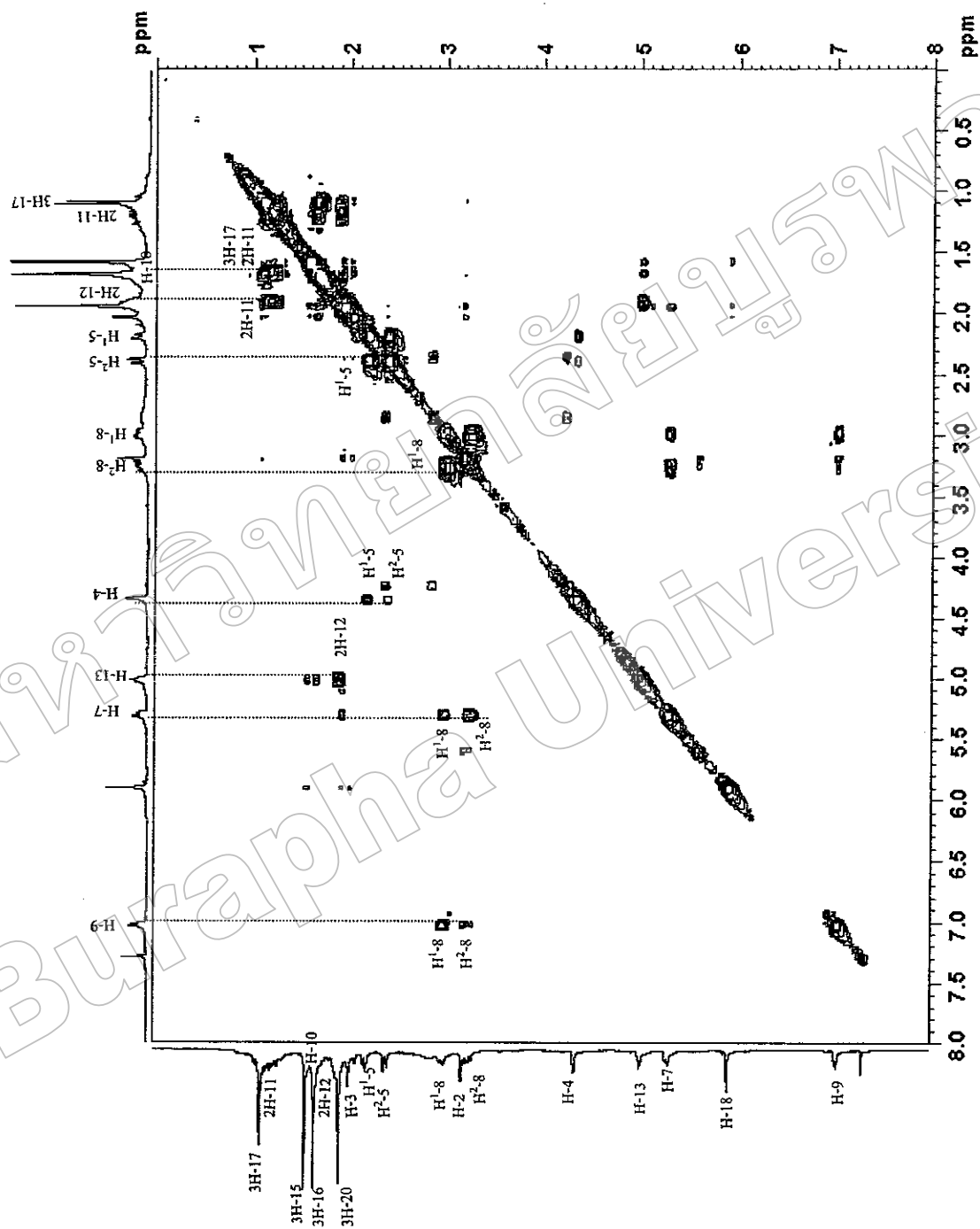
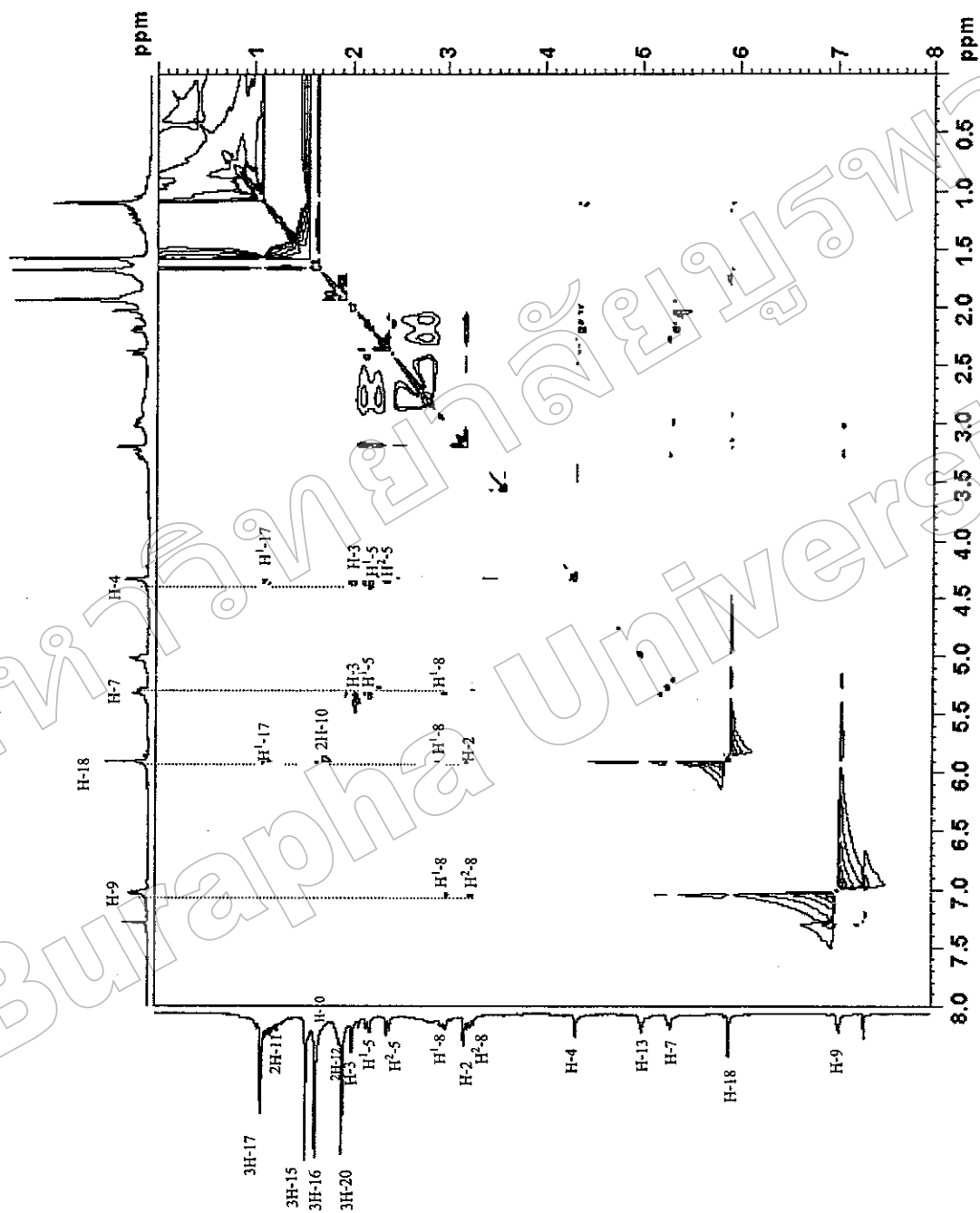
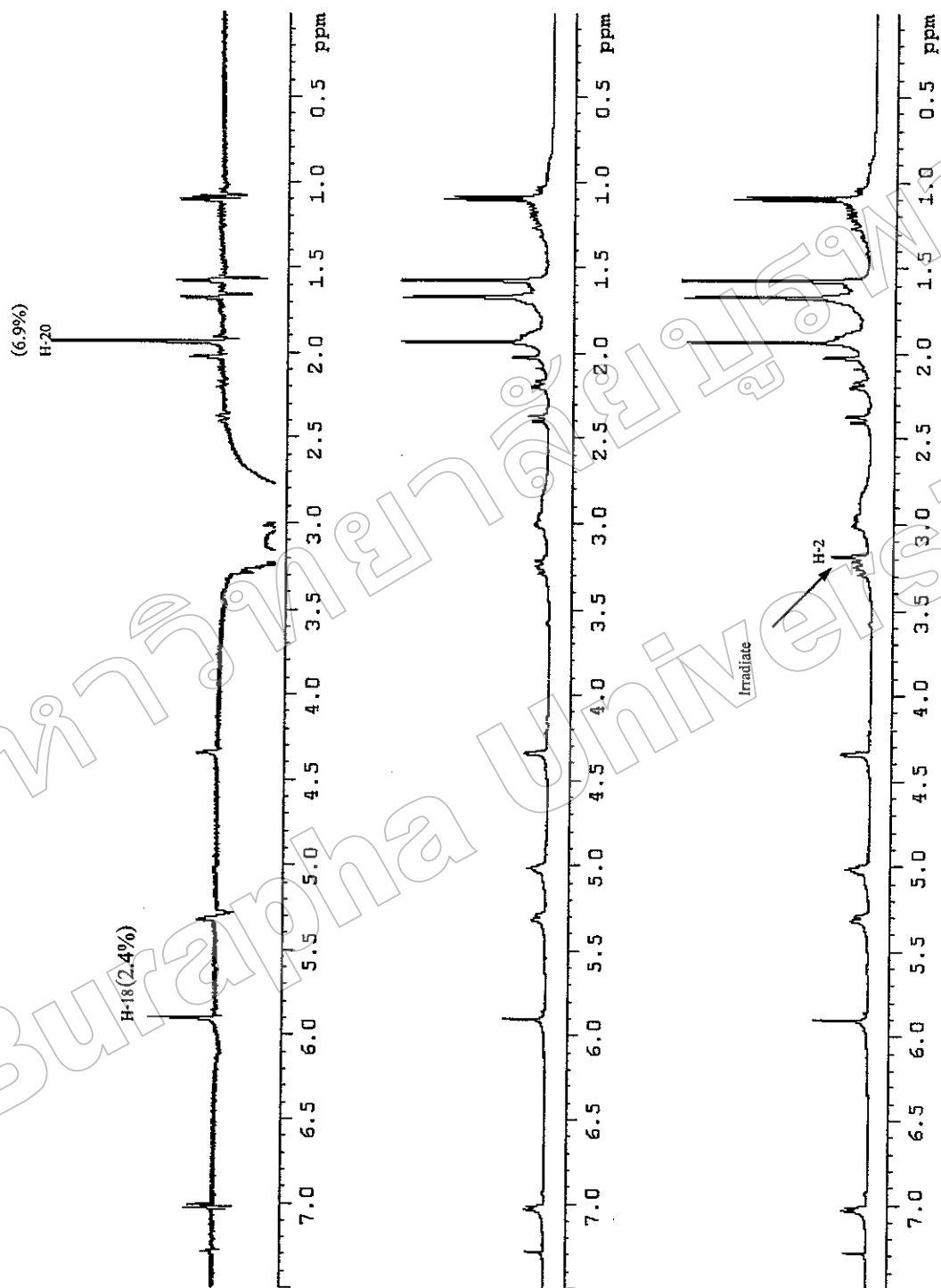




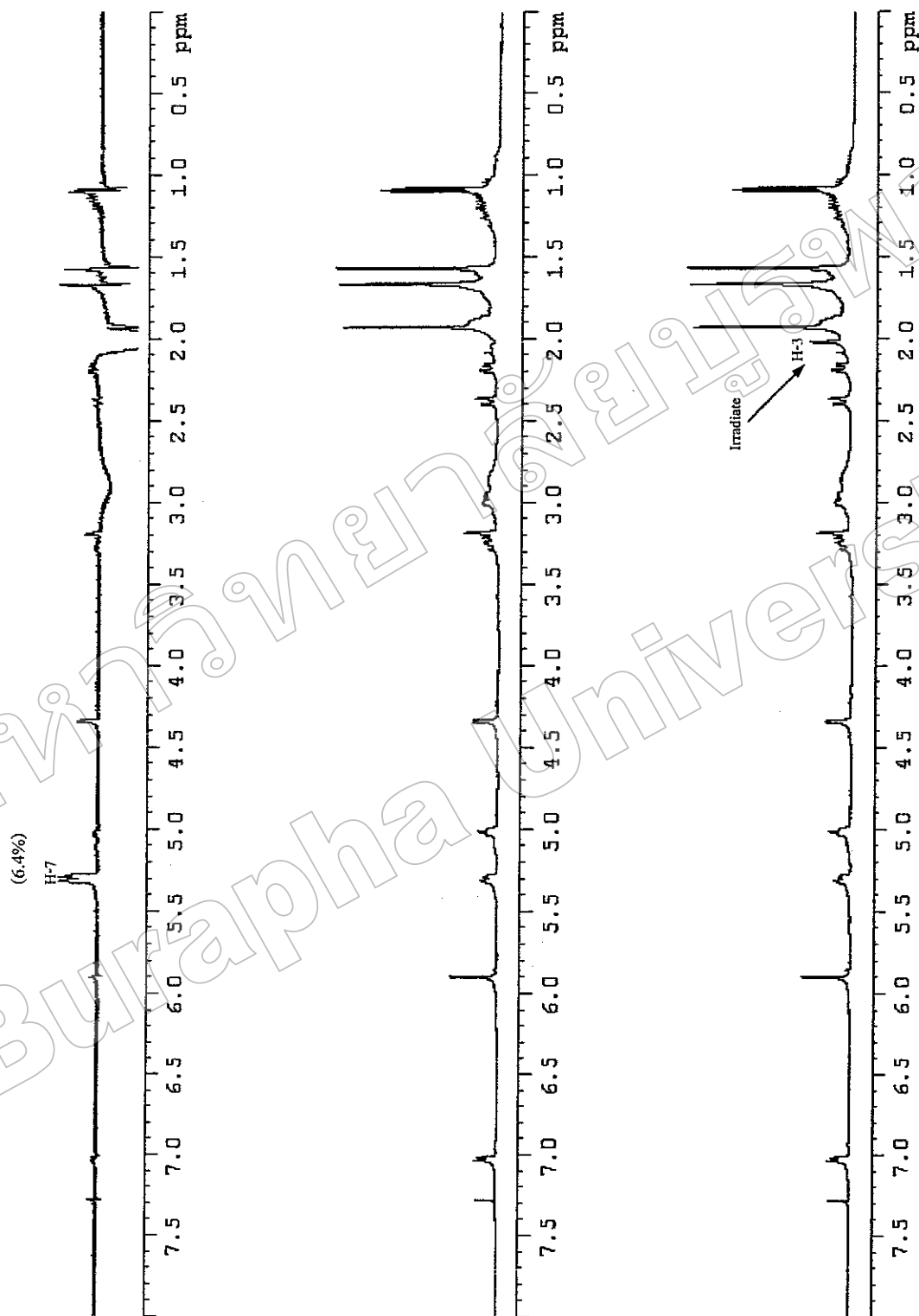
ภาพที่ 4-36 สเปกตรัม ^1H - ^1H COSY ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone



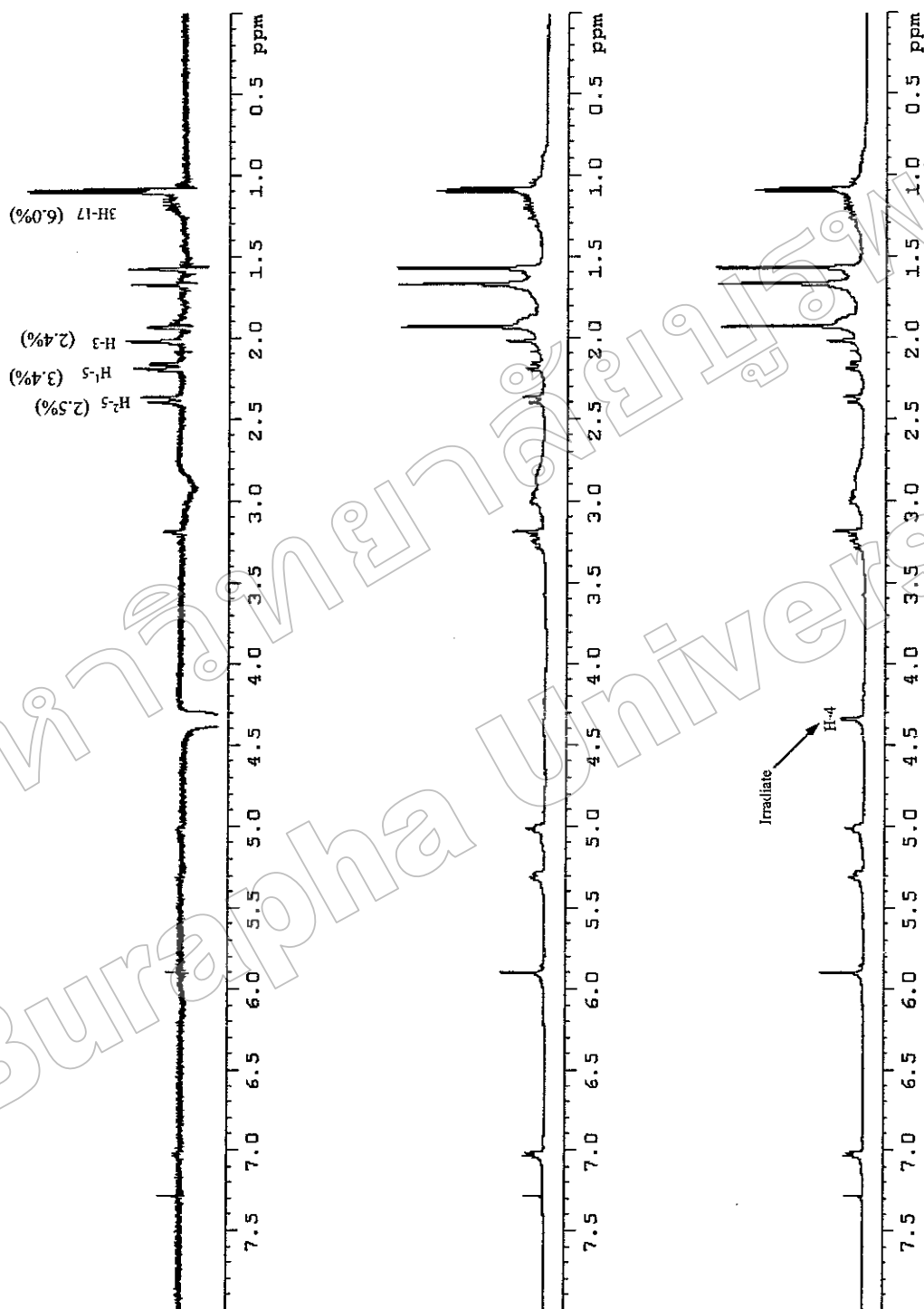
ภาพที่ 4-37 สเปกตรัม NOESY ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone



