นิพนธ์ต้นฉบับ

สมบัติทางชีวภาพของฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour.)

ดารารัตน์ ชูสวัสดิ์ [1] อมรรัตน์ พงศ์ดารา [2] และ วิไลวรรณ โชติเกียรติ [3]

Abstract

Choosawad, D., Phongdara, A. and Chotigeat, W.

Biological activity of fucoidan from leafy bladderwort (*Utricularia aurea* Lour.)

Songklanakarin J. Sci. Technol., Dec. 2005, 27(Suppl. 3) : 809-815

Fucoidan extracted from aquatic plant *Utricularia aurea* was 1.3% of dry weight and comprised glucuronic acid 62.5% and fucose 4.98% of the crude extract and 28.74% of the fucose was sulfate. The fucoidan was investigated for antibacterial activity. The minimal inhibitory concentration (MIC) of crude fucoidan against *Vibrio harveyi* and *Escherichia coli* was 20 and 10 mg/ml. Moreover, the fucoidan had anti-coagulant activity. The crude fucoidan had activated partial thromboplastin time (APTT) at 4.47 IU/mg.

Key words : fucoidan, antibacterial, anticoagulant

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112, Thailand.

[1]นักศึกษาหลักสูตร วท.ม. สาขาชีวเคมี [2]D.Eng.(Biotechnology), รองศาสตราจารย์ [3]Ph.D.(Biotechnology), รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail : wchotigeat@yahoo.com

รับต้นฉบับ 10 กันยายน 2548 รับลงพิมพ์ 28 พฤศจิกายน 2548

บทคัดย่อ

ดารารัตน์ ชูสวัสดิ์ อมรรัตน์ พงศ์ดารา และ วิไลวรรณ โชติเกียรติ

สมบัติทางชีวภาพของฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour.)

ว. สงขลานครินทร์ วทท. ธ.ค. 2548 27(ฉบับพิเศษ 3) : 809-815

การสกัดสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียวได้ปริมาณฟูคอยแดน 1.3% ของสาหร่ายแห้ง สารสกัดที่ได้ประกอบด้วย glucuronic acid 62.5% และ fucose 4.98% ของสารสกัดฟูคอยแดน รวมทั้ง sulfate 28.74% ของปริมาณ fucose จากการศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดฟูคอยแดน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Escherichia coli* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด Minimal inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 20 มก./มล. และ 10 มก./มล. นอกจากนี้พบว่าฟูคอยแดนสามารถต้านการแข็งตัวของเลือดได้ โดยมีค่า activated partial thromboplastin time (APTT) เท่ากับ 4.47 IU/mg

ฟูคอยแดน (fucoidan) เป็นสารในกลุ่มซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ (sulfate polysaccharide) สามารถละลายน้ำได้ดี มีความหนืดสูง พบอยู่ระหว่างชั้นเนื้อเยื่อของผนังเซลล์สาหร่าย ช่วยคงความชุ่มชื้นและป้องกันการระเหยของน้ำออกจากเซลล์ในสภาวะอากาศแห้งแล้ง จึงทำให้สาหร่ายกลุ่มที่เจริญในเขตร้อนมีปริมาณฟูคอยแดนอยู่จำนวนมาก (Doner and Whistler, 1973) ฟูคอยแดนมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ คุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ Rao และ Perekh (1981) ได้ศึกษาผลของฟูคอยแดนในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดฟูคอยแดน (crude fucoidan) ของสาหร่ายสีน้ำตาล *Dictyota dichotoma*, *Dictyota* sp. และ *Padina gymnospora* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus megatherium* และ *Staphylococcus aureus* แต่ไม่ยับยั้งการเจริญในแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้มีการศึกษาคุณสมบัติของฟูคอยแดนที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ คุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือด โดย Pereira และคณะ (1999) ศึกษาคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือดของฟูคอยแดนที่สกัดได้จากสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม echinoderm พบว่ามีกลไกต้านการแข็งตัวของเลือดที่ซับซ้อนกว่าสาหร่ายสีน้ำตาล ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการศึกษาคุณสมบัติของสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว (*Utricularia aurea* Lour.) ซึ่งเป็นพืชน้ำจืดที่มีการกระจายทั่วไปในประเทศไทยและมนุษย์ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์มากนัก เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและพัฒนางานทางด้านการแพทย์ ทั้งนี้เพื่อช่วยลดผลกระทบจากการใช้ยาที่สังเคราะห์จากสารเคมีและลดต้นทุนในการผลิตยาที่ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคต่อไปในอนาคต

