ฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากส่วนที่รับประทานได้ของฟักข้าว

Anti-lipid peroxidation and antioxidant activities of aqueous extract of edible parts of *Momordica cochinchinensis* Lour. (Spreng.)

อชิดา จารุโชติกมล[1]*, หทัยพร ศรีบุตรา[2], ลีลาพิจ ยงหนู[2], เบญจมาศ คุชนี[1], ปวิตรา พูลบุตร[1]

Achida Jaruchotikamol[1]*, Hathaiporn Sributta[2], Leelapit Yongnoo[2], Benjamart Cushnie[1], Pawitra Pulbutr[1]

Received: 4 January 2019 ; Revised: 1 April 2019 ; Accepted: 22 Aprill 2019

บทคัดย่อ

ฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) เป็นพืชที่นิยมรับประทานทั้งส่วนใบและผล พบได้ทั่วไปในจีน เวียดนาม และไทย ด้วยข้อมูลฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของฟักข้าวมีอยู่จำกัด การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ดังกล่าวของสารสกัดด้วยน้ำและสกัดด้วยการคั้นสดของฟักข้าว ในส่วนยอดอ่อน และผล (ผลอ่อน ผลสุก หรือ เยื่อหุ้มเมล็ด) โดยสกัดพืชสดเลียนแบบวิธีการปรุงอาหารของพืชแต่ละส่วน คือ ลวก ต้ม หรือคั้นสด ได้เป็นสารสกัด 6 ชนิด คือ (1) ยอดอ่อนลวก (2) ผลอ่อนต้ม (3) ผลสุกต้ม (4) ผลสุกคั้นสด (5) เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม และ (6) เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด นำสารสกัดทดสอบกับไขมันที่ได้จากไข่แดงของไก่ และประเมินระดับ malondialdehyde ด้วย thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) assay และประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) assay ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกแสดงฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} และ vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) เท่ากับ 335.87±92.95 µg/mL และ 64.03 g/100 g extract ตามลำดับ และ ABTS assay พบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดเช่นกัน โดยมีค่า IC_{50} และ VCEAC เท่ากับ 30.91±5.81 µg/mL และ 5.21 g/100 g extract ตามลำดับ การศึกษานี้เป็นการรายงานครั้งแรกถึงฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของยอดอ่อนฟักข้าวที่มีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดจากส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและผล ดังนั้นผลของสารสกัดยอดอ่อนลวกในการป้องกันโรคที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันควรแก่การศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

คำสำคัญ: ฟักข้าว ฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยอดอ่อน ผล

Abstract

Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng. (MC) is a plant found in China, Vietnam, and Thailand, with edible leaves and fruit. With little information available on the anti-lipid peroxidation activity of this species, the present study investigated the activity of aqueous and freshly squeezed extracts of its young leaves and stems, and fruit (unripe pulps, ripe pulps, or aril). Fresh plant material was extracted using methods appropriate for each part including blanched, boiled, or freshly-squeezed, resulting in six extracts, (1) blanched young leaves and stems (BYLS), (2) boiled unripe pulps, (3) boiled ripe pulps, (4) freshly squeezed ripe pulps, (5) boiled aril, and (6) freshly squeezed aril. The extracts were tested with lipid from homogenized hen's egg yolk, and malondialdehyde levels were measured using the thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) assay. Antioxidant activity was also measured using the 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) assay. BYLS was found to have superior anti-lipid peroxidation activity to

[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, [2] นิสิตหลักสูตรเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

[1] Lecturer, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, [2] PharmD Student, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University

** Corresponding author:Achida Jaruchotikamol, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44150. E-mail : atika.j@msu.ac.th*

the other extracts, with IC_{50} and vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) values of 335.87±92.95 μg/mL and 64.03 g/100 g extract, respectively. In the ABTS assay, BYLS also demonstrated the highest level of antioxidant activity, with IC_{50} and VCEAC values of 30.91±5.81 μg/mL and 5.21 g/100 g extract, respectively. These results are the first report of the anti-lipid peroxidation activity of BYLS that was greater than the aril and fruit extracts. The potential effects of BYLS in preventing diseases caused by oxidative stress therefore merits further study.

Keywords: *Momordica cochinchinensis*, anti-lipid peroxidation activity, antioxidant activity, young leaves and stems, pulps

บทนำ

ฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) หรือ Gac เป็นพืชตระกูลแตงที่มีลักษณะคล้ายกับวัชพืช พบในประเทศเวียดนาม พม่า ไทย และจีน นิยมนำมาประกอบเป็นอาหาร เช่น เยื่อหุ้มเมล็ดนำมาหุงกับข้าว ผลนำมาต้มแกง ผลสุกนำมาคั้นสด เป็นต้น[1] สรรพคุณของฟักข้าว รากและใบเมื่อนำมาต้มน้ำดื่มช่วยลดไข้แก้ปวดเมื่อย เมล็ดคั่วและบดเป็นผงผสมกับน้ำมันนำไปทาช่วยลดการอักเสบช้ำบวม[2] สารสกัดของฟักข้าวส่วนผล เยื่อหุ้มเมล็ด และเมล็ดมีรายงานการศึกษาพบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ต้านมะเร็ง[3] ต้านอักเสบ[4] ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน[5] และต้านอนุมูลอิสระ[6,7,8,9] เป็นต้น สารสำคัญที่พบในฟักข้าว ได้แก่ สารกลุ่ม carotenoids พบได้ในผล เมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด[1,6] สาร saponins พบในเมล็ด ลำต้น เถาเรื้อย และราก[10] สารประกอบ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์พบได้ในเปลือกผล เนื้อผล เมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด[6]