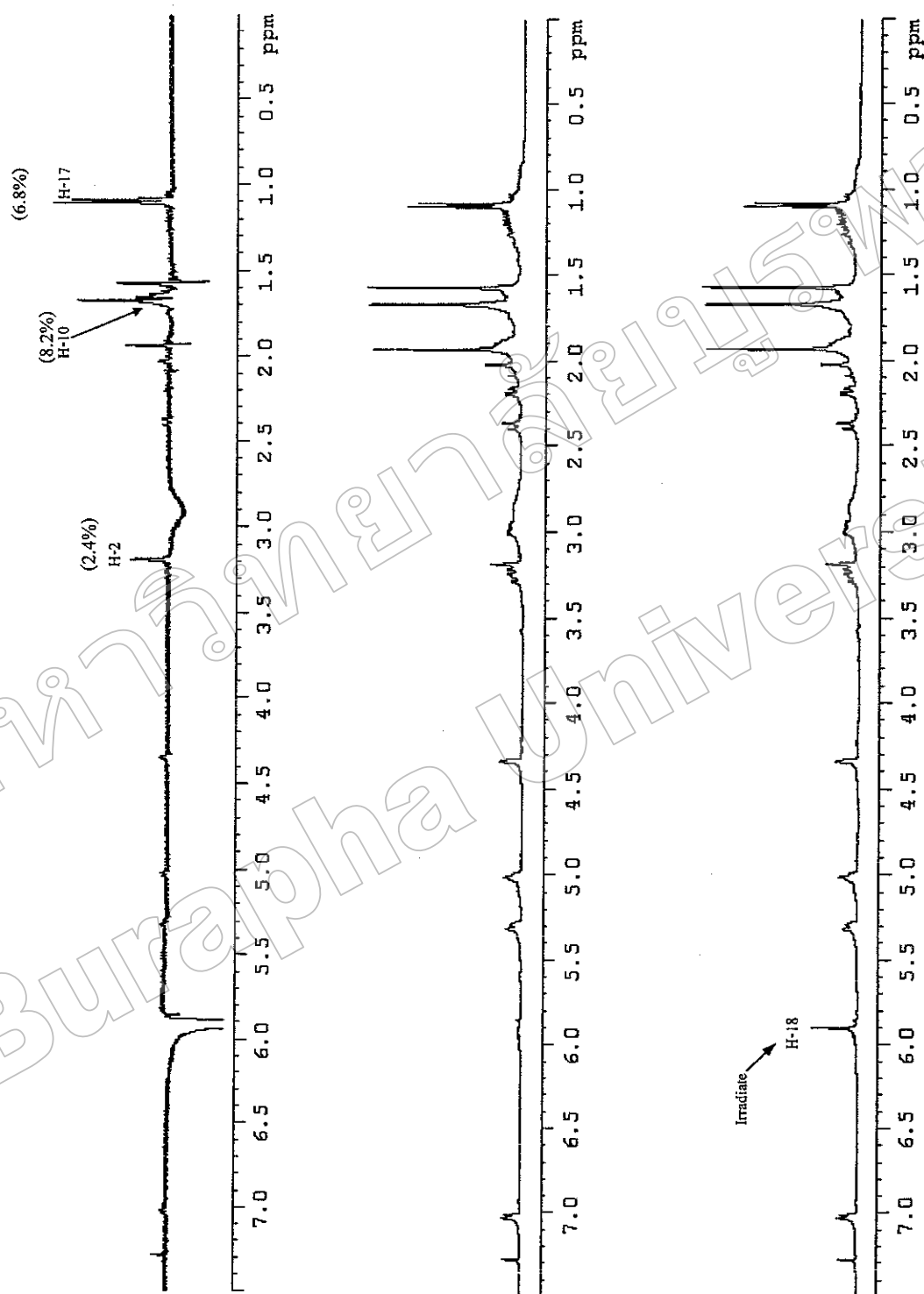
ภาพที่ 4-38 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydicytolactone โดย Irradiate ที่ H-2



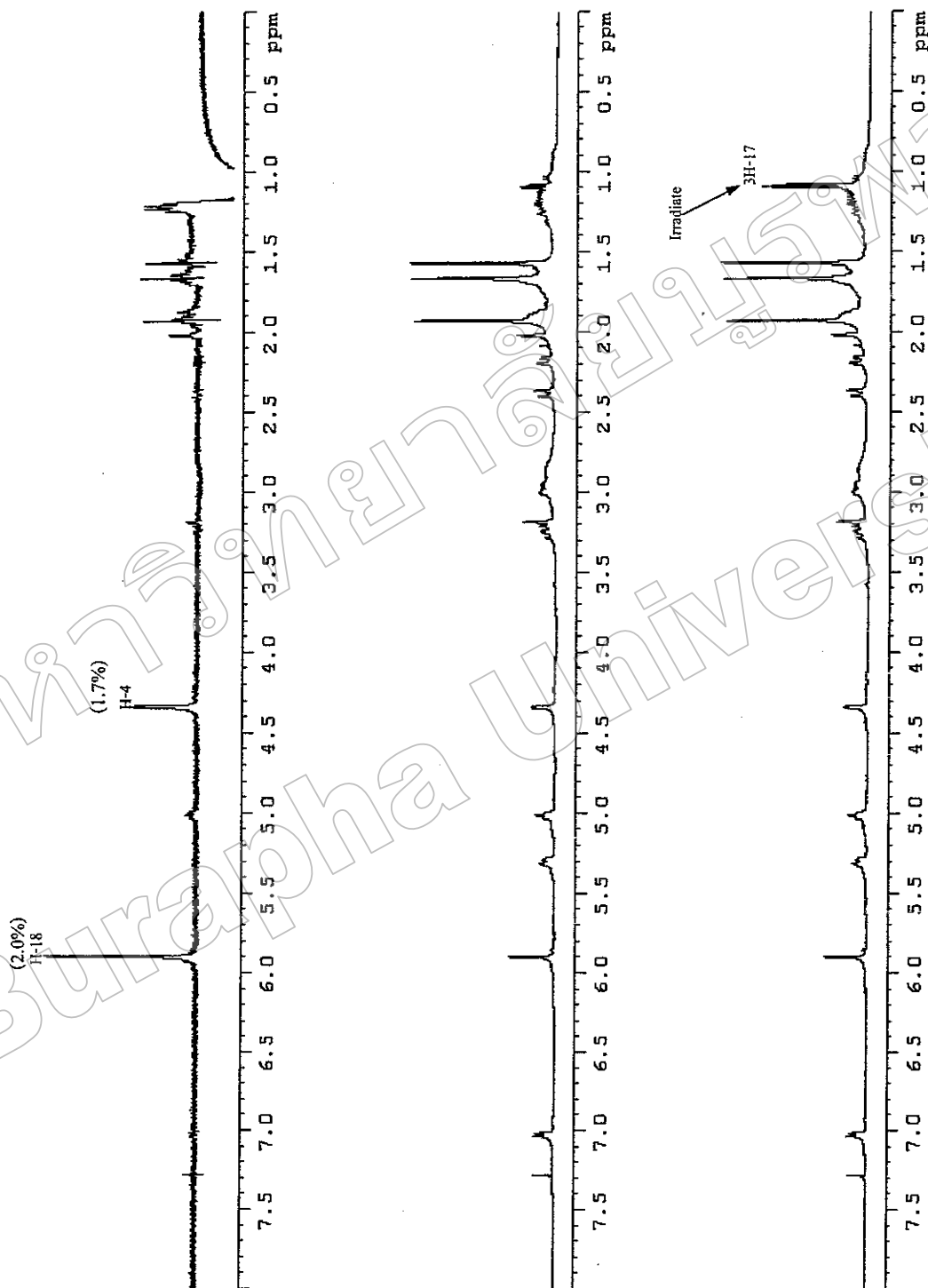
ภาพที่ 4-39 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ H-3



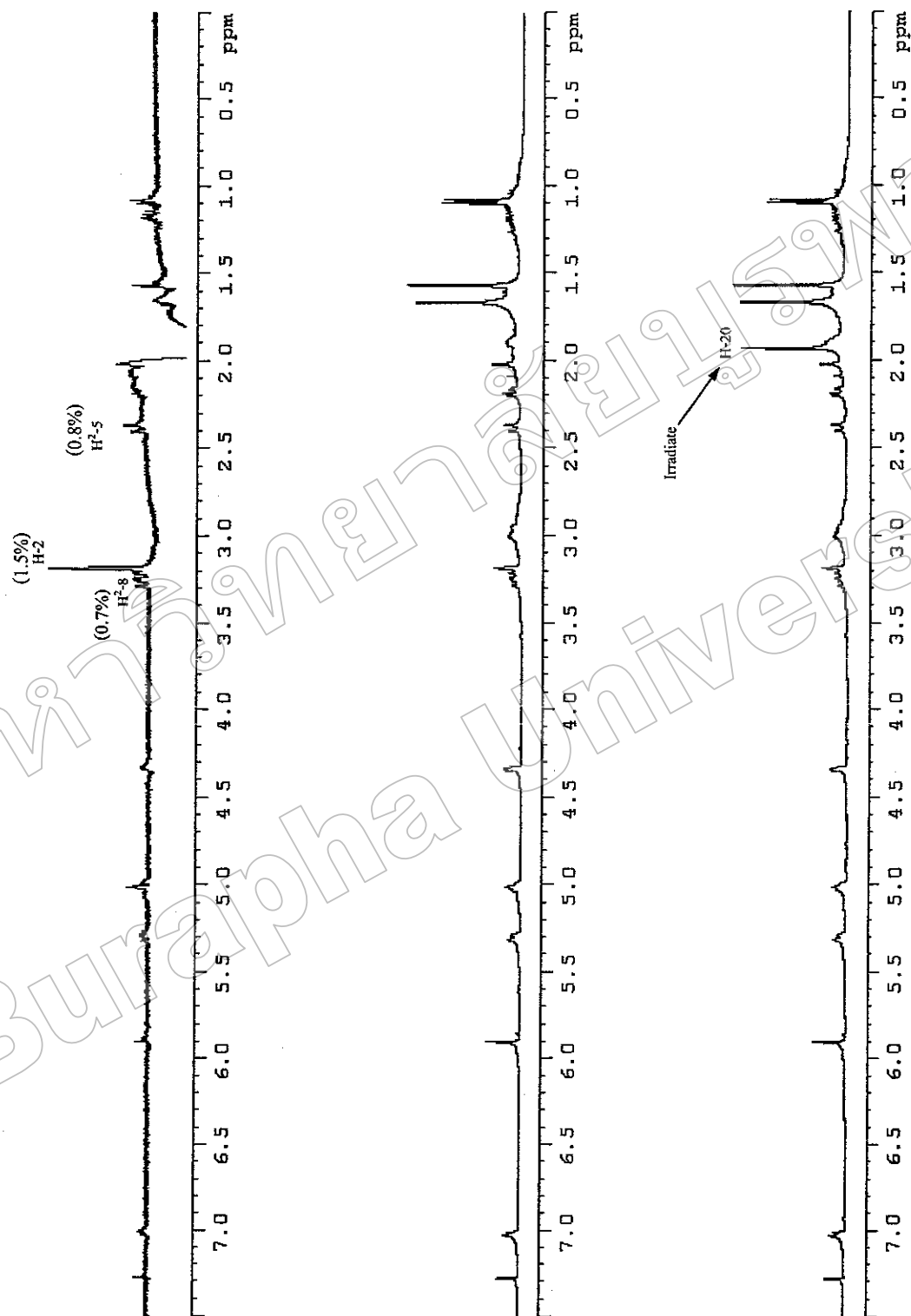
ภาพที่ 4-40 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ H-4



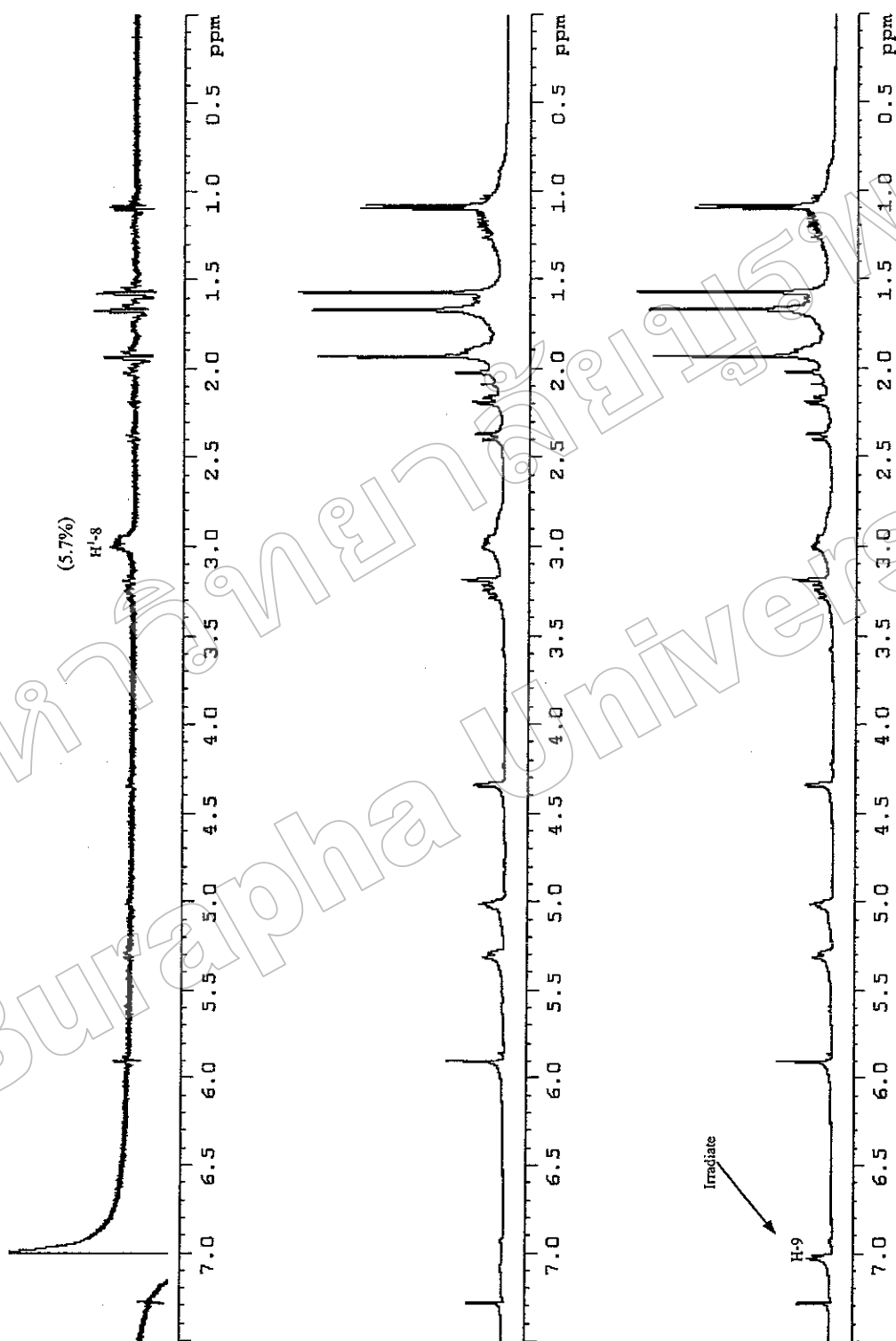
ภาพที่ 4-41 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ H-18



ภาพที่ 4-42 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ H-17



ภาพที่ 4-43 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ H-20



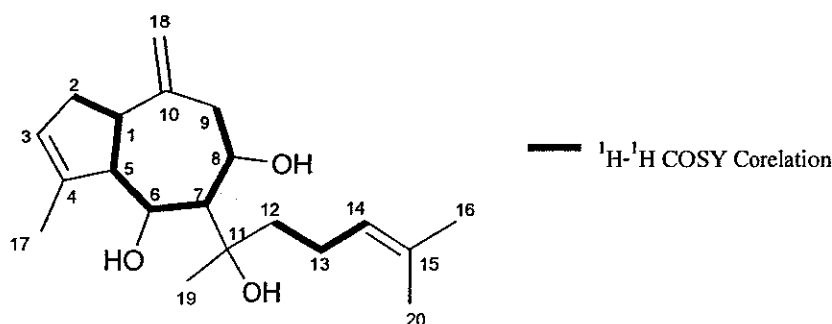
ภาพที่ 4-44 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4,18-Dihydroxydictyolactone โดย Irradiate ที่ $\text{H}-9$

