ฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของพืชบางชนิดที่เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงเขียวหวานต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF SOME HERBS USED IN KAENG-KHIAO-WAN PASTE ON LEUKEMIC CELL LINE

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย, *เกศศิณี ตระกูลทิวากร, เพลินใจ ตังคณะกุล, ช่อลัดดา เที่ยงพุก*

Janpen Saengprakai, *Gassinee Trakoontivakorn, Plernchai Tangkanakul, Chowladda Teangpook*

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Institute of Food Research and Product Development (IFRPD), Kasetsart University.

บทคัดย่อ

แกงเขียวหวานเป็นหนึ่งในอาหารไทยที่ติดอันดับ 10 รายการอาหารยอดนิยมของชาวต่างประเทศทั่วโลก และประกอบด้วยพืชหลายชนิดที่มีสรรพคุณในทางส่งเสริมสุขภาพ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ของแกงเขียวหวาน และพืช 4 ชนิด ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในเครื่องแกงเขียวหวาน ได้แก่ พริกชี้ฟ้า ตะไคร้ ข่า และหอมแดง โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวร่วมกับการใส่สารสกัดเมทานอลของตัวอย่างอาหารและพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0 0.01 0.1 1.0 10 50 และ 100 µg/mL พบว่า ที่ความเข้มข้น 100 µg/mL สารสกัดข่ามีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ได้ดีที่สุด โดยสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้สูงถึงร้อยละ 84.02 รองลงมาเป็นสารสกัดจากตะไคร้ (29.63%) และสารสกัดจากหอมแดง (22.56%) ส่วนสารสกัดพริกชี้ฟ้าและสารสกัดแกงเขียวหวานไก่นั้น ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 นอกจากนี้ยังได้ทดสอบผลของการรวมตัวกันของพืชต่อการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวจากการนำสารสกัดพืชทั้ง 4 ชนิด มาทำการผสมกันตั้งแต่ 2-4 ชนิด ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างสารสกัดที่เป็นส่วนผสมของพืช 2 3 และ 4 ชนิดนั้น มีฤทธิ์ไม่แตกต่างไปจากสารสกัดพืชแต่ละชนิด ทำให้กล่าวได้ว่าสารสกัดหลักที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งคือ สารสกัดข่า และเมื่อนำตัวอย่างสารสกัดที่เป็นส่วนผสมของพืช 4 ชนิด มาให้ความร้อนโดยการนึ่งที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที พบว่า ทำให้ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลดลง

คำสำคัญ: แกงเขียวหวาน ฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ข่า (*Alpinia galanga* Linn.) หอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) ตะไคร้ (*Cymbopogan citratus* (DC.) Stapf) พริกชี้ฟ้า (*Capsicum annuum* Linn.)

Abstract

Kaeng-Khiao-Wan is one of the Thai top ten dishes which is popular among foreigners all around the world. It consists of many health promoting plants. This study determined an antiproliferative effect of 4 main plants: chilli spur pepper, lemon grass, galanga, and shallot on HL-60 leukemic cell. The leukemia cells were cultured with 0, 0.01, 0.1, 1.0, 10, 50 , and 100 µg/mL of methanol extracts of the food sample and the 4 plants. It was found that 100 µg/mL of galangal extract showed the strongest inhibition with 84.02% followed by the lemon grass extract with 29.63% inhibition and the shallot extract with 22.56% inhibition, whereas the chilli spur pepper extract and chicken Kaeng-Khiao-Wan extract showed no inhibition effect. The result also showed no significant inhibition effect of 2, 3, and 4 plant combinations. In conclusion, antiproliferation on HL-60 leukemic cell was mainly effected by the galangal extract. Additionally, at 100°C steaming process for 15 min caused the reduction of the antiproliferative effect of the 4 plant extracts.

Keywords: Kaeng-Khiao-Wan, Antiproliferative, Galangal (*Alpinia galanga* Linn.), Shallot (*Allium ascalonicum* Linn.), Lemon grass (*Cymbopogan citratus* (DC.) Stapf), Chili spur pepper (*Capsicum annuum* Linn.)

บทนำ

อาหารไทยเป็นองค์ความรู้ที่เกิดจากภูมิปัญญาของคนไทย มีเอกลักษณ์อันประกอบด้วยรสชาติที่หลากหลายแบบกลมกล่อม การตกแต่งอย่างประณีตบรรจงทำให้เกิดความสวยงามน่ารับประทาน และอุดมด้วยเครื่องเทศที่มาจากพืชผักสมุนไพรสดมากกว่าเครื่องเทศแห้ง [1] คุณสมบัติเหล่านี้มีส่วนช่วยให้ผู้รับประทานเกิดความอร่อย มีความสุขจากการได้สัมผัสรูปกลิ่น รสของอาหาร และที่สำคัญคือ มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เนื่องจากพืชผักหลายชนิดที่เป็นส่วนผสมในอาหารไทยมีสรรพคุณทางยาในการช่วยป้องกันและรักษาโรคบางชนิดได้

แกงเขียวหวานเป็นแกงกะทิที่มีสีเขียวเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว สีเขียวมาจากพริกสดสีเขียวโขลกผสมปนกับเครื่องแกง มีรสชาติกลมกล่อม ใช้รับประทานคู่กับข้าวสวยหรือขนมจีน แกงเขียวหวานนั้นจัดได้ว่าเป็นอาหารที่คนไทยนิยมรับประทาน และยังเป็นหนึ่งในอาหารไทยที่ติดอันดับ 10 รายการอาหารยอดนิยมของชาวต่างประเทศทั่วโลกที่สำนักงานคณะกรรมการวัฒนธรรมแห่งชาติร่วมกับกระทรวงการต่างประเทศได้เก็บข้อมูลจากภัตตาคารและร้านอาหารไทยถึงหนึ่งพันแห่งทั่วโลก ผลการสำรวจพบว่า แกงเขียวหวานได้รับความนิยมเป็นลำดับที่ 2 รองจากต้มยำกุ้ง