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่ไม่เสถียรสามารถทำลายไขมัน ซึ่งเป็นโครงสร้างสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่ออนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับไขมันหรือเกิด lipid peroxidation ในระยะเหนี่ยวนำปฏิกิริยา (initiation) อนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมัน (L) เกิดอนุมูลอิสระต่าง ๆ และอนุมูลอิสระของไขมันขึ้น (L^{o}) ต่อมาในระยะเพิ่มจำนวน (propagation) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นแรกจะทำปฏิกิริยาต่อกับสารอื่น ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดสาร peroxyl radicals (LOO^{o}) ในระยะนี้ร่างกายจะมีปริมาณอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นได้อย่างมากมายหรือที่เรียกว่าเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในขณะนั้น นอกจากนี้ในระยะ propagation ยังเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่สามารถก่อให้เกิดอันตรายกับร่างกาย ได้แก่ lipid endoperoxides ที่มักจะเกี่ยวข้องกับการสร้างพรอสตาแกลนดินในกระบวนการอักเสบ พบในโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังต่าง ๆ, lipid hydroperoxide (LOOH), malondialdehyde (MDA) และ 4-hydroxynonenal (4-HNE) ที่ทำให้เกิดความผิดปกติและการตายของเซลล์ หากกระบวนการลูกโซ่นี้ดำเนินต่อไป จะทำให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ของเซลล์ เกิดความเสื่อม ภาวะแก่ อนุมูลอิสระยังจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น ๆ ในเซลล์ต่อได้อีก ได้แก่ โปรตีนหรือสารพันธุกรรม เป็นสาเหตุให้เกิดความผิดปกติ การอักเสบ การกลายพันธุ์ หากปฏิกิริยาไม่ถูกยับยั้ง อาจจะก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคการเสื่อมของระบบประสาท โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรังต่าง ๆ เป็นต้น[11,12,13] การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเพิ่มเติม พบว่าสามารถช่วยลดหรือป้องกันอันตรายที่เกิดขึ้นจากที่กล่าวข้างต้นได้[11,14,17]

จากการที่ฟักข้าวเป็นพืชที่ได้รับความนิยมและมีการแนะนำให้บริโภคเป็นอาหาร เนื่องจากหาได้ง่าย ราคาไม่แพง และมีสรรพคุณ ประโยชน์มากมาย โดยเฉพาะส่วนผลและเยื่อหุ้มเมล็ดของฟักข้าวนั้นมีการศึกษาถึงประโยชน์ต่าง ๆ ค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลจำกัดสำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดด้วยน้ำหรือสกัดด้วยการคั้นสด อีกทั้งการศึกษาในฤทธิ์ดังกล่าวของส่วนยอดอ่อนฟักข้าว (คือเถาและใบอ่อน) มีการศึกษาค่อนข้างน้อย การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของฟักข้าว โดยประเมินระดับของ MDA ที่ถูกสร้างขึ้นด้วย TBARS assay การทดสอบนี้จะเป็นการประเมินเบื้องต้นถึงฤทธิ์ของสารทดสอบกับไขมันจากสิ่งมีชีวิต ซึ่งผลน่าจะใกล้เคียงกับร่างกายมากกว่าการทดสอบเพียงปฏิกิริยาเคมีในหลอดทดลอง นอกจากนี้ยังได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay โดยในการศึกษานำฟักข้าว 4 ส่วน คือ ยอดอ่อน ผลอ่อน ผลสุก และเยื่อหุ้มเมล็ด นำพืชสดทั้ง 4 ส่วนมาสกัดตามกรรมวิธีการปรุงอาหารของพืชแต่ละส่วนที่ใช้บริโภคจริง คือ ต้ม ลวก หรือคั้นสด (ยอดอ่อนนิยมนำมาลวกรับประทานกับน้ำพริก ผลอ่อนและผลสุกนิยมนำมาต้มเป็นแกง เยื่อหุ้มเมล็ดนำมาต้มหุงกับข้าว และเยื่อหุ้มเมล็ดและผลสุกนิยมนำมาคั้นสด) จะได้สารสกัด 6 ชนิด ได้แก่สารสกัด (1) ยอดอ่อนลวก (2) ผลอ่อนต้ม (3) ผลสุกต้ม (4) ผลสุกคั้นสด (5) เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม และ (6) เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด ผลการศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ทราบว่าสารสกัดใดของฟักข้าวมีฤทธิ์ที่ดี ในการจะช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการส่งเสริมการบริโภคฟักข้าวโดยการปรุงเป็นอาหาร หรือนำไปศึกษาพัฒนาต่อไป

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

สารเคมี

Ferrous sulphate; $FeSO_4$ (Acros organics, Belgium), trichloroacetic acid; TCA (Acros organics, Belgium), thiobarbituric acid; TBA (Acros organics, Belgium), 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid; ABTS (Fluka, Japan), ascorbic acid (Carlo erba reagent, Italy), potassium persulfate; $K_2S_2O_8$ (Sigma-Aldrich, MO, USA) สารเคมีอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลองเป็นสารเคมีมาตรฐานจากบริษัท

พืชตัวอย่าง

ฟักข้าวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เก็บจากจังหวัดกาฬสินธุ์ ในช่วงเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2560 และได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์โดย ผศ.ดร.วนิดา ไทรชมภู คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม รหัสพืชตัวอย่าง ฟักข้าวส่วนยอดอ่อน ผลอ่อน และผลสุก สายพันธุ์เวียดนาม คือ MSU_PHCUR-MC3 เลือกส่วนพืชในการนำมาทดสอบมี 4 ส่วน โดยมีรายละเอียดการคัดพืชดังต่อไปนี้ ได้แก่

ยอดอ่อน คือ ส่วนใบและยอดของเถาอ่อนที่เด็ดได้ด้วยมือ

ผลอ่อน คือ ส่วนผลที่มีเนื้อสีขาวอมเขียว มีส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและส่วนเมล็ดอ่อนสีขาว เปลือกภายนอกจะมีสีเขียว โดยจะใช้ผลทั้งลูก ไม่รวมเปลือก

ผลสุก คือ ส่วนเนื้อผลที่มีสีเหลืองส้มจนถึงแดง ลักษณะเนื้อผลจะนิ่ม เปลือกภายนอกจะมีสีเหลืองหรือแดง และเมล็ดมีลักษณะแข็งสีน้ำตาล โดยจะใช้เฉพาะส่วนเนื้อผล

