

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การสกัดสารฟুকอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว

การสกัดสารฟুকอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว น้ำหนักแห้งจำนวน 100 g ด้วย 0.1 M HCl ได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดยาบทั้งหมด 15.32 ± 0.64 g มีปริมาณฟুকอยแดนที่ได้ทั้งหมด 1.29 ± 0.18 g คิดเป็น 18.67 ± 1.53 % ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดสารฟুকอยแดนจากสาหร่าย *Pelvitia canaliculata* ที่สกัดด้วยกรด HCl โดยใช้สาหร่ายน้ำหนักแห้ง 100 g พบว่าได้น้ำหนักแห้งของสารสกัด 12.8 g มีปริมาณฟুকอยแดนทั้งหมด 2.5 g (Collice et al., 1994) และการสกัดฟুকอยแดนจากสาหร่าย *Sargassum* sp. ด้วย 0.1 M HCl ได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดและปริมาณฟুকอยแดนเท่ากับ 22.29 g และ 2.74 g ตามลำดับ (Chotigeat et al., 2004) แต่จะได้ฟুকอยแดนน้อยกว่าสาหร่ายสีน้ำตาล kombu ซึ่งได้ฟুকอยแดนทั้งหมด 4 g ต่อน้ำหนักแห้งของสาหร่ายเริ่มต้น 100 g (http://www.takara-bio.co.jp/english/news_e/1996/06/17.htm)

4.2 การทำบริสุทธิ์สารฟুকอยแดนด้วยวิธี gel filtration chromatography

จากการทดลองของ Collice และคณะ (1994) ในการแยกสารฟুকอยแดนจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Pelvitia canaliculata* ด้วย sephacryl S-200 ขนาดคอลัมน์ 4.8 x 40 cm โดยวิธี gel filtration chromatography ได้ฟুকอยแดนออกมาในช่วงกว้าง และได้ปริมาณฟুকอยแดนกลับคืนมาภายหลังแยกผ่านคอลัมน์ 78 % นอกจากการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีดังกล่าวยังสามารถทำบริสุทธิ์สารฟুকอยแดนได้โดยใช้ gel permeation chromatography ชนิด Sepharose-2B แต่ได้สารจากการทำบริสุทธิ์น้อยกว่า โดยได้เปอร์เซ็นต์ภายหลังแยกผ่านคอลัมน์ดังกล่าวเพียง 14.71 % (Duarte et al., 2001) ส่วนการทำบริสุทธิ์โดยใช้ ion exchange chromatography แบบ DEAE-cellulose ได้

เปอรเซ็นต์ภายหลังจากการทำบริสุทธิ์เท่ากับ 50 % (Pereira *et al.*, 1999) ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธี gel filtration จากรายงานการศึกษาดังกล่าวจะเห็นว่าการทำบริสุทธิ์โดยวิธี gel filtration chromatography จะได้ปริมาณสารฟุกคอยแดนกลับคืนมาค่อนข้างสูงกว่าการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีอื่นๆ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกทำบริสุทธิ์ฟุกคอยแดนด้วยวิธี gel filtration chromatography โดยใช้ sephadex G-50 (ขนาดคอลัมน์ 1x60 cm) ซึ่งได้ฟุกคอยแดนออกมาในช่วงแคบเพียงช่วงเดียว และมีปริมาณ fucose, glucuronic acid และปริมาณ sulfate ออกมาในช่วงเดียวกัน ซึ่งพบว่าภายหลังจากแยกผ่านคอลัมน์ได้ปริมาณสารกลับคืนมา 72 % จากสารเริ่มต้น และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 11,640 Da ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับฟุกคอยแดนจากสาหร่ายสีน้ำตาล ที่มีคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือด ที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 11,000-40,000 Da (Grauffel, 1989 อ้างโดย Collice, 1994) เช่นเดียวกับฟุกคอยแดนจากพืชชั้นสูง *Porana volubilis* ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์โดยวิธี gel filtration chromatography โดยใช้ Sephacryl S-400 ขนาดคอลัมน์ 2 x 200 cm มีน้ำหนักโมเลกุล 10,000 Da ซึ่งเป็นฟุกคอยแดนที่พบคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือดเช่นกัน (Yoon *et al.*, 2002) ส่วนฟุกคอยแดนจากสาหร่าย *Ascophyllum nodosum* มีน้ำหนักโมเลกุล 18,000 Da ซึ่งเป็นฟุกคอยแดนชนิดที่มีคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือดและยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Haroun-Bouhedja *et al.*, 2000)