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การสกัดสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว

สาหร่ายข้าวเหนียว (จากแหล่งน้ำจืด บริเวณคลองพะวง ม.6 ต.น้ำน้อย อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา) ที่ผ่านการล้างทำความสะอาด ตากแห้ง และบดเป็นผง น้ำหนัก 100 กรัม กำจัดส่วนปนเปื้อนโดยต้มด้วยน้ำกลั่น อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง กรองส่วนใสทิ้ง นำส่วนกากสาหร่ายสกัดด้วย 0.1 M hydrochloric acid (HCl) ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรอง และนำส่วนกากสาหร่ายที่เหลือสกัดซ้ำด้วย 0.1 M HCl อีก 2 ครั้ง นำส่วนสารละลายที่สกัดได้ในแต่ละครั้ง มาทำให้แห้งด้วยวิธี lyophilization ชั่งหาน้ำหนักของสาร (Doner and Whistler, 1973) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำสารสกัดที่ได้แยกสารผ่านเยื่อ (dialysis) ด้วยน้ำกลั่น โดยใช้เมมเบรนที่มีขนาดตัดโมเลกุลที่ 2000 Da

การศึกษาองค์ประกอบของฟูคอยแดน

นำสารสกัดหยาบฟูคอยแดนที่สกัดได้ ละลายน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 100 μg/ml หาความเข้มข้นของน้ำตาล fucose โดยวิธี cystein-sulfuric acid (Doner and Whistler, 1973) โดยใช้ L-fucose เป็นสารมาตรฐาน

คำนวณหาความเข้มข้นของฟูคอยแดน ตามความสัมพันธ์ดังนี้

fucoidan (μg/ml) = 1.75 x fucose (μg/ml)

จากนั้นนำสารสกัดฟูคอยแดนมาหาปริมาณ glucuronic acid โดยวิธี carbazole reaction (Dische, 1947) โดยใช้ glucuronic acid เป็นสารมาตรฐาน และหาปริมาณ sulfate โดยวิธี Barium chloride - gelatin (Dodgson, 1961) โดยใช้ละลาย potassium sulfate (K2SO4) เป็นสารมาตรฐาน

การศึกษาสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

การศึกษาผลของสารสกัดฟูคอยแดนต่อการต้านการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี agar plate sensitivity method

ทดสอบผลของฟูคอยแดนต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli* *S. aureus* และ *V. harveyi* (จำนวนเซลล์เริ่มต้น 1.5 x 10^9 เซลล์) ด้วยวิธี agar plate sensitivity method (Cappuccino, 1986) ใช้ปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อคีบแผ่นดิสก์แตะในสารละลายฟูคอยแดนความเข้มข้น 90, 45, 22.5, 11.25 และ 5.62 มก./มล. วางลงบนอาหาร Nutrient agar ที่ปลูกเชื้อไว้ โดยใช้ 0.85 % NaCl เป็นกลุ่มควบคุม นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง อ่านผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยดูบริเวณวงใส (clear zone) รอบแผ่นดิสก์ ที่มีสารฟูคอยแดนความเข้มข้นต่าง ๆ

การหาค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) ของฟูคอยแดนต่อการต้านการเจริญของแบคทีเรีย

