2-Dihyro-α-santonin 45% 8α-Hydroxy-α-santonin 20%	
Marchantia polymorpha	1,2-Dihydro-α-santonin	[۷]
Streptomyces roseochromogenea **S. aureofmiens** **Streptomyces cinereocrocatus NRRL 3443**	1,2-Dihydro-α-santonin 1,2-Dihydro-α-santonin	[۹]
Cunninghamella echinulata var. elegans ATCC 8688a	11β-Hydroxy-α-santonin	
Mucor plumbeus ATCC 4740	11β-Hydroxy-α-santonin 11β,13-Dihydroxy-α-santonin	
Whetzelinia sclerotiorum ATCC 18687	11β-Hydroxy-α-santonin 15-Hydroxy-α-santonin 6,7-Dehydo-α-santonin	
Phanerochaete chrysosporium ATCC 24725	11β-Hydroxy-α-santonin 15-Hydroxy-α-santonin 3,6,9-Trihydroxy-9,10-seco-selina-1,3,5(10)-trien-12-oic acid-12,6-lactone	[۱۰]
Aspergillus niger ATCC 9142	11β-Hydroxy-α-santonin 15-Hydroxy-α-santonin 3,6-Dihydroxy-9-keto-9,10-seco-selina-1,3,5(10)-trien-12-oic acid-12,6-lactone	
Aspergillus niger MIL 5024 and MIL 5025	11-Hydroxy-α-santonin 3,6,9-Trihydroxy-9,10-seco-selina-1,3,5(10)-trien-12oicacid-12,6-actone 3,6-Dihydroxy-9-keto-9,10-seco-selina-1,3,5(10)-trien-12-oic acid-12,6-lactone	[۱۱]
Rhizopus stolonifer (ATCC 10404) **Cunninghamella bainieri (ATCC 9244)** **Cunninghamella echinulata(ATCC 9245)** **Mucor plumbeus (ATCC 4740)**	3,4-Epoxy-α-santonin 4,5-Dihydro-α-santonin 1,2-Dihydro-α-santonin	[۱۲]
Abisidia coerulea IFO 4011	11β-Hydroxy-α-santonin 76%	

	8α-Hydroxy-α-santonin 2%	
Cell suspension cultures; Asparagus officinalis	4,5-Dihydro-α-santonin 5.8% 15-Hydroxy-α-santonin 1% 1,2-Dihydro-α-santonin 2.9% (11s)-10α-Hydroxy-30-oxoguaia-4-eno-12,6α-lactine 1.7% 11β-Hydroxy-α-santonin 25%	[۱۳]
Catharanthus roseus	1,2-Dihydro-α-santonin 15-Hydroxy-α-santonin 4,5-Dihydro-α-santonin (11S)-10α-hydroxy-30-oxoguaia-4-eno-12,6α-lactone (-)-2-(1,2,3,4,4a,7-hexahydro-4a,8-dimethyl-1,7-dioxo-2-naphthyl)propionic acid	
Phytolacca asinosa	1,2-Dihydro-α-santonin 62% 15-Hydroxy-α-santonin 9-Hydroxymethyl-3,5α-dimethyl-3α,5,5α, 6 ,7,9β-hexahydro-3H,4H-naphtho [1,2-b]furan-2,8-dione 2-(7-Hydroxy-4a,8-dimethyl-1-oxo-1,2,3,4, 4α,5,6,7-octahydro-naphthalen-2-yl)-propionic acid 2-(4α, 8-Dimethyl-1,7-dioxo-1,2,3,4,4α,5,6,7-octahydro-naphthalen-2-yl)-propionic acid	[۱۴]
Platycodon grandiflorum	11β-Hydroxy-α-santonin 37% 15-Hydroxy-α-santonin 26%	
Ginkgo biloba	11β-hydroxy-α-santonin 72%	
Taxus cuspidate	1,2-Dihydro-α-santonin 7% 8-Hydroxy-3,5α,9-trimethyl-3α,4,5,5α,6,7,8,9β-octahydro 3H-naphtha [1,2-b]furan- 2one 21% 6-Hydroxy-3,5α,9-trimethyl-3α,5,5α,6,7,9β-hexahydro-3H,4H-naphtho [1,2-b]furan-2,8-dione	