เมื่อศึกษาองค์ประกอบของสารฟุกคอยแดนภายหลังจากการทำบริสุทธิ์ พบว่ามี glucuronic acid ปริมาณมากที่สุด เท่ากับ 65.00 ± 7.07 % ของสารกึ่งบริสุทธิ์ รองลงมาคือปริมาณ fucose เท่ากับ 15.35 ± 0.92 % ของสารกึ่งบริสุทธิ์ และมีปริมาณ sulfate เท่ากับ 13.44 ± 4.29 % ของ fucose จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า ภายหลังจากการทำบริสุทธิ์ มีปริมาณ fucose เพิ่มขึ้น และมีปริมาณ glucuronic acid ไม่แตกต่างจากเดิม แต่มีปริมาณ sulfate ต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบฟุกคอยแดนก่อนทำบริสุทธิ์ ทั้งนี้เนื่องจากการทำบริสุทธิ์ด้วยวิธีนี้อาจทำให้ปริมาณ sulfate ลดลงไปในระหว่างกระบวนการทำบริสุทธิ์ จากรายงานการศึกษาฟุกคอยแดนจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Larminaria digitata* ได้องค์ประกอบของน้ำตาลในกลุ่ม hexuronic acid คือ

uronic acid ซึ่งเป็นน้ำตาลในกลุ่มเดียวกับ glucuronic acid ปริมาณมากที่สุด เท่ากับ 46.4 % โดยมีปริมาณ fucose เท่ากับ 2.3 % และปริมาณ sulfate 11.6 % เช่นเดียวกับฟুকอยแดนจากสาหร่าย *Pelvetia canaliculata*, *Fucus vesiculosus* และ *Sargassum muticum* มีปริมาณ uronic acid ภายในโมเลกุลสูงที่สุดเช่นกัน เท่ากับ 28.1 %, 28.2 % และ 27.9 % ตามลำดับ โดยมีปริมาณ fucose 13.1 % , 9.7% และ 3.2 % รวมทั้งมีปริมาณ sulfate 11.6 %, 6.9 % และ 5.0 % ตามลำดับ (Mabeau et al., 1990) ซึ่งพบว่าฟুকอยแดนดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่ม U-fucoidan เนื่องจากมี glucuronic acid เป็นองค์ประกอบหลัก โดยจากการศึกษาของ Rocha และคณะ (2001) พบว่าโครงสร้างของฟুকอยแดนชนิดที่มีผลยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง จัดอยู่ในกลุ่ม U-fucoidan มีมวลโมเลกุลขนาดเล็กประมาณ 21 kDa ประกอบด้วย glucuronic acid เป็นองค์ประกอบหลัก รวมทั้งมี fucose และ sulfate ภายในโมเลกุล

4.3 การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบฟুকอยแดนและสารฟুকอยแดนกึ่งบริสุทธิ์ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *V. harveyi*, *E. coli* และ *S. aureus* โดยวิธี agar plate sensitivity method พบว่าสารฟুকอยแดนที่สกัดจากสาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ โดยไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แตกต่างจากรายงานของ Roa และคณะ (1981) พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Dictyota dichotoma* และ *Padina gymnospora* สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus megatherium* และ *Staphylococcus aureus* ได้นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาผลของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum muticum* และ *Polysiphonia lanosa* มีฤทธิ์ยับยั้ง marine bacteria ได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Cladosiphon rupestris*, *Gelidium latifolium* และ *Palmaria palmata* สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ (Hellio et al., 2001) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารฟুকอยแดนจากสาหร่ายชนิด