6. โครงสร้างของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A

8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A แสดงการหมุนระนาบแสงโพลาไรซ์ $[\alpha]_D^{20} +11^\circ$ (c 3.06 x 10⁻² M, CH₂Cl₂); UV (c 3.40x10⁻⁴ M, CH₂Cl₂) $\lambda_{max} = 228$ nm (ϵ 6756); IR (CH₂Cl₂): $\nu_{max} = 3478, 3352, 3044, 2960, 1639, 1450, 1410, 1385$ cm⁻¹; HR ESIMS ให้ m/z 343.2247 [M+Na]⁺ (Calcd C₂₀H₃₂O₃Na; 343.2249) ได้สูตรโมเลกุล C₂₀H₃₂O₃ มีค่าความไม่อิ่มตัวเท่ากับ 5 สเปกตรัม ¹³C NMR (ภาพที่ 4-50) แสดงจำนวนสัญญาณทั้งหมด 20 สัญญาณ จากเทคนิค DEPT 90 และ 135 (ภาพที่ 4-50) ทำให้ทราบชนิดคาร์บอน คือ Methyl Carbon 4 สัญญาณ Methylene Carbon 5 สัญญาณ Methine Carbon 7 สัญญาณ และ Quaternary Carbon 4 สัญญาณ นอกจากนี้สเปกตรัม ¹³C NMR ยังแสดงสัญญาณของ sp² Carbon 6 สัญญาณ 3 พันธะคู่ ที่ δ 124.4 (C-3), 141.1 (C-4), 147.6 (C-10), 124.1 (C-14), 132.0 (C-15) และ 111.1 (C-18) จากค่าความไม่อิ่มตัวและจำนวนพันธะคู่ แสดงว่าโครงสร้างนี้เป็น Bicyclic Diterpene

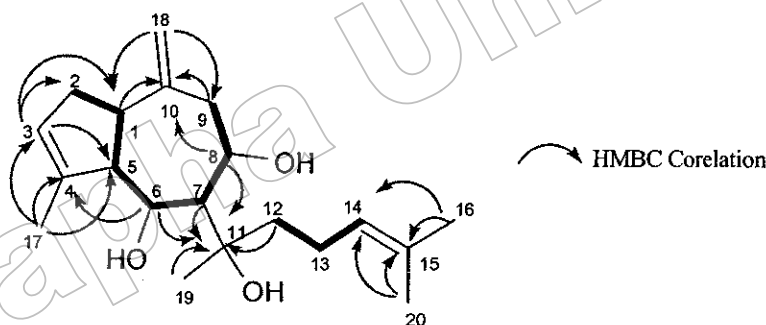
ข้อมูลสเปกตรัม HMQC (ภาพที่ 4-51) ทำให้ทราบตำแหน่งของโปรตอนแต่ละสัญญาณของคาร์บอนแต่ละตัว (ดังตารางที่ 4-9) ¹H-NMR (ภาพที่ 4-49) แสดง Methyl Singlet 4 สัญญาณ ที่ δ 1.68 (H-16), 1.78 (H-17), 1.45 (H-19) และ 1.60 (H-20) Exo-Methylene ที่ 4.85 (H¹-18) และ 4.92 (H²-18) Geminal Methylene Proton ที่ δ 2.46 (H¹-9) และ 2.97 (H²-9) Olefinic Proton 2 สัญญาณ ที่ δ 5.34 (H-3) และ 5.12 (H-14) และมีสัญญาณ sp³ Methine Carbon 2 สัญญาณ และ Quaternary Carbon 1 สัญญาณ ที่มีค่า Chemical Shift สูง ที่ 72.1, 4.27 (CH-6), 67.8, 4.35 (CH-8) และ 77.2 (C-11) ตามลำดับ เกิดจากมีหมู่ตั้งอิเล็กตรอน คือ Hydroxy ต่ออยู่

การวิเคราะห์สเปกตรัม ¹H-¹H COSY (ภาพที่ 4-53) ได้ความสัมพันธ์ 2 ส่วน คือ ส่วนที่หนึ่ง (H-2 แสดงกับ H-1, H-5 แสดงกับ H-1 และ H-6, H-7 แสดงกับ H-6 และ H-8, H-8 แสดงกับ H-7 และ H^{1,2}-9) และส่วนที่สอง (H^{1,2}-13 แสดงกับ H-14 และ H-12) ดังแสดงความสัมพันธ์ในภาพที่ 4-45



ภาพที่ 4-45 แสดงความสัมพันธ์โดย ¹H-¹H COSY ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A

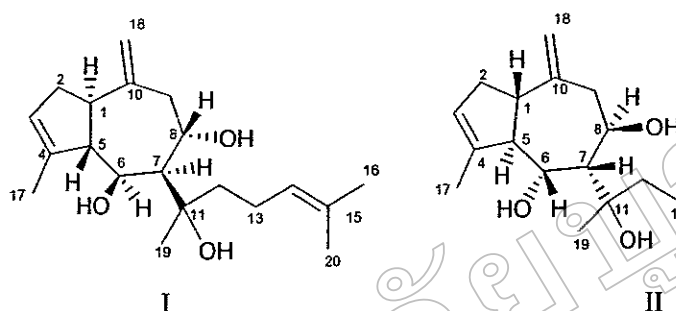
จากข้อมูล HMBC (ภาพที่ 4-52) พบว่า H-17 แสดงความสัมพันธ์กับ C-3, C-4 และ C-5, H-3 แสดงกับ C-2, C-1, C-5 แสดงว่า Methyl (CH₃-17) ต่ออยู่กับ sp² Quaternary Carbon (C-4) ซึ่งเป็นคู่พันธะของ C-3 ที่ต่ออยู่กับ C-2 นอกจากนี้ H-6 แสดงกับ C-4 เมื่อพิจารณาที่ H-3 พบว่าแสดงกับ C-5 ด้วย จึงยืนยันได้ว่า C-5 ต่อกับ C-4 ดังนั้น Bicyclic Diterpene ที่เสนอไว้ตอนแรก วงแรกเป็นวงห้าเหลี่ยม และวงที่สองเป็นวงเจ็ดเหลี่ยมจากความสัมพันธ์ HMBC คาร์บอนที่ตำแหน่ง C-1 ต่อกับ C-9 โดยผ่าน sp² Quaternary Carbon (C-10) ที่ต่อกับหมู่ Exo-Methylene (CH₂-18) จากความสัมพันธ์คือ H-1, H¹-9, H²-9 และ H-8 แสดงกับ C-10 เมื่อพิจารณา H¹-18 และ H²-18 พบว่าแสดงกับ C-1 และ C-9 จากข้อมูลดังกล่าวจึงได้โครงสร้างย่อยที่เป็นวงห้าเหลี่ยมต่อกับวงเจ็ดเหลี่ยมที่ C-1 และ C-5 และพบว่าส่วนที่หนึ่ง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7) ต่อกับส่วนที่สอง (คาร์บอนตำแหน่งที่ 12) โดยผ่าน Quaternary Carbon (C-11) ที่มีหมู่แทนที่สองหมู่เป็น Methyl (CH₃-19) และหมู่ Hydroxy จากความสัมพันธ์คือ H-19, H-7, H-6, H-8 และ H-12 แสดงกับ C-11 เมื่อพิจารณาที่ sp² Methine Carbon (CH-14) พบว่าคู่พันธะคือ sp² Quaternary Carbon (C-15) ที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่เป็น Methyl (CH₃-16, CH₃-20) จากความสัมพันธ์ คือ H-16 และ H-20 แสดงกับ C-14 และ C-15 ดังแสดงความสัมพันธ์ในภาพที่ 4-46



ภาพที่ 4-46 แสดงความสัมพันธ์โดย HMBC ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A

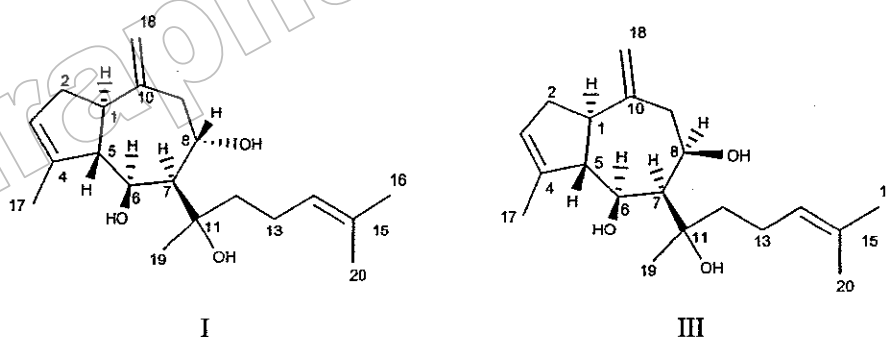
จากโครงสร้างที่ได้พบว่ามี Chiral carbon 6 ตำแหน่ง คือ ที่ C-1, C-5, C-6, C-7, C-8 และ C-11 ที่ต้องบอก Stereochemistry ซึ่งผลที่ได้จากเทคนิค NOESY (ภาพที่ 4-54) พบว่า H-5 แสดงความสัมพันธ์กับ H-8 เท่านั้น ส่วน H-7 ก็แสดงเฉพาะกับ H-6 และ H-1 นอกจากนี้ยังใช้เทคนิค NOE Difference เพื่อยืนยันความสัมพันธ์ดังกล่าว โดย Irradiated H-8 (ภาพที่ 4-55) มีผลทำให้สัญญาณ H-5 (3.8%) และ H-19 (2.3%) สูงขึ้น เมื่อ Irradiated H-7 (ภาพที่ 4-56) ทำให้ H-1 (1.7%) และ H-6 (2.7%) มีสัญญาณขึ้น จากข้อมูลที่ได้จึงได้ความสัมพันธ์ของโปรตอนสองชุด คือ H-5/ H-8 และ H-6/ H-7/ H-1 อยู่ในทิศทางตรงข้ามกัน ส่วน Stereochemistry ที่ C-11 ไม่สามารถ

หาได้เนื่องจาก Irradiate H-19 (ภาพที่ 4-57) ทำให้ H-6 (0.6%), H-7 (1.7%) และ H-8 (0.9%) มีสัญญาณสูงขึ้น ดังนั้น Stereochemistry ของโครงสร้างนี้จึงเป็นไปได้สองแบบ ดังแสดงในภาพที่ 4-47



ภาพที่ 4-47 แสดง Stereochemistry โครงสร้างแบบ I และ II ของ 8,11-Dihydroxypachydictyol A

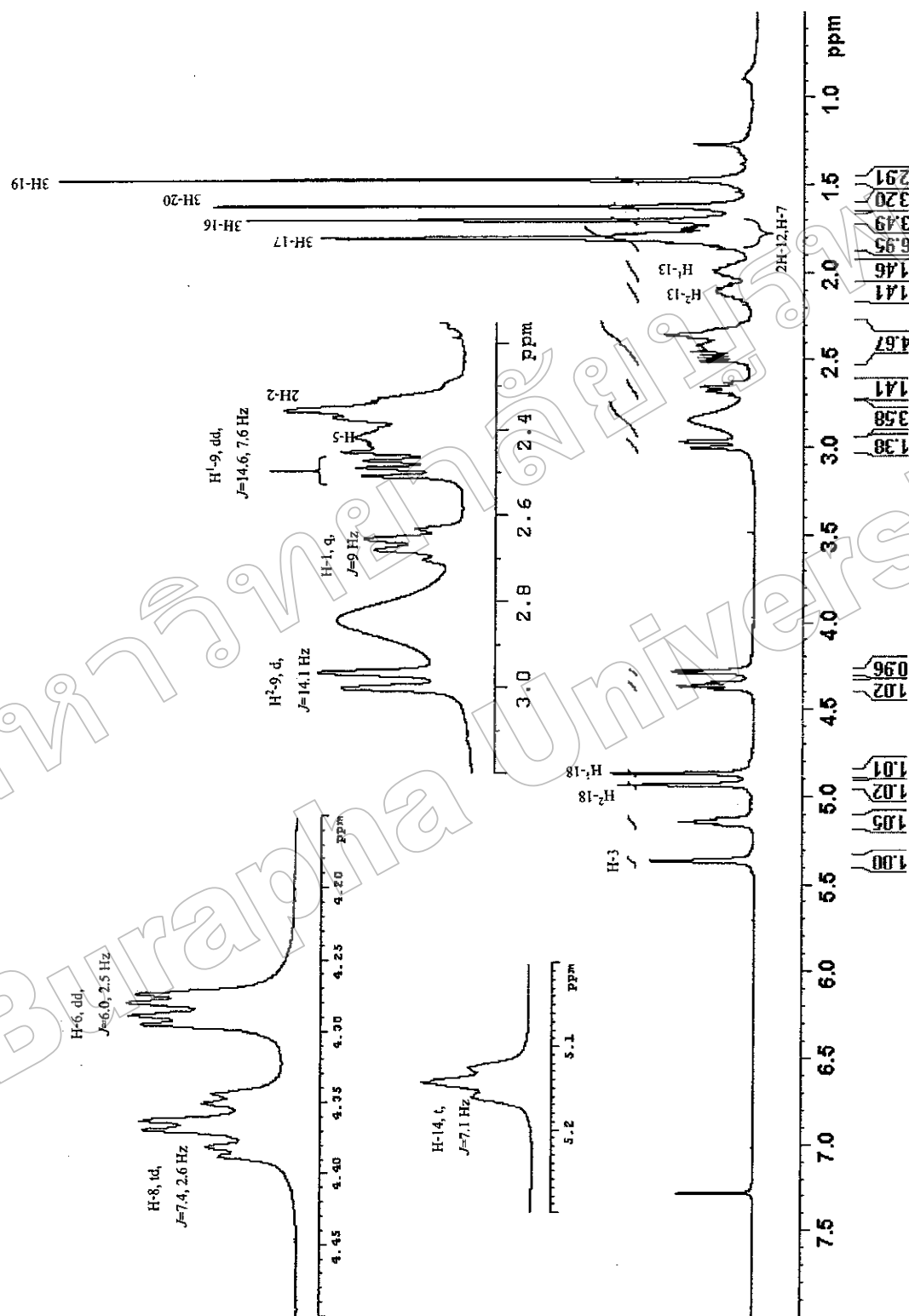
แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ 8 β ,11-Dihydroxypachydictyol A (โครงสร้าง III ภาพที่ 4-48) ซึ่งเคยแยกได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Glossophora kunthii* (De Nys et al., 1993) จึงได้ Relative Stereochemistry ของโครงสร้างแบบ I ซึ่งโครงสร้างทั้งสองแตกต่างกันที่ Chiral Carbon ตำแหน่งที่ C-8 แสดงว่าเป็นสารคนละชนิดกัน แตกต่างกันที่ Stereochemistry ดังนั้นจึงได้สารใหม่เป็น 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A ดังแสดงในภาพที่ 4-48



ภาพที่ 4-48 แสดง Stereochemistry โครงสร้างแบบ I (8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A) กับ โครงสร้าง III (8 β ,11-Dihydroxypachydictyol A)

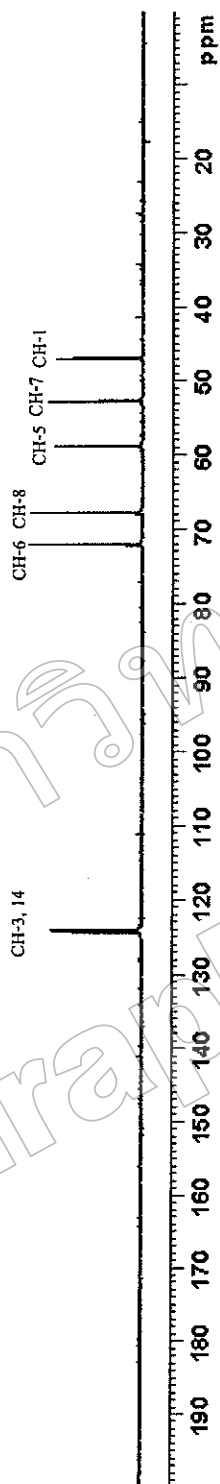
ตารางที่ 4-9 ข้อมูลจากการวิเคราะห์สเปกตรัมของ ^{13}C , ^1H NMR, COSY, HMBC และ NOESY
ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A

No.		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, J = Hz)	COSY	HMBC	NOESY
1	CH	46.9	2.64 q (J =9)	H-2, H-5	C-10, C-5	H-7
2	CH ₂	34.3	2.36 m	H-1	-	H-3, H ² -18
3	CH	124.4	5.37 s	-	C-1, C-2, C-5,	H-17, H-2
4	C	141.1	-	-	-	-
5	CH	58.9	2.42 m	H-1, H-6	-	H-8
6	CH	72.1	4.27 dd (J =7.4, 2.5)	H-7, H-5	C-4, C-5, C-7, C-8, C-11	H-7
7	CH	52.8	1.78 dd (J =7.4, 2.5)	H-6, H-8	C-5, C-6, C-8, C-11	H-6, H-1
8	CH	67.8	4.35 td (J =7.4, 2.6)	H-7, H ¹ -9, H ² -9	C-6, C-7, C-9, C-10, C-11	H-5, H ² -9
9	CH ₂	46.9	H ¹ 2.48 dd (J =14.6, 7.5)	H ² -9, H-8	C-1, C-7, C-8, C-10, C-18	H ² -9, H ² -18
			H ² 2.98 d (J =14.1)	H ¹ -9, H-8	C-1, C-7, C-8, C-10, C-18	H ¹ -9, H-8, H ² -18
10	C	147.6	-	-	-	-
11	C	77.2	-	-	-	-
12	CH ₂	41.4	1.80 m	H ¹ -13, H ² -13	C-14, C-13, C-11	-
13	CH ₂	23.1	H ¹ 1.98 br m	H ² -13, H-12, H-14	C-15, C-14	-
			H ² 2.10 br m	H ¹ -13, H-12, H-14	C-15, C-14	-
14	CH	124.1	5.12 t (J = 7.1)	H ¹ -13, H ² -13	C-20, C-16	H-16
15	C	132.0	-	-	-	-
16	CH ₃	25.7	1.70 s	-	C-20, C-15, C-14	H-14
17	CH ₃	15.0	1.80 s	-	C-3, C-5, C-4	H-3
18	CH ₂	111.1	H ¹ 4.87 s	-	C-9, C-1	H-2
			H ² 4.93 s	-	C-9, C-1	H ¹ -9, H ² -9
19	CH ₃	27.5	1.47 s	-	C-12, C-11, C-7	-
20	CH ₃	17.7	1.62 s	-	C-15, C-14, C-16	-