เยื่อหุ้มเมล็ด คือ เยื่อสีแดงสดที่อยู่ภายในผลสุกไม่รวมเมล็ด

การสกัดพืชตัวอย่าง

นำพืชมาคัดเอาส่วนที่เน่าเสียออก ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด จำนวน 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง คัดเอาส่วนพืชตามที่กำหนดข้างต้น วิธีการสกัดจะทำเลียนแบบการปรุงอาหารโดยใช้วิธีการต้มหรือลวกที่อุณหภูมิ 100°C ในตัวทำละลายคือน้ำกลั่น หรือใช้วิธีการคั้นสดในตัวทำละลายคือน้ำกลั่น โดยมีรายละเอียดการสกัด ดังต่อไปนี้

- **ยอดอ่อนลวก** นำยอดอ่อนมาหั่นให้มีขนาด 1 cm หรือเล็กกว่า นำไปทำการสกัดโดยวิธีการต้มในน้ำเดือดโดยแช่นาน 3-5 นาที นำเฉพาะกากพืชที่ได้ไปปั่น คั้นผ่านตะแกรง นำของเหลวที่คั้นได้มากรองผ่านผ้าขาวบาง 4 ชั้น จำนวน 2 ครั้ง กรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้ buchner funnel อีก 2 ครั้ง
- **ผลอ่อนต้ม** นำผลอ่อนทั้งลูกมาปอกเปลือกออก หั่นเนื้อผลทั้งลูก ให้มีขนาด 1X1 cm^2 หรือเล็กกว่า ทำการสกัดโดยวิธีการต้มนาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่น นำสารสกัดเหลวและกากพืชที่ได้มาทำการคั้นผ่านตะแกรง นำของเหลวที่คั้นได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 4 ชั้น จำนวน 2-3 ครั้ง กรองผ่านสำลี 2 ครั้ง และกรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้ buchner funnel อีก 2-3 ครั้ง
- **ผลสุกต้ม** นำผลสุกมาปอกเปลือก และผ่าแยกเอาส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดออก เอาเฉพาะส่วนเนื้อผลมาหั่นให้มีขนาด 1X1 cm^2 หรือเล็กกว่า สกัดโดยวิธีการต้มนาน 30 นาที นำสารสกัดเหลวและกากพืชที่ได้มาทำการคั้นและกรองตามวิธีเช่นเดียวกับการคั้นและกรองของสารสกัดส่วนผลอ่อน
- **ผลสุกคั้นสด** นำผลสุกมาปอกเปลือก ผ่าแยกเอาส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดออก เอาเฉพาะส่วนเนื้อผลมาหั่นให้มีขนาด 1X1 cm^2 หรือเล็กกว่า นำไปคั้นและกรองตามวิธีเช่นเดียวกับการคั้นและกรองของสารสกัดส่วนผลอ่อน (โดยมีการเติมน้ำกลั่นช่วยในขณะกรอง)
- **เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม** นำเยื่อหุ้มเมล็ดจากผลสุกมาคัดเมล็ดออก นำมาสกัดโดยวิธีการต้มนาน 30 นาที นำสารสกัดเหลวและกากพืชที่ได้มาทำการคั้นและกรองตามวิธีเช่นเดียวกับการคั้นและกรองของสารสกัดส่วนผลอ่อน
- **เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด** นำเยื่อหุ้มเมล็ดจากผลสุกมาคัดเมล็ดออก นำไปคั้นและกรองตามวิธีเช่นเดียวกับการคั้นและกรองของสารสกัดส่วนผลอ่อน (โดยมีการเติมน้ำกลั่นช่วยในขณะกรอง)

สารสกัดเหลวที่สกัดได้ ทั้ง 6 ชนิด จะถูกทำให้แห้งในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ -100 °C โดยเครื่อง bench top freeze dryer (ScanVac, Denmark) บันทึกข้อมูลลักษณะของสารสกัดแห้งและคำนวณหา %yield (Table 1) เก็บสารสกัดไว้ในภาชนะปิดสนิทและทึบแสงที่อุณหภูมิ -20 °C และในการทำการทดลองสารสกัดจะถูกเตรียมเป็นสารละลายด้วยการละลายกับน้ำกลั่น

Table 1 Yield, texture, and color of *Momordica cochinchinensis* aqueous extracts

สารสกัด	ลักษณะสารสกัดหยาบ	Yield (%)
1) ยอดอ่อนลวก (BYLS)	สีเขียว	2.40
2) ผลอ่อนต้ม	สีขาว	2.89
3) ผลสุกต้ม	สีส้มเหลือง	2.85
4) ผลสุกคั้นสด	สีส้มเหลือง	1.14
5) เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม	สีส้มแดง	2.95
6) เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด	สีส้มแดง	2.26

การทดสอบฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันด้วย TBARS assay[15]

เตรียมสารละลายไข่แดง (egg yolk homogenate) ใน 0.1 M phosphate buffer saline (pH 7.4) อัตราส่วน 1:10.52 (v/v) ด้วย glass teflon dounce homogenizer จากนั้นนำสารละลายมาปริมาตร 200 μL เติมสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 50 μL และ 25 mM $FeSO_4$ ปริมาตร 350 μL ทำปฏิกิริยาใน microfuge tube บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 15 นาที จากนั้นเติม 15% TCA ปริมาตร 100 μL ผสมให้เข้ากัน ดูดเอาส่วน supernatant ปริมาตร 400 μL มาทำปฏิกิริยากับ 1% TBA ปริมาตร 200 μL และต้มที่อุณหภูมิ 95°C นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วดูดสารละลายใส่ 96-well plate ปริมาตร 200 μL และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่อง microplate reader SPECTROstar Nano (BMG labtech, USA) ที่ความยาวคลื่น 532 nm โดย blank คือ สารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 50 μL และน้ำกลั่นปริมาตร 650 μL

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay[16]

เตรียมสารละลาย ABTS reagent โดยผสม 7 mM ABTS ปริมาตร 10 mL กับ 51.4 mM $K_2S_2O_8$ ปริมาตร 0.5 mL ตั้งเก็บไว้ในที่มืด 12-16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เจือจาง ABTS reagent ด้วย 95% ethanol อัตราส่วน 1: 30 และปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ให้อยู่ในช่วงประมาณ 0.7±0.2 ด้วย 95% ethanol

จากนั้นนำสารละลาย ABTS reagent ที่ได้ปริมาตร 200 μL ทำปฏิกิริยากับสารทดสอบปริมาตร 20 μL ใน 96-well plate บ่มในที่มืด นาน 5 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader SPECTROstar Nano (BMG labtech, USA) ที่ความยาวคลื่น 734 nm โดย blank คือ สารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 20 μL และน้ำกลั่นปริมาตร 200 μL