سیب زمینی های خرد شده به همراه آب مقطر جوشانده شد تا نشاسته آن خارج شود، سپس عصاره سیب زمینی به وسیله صافی صاف کرده و مقادیر مشخص شده گلوکز و آگار به آن اضافه گردید و به حجم مورد نظر رسانده شد، سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱/۱ °C و فشار ۱/۵ بار در اتوکلاو قرار داده شد تا استریل شود و پس از خنک شدن درون پلیت‌های استریل ریخته شدند. پس از جامد شدن محیط کشت، سوسپانسیون اولیه به محیط کشت جامد منتقل شد.

کشت قارچ ها (کشت جامد و مایع)

در کنار شعله و در زیر هود میکروبیولوژی از

میکروارگانیسم های مورد نظر با اسپاتول استریل شده یک مربع به ابعاد ۱/۵×۱/۵ سانتی‌متر برداشته و به محیط کشت جامد منتقل شد، سپس درب پلیت‌ها بسته و در دستگاه انکوباتور در دمای ۲۶ درجه ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از گذشت دو روز، محیط های کشت مایع برای هر قارچ تهیه گردید، بدین منظور برای هر قارچ مواد لازم برای تهیه محیط کشت جامد بدون آگار تهیه شد و همانند بخش قبل، محلول ها در ارلن های استریل شده ریخته و در دمای $^{\circ}C$ ۱۲۱/۱ به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو قرار داده شدند. سپس ارلن ها از اتوکلاو خارج شده و بعد از اینکه محلول ها خنک شدند، در کنار شعله و با اسپاتول استریل شده، مربع هایی به ابعاد بالا از قارچ های کشت داده شده برداشته شد و هر قارچ به محیط کشت مایع منتقل شد، سپس ارلن ها بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ rpm داخل انکوباتور با دمای $^{\circ}C$۲۶ به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند.

اضافه کردن مواد به محیط های کشت

پس از گذشت دو روز که کلونی های قارچ ها به خوبی در محیط مایع رشد کردند، ۱۰۰میلی گرم از ترکیب مورد مطالعه، در ۲ میلی لیتر اتانول مطلق حل گردید. سپس مواد به آرامی و به صورت قطره قطره به محیط های کشت مایع اضافه شد و ارلن ها مجدداً روی شیکر قرار داده شدند. در ادامه به منظور اطمینان از انجام زیست تبدیل به دلیل وجود میکروارگانیسم، در کنار سلول در حال رشد تست شاهد صورت گرفت. برای انجام این کار، محیط کشت مایع بدون حضور میکروارگانیسم تهیه شده و سنتونین محلول در اتانول مطلق به آن اضافه گردید. عدم انجام واکنش مذکور مشخص نمود محیط کشت به تنهایی عامل زیست تبدیل نمی باشد. تست دیگری که در این زمینه انجام شد، مقایسه سلول در حال رشد و در حال استراحت بود. بدین منظور، پس از گذشت ۲ روز و رشد کامل قارچ ها، کلونی های رشد یافته با کاغذ صافی استریل به وسیله بافر شسته شده و صاف گردیدند. کلونی های جدا شده به محیط جدیدی بدون حضور محیط کشت و تنها در حضور بافر اضافه شدند، سپس سنتونین به این محیط اضافه گردید. با گذشت ۱۲ روز تغییراتی در سنتونین مشاهده شد و این امر بیانگر آن است که آنزیم های موجود در میکروارگانیسم ها مسئول زیست تبدیل صورت گرفته می باشد.