[2] ในด้านคุณค่าทางโภชนาการนั้นแกงเขียวหวาน ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร และพลังงานในปริมาณที่พอเหมาะ ส่วนผสมของเครื่องแกงอันมีสมุนไพรที่ทำหน้าที่ช่วยชูกลิ่นและรสชาติตัวหลักๆ ได้แก่ พริกชี้ฟ้า ตะไคร้ ข่า และหอมแดง ล้วนเป็นพืชที่มีสรรพคุณด้านส่งเสริมสุขภาพ พริกชี้ฟ้าทำหน้าที่ให้รสเผ็ดปรุงแต่งให้อาหารมีสีสันสวยงามมากขึ้น สารแคปไซซินในพริกช่วยป้องกันการเกิดมะเร็ง [3-4] มีส่วนช่วยลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในหนูทดลอง [5] พริกช่วยกระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหาร ทำให้เจริญอาหาร ขับลม ขับเสมหะ เป็นยาระบาย ตะไคร้มีรสเผ็ดร้อนและขม มีหน้าที่แต่งกลิ่นรสของอาหารไทย สารสำคัญหลายชนิดอยู่ในน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย [6] ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ [7] อุษณี วินิจเขตคำนวณ [8] พบว่า สารสกัดเฮกเซนของตะไคร้สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งในหนูพันธุ์วิสตาร์เพศผู้ ที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยยับยั้งทั้งจำนวนและขนาดก่อนที่จะพัฒนากลายเป็นเซลล์มะเร็ง ตะไคร้มีสรรพคุณเป็นยาแผนโบราณช่วยลดอาการจุกเสียด แน่นท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ข่าจัดเป็นเครื่องเทศปรุงรสและแต่งกลิ่นสำหรับอาหารไทยหลากหลายประเภท ให้รสชาติเผ็ดร้อน สารสำคัญในข่านั้นจะอยู่ในกลุ่ม chavicol และ uegenol ข่ามีฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอกในหนูถีบจักร และสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเคมี อีกทั้งมีคุณสมบัติป้องกันมะเร็งโดยสัมพันธ์กับปริมาณที่ทดสอบ รวมถึงมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย [9] และฤทธิ์ต้านเชื้อรา [10] ข่ามีสรรพคุณเป็นยาพื้นบ้านคือ ช่วยขับลม แก้อาการแน่นจุกเสียด ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับเสมหะ ส่วนหอมแดงเป็นพืชตระกูลเดียวกันกับกระเทียม มีรสซ่าและกลิ่นฉุนอันเนื่องมาจากสาร allyl sulfide ซึ่งเป็นตัวเดียวกันกับที่พบในกระเทียม นอกจากนี้หอมแดงยังมีสาร furostanol saponins และ flavonoid ชนิด quercetin และ iso-rhamnetin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [11] นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย [12] ในตำรายาพื้นบ้านมักใช้หอมแดงในการแก้ไข้ ร้อนใน ช่วยบรรเทาอาการหวัด หายใจไม่ออก

อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ผ่านมานั้น นักวิทยาศาสตร์มักใช้พืชสดในการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ โดยที่พืชแต่ละชนิดยังไม่ได้ผ่านกระบวนการประกอบอาหาร ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลจากการแปรรูปพืชผักเหล่านั้นมาเป็นอาหารไทยแล้วจะยังคงมีคุณสมบัติในการต้านมะเร็งอยู่หรือไม่ โดยการศึกษาครั้งนี้ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากพืช 4 ชนิด ที่เป็นองค์ประกอบหลักในแกงเขียวหวานไก่ต่อการต้านเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยนำพืชที่สดหรือที่ผ่านความร้อนมาสกัดด้วยเมทานอล แล้วทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งเซลล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ผลการทดลองที่ได้จะมีส่วนช่วยส่งเสริมให้อาหารไทยซึ่งเป็นองค์ความรู้ที่เกิดจากภูมิปัญญาของคนไทยได้รับความน่าเชื่อถือมากขึ้นว่าเป็นอาหารที่ส่งเสริมสุขภาพอย่างแท้จริงเนื่องจากได้รับการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์แล้ว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในแกงเขียวหวานและพืชบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบหลักในเครื่องแกงเขียวหวาน ตลอดจนศึกษาผลของการรวมตัวกันของพืชที่เป็นองค์ประกอบหลักที่มีต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำพืชที่เป็นองค์ประกอบหลักในส่วนผสมน้ำพริกของแกงเขียวหวาน 4 ชนิด ได้แก่ พริกชี้ฟ้าเขียว (*Capsicum annuum* Linn.) ตะไคร้ (*Cymbopogan citratus* (DC.) Stapf) ข่า (*Alpinia galanga* Linn.) และหอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) ที่ขายตามตลาดสดในจังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวน 3 แห่ง มารวมกันก่อนที่จะสุ่มตัวอย่างออกมาใช้ นำพืชมาล้างให้สะอาดแล้วแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ใช้สดและส่วนที่ต้องผ่านความร้อน (โดยการนึ่ง ณ อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที) จากนั้นนำไปปั่นในตัวทำละลายเมทานอลในสัดส่วน 1:5 (น้ำหนัก:ปริมาตร) โดยใช้เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ เป็นเวลา 3 นาที แล้วจึงผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 4 ก่อนนำไปผ่านการระเหยโดยเครื่อง centrifugal evaporizer (Eyela Model CVE-200D) ที่ความดัน -100 kPa ณ อุณหภูมิ 40°C ต่อจากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้ไปไล่อากาศออกโดยการแทนที่ด้วยก๊าซไนโตรเจน ก่อนเก็บรักษาตัวอย่างในตู้แช่แข็ง ณ อุณหภูมิ -20°C