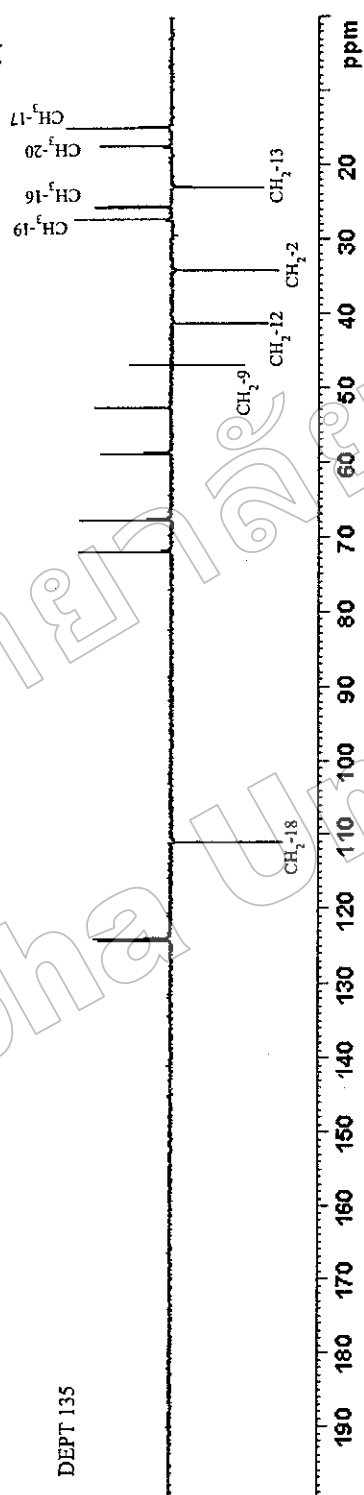
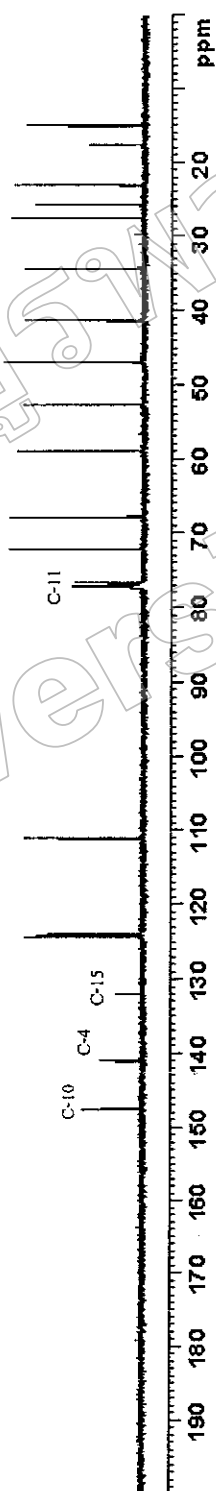


ภาพที่ 4-49 สเปกตรัม ¹H NMR ของ 8α,11-Dihydroxypachydictyol A

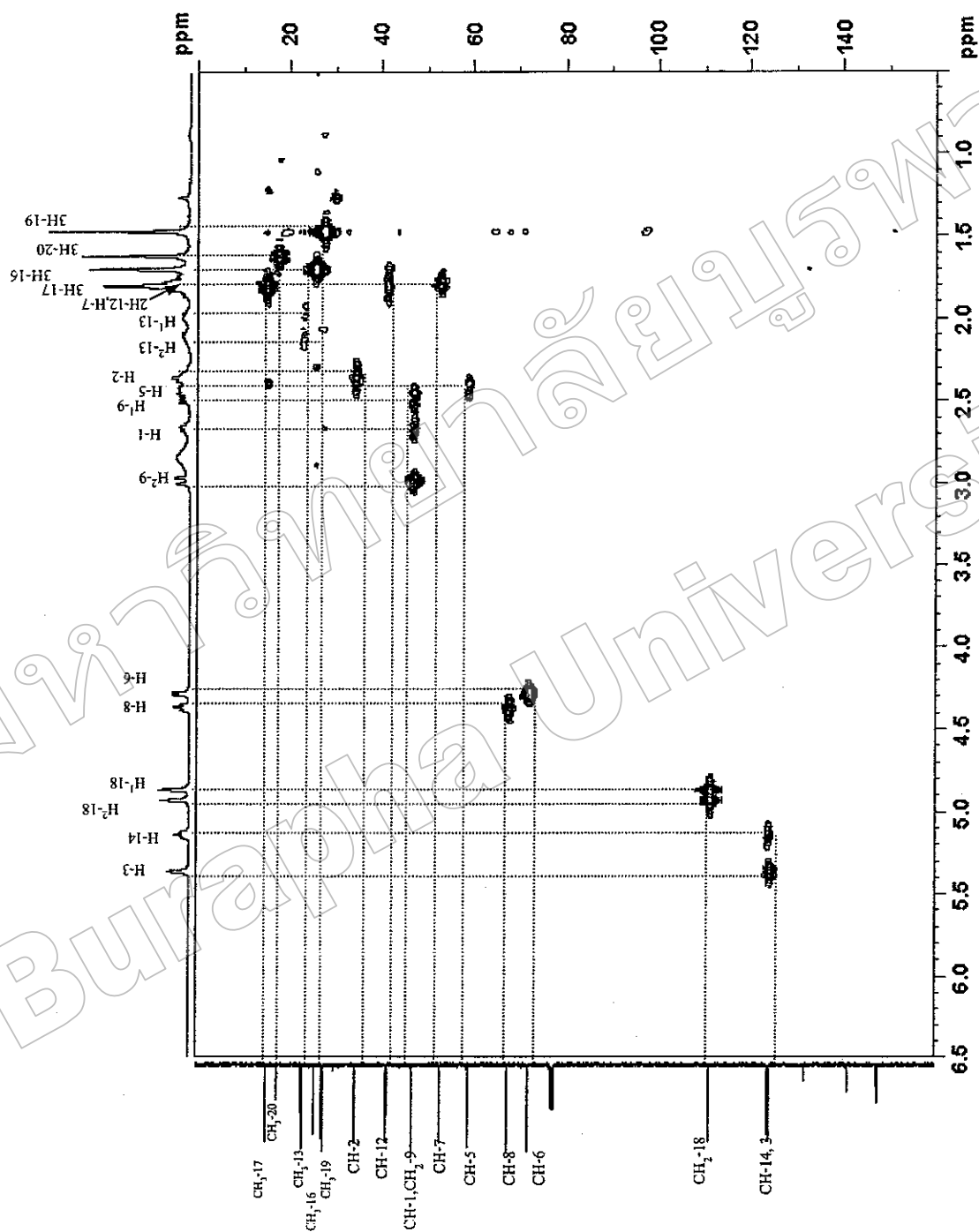
DEPT 90



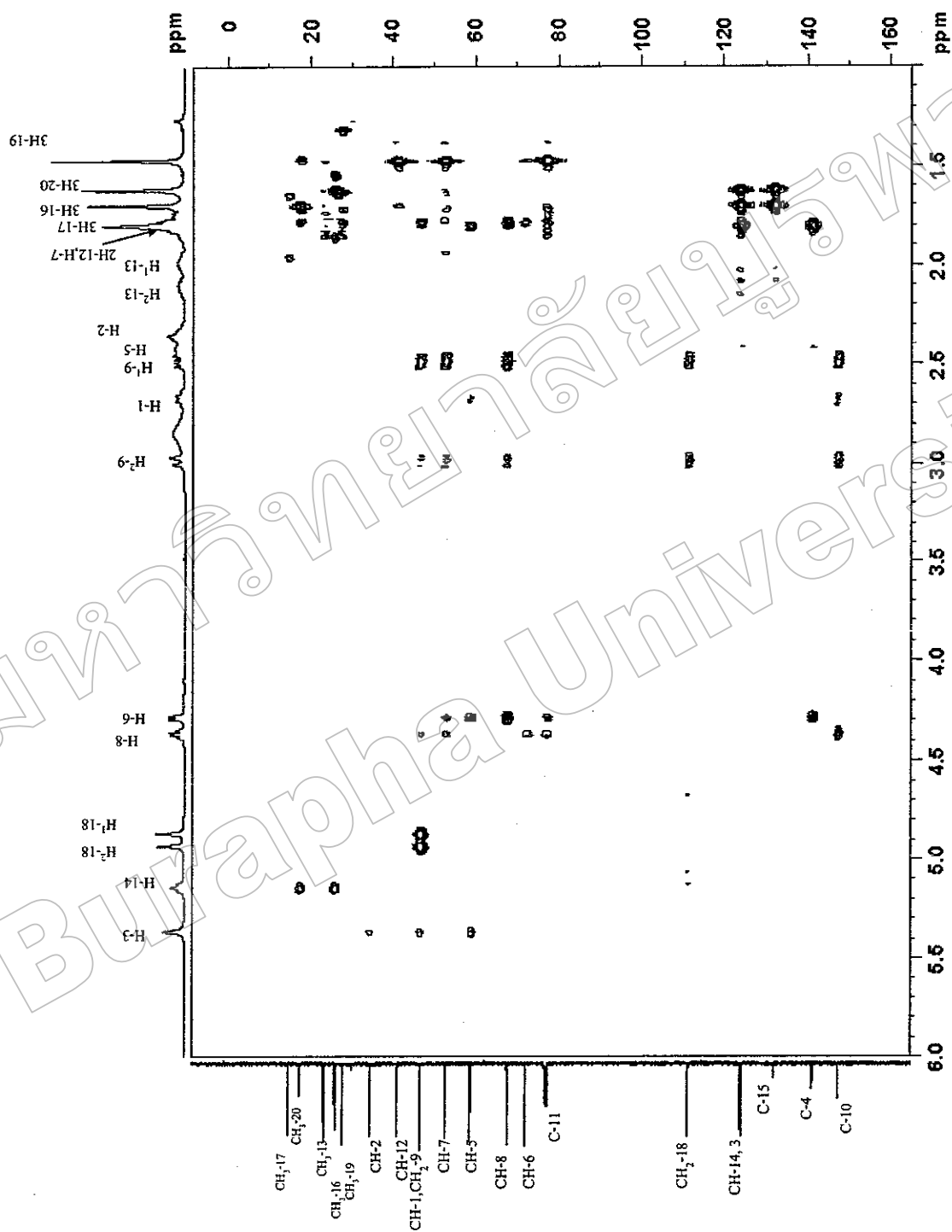
DEPT 135

¹³C NMR

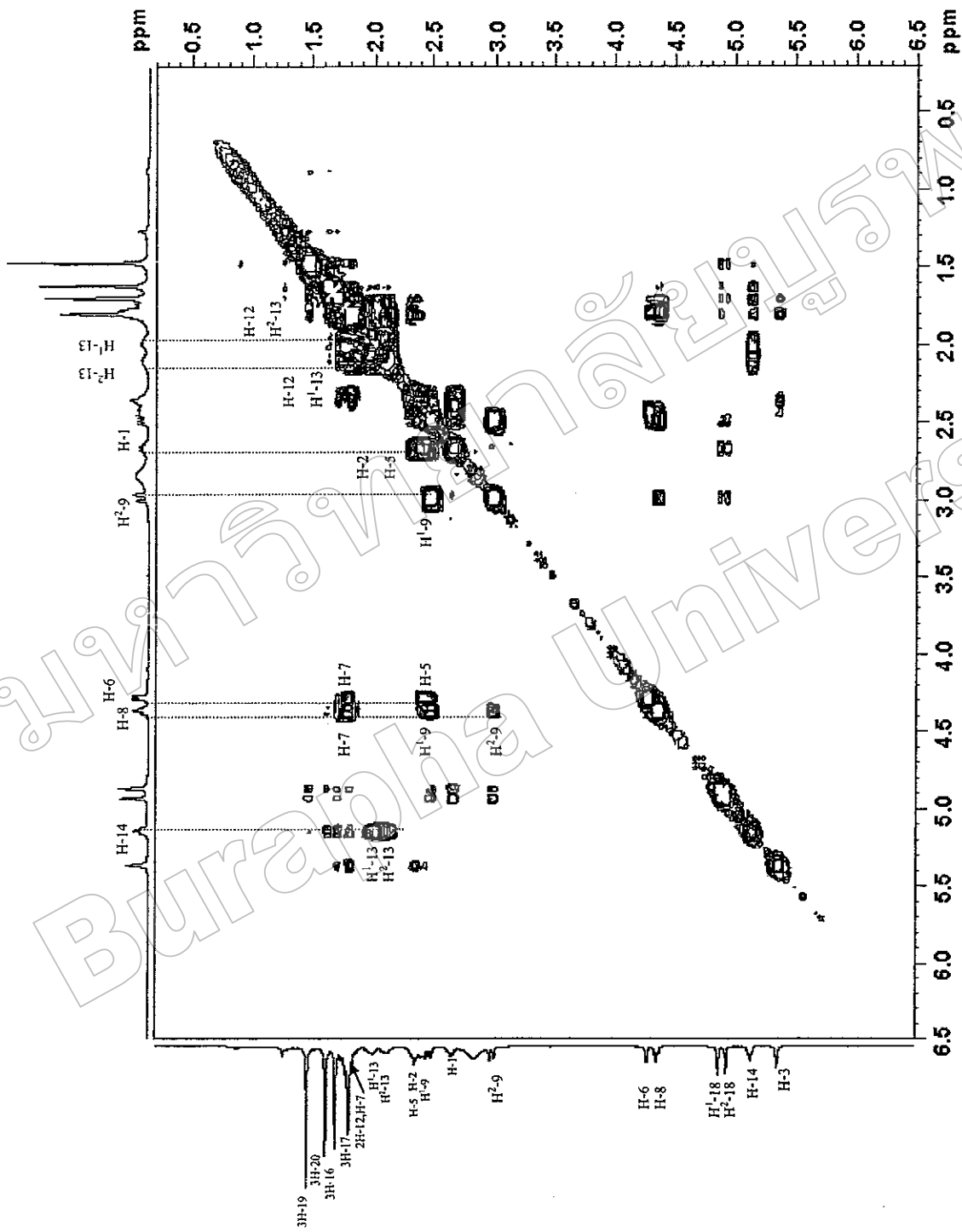
ภาพที่ 4-50 สเปกตรัม ¹³C NMR, DEPT 135 และ DEPT 90 ของ 8α, 11-Dihydroxypachydictyol A



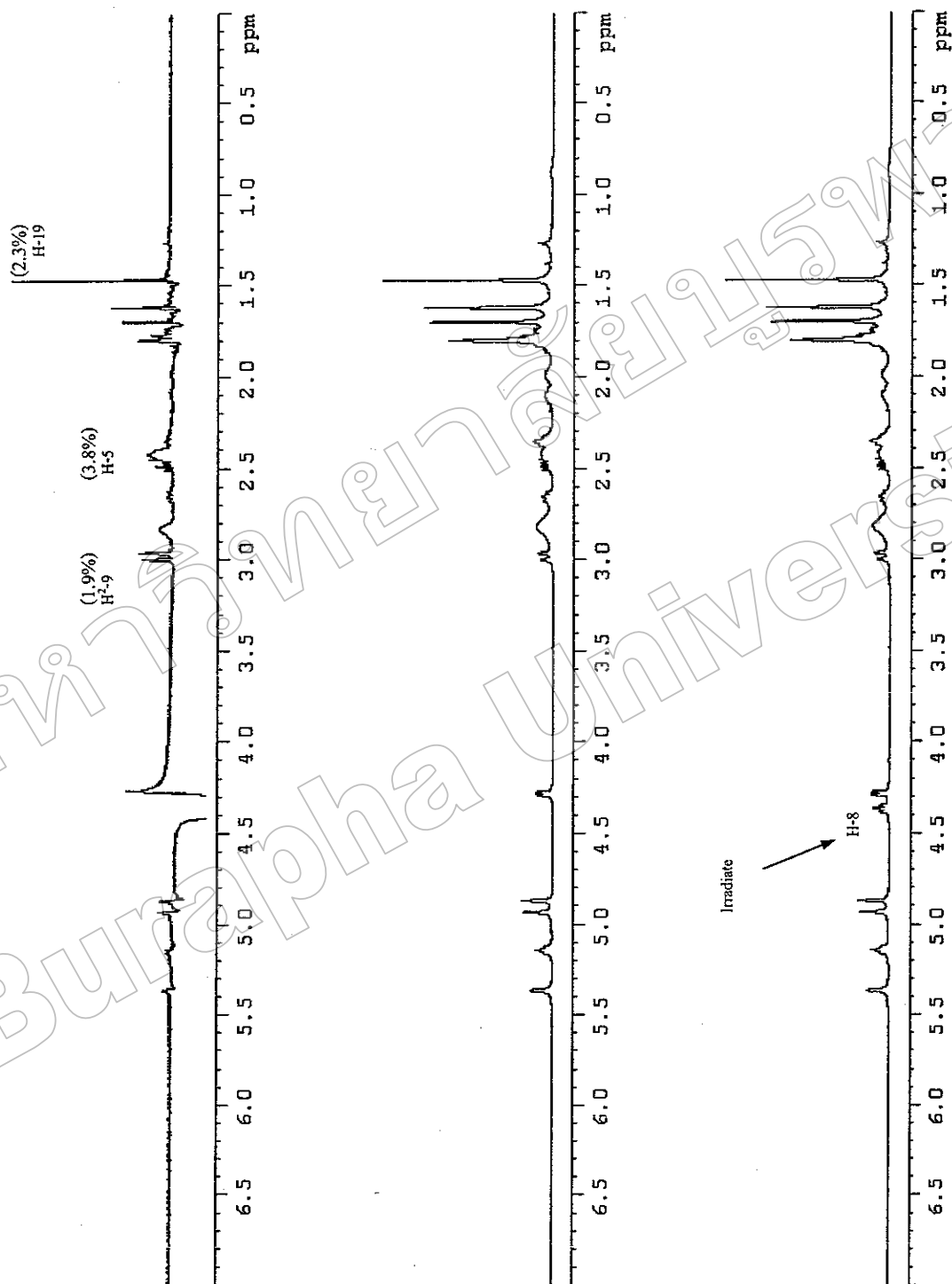
ภาพที่ 4-51 สเปกตรัม HMQC ของ 8α,11-Dihydroxypachydictyol A