ต่างๆ จะให้ความสามารถในการยับยั้งชนิดของแบคทีเรียแตกต่างกัน ซึ่งควรจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของฟุคอยแดนจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งวิธีการสกัดที่แตกต่างกันก็ส่งผลให้มีการยับยั้งแบคทีเรียที่แตกต่างกันด้วย (Rao et al., 1981)

4.4 คุณสมบัติด้านการแข็งตัวของเลือด

คุณสมบัติในการด้านการแข็งตัวของเลือด ที่ทดสอบจากค่า Activated partial thromboplastin time (APTT) จากพลาสมาในเลือดคนปกติ พบว่าสารสกัดหยาบฟุคอยแดนมีค่าเฉลี่ย APTT ต่อปริมาณฟุคอยแดนเท่ากับ 4.47 IU/mg โดยสารฟุคอยแดนกึ่งบริสุทธิ์มีค่า APTT เท่ากับ 0.58 IU/mg จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบฟุคอยแดนมีฤทธิ์ด้านการแข็งตัวของเลือดสูงกว่าสารฟุคอยแดนกึ่งบริสุทธิ์ 7.7 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Collice (1994) ในการศึกษาคุณสมบัติด้านการแข็งตัวของเลือดจากสารสกัดหยาบฟุคอยแดน (น้ำหนักโมเลกุล 320 kDa) ในสาหร่ายสีน้ำตาล *Pelvetia canaliculata* มีค่า APTT เท่ากับ 18 IU/mg เมื่อนำไปทำบริสุทธิ์โดยวิธี gel filtration chromatography มีน้ำหนักโมเลกุล 30 kDa มีค่าการแข็งตัวของเลือดลดลง โดยในสารสกัดหยาบมีค่า APTT เท่ากับ 5 IU/mg คล้ายกับผลการทดลองจากสาหร่ายสีน้ำตาลที่แยกโดย size exclusion liquid chromatography ที่มีการด้านการแข็งตัวของเลือดต่ำลงภายหลังจากการทำบริสุทธิ์ ซึ่งพบว่าคุณสมบัติด้านการแข็งตัวของเลือดขึ้นกับน้ำหนักโมเลกุลของสารฟุคอยแดน โดยฟุคอยแดนที่สามารถด้านการแข็งตัวของเลือด จะมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 11-40 kDa (Grauffel, 1989 อ้างโดย Collice, 1994) นอกจากนี้ยังพบว่าคุณสมบัติด้านการแข็งตัวของเลือดขึ้นกับปริมาณ sulfate โดยจากการทดลองของ Haroun-Bouhedja และคณะ (2000) พบว่าฟุคอยแดนที่มีปริมาณ sulfate ต่ำกว่า 20 % จะไม่สามารถด้านการแข็งตัวของเลือดได้ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ sulfate ในโมเลกุลฟุคอยแดน ทำให้มีการด้านการแข็งตัวของเลือดสูงขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองครั้งนี้ ฟุคอยแดนภายหลังจากการทำบริสุทธิ์มีปริมาณ sulfate ลดลงเท่ากับ 13.44 % ในขณะที่สารสกัดหยาบมีปริมาณ sulfate 28 % จึงเป็นผลให้ฟุคอยแดนมีความสามารถในการด้านการแข็งตัวลดลงภายหลังจากการทำ