ศึกษาค่า MIC โดยใช้สารละลายฟูคอยแดนความเข้มข้นเริ่มต้น 40 มก./มล. ทำการเจือจางสารแบบเป็นลำดับ (serial dilution) 1:2 เท่า จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.62 มก./มล. ทดสอบกับแบคทีเรีย *V. harveyi* และ *E. coli* โดยใช้อาหาร Luria Bertaini broth (LB broth) ที่ไม่มีสารฟูคอยแดนเป็นกลุ่มควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นและอ่านค่า MIC (Lennette *et al.*, 1974)

การศึกษาสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือด

ทดสอบสมบัติของฟูคอยแดนต่อการต้านการแข็งตัวของเลือดจากค่า activated partial thromboplastin time (APTT) โดยใช้พลาสมาจากเลือดคนปกติ ทดสอบกับสารละลายฟูคอยแดนความเข้มข้น 100, 200, 250 และ 300 μg/ml เริ่มจับเวลาการแข็งตัวของเลือด (clotting time) ทันทีหลังจากเติม thombin 0.25 NIH unit (National Institute of Health Unit) คำนวณค่าการแข็งตัวของเลือดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน heparin (Colliec *et al.*, 1994)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การสกัดสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว

การสกัดสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียวน้ำหนักแห้ง 100 กรัม ด้วย 0.1 M HCl จากการทดลอง 3 ครั้ง ได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดทั้งหมด 15.32±0.64 กรัม มีปริมาณฟูคอยแดนที่ได้ทั้งหมด 1.29±0.18 กรัม คิดเป็น 18.67±1.53 % (Table 1) ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดฟูคอยแดนจากสาหร่ายชนิดอื่นที่ใช้วิธีการสกัดเดียวกันกับการทดลองครั้งนี้ จากการศึกษาการสกัดสารฟูคอยแดนจากสาหร่าย *Pelvitia canaliculata* น้ำหนักแห้ง 100 กรัม พบว่าได้น้ำหนักแห้งของสารสกัด 12.8 กรัม มีปริมาณฟูคอยแดนทั้งหมด 2.5 กรัม (Colliec *et al.*, 1994) และการสกัดฟูคอยแดนจากสาหร่าย *Sargassum* sp. ได้น้ำหนักแห้งของสารสกัดและปริมาณฟูคอยแดนเท่ากับ 22.29 กรัม และ 2.74 กรัม ตามลำดับ (Chotigeat *et al.*, 2004) สารสกัดฟูคอยแดนที่ได้จากสาหร่ายข้าวเหนียวในการทดลองครั้งนี้ มีปริมาณฟูคอยแดนน้อยกว่าสาหร่ายที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากฟูคอยแดนจากสาหร่ายในกลุ่มดังกล่าว จัดอยู่ในกลุ่ม F-Fucoidan ที่มีปริมาณน้ำตาลฟูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบของฟูคอยแดนที่ได้จากสาหร่ายข้าวเหนียว พบว่ามีปริมาณ glucuronic acid มากที่สุดเท่ากับ 62.5± 19.09 กรัม มีปริมาณฟูโคสเพียง 4.98±0.31 กรัม และมีปริมาณซัลเฟต 28.74±8.91 % (Table 1) ดังนั้นสารสกัดหยาบฟูคอยแดนที่ได้จากสาหร่ายข้าวเหนียว จึงจัดอยู่

Table 1. Yield and composition of fucoidan from *Utricularia aurea*

Dry weight (g) (n=3)	Fucoidan (g) (n=3)	Fucoidan (%) (n=3)	Fucose (%) (n=3)	Glucuronic acid (%) (n=3)	%SO_4/fucose (n=3)
15.32±0.64	1.29±0.18	18.67±1.53	4.98±0.31	62.5±19.09	28.74±8.91

Table 2. Antibacterial activity of crude fucoidan.