2. การเตรียมตัวอย่างแกงเขียวหวาน

แกงเขียวหวานไก่เป็นอาหารไทยที่คณะผู้วิจัยเลือกมาศึกษาสำหรับการทดลองนี้ แกงเขียวหวานไก่มีส่วนผสมของเครื่องแกง ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า ตะไคร้ ข่า ผิวมะกรูด กระเทียม ลูกผักชี หัวหอม ยี่หร่า พริกไทย รากผักชี ใบโหระพา กะปิ เกลือ น้ำมัน และรวมถึงส่วนประกอบอื่นๆ เช่น เนื้อไก่ กะทิ มะเขือพวง เป็นต้น ซึ่งรายละเอียดและวิธีปรุงนั้นตามตำรับของวารุณี วารัญญานนท์ และคณะ [13] ตัวอย่างแกงเขียวหวานไก่ที่เตรียมได้จะถูกนำมาปั่นละเอียดก่อนนำไปสกัดด้วยเมทานอลในสัดส่วน 2:5 (น้ำหนัก:ปริมาตร) จากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายออกและเก็บรักษาตัวอย่างด้วยวิธีการเช่นเดียวกันกับข้อ 1

3. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 (human promyelocytic leukemia cells) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute) Medium ที่มี heat-inactivated fetal bovine serum (FBS; Gibco, UK) ความเข้มข้น 10% (ปริมาตร/ปริมาตร), L-glutamine (Gibco) ความเข้มข้น 1 mM, penicillin/streptomycin (PAA, Austria) ความเข้มข้น 1% ภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นขวดเลี้ยงเซลล์พลาสติกขนาด 25 ตารางเซนติเมตร (Corning, USA) โดยทำการเพาะเลี้ยงในตู้บ่ม (Binder รุ่น CB 210, Germany) ที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้บรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ในขั้นตอน

การเพาะเลี้ยงมีการเปลี่ยนถ่ายอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกสามวัน

4. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดพืชที่เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงเขียวหวานไก่ต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง

นำเซลล์ HL-60 ออกจากภาชนะเลี้ยงเซลล์โดยใช้ปิเปตดูดออกมาใส่ในหลอดที่ปราศจากเชื้อแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่อง centrifuge (Tomy, Japan) ที่ความเร็ว 400 g นาน 5 นาที จากนั้นเติม completed RPMI-1640 เพื่อปรับความเข้มข้นของเซลล์ในหลอดให้มีความหนาแน่นเป็น 1.0 x 105 เซลล์/มิลลิลิตร โดยนับจำนวนเซลล์ด้วย hematocytomer จากนั้นดูดเซลล์จากหลอดลงใน 96-well flat-bottom culture plate (Corning, USA) หลุมละ 60 ไมโครลิตร ตามด้วย completed RPMI-1640 20 ไมโครลิตร แล้วบ่มในตู้บ่มคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ที่อุณหภูมิ 37°C (Binder รุ่น model CB 210) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำออกมาเติมสารสกัดตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นแต่ละหลุมเป็น 0.01 0.1 1 10 50 และ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) สำหรับกลุ่มควบคุมจะเติมเฉพาะเมทานอล โดยความเข้มข้นสุดท้ายของเมทานอลในหลุมเท่ากับร้อยละ 0.07 ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ แล้วตามด้วย Alamar Blue 10 ไมโครลิตร บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และ 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Biorad รุ่น model 550) เพื่อหาค่า Alamar blue reduction ตามวิธีของ Ahmed, S.A. และคณะ [14] แล้วจึงคำนวณเป็นค่าการรอดชีวิตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (% viable cell number)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยซึ่งข้อมูลอยู่ในรูปของ MEAN+S.D. หลังจากนั้นจึงวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ student's *t-test* เพื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองกับชุดควบคุม โดยจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

1. ผลของสารสกัดพืชชนิดต่าง ๆ ต่อระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

จากการตรวจวัดระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวหลังจากทดสอบด้วยพืช 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 7 ระดับ ได้แก่ 0 0.01 0.1 1.0 10 50 และ 100 µg/mL พบว่าสารสกัดข่ามีผลทำให้ % viable cell number ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ลดลงอย่างชัดเจน ส่วนสารสกัดตะไคร้ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน แต่มีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดข่า โดยสารสกัดข่านั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่าความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$) ที่ความเข้มข้น 10 50 และ 100 µg/mL คิดเป็นร้อยละ 78.78 83.40 และ 84.02 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สารสกัดตะไคร้มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งเซลล์ที่ความเข้มข้นเดียวกันกับสารสกัดข่า แต่ฤทธิ์ในการยับยั้งนั้นต่ำกว่า คิดเป็นเพียงร้อยละ 15.93 15.96 และ 29.63 ตามลำดับ สารสกัด

หัวหอมแดงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 ถึง 50 µg /mL ไม่สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ แต่ที่ขนาดความเข้มข้น 100 µg/mL สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งได้ คิดเป็นร้อยละ 22.56 ส่วนตัวอย่างสุดท้ายคือ สารสกัดพริกชี้ฟ้า ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบไม่มีผลทำให้จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p>0.05$) (ภาพที่ 1)

2. ผลของการรวมตัวกันของสารสกัดพืช 2 ชนิดต่อระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