نمونه برداری از محیط های کشت

پس از افزودن سنتونین، در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰و۱۲ از ظرف واکنش نمونه برداری انجام شد تا با دنبال کردن متابولیت های تولید شده با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک، بهترین زمان برای استخراج کلی مشخص شود.

استخراج مواد

با توجه به کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در روزی که بیشترین درصد تبدیل را داشت، ارلن های مربوط به هر قارچ با هم یکی شده و پس از جداسازی قارچ ها به وسیله کاغذ صافی، محلول به دست آمده سه بار با اتیل استات استخراج شد، پس از تبخیر اتیل استات در فشار کاهش یافته، عصاره ی حاصل مجدداً در کلروفرم حل و با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه ی نازک محصول تفکیک و خالص سازی شد.

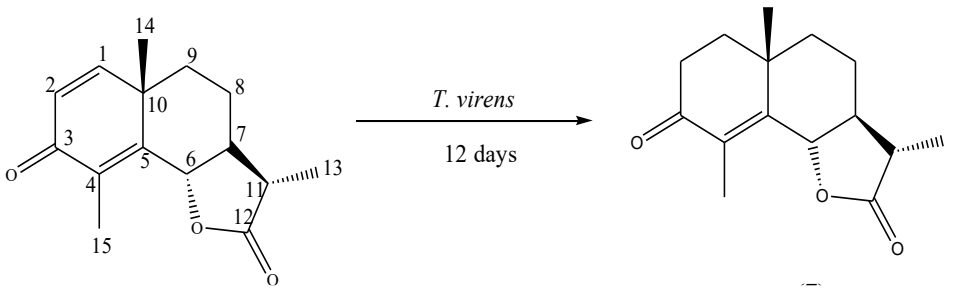
خالص سازی

پلیت ها با استفاده از سیلیکاژل بر روی صفحات شیشه ای با ابعاد ۲۰×۲۰ cm و با قطر ۰/۳ mm ساخته شد و مواد روی پلیت‌ها قرار داده شده و با نسبت ۴:۶ *n*–هگزان به اتیل استات تخلیص انجام شد و در مرحله ی آخر با کمک کروماتوگرافی لایه نازک وقتی از خلوص محصولات اطمینان حاصل شد به وسیله ی روش های طیف سنجی و مقایسه ی داده های گزارش شده در منابع علمی ساختار محصولات تعیین گردید.

بحث و نتیجه گیری:

سزکوئی ترپن لاکتون های دارای حلقه α–متیلن–γ–لاکتون و یا گروههای کربونیل α و β– اشباع نشده (مشابه آلفا–سنتونین) به دلیل آنکه پذیرنده مایکل خوبی هستند می توانند با سیستئین موجود در نوکلئیک اسیدها که مسئول مستقیم تقسیم سلولی هستند درگیر شده و مانع از تقسیم سلولی شوند. این خاصیت باعث شده این دسته از ترکیبات

خواص جالب سیتوتوکسیک از خود نشان دهند[۱۵]. علیرغم مطالعات متعدد در زمینه‌ی زیست تبدیل آلفا-سنتونین، تلاش برای یافتن سویه های جدید در زیست تبدیل این ترکیب و تولید حدواسط های دارویی یا پیش ماده‌ها همچنان حائز اهمیت است. از این رو زیست تبدیل این ترکیب با سه سویه‌ی قارچی جدید *Trichoderma virens* ، *Circinella muscae* و *Fusarium fujikuroi* مورد بررسی قرار گرفت(جدول ۲). پس از گذشت دوازده روز، فقط سویه قارچی *T. virens* فرآورده ۲،۱-دی هیدروسنتونین را تولید نمود که محصول غالب واکنش بود (شکل۳).