Organism	Diameter of inhibition zone (mm) (n=3)				
	Fucoidan concentration (mg/ml)				
	90	45	22.5	11.25	5.62
V. harveyi	13.5±0.7	12.5±1.1	11.0±1.4	8.0±1.1	-
E. coli	13.0±0.7	11.0±0.4	10.0±1.4	-	-
S. aureus	-	-	-	-	-

- = no inhibition zone

ในกลุ่ม U-Fucoidan ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาฟูคอยแดนจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Larminaria digitata* ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลในกลุ่ม hexuronic acid คือ uronic acid ซึ่งเป็นน้ำตาลในกลุ่มเดียวกับ glucuronic acid ปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 46.4% โดยมีปริมาณ fucose เท่ากับ 2.3% และปริมาณ sulfate 11.6% เช่นเดียวกับฟูคอยแดนจากสาหร่าย *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)

สมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

จากการศึกษาผลของสารสกัดฟูคอยแดนต่อความสามารถในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ *V. harveyi E. coli* และ *S. aureus* โดยวิธี agar plate sensitivity method โดยใช้สารสกัดฟูคอยแดนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 90, 45, 22.5, 11.25 และ 5.62 มก./มล. พบว่าสารสกัดฟูคอยแดนสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้สองชนิดคือ *V. harveyi* และ *E. coli* แต่ไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส (clear zone) รอบแผ่นดิสก์ แสดงใน Table 2 สำหรับค่า MIC ของสารสกัดฟูคอยแดนต่อการต้านการเจริญของแบคทีเรีย *V. harveyi* และ *E. coli* เท่ากับ 20 และ 10 มก./มล. (Table 3) จากผลการทดลองพบว่าสารฟูคอยแดนที่สกัดจากสาหร่ายข้าวเหนียวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ โดยไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แตกต่างจากรายงานของ Roa และคณะ (1981) พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Dictyota dichotoma* และ *Padina gymnospora* สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus megatherium* และ *Staphylococcus aureus* ได้ นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาผลของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Ascophylum nodosum, Sargassum muticum* และ *Polysiphonia lanosa* มีฤทธิ์ยับยั้ง marine bacteria ได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Cladosiphon rupestris, Gelidium latifolium* และ *Palmaria palmata* สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ (Hellio *et al.*, 2001) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารฟูคอยแดนจากสาหร่ายชนิดต่าง ๆ ให้ความสามารถในการยับยั้งชนิดของแบคทีเรียแตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของฟูคอยแดนจากแหล่งต่าง ๆ รวมทั้งวิธีการสกัดที่แตกต่างกันส่งผลให้มีการยับยั้งแบคทีเรียที่แตกต่างกัน (Rao *et al.*, 1981) สารสกัดฟูคอยแดนจากการศึกษาในครั้งนี้มีผลในการยับยั้งการเจริญของ

Table 3. Minimal inhibitory concentration (MIC)

Test	organism	Fucoidan concentration (mg/ml)						
		40	20	10	5	2.5	1.25	0.62
MIC	*V. harveyi*	+	+	-	-	-	-	-
	E. coli	+	+	+	-	-	-	-

+ = inhibition
- = no inhibition

Table 4. Anticoagulant activity of crude fucoidan.

Fucoidan (μg/ml)	Clotting time (min) n=3	APTT (IU)	APTT (IU/mg)
0	1.50±0.03	0.01	0
100	2.10±0.04	0.02	4.00
200	4.25±0.07	0.04	4.11
250	5.68±0.53	0.06	4.39
300	7.56±0.49	0.07	4.87
		mean±SD	4.47±0.44

แบคทีเรียแกรมลบ *V. harveyi* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในสัตว์น้ำ โดยไม่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก จึงสามารถนำสารสกัดฟูคอยแดนไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคในสัตว์น้ำ โดยไม่ส่งผลต่อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในแหล่งน้ำ ซึ่งช่วยรักษาสมดุลย์ของระบบนิเวศน์ในแหล่งน้ำได้อีกทางหนึ่ง