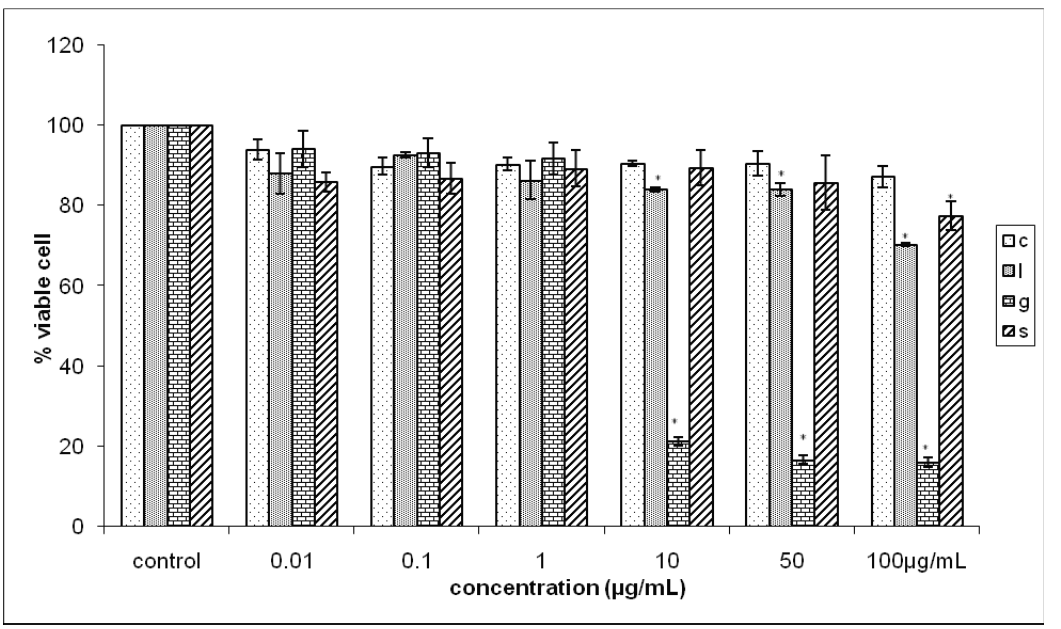
เมื่อนำสารสกัดพืชแต่ละชนิดมาจับคู่เพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยใช้ขนาดในการทดสอบ คือ 100 µg/mL (เป็นส่วนผสมของพืช 2 ชนิด ชนิดละ 50 µg/mL) พบว่า ตัวอย่างที่มีสารสกัดข่าเป็นส่วนผสม ได้แก่ ส่วนผสมระหว่างหอมแดงกับข่า ส่วนผสมระหว่างพริกชี้ฟ้ากับข่า ส่วนผสมระหว่างตะไคร้กับข่า ล้วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($p>0.05$) โดยสามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งได้ถึงร้อยละ 81.78 77.46 และ 80.70 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เป็นส่วนผสมระหว่างหอมแดงกับพริกชี้ฟ้า หอมแดงกับตะไคร้ และพริกชี้ฟ้ากับตะไคร้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่2) และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์มะเร็งที่รอดชีวิตระหว่างตัวอย่างที่มีสารสกัดข่าเป็นส่วนผสมกับสารสกัดข่าบริสุทธิ์กลับไม่พบความแตกต่างทางสถิติ นั่นแสดงว่า สารสกัดของพืชที่จับคู่กับสารสกัดข่านั้น มิได้ช่วยทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดข่าบริสุทธิ์ ดังนั้นฤทธิ์ยับยั้งที่เกิดขึ้นจึงมาจากอิทธิพลของสารสกัดข่าเพียงอย่างเดียวนั่นเอง

3. ผลของการรวมตัวกันของสารสกัดพืช 3-4 ชนิดต่อระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

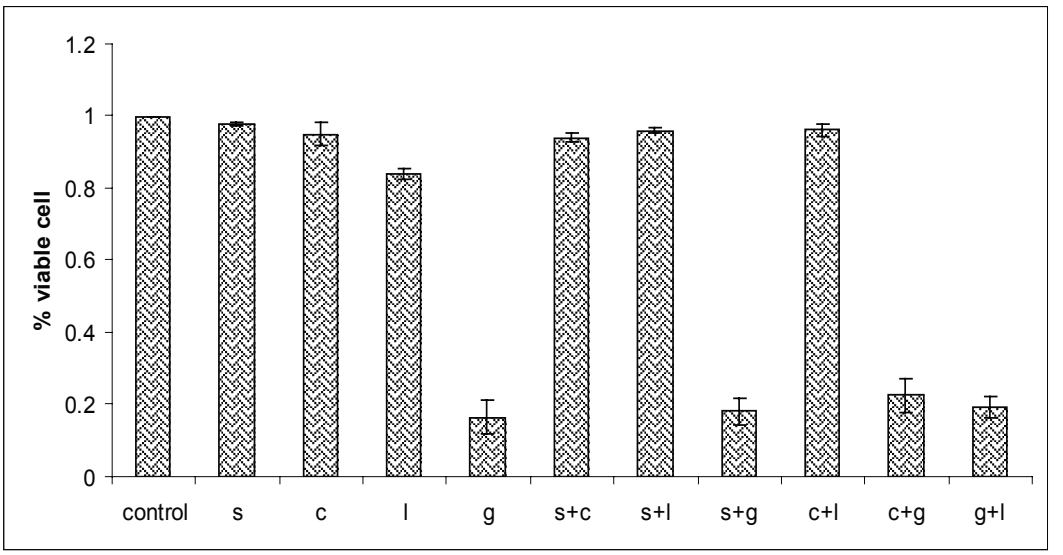
เมื่อทำการทดสอบสารสกัดตัวอย่างที่เป็นส่วนผสมของพืช 3 ถึง 4 ชนิด แล้ววัดค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยใช้ขนาดในการทดสอบต่อหลุมคือ 100 µg/mL (ส่วนผสมของพืช 3 ชนิด ใช้ชนิดละ 33 µg/mL หรือส่วนผสมของพืช 4 ชนิด ใช้ชนิดละ 25 µg/mL) พบว่า สารสกัดตัวอย่างที่มีข่าเป็นส่วนผสมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) สารสกัดตัวอย่างที่มีข่าเป็นส่วนผสมนั้น ได้แก่ สารสกัดที่เป็นส่วนผสมของหอมแดง พริกชี้ฟ้าและข่า สารสกัดที่เป็นส่วนผสมของหอมแดง ตะไคร้และข่า สารสกัดตัวอย่างที่เป็นส่วนผสมของพริกชี้ฟ้า ตะไคร้และข่า และสารสกัดที่เป็นส่วนผสมของหอมแดง พริกชี้ฟ้า ตะไคร้และข่า ความสามารถในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งคิดเป็นร้อยละ 74.57 84.84 84.53 และ 73.07 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เป็นส่วนผสมระหว่างหอมแดง พริกและตะไคร้ ไม่มีผลทำให้เซลล์มะเร็งลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 3)