ทั้งสองวิธีการทดสอบ ได้นำเสนอข้อมูลด้วยค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้ง (%Inhibition) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ [%inhibition = (OD control - OD sample) X 100/ OD control] ร้อยละความสามารถในการยับยั้งได้สูงสุด (maximum inhibitory response; Rmax) ซึ่งพิจารณาจากค่าร้อยละความสามารถในการยับยั้ง ที่มีค่าร้อยละสูงสุดในแต่ละการทดลอง นอกจากนี้ยังนำเสนอข้อมูลความแรงของสาร (potency) ด้วยค่าความเข้มข้นที่ให้ผลในการยับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง (the half maximal inhibitory concentration; IC_{50}) ที่คำนวณได้จากโปรแกรม GraphPad Prism 5 เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายของสารสกัด (สารสกัดบางชนิดมีปัญหาการละลายกับตัวทำละลายชนิดอื่น) ในการทดสอบทั้งสองวิธี จึงได้เลือกใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน เพราะเป็นสารที่สามารถละลายได้ดีในน้ำ และมีการพิสูจน์แล้วว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและต้านอนุมูลอิสระได้ดี[17,18] และได้นำเสนอข้อมูลด้วยค่า VCEAC (vitamin C equivalent antioxidant capacity) ซึ่งคำนวณจากสมการเส้นตรงของสารสกัดเทียบกับสมการเส้นตรงของ ascorbic acid เพื่อแสดงให้เห็นการสมมูลของฤทธิ์ของสารสกัด 100 g ว่าจะมีฤทธิ์เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่น้ำหนักประมาณกี่กรัม (แสดงด้วยหน่วย g/100 g extract) หากค่านี้มีค่าสูงหมายถึงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ที่ดี

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สำหรับค่า IC_{50} ข้อมูลแสดงด้วยค่า mean±S.D. (เนื่องจากแต่ละการทดลองจะได้ค่า IC_{50} เพียงหนึ่งค่า) หรือสำหรับ %inhibition และ Rmax ข้อมูลแสดงด้วยค่า mean±S.E.M. (จากการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน 3-4 การทดลอง) และใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 ทดสอบทางสถิติ การทดสอบใช้ค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ 0.05 หากค่า $p<0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีแผนการทดลองดังนี้

ทดสอบฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัด 6 ชนิดและสารมาตรฐาน ascorbic acid เพื่อประเมินว่าสารสกัดใดมีฤทธิ์ที่ดี (จากข้อมูล 4 การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน; n=4) เปรียบเทียบฤทธิ์ (%inhibition) ของสารทดสอบทั้ง 7 กลุ่ม ด้วยสถิติ One-way Analysis of Variance, Fisher's Least Significant Difference (LSD) *post*-hoc test และเปรียบเทียบฤทธิ์ (%inhibition) ระหว่างสองความเข้มข้นของสารสกัด

ชนิดเดียวกันเพื่อประเมินคุณสมบัติ concentration-dependent manner เบื้องต้นของสารสกัดด้วยสถิติ independent sample *t*-test (Figure 1)

ทดสอบเพื่อหาความแรง (IC_{50}) และการตอบสนองสูงสุด (Rmax) ของสารสกัดยอดอ่อนลวก ในฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (จากข้อมูล 3 การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน; n=3) เปรียบเทียบค่าดังกล่าวของสารสกัดยอดอ่อนลวกกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ด้วยสถิติ independent sample *t*-test (Table 2)

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 6 ชนิดและสารมาตรฐาน ascorbic acid (จากข้อมูล 3 การทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน; n=3) เปรียบเทียบค่า IC_{50} ของสารทดสอบทั้ง 7 กลุ่ม ด้วยสถิติ One-way Analysis of Variance, Fisher's Least Significant Difference (LSD) *post*-hoc test (Table 3)

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดฟักข้าว

การทดสอบฤทธิ์การต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันจากไข่แดงของไก่ ประเมินระดับของ MDA ในปฏิกิริยาด้วย TBARS assay เบื้องต้นพบว่าสารสกัดฟักข้าว 5 ชนิด คือ สารสกัดผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม ผลสุกคั้นสด เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด ที่ความเข้มข้น 500 μg/mL มีค่า %Inhibition อยู่ในช่วงร้อยละ 14.51-26.23 สารสกัดยอดอ่อนลวกที่ความเข้มข้นเดียวกันมีค่า %Inhibition เท่ากับร้อยละ 46.34±5.40 และสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 50 μg/mL มีค่า %Inhibition เท่ากับร้อยละ 35.97±5.48 เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดฟักข้าวด้วยกัน ที่ความเข้มข้นเดียวกันคือ 500 μg/mL พบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีค่า %inhibition สูงกว่าสารสกัดชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) และเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดฟักข้าวกับ ascorbic acid พบว่าสารสกัดฟักข้าว 5 ชนิด คือ ผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม ผลสุกคั้นสด เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม และเยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด (100 และ 500 μg/mL) มีค่า %inhibition ต่ำกว่า ascorbic acid 50 μg/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ในขณะที่สารสกัดยอดอ่อนลวก (500 และ 1,000 μg/mL) มีค่า %inhibition สูงกว่า ascorbic acid 50 μg/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) ดังแสดงใน Figure 1 ทั้งนี้ในการศึกษาได้ลองทำการทดสอบสารสกัดทั้ง 5 ชนิด (สารสกัดผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม ผลสุกคั้นสด เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด) ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 500 μg/mL ด้วยเช่นกัน แต่พบว่าสารละลายในปฏิกิริยาเกิดการตกตะกอนในระหว่างทำการทดลอง ทำให้รบกวนการวัดค่าการดูดกลืนแสงและเป็นสาเหตุให้ไม่สามารถวิเคราะห์ผลการทดลองของสารสกัดทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้นสูงกว่า 500 μg/mL