สมบัติต้านการแข็งตัวของเลือด

คุณสมบัติในการต้านการแข็งตัวของเลือดที่ทดสอบจากค่า activated partial thromboplastin time (APTT) จากพลาสมาในเลือดคนปกติ พบว่าสารสกัดฟูคอยแดนสามารถต้านการแข็งตัวของเลือดได้โดยมีค่าเฉลี่ย APTT ต่อปริมาณฟูคอยแดนเท่ากับ 4.47 IU/mg (Table 4) ซึ่งให้ผลต้านการแข็งตัวของเลือดสูงกว่า heparin ไม่มากนัก การนำไปใช้ประโยชน์แทน heparin จึงจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนองค์ประกอบบางประการของฟูคอยแดน เช่น การเพิ่มประมาณ sulfate ภายในโมเลกุล ซึ่งจากทดลองของ Haroun-Bouhedja และคณะ (2000) พบว่าคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือดขึ้นกับปริมาณ sulfate ฟูคอยแดนที่มีปริมาณ sulfate ต่ำกว่า 20% ไม่สามารถต้านการแข็งตัวของเลือดได้ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ sulfate ในโมเลกุลฟูคอยแดน ทำให้มีการต้านการแข็งตัวของเลือดสูงขึ้น จากรายงานการศึกษากลไกของฟูคอยแดนในการต้านการแข็งตัวของเลือด พบกลไกที่สำคัญ 2 กลไก กลไกแรกคือ การยับยั้ง thrombin (Church et al.,1989) ซึ่งมีกลไกคล้ายกับ heparin โดยคุณสมบัติการยับยั้ง thrombin ของสารในกลุ่ม sulfate polysaccharide ขึ้นกับการยับยั้งของเอนไซม์ protease ผ่าน plasma cofactor ที่มีความจำเพาะ คือ Antithrombin III (AT III) และ Heparin cofactor II (HC II) โดยฟูคอยแดนมีคุณสมบัติคล้ายกับ heparin แตกต่างกันที่การยับยั้ง thrombin ผ่าน plasma cofactor ซึ่งฟูคอยแดนสามารถยับยั้ง 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 ส่วนฤทธิ์ในการต้านการแข็งตัวของเลือดในสารฟูคอยแดนที่สำคัญคือ การยับยั้งการทำงานของ thrombin และ factor Xa ทำให้เส้นใยฝอย (fibrin) เกิดน้อยลง โดยฟูคอยแดนมีผลเพิ่มฤทธิ์ของ HC II โดยทำหน้าที่เป็น

catalytic template ให้ทั้ง thrombin และ HC II มาจับ เมื่อ HC II และ thrombin มาจับกับฟูคอยแดน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง thrombin ซึ่งในสารฟูคอยแดนมีประสิทธิภาพการยับยั้ง thrombin ผ่าน HC II ได้ดีกว่า AT III เนื่องจาก HC II มีความสามารถในการจับกับฟูคอยแดน และ thrombin ได้ดีกว่า AT III โดยจากการศึกษาของ Church และคณะ (1989) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของฟูคอยแดน 10 ไมโครกรัม/มล. สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง thrombin ผ่าน HC II ได้มากกว่า 3,500 เท่า ในขณะที่ AT III ยับยั้งได้เพียง 285 เท่า ที่ความเข้มข้นของฟูคอยแดน 30 μg/ml และยับยั้ง factor Xa ผ่าน AT III ได้ 35 เท่า ที่ความเข้มข้นของฟูคอยแดน 500 ไมโครกรัม/มล. สำหรับกลไกที่สองคือกลไกการยับยั้งการละลายลิ่มเลือดของสารฟูคอยแดน มีการกระตุ้นให้มีการเพิ่ม tissue plasminogen activator (t-PA) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น plasminogen ที่พบในเนื้อเยื่อ โดย t-PA จะไปกระตุ้น plasminogen ซึ่งเป็นเอนไซม์ในพลาสมาในรูปที่ไม่มีฤทธิ์ให้เปลี่ยนเป็น plasmin ซึ่งมีฤทธิ์ละลายโปรตีน สามารถย่อยเส้นใยฝอย (fibrin) และ fibrinogen ให้ลิ่มเลือดละลายเป็นเลือดเหลว นอกจากนี้ฟูคอยแดนยังช่วยป้องกันไม่ให้ plasmin ถูกทำลายโดย α_2-antiplasmin ที่พบในเลือด และช่วยป้องกันการถูกยับยั้งของ t-PA และ urokinase (ตัวกระตุ้น plasminogen ที่พบในปัสสาวะ) จาก plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) โดยฟูคอยแดนจับกับ PAI-1 เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้การทำงานของ PAI-1 ลดลง ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ t-PA และ urokinase ในการกระตุ้น glutamic plasminogen ส่งผลให้การละลายลิ่มเลือดเกิดได้ดีขึ้น (Minix *et al.*, 1997)