4. การเปรียบเทียบผลของสารสกัดพืชสด พืชผ่านความร้อน และแกงเขียวหวานที่เตรียมสำเร็จพร้อมบริโภคต่อระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว

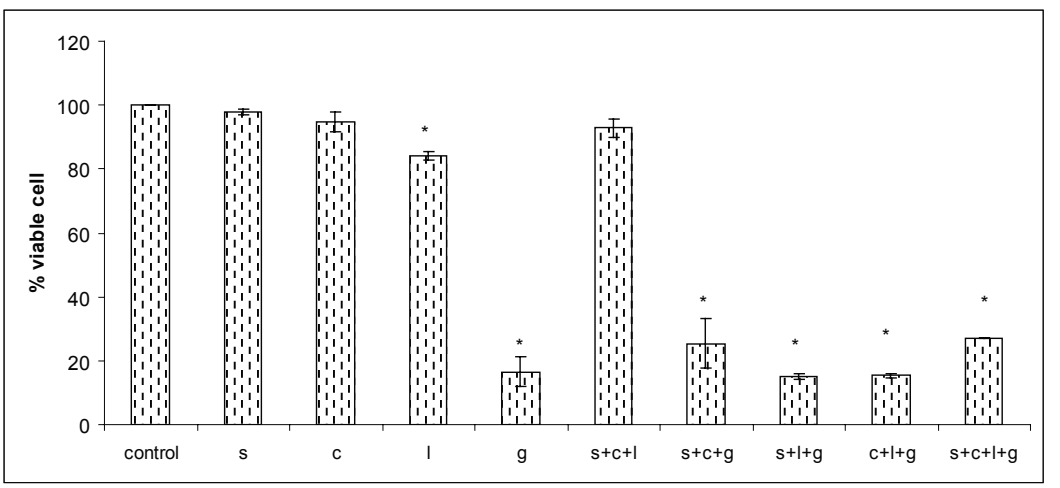
เมื่อนำสารสกัดตัวอย่างที่เป็นส่วนผสมของพืชสด 4 ชนิด พืชที่ผ่านความร้อน 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้นของพืชแต่ละชนิดเป็น 25 µg/mL ต่อหลุม และสารสกัดตัวอย่างแกงเขียวหวานที่เตรียมสำเร็จพร้อมบริโภค ที่มีความเข้มข้น 100 µg/mL ต่อหลุม มาทดสอบกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวพบว่า สารสกัดพืชสดมีฤทธิ์ลดระดับการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวอย่างชัดเจน เมื่อบ่มอยู่ภายใต้บรรยากาศที่มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดพืชที่ผ่านความร้อนไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เมื่อบ่มที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลานานขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง กลับพบว่า สารสกัดนั้นแสดงฤทธิ์ยับยั้งเป็น 23% สำหรับสารสกัดแกงเขียวหวานนั้นไม่มีผลยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวแต่อย่างใด เมื่อทดสอบที่ระยะเวลาการบ่มทั้งสอง (ภาพที่ 4)



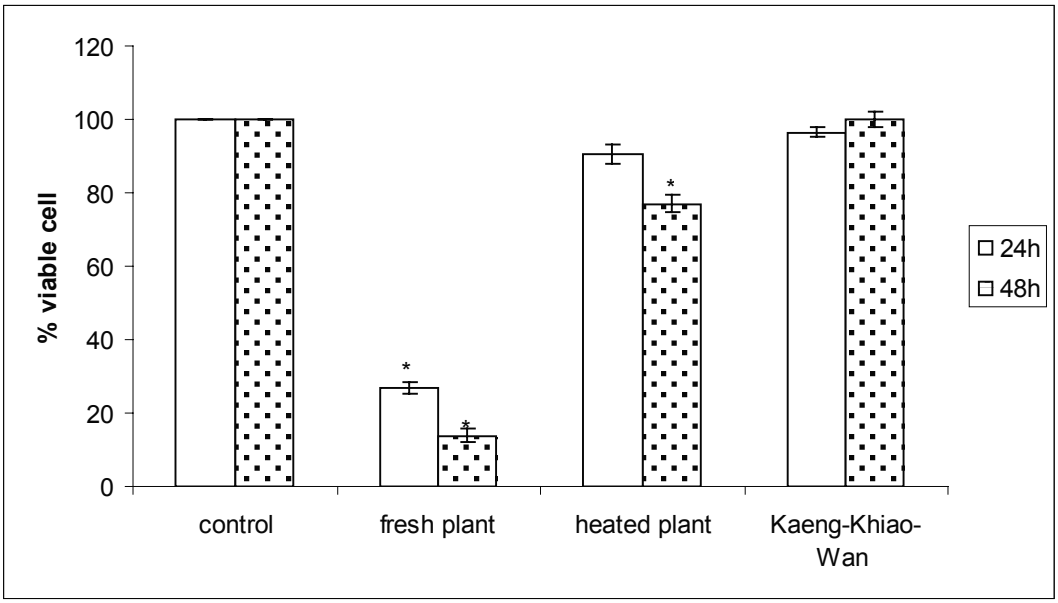
ภาพที่ 1 แสดงผลของสารสกัดพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 (control = กลุ่มควบคุม, c = พริกชี้ฟ้า, l = ตะไคร้, g = ข่า, s = หัวหอมแดง, * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$))