บริสุทธิ์ จากรายงานการศึกษากลไกของฟุคอยแดนในการต้านการแข็งตัวของเลือด พบกลไกที่สำคัญ 2 กลไก กลไกแรกคือ การยับยั้ง thrombin ซึ่งคล้ายกับ heparin โดยคุณสมบัติการยับยั้ง thrombin ของสารในกลุ่ม sulfate polysaccharide ขึ้นกับการยับยั้งของเอนไซม์ protease ผ่าน plasma cofactor ที่มีความจำเพาะ คือ Antithrombin III (AT III) และ Heparin cofactor II (HC II) โดยฟุคอยแดนมีคุณสมบัติคล้ายกับ heparin แตกต่างกันที่การยับยั้ง thrombin ผ่าน plasma cofactor ซึ่งฟุคอยแดนสามารถยับยั้ง thrombin ผ่าน HC II ได้ดีกว่า AT III ในขณะที่ heparin ยับยั้ง thrombin ผ่าน AT III ได้ดีกว่า เนื่องจากมี pentasaccharide sequence ในสาย heparin รวมทั้งองค์ประกอบของน้ำตาลและการจัดเรียงตัวของหมู่ sulfate ที่จำเพาะกับ AT III มากกว่า ส่วนฤทธิ์ในการต้านการแข็งตัวของเลือดในสารฟุคอยแดนที่สำคัญคือ การยับยั้งการทำงานของ thrombin และ factor Xa ทำให้ fibrin เกิดน้อยลง โดยฟุคอยแดนมีผลเพิ่มฤทธิ์ของ HC II โดยทำหน้าที่เป็น catalytic template ให้ทั้ง thrombin และ HC II มาจับ เมื่อ HC II และ thrombin มาจับกับฟุคอยแดน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง thrombin ซึ่งในสารฟุคอยแดนมีประสิทธิภาพการยับยั้ง thrombin ผ่าน HC II ได้ดีกว่า AT III เนื่องจาก HC II มีความสามารถในการจับกับฟุคอยแดน และ thrombin ได้ดีกว่า AT III โดยจากการศึกษาของ Charch และคณะ (1989) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของฟุคอยแดน 10 $\mu\text{g/ml}$ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง thrombin ผ่าน HC II ได้มากกว่า 3,500 เท่า ในขณะที่ AT III ยับยั้งได้เพียง 285 เท่า ที่ความเข้มข้นของฟุคอยแดน 30 $\mu\text{g/ml}$ และยับยั้ง factor Xa ผ่าน AT III ได้ 35 เท่า ที่ความเข้มข้นของฟุคอยแดน 500 $\mu\text{g/ml}$ สำหรับกลไกที่สองคือ กลไกการยับยั้งการละลายลิ่มเลือดของสารฟุคอยแดน มีการกระตุ้นให้มีการเพิ่ม tissue plasminogen activator (t-PA) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น plasminogen ที่พบในเนื้อเยื่อ โดย t-PA จะไปกระตุ้น plasminogen ซึ่งเป็นเอนไซม์ในพลาสมาในรูปที่ไม่มีฤทธิ์ ให้เปลี่ยนเป็น plasmin ซึ่งมีฤทธิ์ละลายโปรตีน สามารถย่อย fibrin และ fibrinogen ให้ลิ่มเลือดละลายเป็นเลือดเหลว นอกจากนี้ฟุคอยแดนยังช่วยป้องกันไม่ให้ plasmin ถูกทำลายโดย α_2 - antiplasmin ที่พบในเลือดและช่วยป้อง

กั้นการถูกยับยั้งของ t-PA และ urokinase (ตัวกระตุ้น plasminogen ที่พบในปัสสาวะ) จาก plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) โดยฟุคอยแดนจับกับ PAI-1 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้การทำงานของ PAI-1 ลดลง ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ t-PA และ urokinase ในการกระตุ้น glutamic plasminogen ส่งผลให้การละลายลิ่มเลือดเกิดได้ดีขึ้น (Minix *et al.*, 1997)