شکل ۳- زیست تبدیل آلفا- سنتونین با قارچ *T.virens*

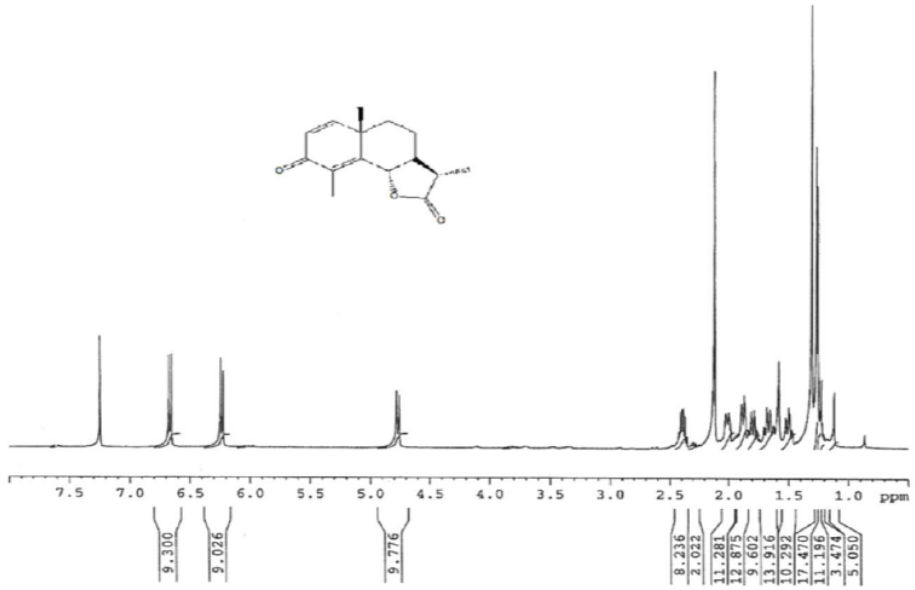
محصولات زیست تبدیل سنتونین به وسیله قارچ های دیگر به علت غلظت کم قابل شناسایی نبودند. تا به امروز زیست تبدیل سنتونین به ۲،۱-دی هیدروسنتونین توسط سویه های قارچی متنوعی گزارش شده که در بخش مقدمه آورده شده است. بالاترین بازده گزارش شده در مقالات قبلی ۴۵٪ می باشد که توسط سویه قارچی *Rhizomucor pusillus* تولید شده است [۴]. در این مطالعه فرآورده ۲،۱-دی هیدروسنتونین با بازده ۴۷.۳٪ تهیه و خالص سازی شد. همان طور که در مقدمه اشاره شد، استفاده از روش های شیمیایی مرسوم برای احیا پیوند دوگانه کربن-کربن شامل استفاده از گاز هیدروژن و کاتالیست های مختلف می شود. انتخابی احیا کردن یکی از پیوند های دوگانه آلفا-سنتونین در حضور این کاتالیست ها مسئله ای حائز اهمیت می باشد. به عنوان مثال زمانی که از گاز هیدروژن در حضور پالادیوم برای احیا استفاده می شود، هر دو پیوند گانه کربن-کربن احیا می شوند[۱۶]. گزارش شده است که می توان پیوند دوگانه کربن –کربن بین کربن شماره ۱ و ۲ را با استفاده از کاتالیزور ویلکینسون احیا نمود. با وجود اینکه این کاتالیست با بازدهی قابل توجهی پیوند دو گلنه را به صورت انتخابی احیا می کند اما معایب قابل توجهی نیز دارد. این معایب شامل استفاده از فلزات گرانبها، گاز هیدرژون که خطر انفجار بسیار بالایی دارد و سمی بودن مواد مورد استفاده می شود[۸].