ภาพที่ 2 แสดงผลของสารสกัดพืชที่ออกฤทธิ์ร่วมกันแบบกลุ่มทีละคู่ต่อจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 (control = กลุ่มควบคุม, s = หัวหอมแดง, c = พริกชี้ฟ้า, l = ตะไคร้, g = ข่า, * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$))



ภาพที่ 3 แสดงผลของสารสกัดพืชที่ออกฤทธิ์ร่วมกันแบบจับกลุ่มทีละ 3 และ 4 ชนิดต่อจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 (control = กลุ่มควบคุม, s = หัวหอมแดง, c = พริกชี้ฟ้า, l = ตะไคร้, g = ข่า, * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$))



ภาพที่ 4 แสดงผลของสารสกัดพืชสดและสารสกัดพืชที่ผ่านความร้อน ณ เวลาการบ่มต่างกันต่อจำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 (control = กลุ่มควบคุม, fresh plant = สารสกัดที่มีพืชสด 4 ชนิดรวมอยู่ด้วยกัน ได้แก่ หัวหอมแดง, พริกชี้ฟ้า, ตะไคร้ และข่า heated plant = สารสกัดที่มีพืช 4 ชนิดที่ผ่านความร้อนโดยวิธีนึ่งที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที รวมอยู่ด้วยกัน ได้แก่ หัวหอมแดง, พริกชี้ฟ้า, ตะไคร้ และข่า Kaeng-Khiao-Wan = สารสกัดแกงเขียวหวานที่เตรียมสำเร็จพร้อมบริโภค * แสดงถึงผลการทดสอบที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$))

สรุปและอภิปรายผล

เมื่อทำการตรวจวัดระดับการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ของสารสกัดพืช 4 ชนิด พบว่า สารสกัดข่ามีผลทำให้จำนวนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวลดลงมากกว่าพืชชนิดอื่น เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งที่ความเข้มข้น 100 µg/mL สามารถจัดลำดับความสามารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ดังนี้ ข่า (84.02%) ตะไคร้ (29.63%) หอมแดง (22.56%) และพริก (0%) ข่านั้นจัดเป็นส่วนผสมที่สำคัญในการประกอบเป็นเครื่องแกงเผ็ดของไทยหลายชนิด (เช่น ต้มยำกุ้ง ต้มข่าไก่ แกงเทโพ แกงมัสมั่น แกงไตปลา เป็นต้น) เนื่องจากข่ามีเหง้าที่มีน้ำมันหอมระเหย มีกลิ่นหอม สามารถดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ได้ทุกชนิด ณัฐฐาพร สามารถ และคณะ [15] รายงานว่าในข่ามีสารสารฟลาโวนอยด์ในกลุ่มฟลาโวนอล 2 ชนิด คือ 3,5,7-trihydroxyflavone (galangin) และ3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavone (kaempferide) โดยสาร galangin นี้มีอยู่ในเหง้า

ของข่าประมาณ 10% เมื่อสกัดด้วยแอลกอฮอล์ [16] สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ดังกล่าวนี้เองที่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์ไลน์ที่เตรียมจากเนื้องอก เช่น เซลล์มะเร็งผิวหนัง เซลล์มะเร็งลำไส้ เซลล์มะเร็งปอด เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก และเซลล์มะเร็งเต้านม [17] รวมถึงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ด้วยเช่นกัน โดยสาร galangin ในปริมาณเพียง 27 µg/mL สามารถทำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ในเซลล์ HL-60 ได้ [18] สารที่สกัดได้จากข่าในครั้งนี้เป็นสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล ซึ่งน่าจะมีสาร galangin อยู่ในสารสกัดข่าเช่นกัน จึงมีผลทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อได้รับสารสกัดจากข่า

ส่วนสารสกัดตะไคร้ก็ส่งผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเช่นเดียวกันแต่มีฤทธิ์น้อยกว่าสารสกัดข่า เนื่องจากตะไคร้มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย เช่น citral, citronellol, geraneol และ cineole มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย [19] นอกจากนี้สาร citral ยังมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ P388 mouse leukemia [20] โดยมีค่า IC50 5.7 µg/mL และน้ำมันหอมระเหยนี้ที่ความเข้มข้น 44.5 ug/ml ทำให้เซลล์ HL-60 เกิดการตายแบบ apoptosis [21] หัวหอมแดงเป็นพืชสำคัญในตระกูล Allium เช่นเดียวกันกับกระเทียมซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการทำน้ำพริกเครื่องแกงของอาหารไทย ผลจากการทดลองนี้พบว่า หอมแดงออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งที่ความเข้มข้น 100 µg/mL เพียงขนาดเดียว ฤทธิ์ที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องจากการที่หอมแดงมีสาร flavonoid จำพวก quercetin และ isorhamnetin ในปริมาณสูง [11] และ quercetin นั้นมีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HL-60 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [22] นอกจากนี้ยังพบว่า ความเข้มข้นของ quercetin ที่ 0.1 µg/mL สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง HL-60 ได้ถึง 17.1 27.3 40.1 และ 52.7% เมื่อบ่มเพาะในระยะเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ [22] อย่างไรก็ตามในการทดสอบครั้งนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมงเช่นกัน (ผลไม่ได้แสดง) แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างเมื่อทดสอบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง นอกจากนี้สารกำมะถันอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ช่วยป้องกันการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งในระยะต่างๆ ก็อาจส่งผลในการยับยั้งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวครั้งนี้ได้เช่นกัน