เมื่อทราบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันที่ดี และมีคุณสมบัติ concentration-dependent manner ต่อมาจึงได้ทำการศึกษาหาความแรงและการตอบสนองสูงสุด (Rmax และ IC_{50}) ในฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเฉพาะสารสกัดยอดอ่อนลวกเปรียบเทียบกับ ascorbic acid (ทดสอบที่ความเข้มข้น 1 ถึง 3,000 และ 0.1 ถึง 2,000 μg/mL ตามลำดับ) ผลการทดลองพบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกและ ascorbic acid มีค่า Rmax และค่า IC_{50} ดังแสดงใน Table 2 สารสกัดยอดอ่อนลวกและ ascorbic acid มีค่า IC_{50} แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.007) และเมื่อคำนวณค่า VCEAC ของสารสกัดยอดอ่อนลวกได้เท่ากับ 64.03 g/100 g extract

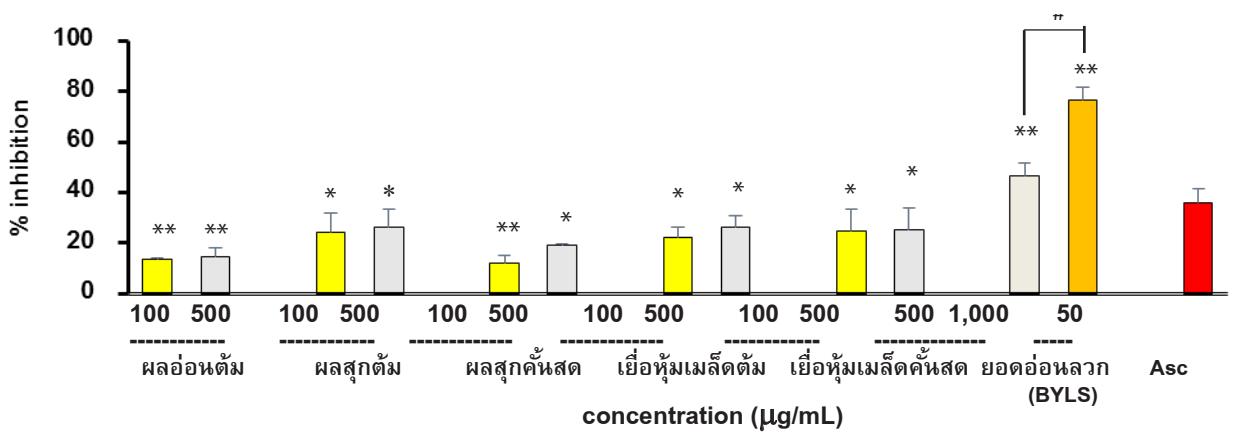

Figure 1 Effect of *Momordica cochinchinensis* aqueous extracts and ascorbic acid (Asc) on lipid peroxidation as measured using TBARS assay in egg yolk. Data are expressed as mean±S.E.M. (n=4).
* p<0.05, ** p<0.001 vs ascorbic acid; # p<0.001 vs same extract

Table 2 Lipid peroxidation inhibition by *Momordica cochinchinensis* aqueous extract (BYLS) and ascorbic acid

สารทดสอบ	Rmax (%) mean±S.E.M. (n=3)	IC_{50} (μg/mL) mean±S.D. (n=3)	VCEAC (g/100 g extract)
สารสกัดยอดอ่อนลวก (BYLS)	84.24±3.09*	335.87±92.95*	64.03
ascorbic acid	90.78±0.32	53.69±15.10	-

* p<0.05 vs ascorbic acid

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฟักข้าว

ผลการทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระของ ABTS โดยวิธี ABTS assay พบว่าความสามารถในการออกฤทธิ์ของสารสกัดฟักข้าวทั้ง 6 ชนิดขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (Figure 2) เมื่อพิจารณาค่าRmax มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 82 ขึ้นไป ค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 31 ถึง 1,070 μg/mL และค่า VCEAC ของสารสกัดอยู่ในช่วง 0.33 ถึง 5.21 g/100 g extract ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} ระหว่างสารสกัดฟักข้าว 6 ชนิดกับ ascorbic acid พบว่า ascorbic acid มีค่า IC_{50} ต่ำกว่าสารสกัดฟักข้าวอีก 5 ชนิด (p<0.001) และค่า IC_{50} ของสารสกัดยอดอ่อนลวกมีค่าต่ำกว่าสารสกัดอีก 5 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) (Table 3)

วิจารณ์และสรุปผล

ฟักข้าวเป็นพืชในครัวเรือนที่มีประโยชน์ และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ต้านจุลชีพ ต้านอักเสบ ต้านมะเร็ง[3,4,7] จากผลการทดสอบด้วย TBARS assay พบว่าสารสกัดน้ำของฟักข้าวส่วนยอดอ่อนลวก สามารถยับยั้งการสร้าง MDA ในไข่แดงของไก่ได้ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน สารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นและออกฤทธิ์เป็นแบบขึ้นกับความเข้มข้น (concentration-dependent manner) ในขณะที่สารสกัดอีก 5 ชนิด คือ ผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม ผลสุกคั้นสด เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม และเยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด พบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) (Figure 1)

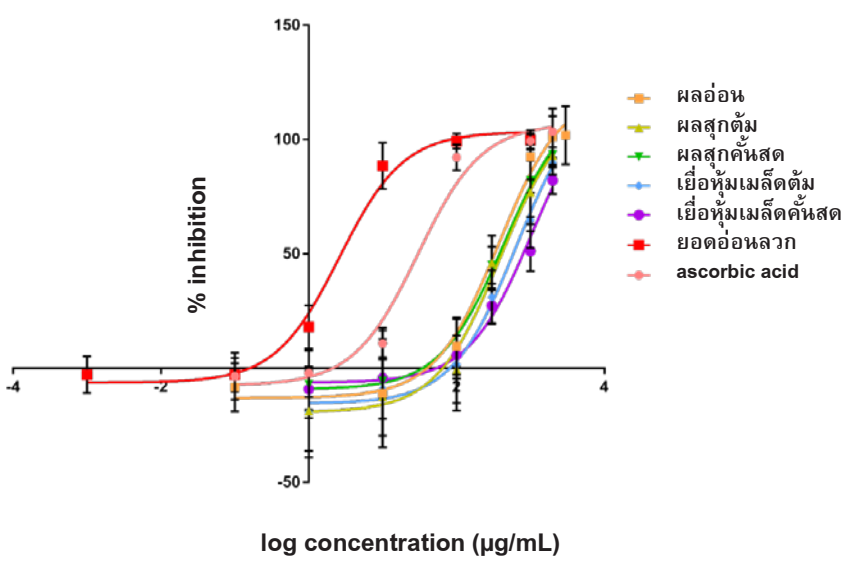

Figure 2 Concentration-response curve of *Momordica cochinchinensis* aqueous extracts and ascorbic acid, tested using ABTS assay. Data expressed as mean±S.E.M. (n=3)