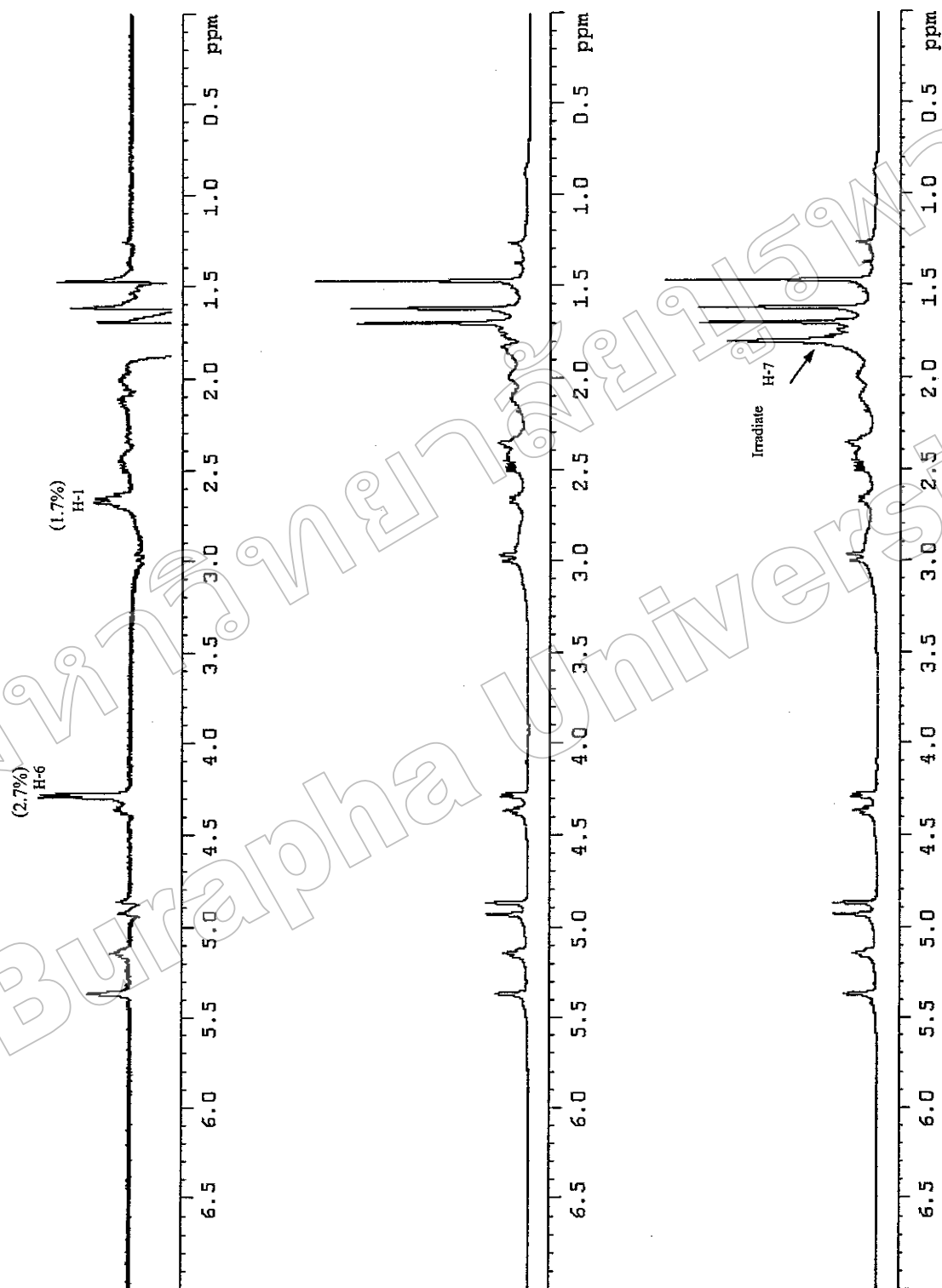
ภาพที่ 4-52 สเปกตรัม HMBC ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A



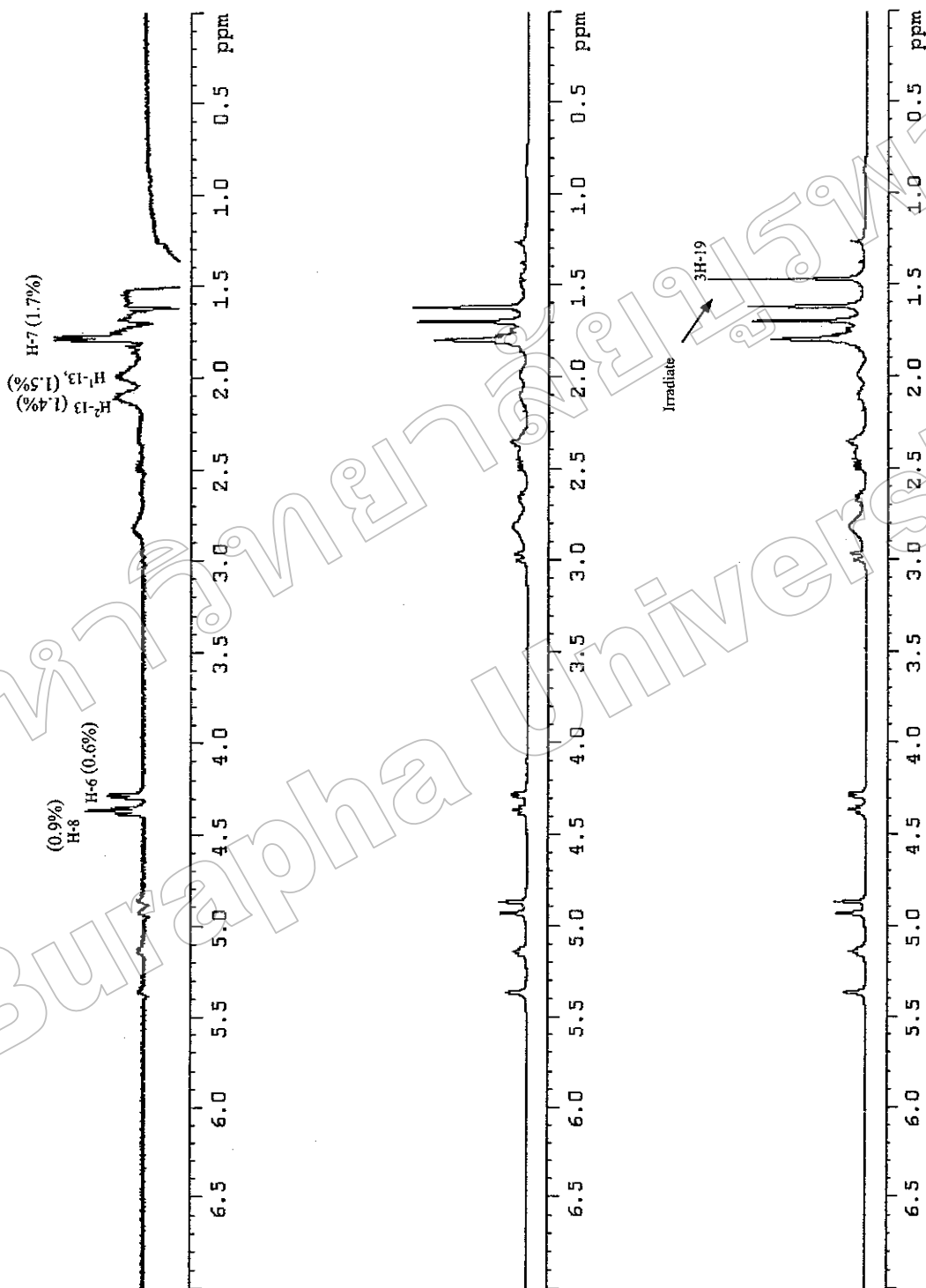
ภาพที่ 4-53 สเปกตรัม COSY ของ 8α,11-Dihydroxypachydictyol A



ภาพที่ 4-55 สเปกตรัม NOE Difference ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A โดย Irradiate ที่ H-8



ภาพที่ 4-56 สเปกตรัม NOE Difference ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A โดย Irradiate ที่ H-7

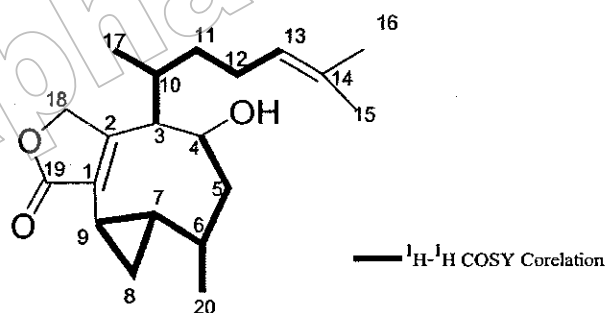


ภาพที่ 4-57 สเปกตรัม NOE Difference ของ 8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A โดย Irradiate ที่ H-19

7. โครงสร้างของ 4 α -Hydroxycrenulide

จากการวิเคราะห์สเปกตรัม ^{13}C NMR (ภาพที่ 4-62) แสดงจำนวนสัญญาณทั้งหมด 20 สัญญาณ จากเทคนิค DEPT 90 และ DEPT 135 (ภาพที่ 4-62) ทำให้ทราบชนิดคาร์บอนแต่ละสัญญาณ คือ Methyl 4 สัญญาณ Methylene 5 สัญญาณ Methine 7 สัญญาณ และ Quaternary 4 สัญญาณ จากสเปกตรัม ^{13}C NMR มี 5 สัญญาณเป็น sp^2 Carbon คือที่ δ 128.1 (C-1), 168.5 (C-2), 123.7 (C-13) และ 132.3 (C-14) แสดงลักษณะของคาร์บอนที่เป็นพันธะคู่ 2 พันธะ และอีก 1 พันธะ ที่ δ 174.8 (C-19) เป็นหมู่ Carbonyl

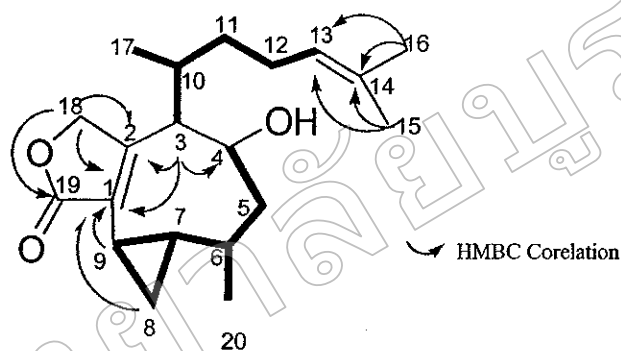
สเปกตรัม HMQC (ภาพที่ 4-63) ทำให้ทราบตำแหน่งของโปรตอนแต่ละสัญญาณของคาร์บอนแต่ละตัว (ดังแสดงในตารางที่ 4-10) ^1H -NMR (ภาพที่ 4-61) แสดง Methyl Singlet 2 สัญญาณ Methyl Triplet 2 สัญญาณ เมื่อพิจารณาสัญญาณที่ δ 4.34, 69.9 (CH-4) และ 4.71, 4.97, 72.4 (CH-18) มีค่า Chemical Shift สูง เป็นผลมาจากมีหมู่ดิ่งอิเล็กตรอน คือ Hydroxy ที่ C-4 และมีหมู่ Ester Lactone ที่ C-18 จากนั้นหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างโดยใช้ข้อมูลจาก ^1H - ^1H COSY (ภาพที่ 4-65) ได้รับความสัมพันธ์ 2 ส่วนคือ ส่วนที่หนึ่ง (H-5 แสดงกับ H-4 และ H-6, H-6 แสดงกับ 3H-20, H-5 และ H-7, H-8 แสดงกับ H-9 และ H-7, H-9 แสดงกับ H-7 และ H-8) จากข้อมูลนี้จึงพบส่วนที่หนึ่งมีลักษณะเด่นเป็นวงสามเหลี่ยมที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7, 8 และ 9 และส่วนที่สอง (H-10 แสดงกับ H-3, H-17 และ H-11, H-12 แสดงกับ H-11 และ H-13) ดังแสดงในภาพที่ 4-58



ภาพที่ 4-58 แสดงความสัมพันธ์โดย ^1H - ^1H COSY ของ 4 α -Hydroxycrenulide

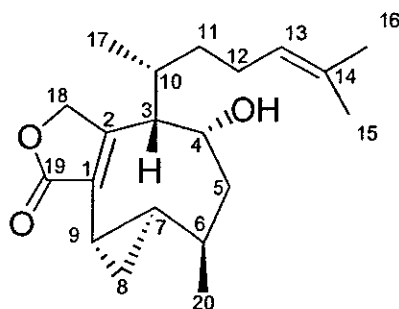
จากนั้นเชื่อมต่อโครงสร้างด้วยความสัมพันธ์ของ HMBC (ภาพที่ 4-64) พิจารณาส่วนที่สอง (ที่ตำแหน่ง C-13) พบว่า C-13 ต่อกับ sp^2 Quaternary Carbon C-14 ที่มีหมู่ Methyl สองหมู่ต่ออยู่ จากความสัมพันธ์ คือ H-15 และ H-16 แสดงกับ C-13 และ C-14 ส่วนที่หนึ่ง (ที่ตำแหน่ง C-4) ต่อกับส่วนที่สอง (ที่ตำแหน่ง C-3) จากความสัมพันธ์คือ H-3 แสดงกับ C-4 จากข้อมูลดังกล่าว

แสดงว่า C-3 เชื่อมต่อ C-4 นอกจากนี้ H-3 ยังแสดงความสัมพันธ์กับ sp^2 Carbon C-2 และ C-1 เมื่อพิจารณาที่ H-9 และ H-8 พบว่าแสดงกับ C-1 จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่า C-3 และ C-9 เชื่อมต่อกัน โดยผ่าน $C(1)=C(2)$ เมื่อพิจารณาที่ H-18 พบว่าแสดงความสัมพันธ์กับ C-2, C-1 และ C-19 จากข้อมูลส่วนนี้จึงได้วงแหวนของ Lactone เชื่อมต่อกับวงแปดเหลี่ยมที่ C-1 และ C-2 ดังแสดงความสัมพันธ์ในภาพที่ 4-59



ภาพที่ 4-59 แสดงความสัมพันธ์โดย HMBC ของ 4 α -Hydroxycrenulide

นอกจากนี้โครงสร้างที่ได้พบว่ามี Chiral Carbon 6 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่ง C-3, C-4, C-6, C-7, C-9 และ C-10 จากนั้นหา Stereochemistry โดยใช้เทคนิค NOE difference พบว่า เมื่อทำการ Irradiate ที่ H-4 (ภาพที่ 4-66) มีผลทำให้ H-3 (1.7%), H-10 (2.3%) และ 3H-20 (5.5%) มีสัญญาณสูงขึ้น Irradiate ที่ H-7 (ภาพที่ 4-67) มีผลทำให้ H-3 (0.7%), H-4 (0.9%) และ H-9 (2.5%) มีสัญญาณสูงขึ้น และ Irradiate ที่ 3H-20 (ภาพที่ 4-68) มีผลทำให้ H-3 (0.9%), H-4 (1.1%) และ H-10 (1.3%) มีสัญญาณสูงขึ้น จากความสัมพันธ์ดังกล่าวจึงพบว่า H-3, H-4, H-7, H-9, H-10 และ 3H-20 อยู่ในทิศทางเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับโครงสร้างที่เคยมีรายงาน (Midland, Wing, Konig, & Sims, 1983) จึงได้ Relative Stereochemistry ดังแสดงในภาพที่ 4-60