جدول ۲- سویه های قارچی مورد استفاده و بازده آن ها

محصولات (بازده)	میکروارگانیسم
تعداد زیاد محصول و بازدهی کم	Fusarium fujikuroi
تعداد زیاد محصول و بازدهی کم	Circinella muscae
۲،۱-دی هیدروسنتونین (۴۷.۳٪)	Trichoderma virens

طی مطالعاتی که برای کشف داروهای ضد بیماری HAT روی سنتونین و مشتقات آن صورت گرفته است مشخص شده است که محصول شناسایی شده (۲،۱-دی هیدروسنتونین) دارای خاصیت ضد بیماری HAT است در حالی که سنتونین هیچ فعالیتی در این زمینه از خود نشان نداده است. این بیماری به بیماری خواب معروف است و عامل این بیماری انگلی است که در بسیاری از کشورهای جنوب صحرای آفریقا رخ می دهد[۱۷]. در طیف ^{1}H NMR

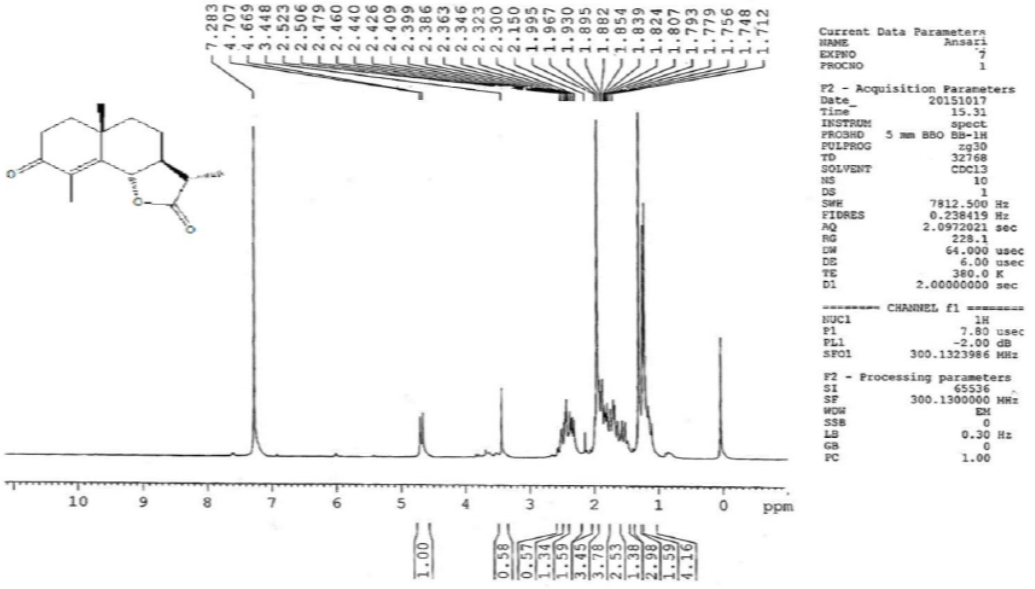
ماده اولیه (شکل۴)، پیام دوتایی موجود در ppm ۶/۷، مربوط به H-۱ و دوتایی موجود در ppm ۶/۲۵ مربوط به H-۲ می‌باشد.



شکل ۴–طیف ^{1}H NMR آلفا–سنتونین

در طیف ^{1}H NMR محصول که در شکل ۵ نشان داده شده است، ظاهر شدن پیام‌های جدید چندتایی در ppm ۳–۲/۴ (مربوط به H-2α و H-2β) و ناحیه ppm۵–۱/۲ (مربوط به H-1α و H-1β) احیای پیوند دوگلنه C_1-C_2 را تایید می کند.

پیک دوتایی موجود در ppm ۴/۶۷ مربوط به H–۶ می باشد. یکتایی موجود در ppm ۱/۹۸ مربوط به متیل ۱۵ می باشد که این جابه جایی شیمیایی برای گروه متیل نشان دهنده‌ی قرار گرفتن آن بر روی پیوند دوگانه می باشد (متیل اولفینی) که این امر بیانگر عدم احیای پیوند دوگانه‌ی C_4=C_3 می باشد (جدول ۴).