4.5 การทดสอบคุณสมบัติและกระบวนการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยวิธี MTT assay เป็นการทดสอบผลของสารต่อความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็ง โดยไม่ส่งผลต่อความเป็นพิษของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เป็นเซลล์ปกติ ในการทดลองใช้เซลล์มะเร็งและเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่มีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง exponential phase มาทดสอบกับสารฟุคอยแดนความเข้มข้นต่างๆ แล้วดูจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต โดยย้อมด้วย MTT ซึ่งเกิดปฏิกิริยารีดักชันกับเซลล์ที่มีชีวิต ได้เป็น MTT- formazan ที่ให้สีม่วงที่ละลายใน DMSO และ glycine buffer เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าสารสกัดหยาบฟุคอยแดนสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีกว่าฟุคอยแดนกึ่งบริสุทธิ์ โดยมีค่าความเข้มข้นที่ทำให้การเจริญของเซลล์มะเร็งลดลงครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบฟุคอยแดนและสารฟุคอยแดนกึ่งบริสุทธิ์ เท่ากับ 106.14 $\mu\text{g/ml}$ และ 919.6 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากฟุคอยแดนภายหลังจากการทำบริสุทธิ์มีปริมาณ sulfate ลดลง จึงทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งลดลง จากการทำบริสุทธิ์สารฟุคอยแดนในครั้งนี้ พบ peak ที่มี glucuronic acid สูงในหลอดที่ 17 ถึง 22 และพบ peak ของ glucuronic acid อีกช่วงหนึ่งแต่มีปริมาณ glucuronic acid น้อยกว่า ซึ่งพบในระหว่างหลอดที่ 26-33 ซึ่งในสารกึ่งบริสุทธิ์ จะเป็นสารที่ได้มาจากการรวมสารละลายในหลอดที่มีปริมาณฟุคอยแดนสูงคือ หลอดที่ 17-22 จึงอาจเป็นไปได้ว่า สารละลายในหลอดที่ 26-33 ซึ่งยังมีปริมาณ glucuronic acid อาจมีผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง จึงได้นำสารละลายในหลอดที่มีปริมาณ glucuronic acid ใน peak หลังมาศึกษา แต่ไม่พบการยับยั้งเซลล์มะเร็งจากสารละลายดังกล่าว ดังนั้นฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งจึงไม่ได้เป็นผลมาจากสาร

ละลายใน peak หลังที่ไม่ได้นำมารวมไว้ในสารกึ่งบริสุทธิ์ ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งของสารกึ่งบริสุทธิ์ที่ลดลงจึงน่าจะเป็นผลจากการลดลงของปริมาณ sulfate จากรายงานการศึกษาองค์ประกอบของฟুকอยแดนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งขึ้นกับปริมาณ sulfate และองค์ประกอบของฟুকอยแดนภายในโมเลกุล โดยฟুকอยแดนที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้นั้น มีองค์ประกอบของ glucuronic acid ประมาณ 20 % และมี fucose รวมทั้ง sulfate เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ sulfate ในโมเลกุลของฟুকอยแดนทำให้การยับยั้งเซลล์มะเร็งเพิ่มสูงขึ้น (Haroun-Bouhedja et al., 2000) ส่วนการศึกษาการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ต่อเซลล์มะเร็ง KB cell ที่ให้สารฟুকอยแดนกึ่งบริสุทธิ์ความเข้มข้น 250 $\mu\text{g/ml}$ โดยให้ เซลล์มะเร็งที่ไม่ได้รับสารเป็นกลุ่มควบคุม ด้วยวิธี TUNEL assay พบว่าเซลล์ที่เกิด apoptosis มีชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ (fragmented DNA) ขนาด 180-200 bp เกิดขึ้น ซึ่งสามารถติดฉลากได้ด้วย Biotinylated nucleotide แล้วตรวจจับโดยเอนไซม์ Streptavidin HRP และสารตั้งต้น diaminobenzidine (DAB) เกิดเป็นสีน้ำตาลเข้มบนนิวเคลียสของเซลล์ที่เกิด apoptosis หลังจากนับจำนวนเซลล์พบว่าสารฟুকอยแดนสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ได้ 50.77 ± 3.23 % ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่เกิด apoptosis 28.33 ± 1.96 % โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p < 0.05$) การเกิด apoptosis ในเซลล์มะเร็งที่ไม่ได้รับสารฟুকอยแดนอาจเนื่องมาจากผลของ trypsin ที่ใช้ในกระบวนการย่อยเซลล์จากขวดเลี้ยงเซลล์ อาจส่งผลต่อการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ของเซลล์มะเร็งได้ การยับยั้งเซลล์มะเร็งผ่านการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาฟুকอยแดนจากสาหร่ายสีน้ำตาล kombu พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง leukemia cells (HL-60 cell line), human stomach cancer cells (AGS cell line), human colon cancer cells (HCT- 160 cell line) และเซลล์มะเร็งของ descending colon (SW-480 cell line/ WiDr cell line) โดยการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ apoptosis ซึ่งเป็นกระบวนการทำลายเซลล์มะเร็ง (http://www.some-limu.info/fucoidan_research.htm) ในขณะที่มีรายงานการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในฟูก

คอยแดนจากแหล่งอื่นๆ พบว่ามีกลไกที่สำคัญอื่นๆอีก 3 ประการ คือ การกระตุ้นการสร้าง macrophage, การยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังเซลล์หรือเนื้อเยื่ออื่น และการยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยลดคุณสมบัติในการเจริญของเซลล์มะเร็ง เช่น การสร้างหลอดเลือดใหม่ (Koyanagi et al., 2002) จากการศึกษาผลของฟুকอยแดนในการกระตุ้น macrophage โดยสกัดฟুকอยแดนจากสาหร่าย *Undaria pinnatifida* ที่อุณหภูมิ 70 °C pH 0.1 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำฟুকอยแดนที่กรองผ่าน ultramembrane ขนาด 3,10 และ 30 kDa ความเข้มข้น 0.1-1000 µg/ml บ่มด้วย murine macrophage P 388 D1 เป็นเวลา 5 วัน นำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT assay พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1-1000 µg/ml ฟुकอยแดนขนาด 1-10 kDa สามารถกระตุ้นการเจริญของ macrophage ได้ (http://www.some-limu.info/fuoidan_research.htm) นอกจากนี้ยังพบว่าฟुकอยแดนสามารถกระตุ้น cytokine ได้ ซึ่งจากการศึกษาฟुकอยแดนจากสาหร่าย *kombu* และ *wakame* พบว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง mouse sarcoma Meth-A ในหนูทดลองได้ เมื่อใช้ lymphocyte จากม้ามมาศึกษา พบว่าฟुकอยแดนสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยการชักนำให้เกิดการผลิต IL-12 และ IFN - γ ซึ่งคุณสมบัติในการชักนำ cytokine ของฟुकอยแดนดังกล่าวขึ้นอยู่กับ signal transduction ระหว่าง antigen-presenting cells และ T cells เมื่อมีการเพิ่มของ IL-12 และ IFN - γ ทำให้มีการเพิ่ม antigen ที่จำเพาะ ส่งผลให้มีการกระตุ้น lymphocyte ผ่านระบบภูมิคุ้มกันโดยเซลล์ (cellular immunity) ได้ (http://www.takara-bio.co.jp/english/news_e/2000/03/14.htm) ผลของฟुकอยแดนต่อเซลล์มะเร็งประการที่สอง คือ การยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังเนื้อเยื่อหรือเซลล์อื่น ซึ่งการศึกษาของ Rocha และคณะ (2001) พบว่าฟुकอยแดนเป็นตัวขัดขวางการเกาะติดของเซลล์มะเร็งกับโปรตีนใน extra cellular matrix ฟुकอยแดนจากสาหร่าย *Sargassum stenophyllum* สามารถขัดขวางการเกาะติดของเซลล์มะเร็ง (Hela cell) กับ laminin, vitronectin และ collagen ชนิด IV ได้ 86.4 %, 53.6 % และ 28 % ตามลำดับ เช่นเดียวกับฟुकอยแดนจากสาหร่าย *Spatoglossum schroederi* ที่สามารถขัดขวางการเกาะติดของเซลล์มะเร็งในรังไข่ของหนูแฮมเตอร์ (tumorigenic