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดฟูคอยแดนจากสาหร่ายข้าวเหนียว มีปริมาณฟูคอยแดน 1.3% ของสาหร่ายแห้ง ประกอบด้วย glucuronic acid 62.5 % ของสารสกัด, fucose 4.98% ของสารสกัด และ sulfate 28.74% ของ fucose มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *V. harveyi* และ *E. coli* โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *V. harveyi* และ *E. coli* เท่ากับ 20 มก./มล. และ 10 มก./มล. นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติต้านการแข็งตัวของเลือด โดยมีค่า APTT ต่อปริมาณฟูคอยแดนเท่ากับ 4.47 IU/mg

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาและวิจัยในสาขาความเป็นเลิศ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

Cappuccino, J.P. 1986. Agar plate sensitivity method. **In** Microbial A Laboratory Manual, The Benjamin Cummings Publishing Company Inc., Califonia.

Church, F.R., Meade, J.B., Treanor, R.E. and Whinna, H.C. 1989. Antithrombin activity of fucoidan: the interaction of fucoidan with heparin cofactor II, antitrombin III and thrombin, J. Biol. Chem., 264: 3618-3623.

Chotigeat, W., Tongsupa S., Supamataya, K. and Phongdara, A. 2004. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp, Aquaculture, 233: 23-30.

Colliec, S., Boisson-Vidal, C. and Jozefonvicz, J. 1994. A low molecular weight fucoidan fraction from the brown seaweed *Pelvetia canaliculata*, Phytochemistry, 35: 697-700.

Dische, Z. 1947. A new specific colour reaction of hexuronic acid, J. Biol. Chem., 167: 189-198.

Dodgson, K.S. 1961. Determination of Inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters, Biochem. J., 78: 312-319.

Doner, L.W. and Whistler, R.L.1973. Fucoidan. **In** Industrial gums polysaccharide and their derivatives, Academic Press Inc., New York.

Hellio, C., De La Broise, D., Dufosse, L., Le Gal, Y. and Bourgougnon, N. 2001. Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae: potential use for environmentally friendly antifouling paints, Mar. Environ. Res., 52: 231-247.

Haroun-Bouhedja, F., Ellouali M., Sinquin C. and Boisson-Vidal, C. 2000. Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans, Thromb. Res., 100: 453-459.

Lennette, E.H., Spaulding, E.H. and Truant, J.P. 1974. Dilution test procedures. **In** Manual of clinical microbiology, American Society for Microbiology, Washington D.C.

Mabeau, S., Kloareg, B. and Joseleau, J.P. 1990. Fractionation and analysis of fucans from brown algae, Phytochemistry, 29: 2441-2445.

Minix, R. and Doctor, V.M. 1997. Interaction of fucoidan with proteases and inhibitors of coagulation and fibrinolysis, Thromb. Res., 87: 419-429.

Pereira, M.S., Mulloy, B. and Mourao, P.A.S. 1999. Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans: comparison between the regular, repetive, and linear fucans from echinoderms with the more heterogeneous and branched polymers from brown algae, J. Biol. Chem., 274: 7656-7667.

Rao, P.S. and Perekh, K.S. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts, Bot. Mar., 24: 577-582.