Table 3 Rmax, IC_{50} and VCEAC levels of six extracts and ascorbic acid as tested using ABTS assay

	Rmax (%) mean±S.E.M. (n=3)	**IC_{50} (μg/mL)** mean±S.D. (n=3)	**VCEAC (g/100 g extract)**
extracts:			
1. ผลอ่อนต้ม	101.86±12.69	374.80±85.06 *	0.33
2. ผลสุกต้ม	92.93±8.32	410.20±34.64 *	0.59
3. ผลสุกคั้นสด	93.37±8.93	465.80±84.58 *	0.80
4. เยื่อหุ้มเมล็ดต้ม	89.94±2.27	661.23±76.24 *	0.70
5. เยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด	82.08±6.02	1,068.00±42.67 *	0.17
6. ยอดอ่อนลวก (BYLS)	103.38±6.88	30.91±5.81	5.21
ascorbic acid	99.84±4.30	2.79±0.67	-

* p<0.001 vs ascorbic acid or BYLS

ฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดยอดอ่อนลวก แสดงค่า Rmax ที่ร้อยละ 84.24±3.09 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 335.87±92.95 μg/mL จากข้อมูลการศึกษาที่ผ่านมาในฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันของฟักข้าวมีเพียงการศึกษาของ Iamsaard และคณะ (2017) พบว่าการให้สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวคั้นสดขนาด 100 mg/Kg BW แก่หนูขาว โดยให้ทางปากนาน 23 วัน สามารถลดปริมาณ testicular malondialdehyde ในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย valproic acid ได้[5] เมื่อผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันที่ดีกว่าสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดคั้นสด จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจในการทำการศึกษาเพิ่มเติมในลำดับต่อไป

สารมาตรฐาน ascorbic acid หรือวิตามินซีเป็นสารที่มีความสามารถในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ในปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้[17] จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ascorbic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 53.69±15.10 μg/mL ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Badmus และคณะ (2013)[18] ยืนยันได้ว่าสารนี้มีฤทธิ์ที่ดีในการใช้เป็นสารมาตรฐาน และเนื่องจากในการทดสอบครั้งนี้ใช้สารสกัดหยาบซึ่งยังไม่ทราบสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาของสารสกัดกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ในการทดสอบฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน เมื่อคำนวณความสามารถในการออกฤทธิ์สมมูลกับ ascorbic acid (VCEAC) ของสารสกัดหยาบของยอดอ่อนลวกขนาด 100 g จะมีฤทธิ์สมมูลกับ ascorbic acid ขนาด 64.03 g และเมื่อสารสกัดดังกล่าวมี %yield เท่ากับร้อยละ 2.40 (Table 1) ดังนั้นยอดอ่อนพืชสดขนาด 100 g น่าจะมีฤทธิ์สมมูลกับ ascorbic acid ขนาด 1.54 g ซึ่งแสดงว่ายอดอ่อนฟักข้าวน้ำหนักพืชสด 100 g (1 ขีด) นำมาลวกอาจจะให้ฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเทียบเท่ากับฤทธิ์ของ ascorbic acid ขนาด 1.54 g แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในหลอดทดลอง จำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันในวิธีการทดสอบอื่น เช่น การทดสอบใน mammalian cell ก่อนทำการศึกษาผลที่เกิดขึ้นในร่างกายโดยการทดสอบใน *in vivo* ต่อไป

Cucurbitaceae (วงศ์ของฟักข้าว) พืชในวงศ์นี้ ที่มีการศึกษาพบว่าส่วนใบหรือส่วนเถา มีฤทธิ์ต้าน ลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ได้แก่ *Cucurbita maxima* หรือฟักทอง สารสกัดด้วยเมทานอลสามารถต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในเนื้อเยื่อตับ[19] *Lagenaria siceraria* หรือน้ำเต้า สารสกัดด้วยเมทานอลขนาด 200 และ 400 mg/kg ป้อนนาน 9 วัน ช่วยต้านการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในเนื้อเยื่อตับหนูถีบจักรที่ได้รับการฉีด ehrlich ascites carcinoma ได้[20] นอกจากนี้พืชในสกุล Momordica (สกุลเดียวกับฟักข้าว) ได้แก่ *Momordica foetida* พืชลักษณะคล้ายฟักข้าวที่พบในประเทศแอฟริกา สารสกัดส่วนใบสกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในเนื้อเยื่อตับและสมองได้[21] *Momordica charantia* หรือมะระขี้นก สารสกัดส่วนใบสกัดด้วยน้ำ มีฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในเนื้อเยื่อไต[22] เนื่องจากพบว่าไขมันจากเนื้อเยื่อต่างกันอาจเป็นปัจจัยต่อการแสดงออกของฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้[18,21] ดังนั้นจึงไม่สามารถเทียบเคียงผลของยอดอ่อนฟักข้าว (ใบ เถาอ่อน) จากการทดสอบนี้กับข้อมูลข้างต้นได้เนื่องจากใช้เนื้อเยื่อที่เป็นแหล่งของไขมันที่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาเปรียบเทียบยอดอ่อนฟักข้าวกับยอดอ่อนพืชอื่นในวงศ์หรือสกุลเดียวกัน ในเนื้อเยื่อชนิดเดียวกัน เป็นประเด็นที่น่าสนใจศึกษาเช่นกัน