chinese hamster ovary -K1 cell) กับ vitronectin และ fibronectin ได้ โครงสร้างของ ฟุคอยแดนชนิดที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งดังกล่าว พบว่าอยู่ในกลุ่ม xylofucoglucuronan มีมวลโมเลกุลขนาดเล็กประมาณ 21 kDa ประกอบด้วย glucuronic acid, fucose, xylose และ sulfate ผลของฟุคอยแดนต่อเซลล์มะเร็งประการที่สาม คือ การยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ซึ่งฟุคอยแดนจากสาหร่าย *Fucus vesiculosus* สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง Sarcoma 180, Lewis lung carcinoma และ B16 melanoma ในหนูทดลอง โดยฟุคอยแดนจะจับกับ vascular endothelial growth factor 165 (VEGF₁₆₅) ทำให้ growth factor ดังกล่าวไม่สามารถจับกับ receptor บนผิวเซลล์ human umbilical vein endothelial cells (HVEC) ส่งผลให้ไม่สามารถสร้างหลอดเลือดใหม่ที่เกิดจากการชักนำของเซลล์มะเร็ง (tumor-induced angiogenesis) เซลล์มะเร็งจึงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากขาดหลอดเลือดในการลำเลียงสารอาหารและออกซิเจน นอกจากนี้ยังพบว่าฟุคอยแดนที่มีปริมาณ sulfate ในโมเลกุลสูง จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ (Koyanagi et al., 2002) จากรายงานการศึกษาดังกล่าวจะเห็นได้ว่า การยับยั้งเซลล์มะเร็งโดยฟุคอยแดนสามารถเกิดได้หลายปัจจัย หากแต่การทดลองครั้งนี้พบว่าฟุคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว สามารถกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ apoptosis ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง สำหรับการเกิดร่วมกับกระบวนการอื่นนั้นก็อาจมีความเป็นไปได้ แต่การทดลองครั้งนี้ยังไม่ได้ทำการศึกษารอบคลุมทั้งหมด

4.6 การนำไปใช้ประโยชน์และการวิจัยในอนาคต

สารฟุคอยแดนที่ได้จากสาหร่ายข้าวเหนียวในการศึกษารั้งนี้ มีคุณสมบัติทางชีวภาพหลายด้าน ประการแรก คือ คุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยฟุคอยแดนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ *Vibrio harveyi* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในสัตว์น้ำ แต่ไม่ส่งผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ทั่วไปและไม่ทำให้เกิดโรค (normal flora) จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถนำฟุคอยแดนไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันหรือควบคุม

โรคในสัตว์น้ำได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในแหล่งน้ำ จึงช่วยรักษาสมดุลของระบบนิเวศน์ในแหล่งน้ำ คุณสมบัติของฟูคอยแดนประการที่สอง คือ คุณสมบัติด้านการแข็งตัวของเลือด แต่ผลด้านการแข็งตัวของเลือดของฟูคอยแดนสูงกว่า heparin ไม่มากนัก การนำไปใช้ประโยชน์แทน heparin จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนองค์ประกอบบางประการของฟูคอยแดน เช่น การเพิ่มปริมาณ sulfate ภายในโมเลกุล ซึ่งสามารถเพิ่มฤทธิ์ในการต้านแข็งตัวของเลือดได้ คุณสมบัติประการที่สาม คือ การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง การนำฟูคอยแดนไปประยุกต์ใช้ด้านการแพทย์ ต้องคำนึงถึงระดับความเข้มข้นของฟูคอยแดนที่ใช้ในการทำลายเซลล์มะเร็ง ซึ่งต้องไม่ส่งผลต่อเซลล์ปกติ การพัฒนาโครงสร้างและองค์ประกอบของฟูคอยแดนเพื่อเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง จึงน่าจะมีการศึกษาต่อไปในอนาคต เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนายารักษาโรคมะเร็ง ซึ่งจะช่วยเพิ่มศักยภาพของผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่หาได้ในท้องถิ่นและลดต้นทุนในการผลิต รวมทั้งลดการเสียดุลย์การค้าในการนำเข้ายารักษาโรคจากต่างประเทศได้อีกทางหนึ่ง