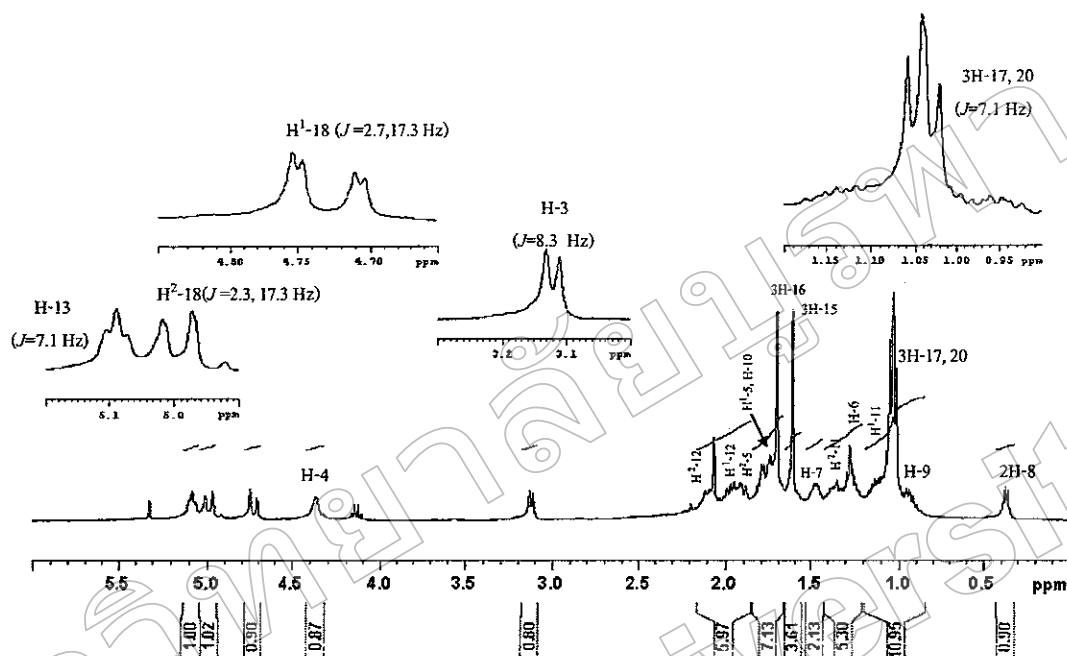


ภาพที่ 4-60 แสดงโครงสร้างที่มี Stereochemistry ของ 4 α -Hydroxycrenulide

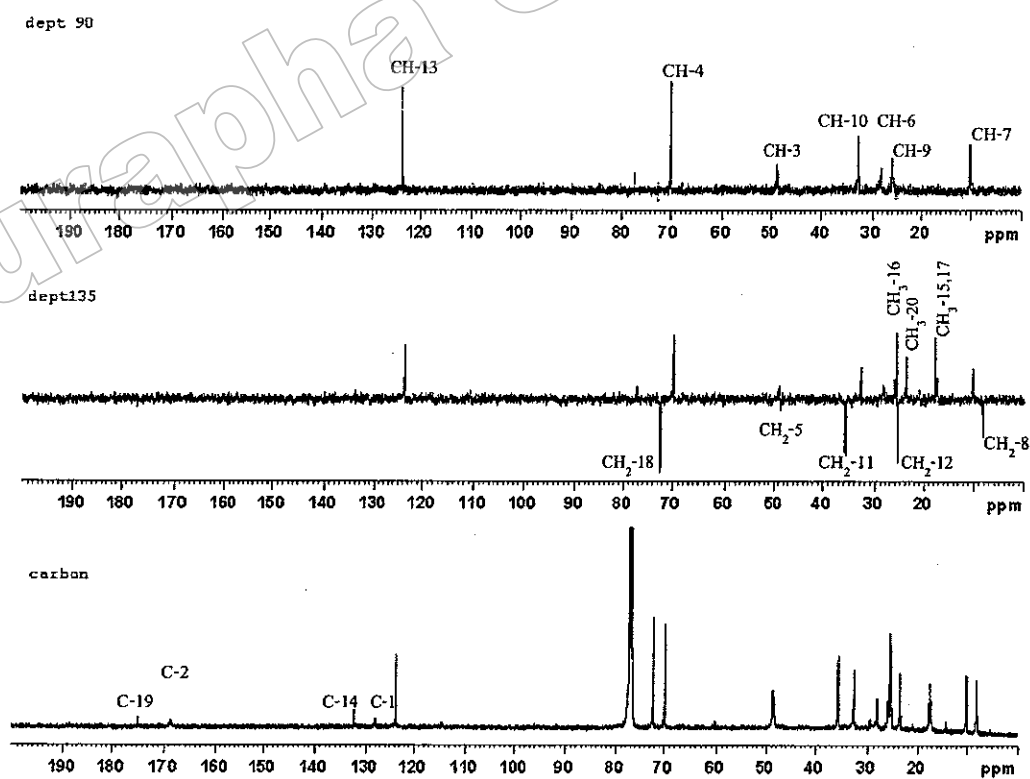
ตารางที่ 4-10 ข้อมูลจากการวิเคราะห์สเปกตรัมของ ^{13}C , ^1H NMR, COSY, HMBC

ของ 4 α -Hydroxycrenulide

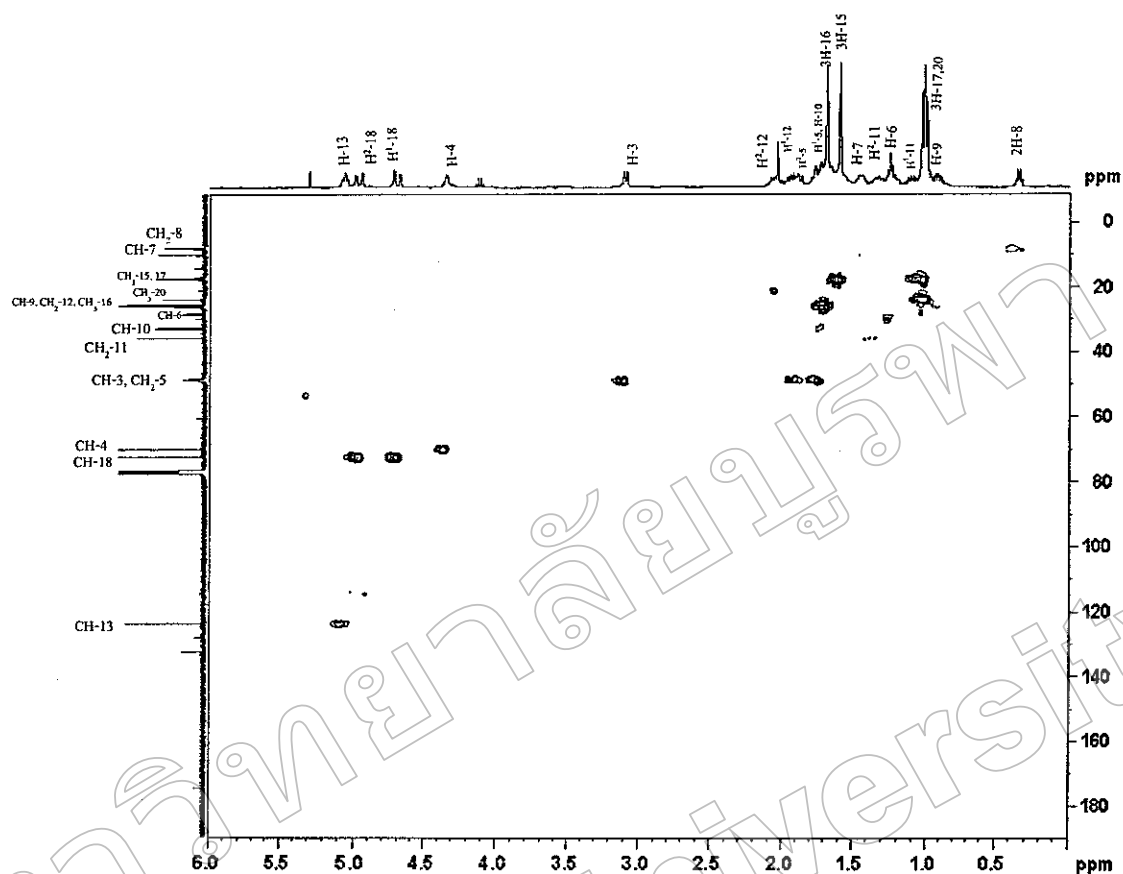
No		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=\text{Hz}$)	COSY	HMBC
1	C	128.1	-	-	-
2	C	168.8	-	-	-
3	CH	48.8	3.10 br d ($J=8.3$)	H-10	C-17, C-10, C-11, C-4, C-1, C-2
4	CH	69.9	4.34 br s	H ¹ -5, H ² -5	-
5	CH ₂	48.6	1.73 m	H ² -5, H-6, H-4	C-6, C-3, C4
			1.88 m	H ¹ -5, H-4	C-6
6	CH	28.4	1.24 m	H ² -5, H-7, H-20	-
7	CH	10.1	1.45 m	H-6, H-8, H-9	-
8	CH ₂	8.2	0.35 q ($J=5.3$)	H-20, H-7, H-9	C-7, C-9, C-6, C-1
9	CH	26.1	0.96 m	H-8, H-7	C-1, C-20
10	CH	32.7	1.72 m	H-11	C-13, C-14, C-17
11	CH ₂	35.7	1.10 m	H ² -11, H ¹ -12, H ² -12, H-10	C-10, C-12, C-13
			1.34 m	H ¹ -11, H ¹ -12, H ² -12, H-10	-
12	CH ₂	25.5	1.95 m	H ² -11, H ¹ -11, H ² -12	C-11, C-13, C-14
			2.07 m	H ² -11, H ¹ -11, H ¹ -12	C-11, C-13, C-14
13	CH	123.7	5.06 t ($J=7.1$)	H ¹ -12, H ² -12, H-15, H-16	C-15, C-16
14	C	132.3	-	-	-
15	CH ₃	17.7	1.59 s	-	C-16, C-13, C-14
16	CH ₃	25.7	1.68 s	-	C-15, C-13, C-14
17	CH ₃	17.4	1.02 t ($J=7.1$)	H-10	C-12, C-10, C-11
18	CH ₂	72.4	4.71 dd ($J=17.3, 2.7$)	H ² -18	C-1, C-2, C-19
			4.97 dd ($J=17.3, 2.3$)	H ¹ -18	C-1, C-2
19	C=O	174.8	-	-	-
20	CH ₃	23.8	1.02 t ($J=7.1$)	H-6, H-8	C-6, C-7, C-5



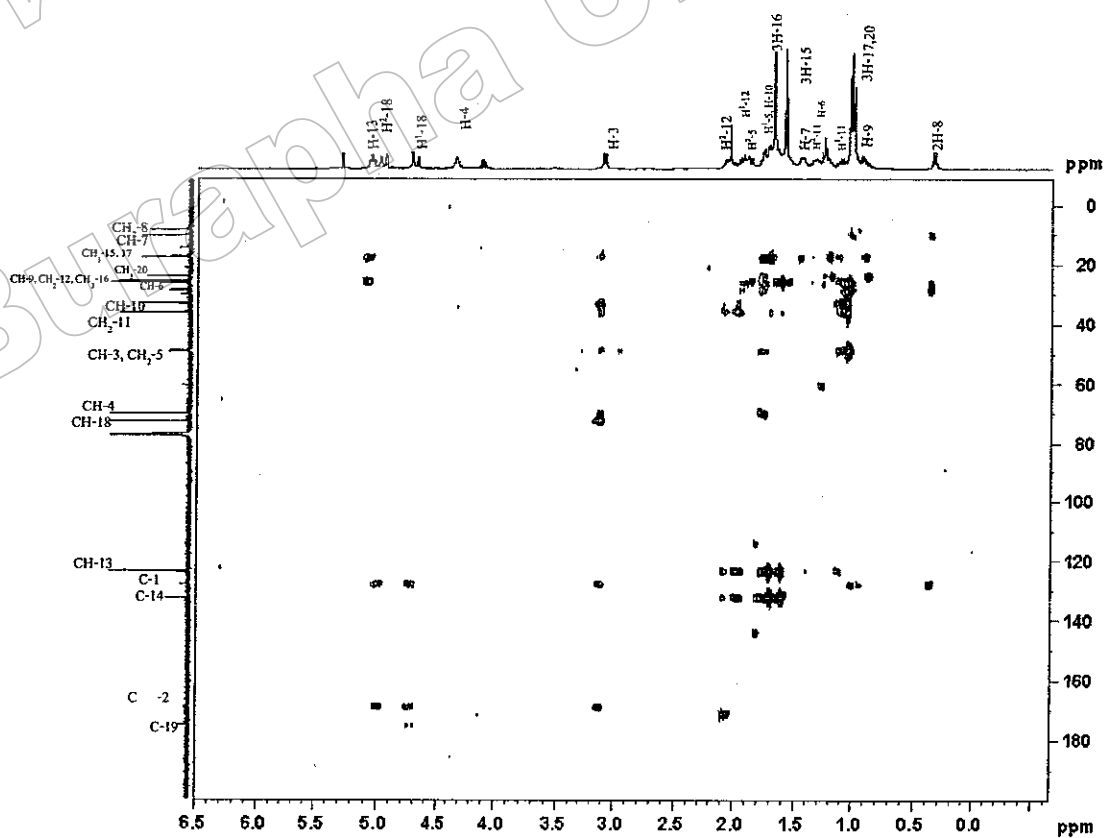
ภาพที่ 4-61 สเปกตรัม ^1H NMR ของ 4 α -Hydroxycrenulide



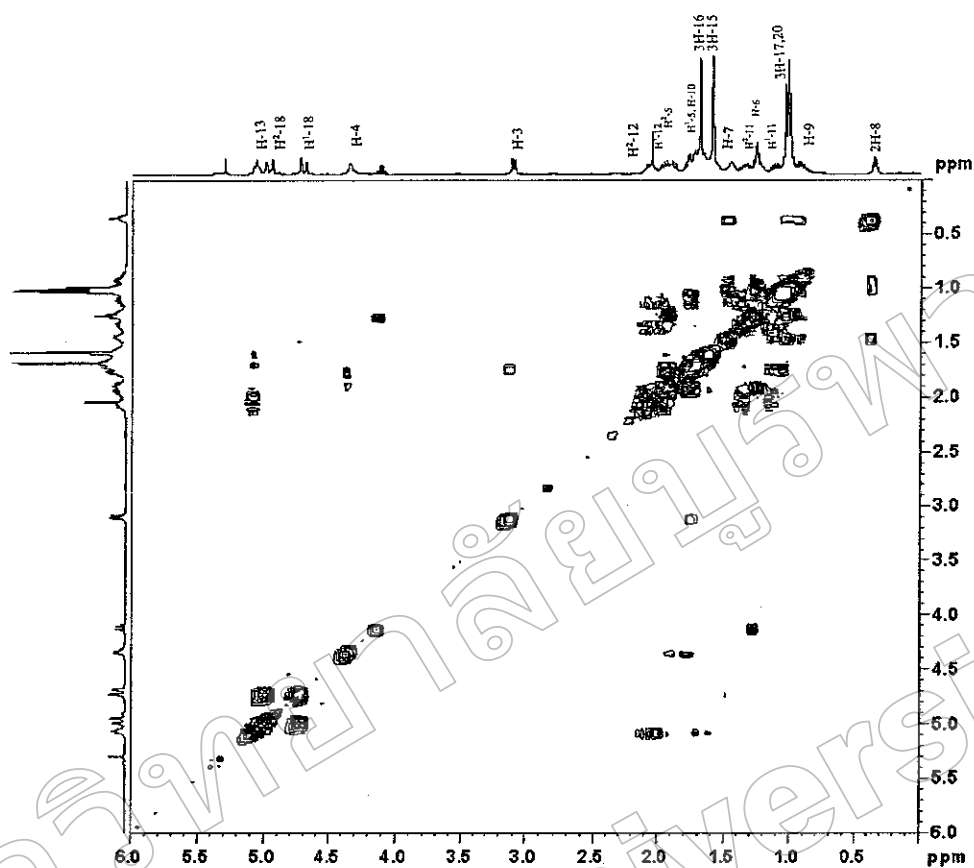
ภาพที่ 4-62 สเปกตรัม ^{13}C NMR, DEPT 135 และ DEPT 90 ของ 4 α -Hydroxycrenulide



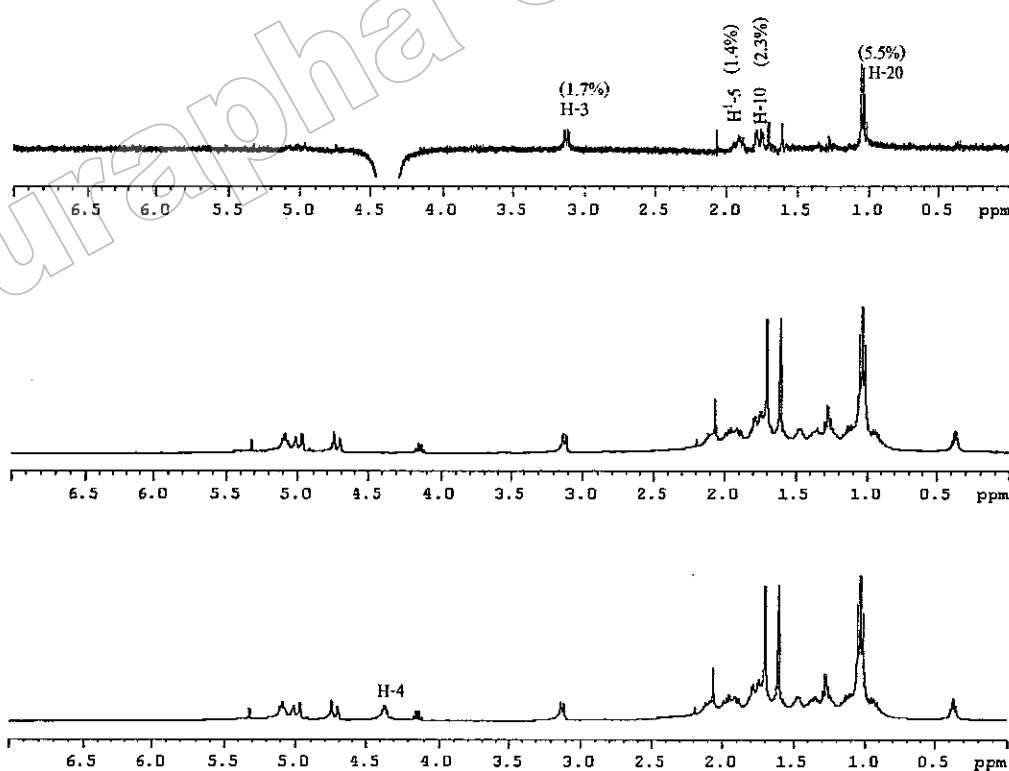
ภาพที่ 4-63 สเปกตรัม HMQC ของ 4 α -Hydroxycrenulide