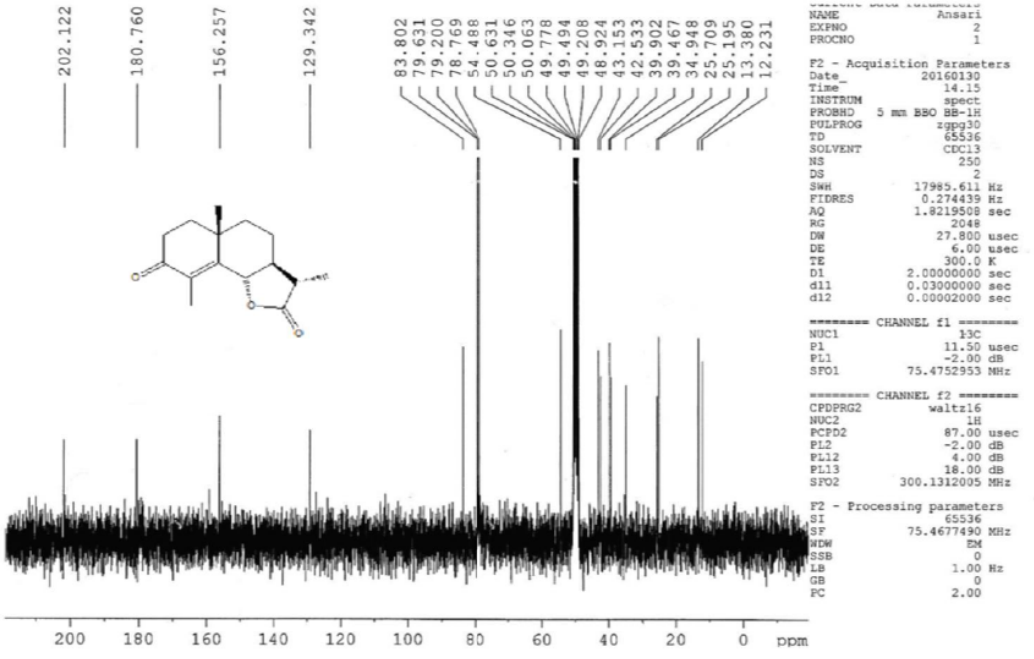


شکل ۵–طیف ^{1}H NMR متابولیت اصلی

جدول ۳- داده های ^{1}H NMR، آلفا-سنتونین و متابولیت آن در حلال $CDCl_3$

شماره اتم کربن	سنتونین	۲،۱-دی هیدروسنتونین
۱	٦/٧, d (*J*= 10 Hz)	(m)١/٧۶
۲	٦/٢٥, d (*J*= 9.8 Hz)	٢.٥٢(m)
۳	–	–
۴	–	–
۵	–	–
۶	٤/٦٧, d (*J*= 11.4 Hz)	٤/٦٧, d (*J*= 11.4 Hz)
۷	(m) ١.٨٨	(m)١.٨٩
۸	(m)١.٥-٢	(m)١.٥-٢
۹	(m)١.٥-٢	(m)١.٥-٢
۱۰	–	–
۱۱	(m)٢.٣	(m)٢.۴
۱۲	–	–
۱۳	, d (*J*=6.9 Hz)١/٢٤	, d (*J*=6.9 Hz)١/٢٨
۱۴	١/٣, S	١/٣٢, S
۱۵	(m) ١.۶	(m) ١.۶٢

درمقایسه ی طیف کربن این ترکیب (شکل ۶) با ماده ی اولیه مشـــاهده شـــد که پیک های موجود در ppm ۱۵۴/۹ و ppm ۱۲۵/۹ مربوط به کربن C_1=C_2 حذف شـــده و این بیانگر احیای پیوند دوگانه اســـت. همچنین جابه جایی کربن شـماره ۳ به میدان پایین تر(به خاطر حذف تعادل انول- کتو ناشی از پیوند دوگانه) نیز تاییدی بر این ادعاست (جدول ۴).