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฟักข้าวทั้ง 6 ชนิดด้วยวิธี ABTS assay โดยในการทดสอบนี้สารมาตรฐานได้ใช้ ascorbic acid ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือ radical scavenger ที่มีฤทธิ์แรง ซึ่งผลการทดสอบได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 2.79±0.67 μg/mL[23] การศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดฟักข้าว 6 ชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้และฤทธิ์เป็นแบบขึ้นกับความเข้มข้น (concentration-dependent manner) สารสกัดมีฤทธิ์ที่ต่างกันโดยสารสกัดผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม ผลสุกคั้นสด ยอดอ่อนลวก มีค่า Rmax ใกล้ร้อยละ 100 เช่นเดียวกับ ascorbic acid ในขณะที่สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดต้มและคั้นสดมีค่าไม่ถึงร้อยละ 90 (Figure 2) และเมื่อพิจารณาที่ค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดอีก 5 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) จากข้อมูลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฟักข้าวที่ผ่านมาพบว่า สารสกัดที่สกัดด้วย organic solvents (เอทานอลหรือเมทานอล) สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยเฉพาะส่วนเนื้อผล เยื่อหุ้มเมล็ด และเมล็ด ในขณะที่ส่วนใบมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ [6,8,9,24,25] จากผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าสำหรับฟักข้าวส่วนยอดอ่อน (ใบและเถาอ่อน) วิธีการสกัดด้วยน้ำโดยเลียนการลวกผักจะให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และเมื่อน้ำเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการประกอบอาหาร การบริโภคยอดอ่อนฟักข้าวเป็นผักลวก น่าจะให้ประโยชน์ในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งควรมีการศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมต่อไป

การที่สารสกัดยอดอ่อนลวก มีฤทธิ์การต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดฟักข้าวอีก 5 ชนิด ทั้งสารสกัดแบบต้ม (เนื้อผลอ่อน เนื้อผลสุก และเยื่อหุ้มเมล็ด) และสารสกัดแบบคั้นสด (เนื้อผลสุกและเยื่อหุ้มเมล็ด) ฤทธิ์ที่แตกต่างกันเป็นไปได้ว่าเกิดจากความแตกต่างของส่วนของพืชและชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในพืชแต่ละส่วนอาจถูกสกัดออกมาได้ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการสกัดเลียนแบบการต้ม ที่จะใช้เวลาการสกัดมากกว่าการสกัดเลียนแบบการลวก ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่แตกต่างกันจะมีผลต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้[26] ดังนั้นการต้มด้วยความร้อนที่นานกว่าจึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารสกัดฟักข้าวในส่วนผลอ่อนต้ม ผลสุกต้ม และเยื่อหุ้มเมล็ดต้ม มีฤทธิ์ด้อยกว่าส่วนยอดอ่อนลวก แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้กลับพบว่า สารสกัดที่สกัดเลียนแบบการคั้นสดเพื่อรับประทานในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดและผลสุกนั้น ฤทธิ์ต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกลับมีฤทธิ์ต่ำกว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกเช่นกัน แม้การสกัดด้วยวิธีคั้นสดจะไม่ได้ใช้ความร้อนเลย สารสำคัญที่พบในฟักข้าว ได้แก่ saponins, carotenoids (lycopene, β-carotene, α-carotene, lutein), สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์[1,6,10] สารเหล่านี้ต่างมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ carotenoids เป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมัน saponins เป็นสารที่ละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน ขณะที่สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงและสามารถละลายได้ในน้ำ จากผลการศึกษาครั้งนี้ในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านลิปิดเปอร์ออกซิเดชันฟักข้าวส่วนยอดอ่อนมีฤทธิ์ที่ดีกว่าส่วนเนื้อผล และเยื่อหุ้มเมล็ด เมื่อสารที่พบมากในส่วนผลและเยื่อหุ้มเมล็ด คือ สารกลุ่ม carotenoids[1,6] ที่ไม่น่าจะสามารถถูกสกัดออกมาได้ด้วยการต้มหรือการคั้นสดด้วยน้ำ ในขณะที่ส่วนยอดอ่อน (เถาและใบอ่อน) แม้ยังไม่มีข้อมูลการศึกษาสารสำคัญ แต่จากข้อมูลฟักข้าวส่วนลำต้นและเถา พบว่ามีสารกลุ่ม saponins[10] ซึ่งเป็นสารที่สามารถละลายได้ในน้ำ จึงอาจเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ของยอดอ่อน นอกจากนี้สารที่ละลายน้ำได้ดีอื่นๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ก็อาจเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ได้ แม้ส่วนเนื้อผลและเยื่อหุ้มเมล็ดจะพบว่ามีสารสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เช่นกัน[6] แต่ปริมาณสารดังกล่าวอาจน้อยกว่าในส่วนยอดอ่อน ทำให้แสดงฤทธิ์ได้น้อยกว่า ทั้งนี้จำเป็นต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมต่อไป ดังนั้นนอกจากปัจจัยเรื่องส่วนของพืช ตัวทำละลายในการสกัดแล้ววิธีในการสกัดน่าจะมีผลต่อการออกฤทธิ์ของฟักข้าวได้ เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงก่อนจะนำฟักข้าวไปใช้ประโยชน์ อีกทั้งควรมีการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในยอดอ่อนฟักข้าวกับฟักข้าวส่วนอื่น เพื่อให้ทราบสารสำคัญที่น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์

อนุมูลอิสระเป็นตัวการที่สำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติของสารต่าง ๆ ในเซลล์รวมถึงไขมันทำให้เกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อกับสารอื่น ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เกิดภาวะ oxidative stress เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ หากกระบวนการลูกโซ่นี้ดำเนินต่อไปจะก่อพยาธิสภาพและโรคต่าง ๆ ขึ้นในที่สุด เช่น การอักเสบ โรคการเสื่อมของระบบประสาท และโรคเบาหวาน เป็นต้น[11,12,13] สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ มีความเกี่ยวข้องกับการช่วยป้องกันการเกิดพยาธิสภาพได้[11,14,17] จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดยอดอ่อนลวกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน และการที่ฟักข้าวเป็นพืชที่ได้รับความนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหารอยู่แล้ว ดังนั้นการบริโภคฟักข้าวโดยเฉพาะส่วนยอดอ่อน (ใบ เถาอ่อน) น่าจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้

เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ในเบื้องต้นควรมีการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดนี้ในการป้องกันการเกิดพยาธิสภาพที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ ในแบบจำลองของการเกิดพยาธิสภาพทั้งในหลอดทดลองหรือสัตว์ทดลอง รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษของพืชนี้เพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ พ.ศ. 2561 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ขอขอบคุณสำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.วนิดา ไทรชมภู คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

1. Vuong L, Franke A, Custer L, Murphy S. *Momordica cochinchinensis* Spreng. (Gac) fruit carotenoids reevaluated. J Food Compost Anal 2006; 19(6-7): 664-668.
2. กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติ. ฟักข้าว พืชพื้นบ้านมากคุณค่า. หมอชาวบ้าน. กรุงเทพฯ: 2556.
3. Yu JS, Roh HS, Lee S, Jung K, Baek KH, Kim KH. Antiproliferative effect of *Momordica cochinchinensis* seeds on human lung cancer cells and isolation of the major constituents. Rev Bras Farmacogn 2017; 27(3): 329-333.
4. Jung K, Chin Y, Yoon K, Chae H, Kim C, Yoo H, et al., Anti-inflammatory properties of a triterpenoidal glycoside from *Momordica cochinchinensis* in LPS-stimulated macrophages. Immunopharmacol Immunotox 2013; 35(1): 7-14.
5. Iamsaard S, Sukhorum W, Sampannang A, Sripanidkulchai B. Protective effect of *Momordica cochinchinensis* (L.) Spreng aril extract on essential testicular markers in rats induced with valproic acid. Int J Morphol 2017; 35(3): 992-999.
6. Kubola J, Siriamornpun S. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). Food Chem 2011; 127(3): 1138-1145.
7. Tinrat S, Akkarachaneeyakorn S, Singhapol C. Evaluation of antioxidant and antiomicrobial acitivies of *Momordica cochinchinensis* (gac fruit) ethanol extract. Int J Pharm Sci Res 2014; 5(8): 3163-3169.
8. Leevutinun P, Krisadaphong P, Petsom A. Clinical evaluation of Gac extract *(Momordica cochinchinensis*) in an antiwrinkle cream formulation. J Soc Cosmet Chem 2015; 66(3): 175-188.
9. Chantarangsee M. Antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts from different parts of gac fruit. KKU Sci J 2015; 43(3):490-502.
10. Lin Z, Liu X, Yang F, et al.Structural characterization and identification of five triterpenoid saponins isolated from *Momordica cochinchinensis* extracts by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Int J Mass Spectrom 2012; 328-329: 43-66.
11. Jiang T, Sun Q, Chen S. Oxidative stress a major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. Prog Neurobial 2016; 1468: 1-19.
12. Mateen S, Moin S, Khan AQ, Zafar A, Fatima N. Increased reactive oxygen species formation and oxidative stress in rheumatoid arthritis. PLoS One 2016; 11(4): 1-15.
13. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death, Biochem. Biophys Res Commun 2017; 482(3): 419-425.
14. Rosillo M, Alarcon C, Sanchez M. An update on dietary phenolic compounds in the prevention and management of rheumatoid arthritis. Chem Sci 2016; 7(1): 2943-2969.
15. Zhao L, Dou J, Wu T, Haji AA. Investigating the antioxidant and acetylcholinesterase inhibition activities of *Gossypium herbaceam*. Molecules 2013; 18: 951-962.
16. เบญจมาศ คุชนี, อัจฉรา พรมลารักษ์, ชญาณ์พิมพ์ บุญชู, ธนาวุธ เขาดี, บุญญวัฒน์ บุญระดม, วณิชชกร สิงห์บรรณ, อชิดา จารุโชติกมล, ปวิตรา พูลบุตร. ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากผลมะเดื่ออุทุมพรด้วยเอทานอล. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.ธรรมศาสตร์ 2562; 27(5): in print.
17. Krajčovičová-Kudláčková M, Pauková V, Bačeková M, Dušinská M. Lipid peroxidation in relation to vitamin c and vitamin e levels. Cent Eur J Publ Health

2004; 12 (1): 46-48.

18. Badmus JA, Odunola OA, Yekeen TA, Gbadegesin AM, Fatoki JO, et al. Evaluation of antioxidant, antimutagenic, and lipid peroxidation inhibitory activities of selected fractions of *Holarrhena floribunda* (G. Don) leaves. Acta Biochim Pol 2013; 60(3): 435-442.
19. Saha P, Mazumder UK, Haldar PK. *In vitro* antioxidant activity of C*ucurbita maxima* aerial parts. Free Radical Antioxid 2011; 1(1): 42-48.
20. Saha P, Kundu Sen S, Bala A, Mazumder UK, Haldar PK. Evaluation of anticancer activity of *Lagenaria siceraria* aerial parts, Int J Cancer Res 2011; 7(3): 244-253.
21. Oloyede OI, Aluko OM. Determination of antioxidant potential of *Momordica foetida* leaf extract on tissue homogenate. Sci J Med Clin Trial 2012; 225: 4 Pages.
22. Shodehinde SA, Adefegha SA, Oboh G, Oyeleye SI, Olasehinde TA, et al. Phenolic composition and evaluation of methanol and aqueous extracts of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaves on angiotensin-i-converting enzyme and some pro-oxidant-induced lipid peroxidation *in vitro*. J Evid Based Complementary Altern Med 2016; 21(4): NP67-NP76.
23. Kant K, Walia M, Agnihotri VK, Pathania V, Singh B. Evaluation of antioxidant activity of *Picrorhiza kurroa* (Leaves) extracts. Indian J Pharm Sci 2013; 75(3): 324-329.
24. Fang QM, Zhang H, Cao Y, Wang C. Anti-inflammatory and free radical scavenging activities of ethanol extracts of three seeds used as “Bolengguazi”. J Ethnopharmacol 2007; 114 (1): 61–65.
25. Uddin N, Islam R, Hasan N, Hossain MS, Roy A, et al. DPPH scavenging assay of eighty-four Bangladeshi medicinal plants. Int J Pharm Bio Sci 2013; 6(5): 66-73.
26. Vergara-Salinas JR, Pérez-Jiménez J, Torres JL, Agosin E, Pérez-Correa JR. Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorized thyme (*Thymus vulgaris*). J Agric Food Chem 2012; 60(44): 10920-10929.