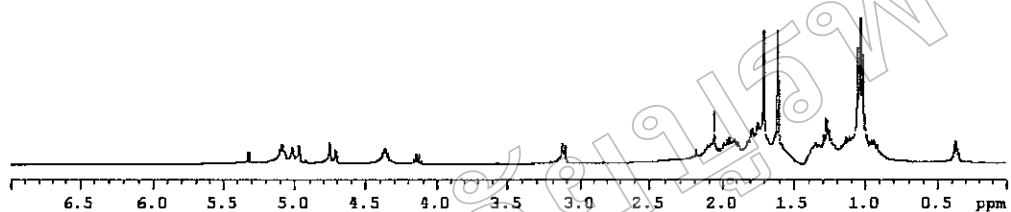
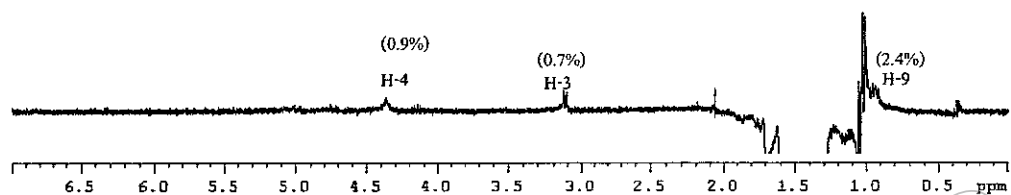
ภาพที่ 4-64 สเปกตรัม HMBC ของ 4 α -Hydroxycrenulide



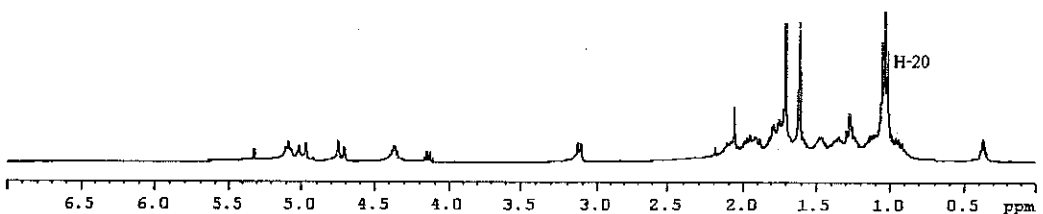
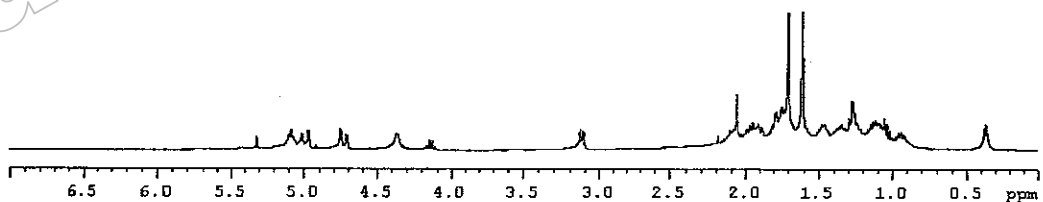
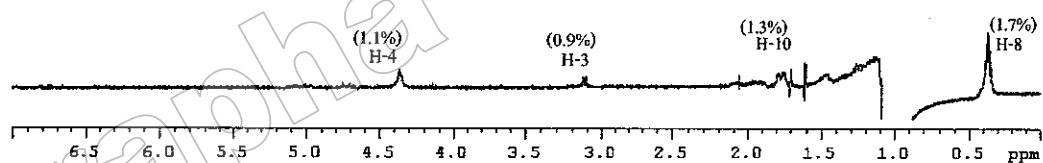
ภาพที่ 4-65 สเปกตรัม COSY ของ 4 α -Hydroxycrenulide



ภาพที่ 4-66 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4 α -Hydroxycrenulide โดย Irradiate ที่ H-4



ภาพที่ 4-67 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4α-Hydroxycrenulide โดย Irradiate ที่ H-7



ภาพที่ 4-68 สเปกตรัม NOE Difference ของ 4α-Hydroxycrenulide โดย Irradiate ที่ H-20

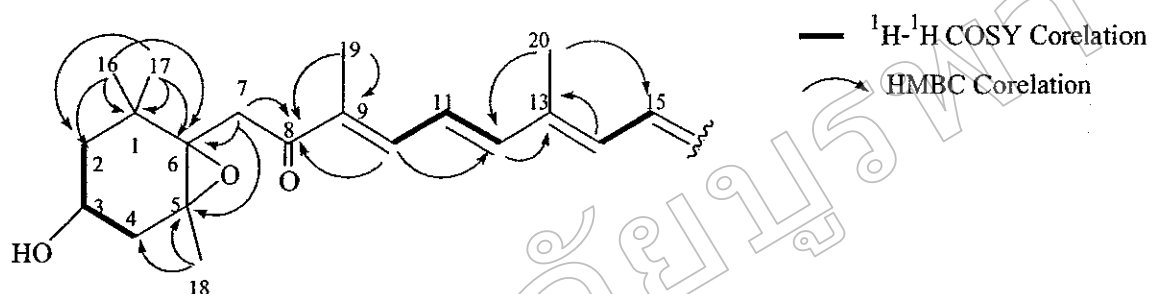
8. โครงสร้างของ Fucoxanthin

Fucoxanthin ชนิดนี้สกัดได้จากสาหร่ายทะเล *Dictyota* sp. จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค HR APCIMS ให้ m/z 659.4289 $[M+H]^+$ (Calcd $C_{42}H_{59}O_6$; 659.4306) ได้สูตรโมเลกุลเป็น $C_{42}H_{58}O_6$ ซึ่งมีค่าความไม่อิ่มตัวเท่ากับ 14

^{13}C NMR (ภาพที่ 4-73) แสดงจำนวนสัญญาณทั้งหมด 42 สัญญาณ และจากการวิเคราะห์ DEPT 90 และ 135 (ภาพที่ 4-73) แสดง Methyl Carbons 11 สัญญาณ Methylene Carbon 5 สัญญาณ Methine Carbon 13 สัญญาณ Quaternary Carbon 13 สัญญาณ นอกจากนี้ ^{13}C NMR ยังแสดง Olefinic Carbon 16 สัญญาณ ที่ δ 134.5 (C-9), 139.2 (C-10), 123.3 (C-11), 145.1 (C-12), 138.1 (C-13), 132.5 (C-14), 132.1 (C-15), 132.6 (C-9'), 128.5 (C-10'), 125.7 (C-11'), 129.4 (C-12'), 135.4 (C-13'), 137.1 (C-14'), 136.7 (C-15'), 197.9 (C-8, C=O), 170.6 (C-3'', OAc) มีสัญญาณในส่วนที่เป็นกลุ่ม Allenic 3 สัญญาณ ที่ δ 117.4 (C-6'), 202.4 (C-7'), 103.3 (C-8') จากค่าความไม่อิ่มตัวและจำนวนพันธะคู่ 11 พันธะ แสดงว่าโครงสร้างของสารชนิดนี้เป็น Tricyclic Carotenoid ข้อมูลจากสเปกตรัม HMQC (ภาพที่ 4-74) ทำให้ทราบตำแหน่งสัญญาณโปรตอนของคาร์บอนแต่ละตัว (แสดงในตารางที่ 4-11) 1H NMR (ภาพที่ 4-72) แสดงสัญญาณของ Methyl Proton 11 สัญญาณ Olefinic Proton 11 สัญญาณ เมื่อพิจารณาค่า Chemical Shift ที่ 68.2, 5.35 (CH-3') มีค่า Chemical Shift สูง เนื่องจากมีหมู่อะซิเตต (-OAc) ต่ออยู่ ที่ δ 64.2, 3.78 (CH-3) และที่ 72.6 (C-5') มีหมู่ Hydroxy มาต่ออยู่ และที่ δ 66.3 (C-5), 67.2 (C-6) ต่อกับ Ether ที่มีลักษณะเป็นวง Epoxy การวิเคราะห์ข้อมูลจากสเปกตรัม 1H - 1H COSY (ภาพที่ 4-76) และ HMBC (ภาพที่ 4-75) เนื่องจากโครงสร้างมีขนาดใหญ่แบ่งพิจารณาเป็นโครงสร้างย่อย c และ d ดังนี้

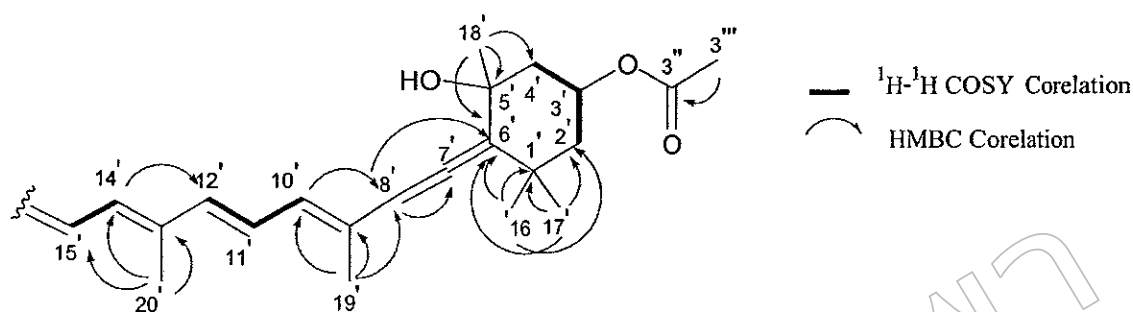
โครงสร้างย่อย c จากข้อมูล 1H - 1H COSY ได้ความสัมพันธ์ 3 ส่วนคือ ส่วนที่หนึ่ง (C-3 ต่อกับ C-2 และ C-4) ส่วนที่สอง (C-11 ต่อกับ C-10 และ C-12) ส่วนที่สาม (C-14 ต่อกับ C-15) และหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างย่อย c ได้สำเร็จโดยเทคนิค HMBC ซึ่งพบว่า C-1 มีหมู่แทนที่สองหมู่เป็น Methyl (CH_3 -16, 17) และเชื่อมต่อกับ C-2 และ C-6 จากความสัมพันธ์คือ H-16 และ H-17 แสดงความสัมพันธ์กับ C-1, C-2 และ C-6 นอกจากนี้พบว่า C-5 ที่เป็นสมาชิกหนึ่งในวง Epoxy มีหมู่แทนที่เป็น Methyl (CH_3 -18) และเชื่อมต่อกับ C-4 จากความสัมพันธ์คือ H-18 แสดงกับ C-4 และ C-5 ดังนั้นจึงได้โครงสร้างย่อย c เป็นวงหกเหลี่ยมต่อกับวง Epoxy ที่ C-6 และ C-5 นอกจากนี้ H^{1-2-7} ยังแสดงความสัมพันธ์กับ C-6, C-5 และ C-8 ยืนยันได้ว่า C-7 เชื่อมต่อกับวงหกเหลี่ยมที่ตำแหน่ง C-6 และต่อกับ C-8 นอกจากนี้ยังพบว่า C-8 เชื่อมต่อกับส่วนที่สอง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 10) โดยผ่าน sp^2 Quaternary Carbon (C-9) ที่มีหมู่แทนที่เป็น CH_3 -19 (H-19 แสดงกับ C-9) จากความสัมพันธ์ คือ H-19 และ H-10 แสดงกับ C-8 และส่วนที่สอง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 12) ต่อกับ

ส่วนที่สาม (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 14) โดยผ่าน sp^2 Quaternary Carbon (C-13) ที่มีหมู่แทนที่เป็น CH_3 -20 ต่ออยู่ จากความสัมพันธ์ คือ H-10 และ H-20 แสดงกับ C-12, H-12 และ H-14 แสดงกับ C-13 และ H-20 แสดงกับ C-15 จากความสัมพันธ์จึงได้โครงสร้างย่อย c ดังแสดงในภาพที่ 4-69



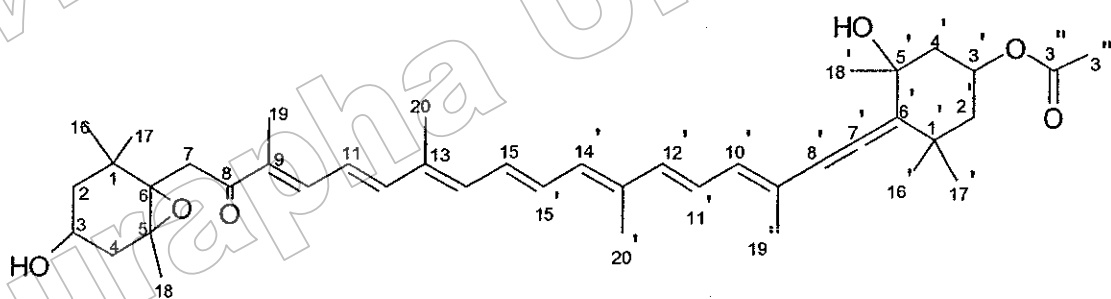
ภาพที่ 4-69 แสดงความสัมพันธ์โดย 1H - 1H COSY และ HMBC โครงสร้างย่อย c ของ Fucoxanthin

โครงสร้างย่อย d จากข้อมูล 1H - 1H COSY ได้ความสัมพันธ์ของโครงสร้าง 3 ส่วนคือ ส่วนที่หนึ่ง (C-15' ต่อกับ C-14') ส่วนที่สอง (C-11' ต่อกับ C-12' และ C-10') และส่วนที่สาม (C-3' ต่อกับ C-2' และ C-4') จากนั้นใช้เทคนิค HMBC หาความสัมพันธ์ของโครงสร้างย่อย d โดยพบว่า ส่วนที่หนึ่ง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 14') เชื่อมต่อับส่วนที่สอง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 12') โดยผ่าน sp^2 Quaternary Carbon (C-13') ที่มีหมู่แทนที่เป็น Methyl (CH_3 -20') จากความสัมพันธ์คือ H-20' แสดงกับ C-13', C-14' และ C-15' นอกจากนี้ยังพบว่า H-14' แสดงกับ C-12' อีกด้วย ส่วนที่สอง (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 10') เชื่อมต่อับส่วนที่เป็น Allenic [δ C 111.4 (C-6'), 202.4 (C-7') และ 103.3 (C-8')] โดยผ่าน sp^2 Quaternary Carbon (C-9') ที่มีหมู่แทนที่เป็น Methyl (CH_3 -19') จากความสัมพันธ์คือ H-19' แสดงกับ C-10', C-9' และ C-8' และยังพบว่า H-10' แสดงกับ H-8' อีกด้วย สเปกตรัมของ HMBC ยังแสดงความสัมพันธ์ในส่วนที่เป็น Allenic คือ H-8' แสดงกับ C-7' และ C-6' เมื่อพิจารณาที่ C-6' พบว่าเชื่อมต่อกับส่วนที่สาม (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2') โดยผ่าน sp^3 Quaternary Carbon (C-1') ที่มีหมู่แทนที่สองหมู่เป็น CH_3 -16', 17' จากความสัมพันธ์คือ H-16 และ H-17 แสดงกับ C-1, C-6 และ C-2 นอกจากนี้ C-6 ยังเชื่อมต่อกับส่วนที่สาม (ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4') โดยผ่าน sp^3 Quaternary Carbon (C-5') ที่มีหมู่แทนที่สองหมู่เป็น Methyl (CH_3 -18') และ Hydroxy จากความสัมพันธ์ คือ H-18' แสดงกับ C-5, C-4' และ C-6' เมื่อพิจารณาส่วนที่สาม ที่ตำแหน่ง C-3' มีค่า Chemical Shift สูง แสดงว่าเชื่อมต่อกับหมู่ -OAc (HMBC แสดงความสัมพันธ์ในส่วนที่เป็นอะซิเตต คือ H-3''' แสดงกับ C-3'') จากความสัมพันธ์ดังกล่าวจึงได้โครงสร้างย่อย d ดังแสดงในภาพที่ 4-70



ภาพที่ 4-70 แสดงความสัมพันธ์โดย ^1H - ^1H COSY และ HMBC โครงสร้างย่อย d ของ Fucoxanthin

โครงสร้างย่อย c และ d เชื่อมต่อกันที่ C-15' และ C-15 จากความสัมพันธ์ของ HMBC พบว่า C-15 แสดงกับ H-15' และเมื่อพิจารณาที่ C-14' และ C-15' พบว่าคาร์บอนทั้งคู่แสดงกับ H-14 จากความสัมพันธ์ดังกล่าวจึงได้โครงสร้าง Fucoxanthin (ภาพที่ 4-71) และยืนยันโครงสร้างนี้ โดยการเปรียบเทียบกับค่า Chemical Shift ของ ^{13}C และ ^1H NMR กับโครงสร้างที่เคยมีรายงาน (Mori et al., 2004) และจากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra (ดังตารางที่ ก-7 ภาคผนวก ก)