شکل ۶- طیف 13C NMR متابولیت اصلی

جدول ۴- داده های 13C NMR آلفا–سنتونین و متابولیت آن در حلال CDCl3

شماره اتم کربن	سنتونین	۱و۲–دی هیدروسنتونین
۱	۱۵۴/۹	۳۹/۴
۲	۱۲۵/۸	۳۴/۹
۳	۱۸۶/۲	۲۰۲/۱۲
۴	۱۲۸/۷	۱۲۹/۳۴
۵	۱۵۳/۹	۱۵۶/۲۵
۶	۸۱/۴	۸۳/۸۰
۷	۵۳.۵	۵۴.۵
۸	۳۸.۸	۳۹.۵
۹	۲۴.۱	۲۵.۲
۱۰	۴۱.۴	۴۲.۵
۱۱	۴۱	۴۳.۱
۱۲	۱۷۷/۵	۱۸۰/۷۶
۱۳	۱۴.۱	۱۳.۴
۱۴	۲۵.۱	۲۵.۷
۱۵	۱۲.۶	۱۲.۲

نتیجه گیری:

به طور خلاصه در مطالعه حاضر گونه‌ی قارچ *T. virens* توانایی کاتالیزوری خوبی در کاهش پیوند دوگانه کربن–کربن به صورت انتخابی با بازدهی ۴۷.۳٪ از خودنشان داد.

منابع

[1] Chadwick M., Trewin H., Gawthrop F., Wagstaff C., Int. J. Mol. Sci., 2013, 14, 12780-12805.

[2] Wang J., Su S., Zhang S., Zhai S., Sheng R., Wu W., Guo R., Eur. J. Med. Chem., 2019, 175, 215-233.

[3] Faber K., Biotransformations in organic chemistry: a textbook., Springer, Heidelberg, 2011, 6th edition.

[4] Gandomkar S., Habibi Z., J. Mole. Catal. B: Enzym., 2014, 110, 59–63.

[5] Colaco D., Furtado I., Naik U., Mavinkurve S., Paknikar S., Lett. Appl. Microbiol., 1993, 17, 212–214.

[6] Bustos D., A. Re. Org. Chem., 2012, 2, 1–6.

[7] Hegazy M. E. F., Kuwata C., Matsushima A., Ahmed A. A., Hirata T., J. Mole. Catal. B: Enzym., 2006, 39, 13–17.

[8] Kutney JP., Singh AK., Can. J. Chem., 1984, 62, 2813-2817.

[9] Iida M., Hatori Y., Yamakawa K., Iizuka H., Z. Allg. Mikrobiol., 1981, 21, 587–590.

[10] Lamm A. S., Chen A. R., Reynolds W. F., Reese P. B., J. Mole. Catal B: Enzym., 2009, 59, 292–296.

[11] Iida M., Mikami A., Yamakawa K., Nishitani K., J. Ferment. Technol., 1988, 66, 51–55.

[12] Ata A., Nachtigall J. A., Z. Naturforsch. C. Bio. Sci., 2004, 59, 209–214.

[13] Yang L., Dai J. g., Sakai J.I., Ando M., J. Asian. Nat. Prod. Res., 2006, 8, 317–326.

[14] Yang L., Dai J., Sakai J., Ando M., Biotechnol. Lett., 2005, 27, 793–797.

[15] El-Feraly F., Benigni D., McPhail A., J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1983, 1, 355–364.

[16] Blay G., Cardona L., Garcia B., Pedro JR., Studies in Natural Products Chemistry. 2000, 24,

53-129.

[17] Otoguro K., Iwatsuki M., Ishiyama A., Namatame M., Nishihara-Tukashima A., Kiyohara H., Hashimoto T., Asakawa Y., Ōmura S., Yamada H., Phytochemistry., 2011, 72, 2024–2030.

COPYRIGHTS

© 2022 by the authors. Lisensee PNU, Tehran, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY4.0) (http:/creativecommons.org/licenses/by/4.0)