พืชชนิดสุดท้ายคือ พริกชี้ฟ้าเขียว แกงเขียวหวานนั้นมีพริกชี้ฟ้าเขียวเป็นตัวให้สีเขียวแก่อาหารและให้รสชาติ โดยเฉพาะความเผ็ดร้อน พริกชี้ฟ้าไม่มีผลต่อการยับยั้งจำนวนเซลล์มะเร็ง HL-60 ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ถึงแม้ว่าพริกจะประกอบด้วยสารสำคัญที่มีบทบาทในการต้านมะเร็งจำนวนหลายชนิดด้วยกัน โดยเฉพาะวิตามินซี เบต้าแคโรทีน และสารประกอบ flavonoid จำพวก quercetin-3-o-1-rhamnoside ที่มีมากในพริกชี้ฟ้าเขียว รวมถึง capsaicinoid ที่ให้รสเผ็ดร้อน [23] Kang [24] พบว่าสาร capsaicin ที่ความเข้มข้น 5-30 µg/mL มีผลทำให้การเจริญของเซลล์ HL-60 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ชนิดของพริกที่ใช้และปริมาณสารสำคัญ

ในพริกในการทดลองอาจไม่เหมาะสมหรือเพียงพอต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง HL-60 ได้ เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ใช้ crude extraction ของพริกชี้ฟ้ามาทดสอบ ดังนั้นปริมาณสารที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งโดยเฉพาะ capsaicin อาจมีจำนวนน้อยจึงไม่สามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์ให้เห็นได้อย่างชัดเจน

การศึกษาถึงผลของการรวมตัวกันระหว่างสารสกัดพืช 2 หรือ 3 ชนิด เพื่อเป็นสารผสมในตัวอย่างเดียวกัน เป็นการพิสูจน์การออกฤทธิ์ร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว จากข้อสันนิษฐานที่คาดว่าสารเคมีบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในพืชน่าจะมีฤทธิ์ทางส่งเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง [25] ทำให้ผู้วิจัยคาดว่าโอกาสเกิดเช่นนี้น่าจะมีในเครื่องแกงของไทยเช่นกัน ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างสารสกัดพืชที่ผสมกันของพืช 2 ชนิด 3 ชนิด และ 4 ชนิดนั้น มิได้ส่งผลทำให้ฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้น มีเพียงตัวอย่างสารสกัดพืชที่มีข่าเป็นส่วนผสมเท่านั้นที่ทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ดังนั้นจึงไม่พบผลของการส่งเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกันภายในพืชทั้ง 4 ชนิด

การทดสอบผลของความร้อนที่มีต่อฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในตัวอย่างสารสกัดพืชที่รวมกัน 4 ชนิดนั้นพบว่า สารสกัดพืชรวม (พืชสด) ให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าการใช้สารสกัดพืชรวม (พืชที่ผ่านความร้อน) ถึง 63% เมื่อทดสอบที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง แสดงว่าสารสกัดพืชรวมทั้ง 4 ชนิดนี้ ออกฤทธิ์ได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะสด เนื่องจากความร้อนมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบในพืชได้ Ayusuk และคณะ [26] พบว่า ปริมาณสารประกอบฟินอลิกในพริกและน้ำพริกแกงข่าไก่จะลดลงเมื่อผ่านความร้อนที่ 100°C นอกจากนี้ความร้อนยังมีผลทำให้ปริมาณสารสำคัญหรือคุณสมบัติบางอย่างในพืชลดลง [27-28] อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระยะเวลาให้สารสกัดพืชที่ผ่านความร้อนได้สัมผัสกับเซลล์มะเร็งนานขึ้นอีก 24 ชั่วโมง ก็มีผลทำให้เซลล์มะเร็งลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเป็นการเพิ่มโอกาสให้สารสกัดพืชได้เข้าสู่เซลล์มากขึ้นในช่วงที่เซลล์กำลังแบ่งตัวในระยะต่างๆ ของวัฏจักรเซลล์ ซึ่งจะทำให้เซลล์ถูกทำลายจากสารสกัดได้มากขึ้น

สำหรับสารสกัดแกงเขียวหวานไก่ที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง HL-60 ในครั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากปัจจัยบางประการ เช่น ปริมาณสารออกฤทธิ์ในแกงเขียวหวานมีเข้มข้นไม่มากพอเพราะถูกทำให้เจือจางลงจากปริมาณของส่วนผสมในอาหาร (เช่น กะทิ มะเขือเปราะ เนื้อไก่ และส่วนผสมอื่นๆ เป็นต้น) ความร้อนที่ใช้ในการปรุงอาหารอาจเป็นสาเหตุให้สารออกฤทธิ์บางตัวสลายไปหรือเสื่อมฤทธิ์ลง แม้ว่าผลการศึกษาครั้งนี้จะให้ข้อมูลที่น่าสนใจของพืชบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบในแกงเขียวหวาน แต่ก็เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาด้านประโยชน์เชิงสุขภาพในอาหารไทยบางชนิดเท่านั้น หากจะมีการศึกษาต่อไปควรศึกษาถึงปริมาณและชนิดของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญทั้งที่อยู่ในพืชและอยู่ในอาหาร การศึกษาผลของความร้อนที่มีต่อปริมาณสารสำคัญ รวมถึงผล

ของการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบที่เป็น non-nutrition compound กับ micronutrient ที่มีอยู่ในพืชหรืออาหาร เป็นต้น เพื่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ที่จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Dr. Kazuhiko Nakahara จาก Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS) ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ Leukemic cell line ชนิด HL-60 (Human promyelocytic leukemia cells) Dr. Eva Horia จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือระหว่างการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] วิสิฐ จะวะสิต; และคนอื่นๆ. (2545). *รายงานฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การวิเคราะห์โอกาสและศักยภาพของการพัฒนาอาหารไทยสู่ตลาดโลก*. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

[2] Office of the National Culture Commission. (1999). *The Top Ten Thai Dishes Loved by Foreigners*. Retrieved January 6, 2011, from http://www.thaiwaymagazine.com/thai_foods/top_ten_thai_dishes

[3] Modly, C.E.; Das, M.; & Con, P.S.C. (1986). Capsaicin as an in vitro inhibitor of benzo(a) pyrene metabolism and its DNA binding in human and murine keratinocytes. *Drug Metabolism and Disposition*. 14: 413-416.

[4] Surh, Y.J.; et al. (1995). Chemoprotective effects of capsaicin and diallyl sulfide against mutagenesis or tumorigenesis by vinyl carbamate and N-nitrosodimethylamine. *Carcinogenesis*. 16: 2467–2471.

[5] Jaiarj, P.; et al. (1998). Cardiovascular actions of capsaicinoid extract from Thai capsicum. *Thai J. Phytopharm.* 5: 1-13.

[6] Grace, O.; Yisak, W.; & Ogunlana, E.O. (1984). Antibacterial constituents in the essential of cymbopogon citratus. (D.C) Sapf. *Journal of Ethnopharmacology*. 12: 279-286.

[7] Vinitketkumnuen U.; et al. (1994). Antimutagenicity of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) to various known mutagens in Salmonella mutation assay. *Mutation Research.* 341: 71-75.

[8] อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ; นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข; และ รวิวรรณ พัวธนาโชคชัย. (2545). การวิเคราะห์หาสารต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่จากตะไคร้. *วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ*. 35: 61-94.

[9] Vuddhakul, V.; et al. (2007). Inhibitory activity of thai condiments on pandemic strain of Vibrio parahaemolyticus. *Food Microbiology*. 24: 413-418.

[10] Ficker, C.E.; et al. (2003). Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J. Ethnopharmaco.* 85: 289-293.

[11] Fattorusso, E.; et al. (2002). Chemical Composition of Shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). *J. Agric. Food Chem*. 50: 5686-5690.

[12] Amin, M.; et al. (2009). Characterization of shallot, an antimicrobial extract of Allium ascalonicum. *Pak. J. Med. Sci.* 25: 948-952.

[13] วารุณี วารัญญานนท์; และคนอื่นๆ (2547). *การวิจัยและพัฒนาคุณภาพและโภชนาการของอาหารไทยเพื่อการส่งออก*. กรุงเทพฯ: สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[14] Ahmed, S.A.; Gogal, R.M.; & Walsh, J.E. (1994). A new Rapid and Simple Non-Radioactive assay to Monitor and Determine the proliferation of Lymphocytes: An Alternative to H3-thymidine incorporation assay. *J. Immunol. Methods*. 170: 211-224.

[15] ณัฐฐาพร สามารถ. (2550). *การแยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ของกาแลนกินและสารอื่นจากข่าใหญ่ (Alpinia galangal Linnaeus Willd) และข่าเล็ก (Alpinia officinarum HANCE).* วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาวิชาเคมี). นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

[16] Oonmetta-aree, J.; et al. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. *LWT Food Sci. Technol.* 39: 1214–1220.

[17] Liesveld, J.L.; et al. (2003). Flavonoid effects on normal and leukemic cells. *Leuk. Res*. 27: 517-527.

[18] Bestwick, C.S.; & Milne L. (2006). Influence of galangin on HL-60 cell proliferation and survival. *Cancer Letters*. 243: 80-89.

[19] Onawunmi, G.O. (1987). Effect of dimethylsulfoxide on the anti-bacterial activity of lemon grass oil. *Microbios. Lett*. 36: 105-111.

[20] Dubey, N.K.; Takeya, K.; & Itokawa, H. (1997). Citral: a cytotoxic principle isolated from the essential oil of *Cymbopogon citratus* against P388 leukemia cells. *Curr. Sci*. 73: 22-24.

[21] Sharma, P.R.; et al. (2009) Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus*. *Chem Biol Interact*.15: 160-168.

[22] Kang, T.B.; & Liang, N.C. (1997). Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 leukemia cells. *Biochem. Pharmacol*. 54: 1013–1018.

[23] Rosa, A.; et al. (2002). Antioxidant activity of capsinoids, *J. Agric. Food Chem.* 50: 7396–7401.

[24] Kang, S.N., Chung, S.W.; & Kim T.W. (2001). Capsaicin potentiates 1,25-dihydoxyvitamin D3- and all-*trans* retinoic acid-induced differentiation of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *European Journal of Pharmacology.* 420: 83–90.

[25] Navindra, P.; et al. (2004). Total Cranberry Extract versus Its Phytochemical Constituents:Antiproliferative and Synergistic Effects against Human Tumor Cell Lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52*:* 2512-2517.

[26] Ayusuk, S.; et al. (2009). Effect of heat treatment on antioxidant properties of Tom-Kha paste and herbs/spices used in Tom-Kha paste. *Kasetsart J*. 43: 305-312.

[27] Dyrby, M.,Westergaard, N.; & Stapelfeldt, H. (2001). Light and Heat Sensitivity of Red Cabbage Extract in Soft Drink Model System. *Food Chemistry*. 72: 431-437.

[28] Nagabhushanb, M.; Amonkar, A.J.; & Bhide, S.V. (1987). Mutageniclty of gingerol and shogaol and antimutagenicity of Zingerone in *Salmonella* microsome assay. *Cancer Lett.* 36: 221-233.