ภาพที่ 4-71 แสดงโครงสร้างของ Fucoxanthin

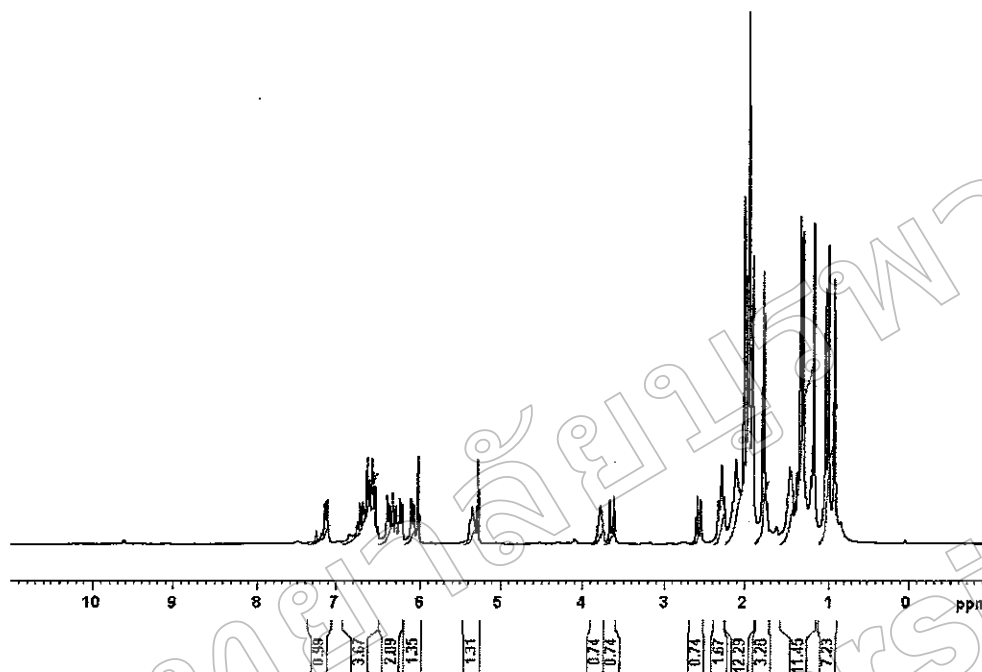
ตารางที่ 4-11 ข้อมูลจากการวิเคราะห์สเปกตรัม ^{13}C , ^1H NMR, COSY และ HMBC
ของ Fucoxanthin

No		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=\text{Hz}$)	COSY	HMBC
1	C	35.2	-	-	-
2	CH_2	47.1	H^1 1.41 m H^2 1.50 m	H^2 -2, H-3 H^1 -2, H^2 -4	-
3	CH	64.2	3.78 m	H^1 -2, H^1 -4, H^2 -4	-
4	CH_2	41.6	H^1 1.75 m H^2 2.28 m	H^2 -4, H-3 H^2 -2, H-3, H^1 -4	C-3
5	C	66.3	-	-	-
6	C	67.2	-	-	-
7	CH_2	40.8	H^1 2.57 d ($J=18.3$) H^2 3.64 d ($J=18.3$)	H^2 -7 H^1 -7	C-1, C-6, C-8 C-5, C-6, C-8
8	C	197.9	-	-	-
9	C	134.5	-	-	-
10	CH	139.2	7.13 d ($J=10.5$)	H-11	C-8, C-12, C-19
11	CH	123.3	6.58 d ($J=25.0$)	H-10, H-12	-
12	CH	145.1	6.68 d ($J=8.1$)	H-11	C-10, C-13, C-20
13	C	138.1	-	-	-
14	CH	132.5	6.74 d ($J=13.3$)	H-15	C-13, C-14', C-15'
15	CH	132.1	6.24 d ($J=11.3$)	H-14	-
16	CH_3	28.1	0.93 s	-	C-1, C-2, C-6, C-17
17	CH_3	25.0	1.01 s	-	C-1, C-2, C-6, C-16
18	CH_3	21.1	1.20 s	-	C-4, C-5, C-7
19	CH_3	11.8	1.91 s	-	C-9, C-8, C-10
20	CH_3	12.7	1.96 s	-	C-12, C-15

ตารางที่ 4-11 (ต่อ)

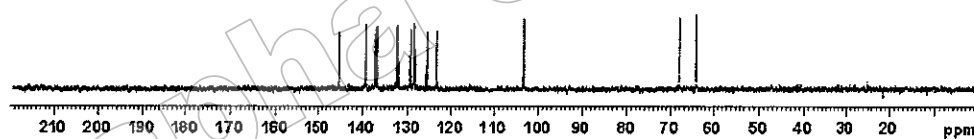
No		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=$ Hz)	COSY	HMBC
1'	C	35.8	-	-	-
2'	CH ₂	45.5	H ¹ 1.41 m	H ² -2', H-3'	-
			H ² 1.50 m	H ¹ -2', H ² -4'	-
3'	CH	68.2	5.35 m	H ² -4', H ¹ -4', H ¹ -2', H ² -2'	-
3''	C=O	170.6	-	-	-
3'''	CH ₃	21.4	2.02 s	-	C-3''
4'	CH ₂	45.3	H ¹ 1.96 m	H-3', H ¹ -2'	-
			H ² 2.28 m	H-3', H ² -2'	-
5'	C	72.6	-	-	-
6'	C	117.4	-	-	-
7'	C	202.4	-	-	-
8'	CH	103.3	6.03 s	-	C-5', C-6', C-7', C-10', C-19'
9'	C	132.6	-	-	-
10'	CH	128.5	6.1 d ($J=11.1$)	H-11'	-
11'	CH	125.7	6.60 d ($J=23.4$)	H-10', H-12'	-
12'	CH	129.4	6.1 d ($J=11.1$)	H-11'	C-14', C-15'
13'	C	135.4	-	-	-
14'	CH	137.1	6.33 d ($J=28.9$)	H-15'	C-12', C-20'
15'	CH	136.7	6.36 d ($J=25.4$)	H-14'	C-15, C-20'
16'	CH ₃	29.2	1.36 s	-	C-1', C-2', C-6', C-17'
17'	CH ₃	32.1	1.04 s	-	C-1', C-5', C-6'
18'	CH ₃	31.2	1.33 s	-	C-1', C-4', C-5', C-6'
19'	CH ₃	14.0	1.79 s	-	C-8', C-9', C-10'
20'	CH ₃	12.9	1.96 s	-	C-13', C-14', C-15'

46009 F3.2.2.5.2.2.2 proton
06/05/05

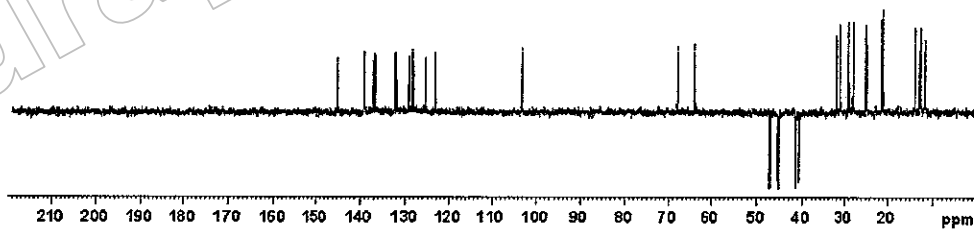


ภาพที่ 4-72 สเปกตรัม ¹H NMR ของ Fucoxanthin

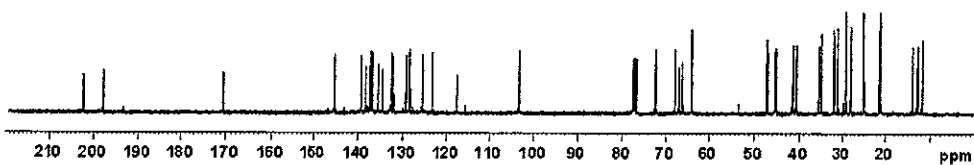
Dept90



Dept135

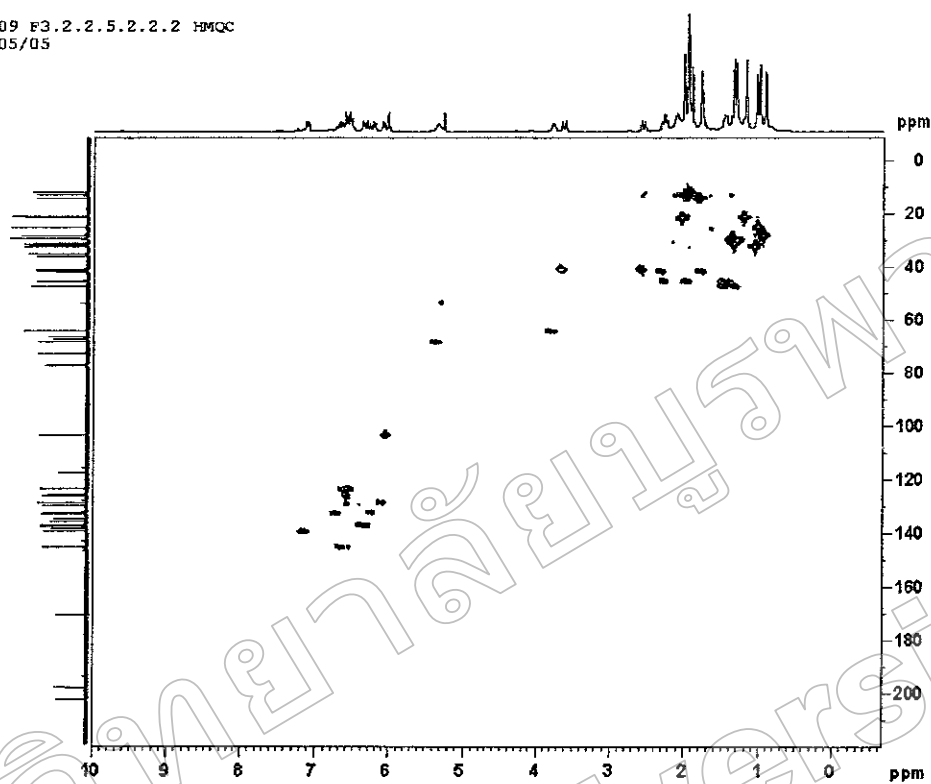


carbon



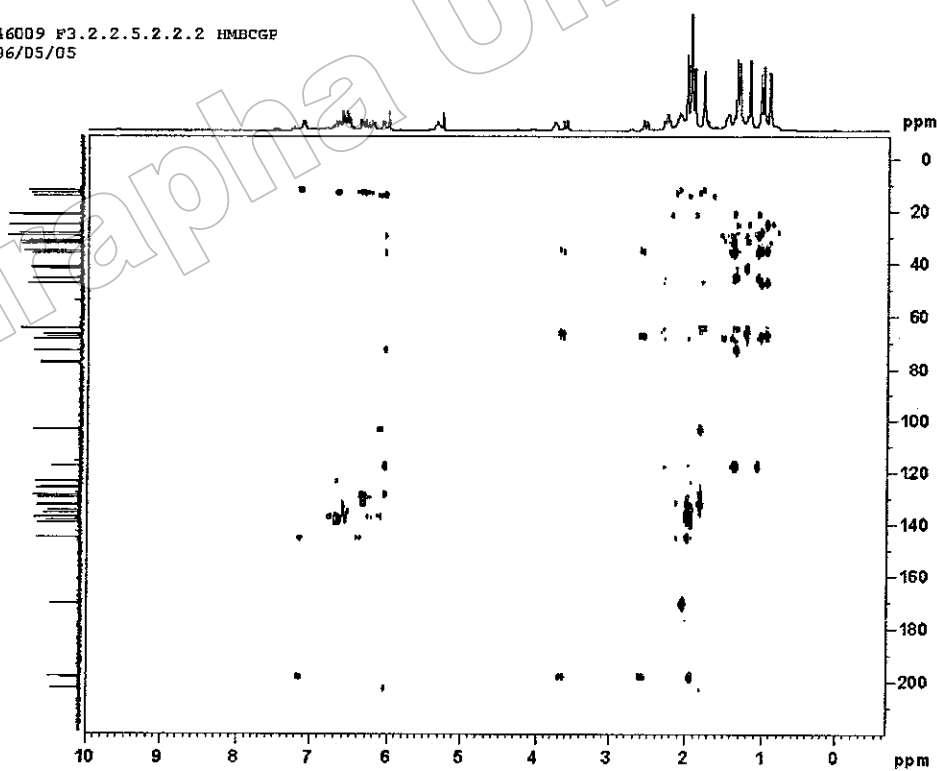
ภาพที่ 4-73 สเปกตรัม ¹³C NMR, DEPT 135 และ DEPT 90 ของ Fucoxanthin

46009 F3.2.2.5.2.2.2 HMQC
06/05/05

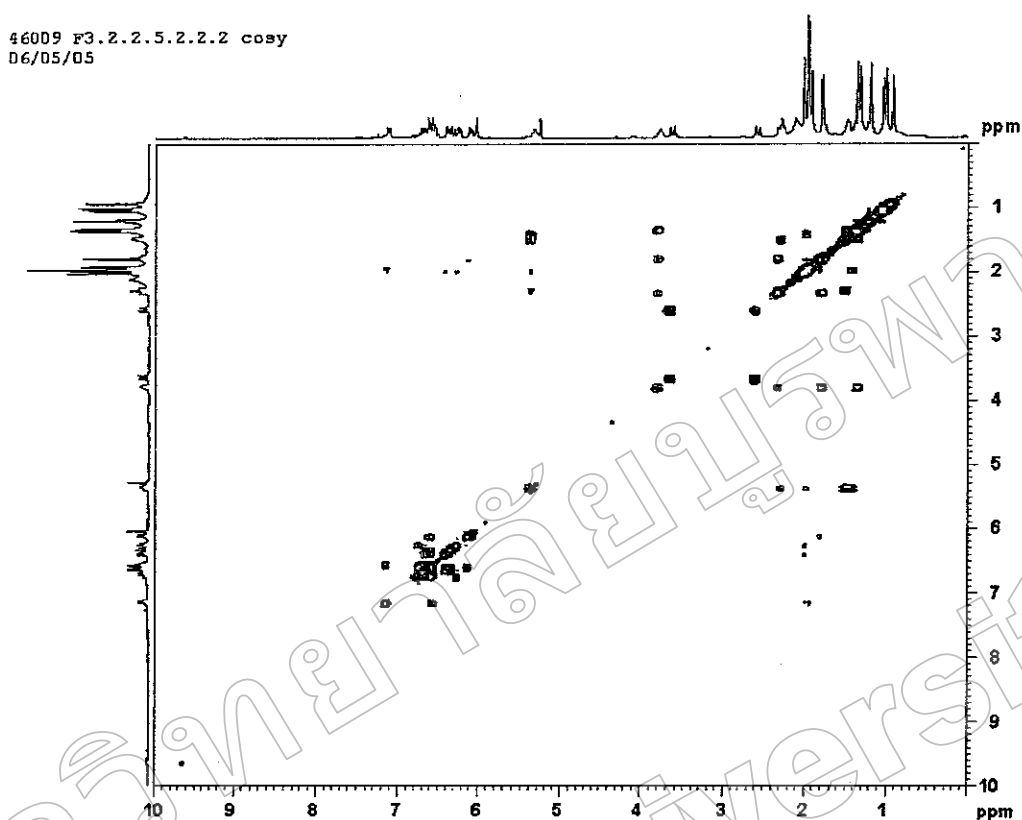


ภาพที่ 4-74 สเปกตรัม HMQC ของ Fucoxanthin

46009 F3.2.2.5.2.2.2 HMBCGF
06/05/05



ภาพที่ 4-75 สเปกตรัม HMBC ของ Fucoxanthin



ภาพที่ 4-76 สเปกตรัม COSY ของ Fucoxanthin

ผลการศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์

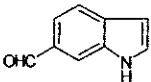
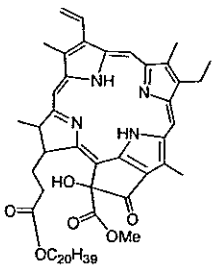
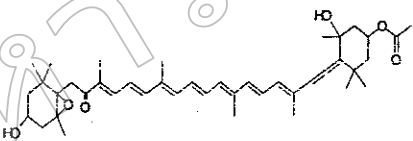
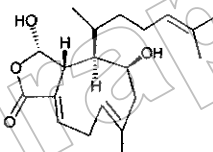
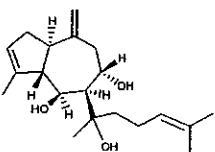
การศึกษการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเล ทดสอบกับเชื้อที่ทำให้เกิดโรควัณโรค (Mycobacterium Tuberculosis H37Ra) โดยวิธี Microplate Alamar Blue Assay (MABA) โดยส่งไปทดสอบที่ BIOTEC ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4-12

ตารางที่ 4-12 แสดงผลการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์กับเชื้อ

Mycobacterium Tuberculosis H37Ra

สารบริสุทธิ์	ผลการออกฤทธิ์	MIC $\mu\text{g/ mL}$
S ₈	Active	0.78

ตารางที่ 4-12 (ต่อ)

สารบริสุทธิ์	ผลการออกฤทธิ์	MIC $\mu\text{g/mL}$
Indole-6-Carboxaldehyde 	Active	50
13 ² -Hydroxy Pheophytin a 	Inactive	-
Fucoxanthin 	Inactive	-
4,18-Dihydroxydictyolactone 	Active	200
8 α ,11-Dihydroxypachydictyol A 	Active	100

หมายเหตุ: รายละเอียดเกี่ยวกับการทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรคแสดงในภาคผนวก ค

จากตารางที่ 4-12 การทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเชื้อวัณโรคพบว่าผลึกกำมะถัน มีฤทธิ์ยับยั้งได้ดีกว่า Kanamycin ($\text{MIC} = 2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$) ที่ $\text{MIC} 0.78 \mu\text{g}/\text{mL}$ แต่มีฤทธิ์ยับยั้งได้น้อยกว่า Rifampicin ($\text{MIC} = 0.0047 \mu\text{g}/\text{mL}$) และ Isoniazide ($\text{MIC} = 0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$) ที่ใช้เป็นตัวควบคุม ขณะที่สารบริสุทธิ์ตัวอื่น เช่น Indole-6-Carboxaldehyde, 4,18-Dihydroxydictyolactone และ $8\alpha,11$ -Dihydroxypachydictyol A แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อวัณโรคแต่อ่อนกว่าตัวยาที่ใช้ควบคุมมาก ส่วน 13^2 -Hydroxy Pheophytin a และ Fucoxanthin ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อวัณโรค