

ฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่

Anticancer Activity of Litchi Seed Extract against Human Mouth Carcinoma Cell Line

ยุทธนา สุคเจริญ¹ มณฑล เลิศคณาวณิชกุล² และวารังคณา ชึงลก^{2*}

Yuttana Sudjaroen¹, Monthon Lertcanawanichakul² and Warangkana Chunglok^{2*}

บทคัดย่อ

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถป้องกันและรักษาโรคมะเร็งบางชนิดได้ การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากของสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดลิ้นจี่ และความเป็นพิษของสารสกัดดังกล่าวต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ โดยการศึกษาร้อยละของการมีชีวิตรอดของเซลล์ด้วยวิธี MTT จากการศึกษพบว่าสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 135.0 $\mu\text{g/ml}$ ($\text{IC}_{50} = 135.0 \mu\text{g/ml}$) และในช่วงความเข้มข้น 35.0-175.0 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าทำให้เซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุดเท่าที่ที่ใช้ทดสอบคือ 175.0 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งช่องปากและมีผลต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติเพียงเล็กน้อย งานวิจัยครั้งนี้เป็นการคัดกรองฤทธิ์ต้านมะเร็งเบื้องต้นของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่เพื่อที่จะนำไปสู่การค้นพบสารต้นแบบที่สำคัญสำหรับรักษาโรคมะเร็งช่องปากได้ต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : สารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ ฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปาก

¹ อาจารย์ ดร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา กรุงเทพฯ 10300

Dr., Faculty of Science and Technology, Suan Sunandha Rajabhat University, Bangkok 10300

² ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จ. นครศรีธรรมราช 80160

Assistant Professor Dr., School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80160

² อาจารย์ ดร. สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จ. นครศรีธรรมราช 80160

Dr., School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80160

* Corresponding author: โทรศัพท์ 075 672197 โทรสาร 075 672106 E-mail: cwarang@wu.ac.th

Abstract

Fruits and vegetables are major sources of antioxidants that have been documented for the treatment and prevention of some cancers. The aim of this study was to determine anticancer activity against human mouth carcinoma cell line and cytotoxicity against normal lymphocytes of litchi seed extract. Percentage of cell viability was determined by MTT assay. The half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of the litchi seed extract was 135.0 $\mu\text{g/ml}$. Cell viability was decreased significantly at a concentration range of 35.0-175.0 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0.05$). The extract from litchi seed did not significantly decrease the viability of normal lymphocytes except the highest concentration at 175.0 $\mu\text{g/ml}$. This indicated that methanolic seed extract of litchi specifically inhibited cancer cells and caused minimal effects on normal lymphocytes. Thus, anticancer activity of the extract would be the preliminary information for the development of these recipes to anti-oral cancer modern medicines.

Keywords : Litchi Seed Extract, Anti-oral Cancer Activity

คำนำ

ในปัจจุบันนี้โรคมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของทั่วโลก ซึ่งรวมถึงประเทศไทยที่พบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่ง จากข้อมูลสถานการณ์โรคมะเร็งที่พบบ่อยในประเทศไทยเป็นลำดับต้นๆ คือ มะเร็งตับ มะเร็งปอด มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งเต้านม [1] ส่วนมะเร็งช่องปากเป็นมะเร็งที่มีอุบัติการณ์น้อย อย่างไรก็ตามก็พบมากในภาคใต้ โดยเฉพาะจังหวัดสงขลา [2] โดยทั่วไปแล้วการรักษาโรคมะเร็งนั้นจะใช้วิธีผสมผสานโดยการศัลยกรรม รังสีรักษา และเคมีบำบัด แต่เนื่องจากการรักษาด้วยวิธีเหล่านี้มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย จึงได้มีการศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาทดแทนการใช้สารเคมีต่างๆ ข้อมูลรายงานการวิจัยที่ผ่านมาสนับสนุนว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยป้องกันและรักษาโรคมะเร็งได้ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถพบได้ในอาหารโดยเฉพาะในผักและผลไม้ สารต้านอนุมูลอิสระถูกพบว่ามีคุณสมบัติในการช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดมะเร็งได้หลายชนิด โดยมีกลไกที่แตกต่างกันไป เช่น ยับยั้งการเกิดสารก่อมะเร็ง ป้องกันสิ่งต่างๆ ที่ส่งเสริมให้เกิดมะเร็ง ลดอัตราการกลายพันธุ์ของเซลล์และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย [3]

อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามียานวิจัยเพียงส่วนน้อยที่รายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากของผลไม้ที่พบได้ในท้องถิ่นของประเทศไทย

ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) เป็นไม้ผลกิ่งเมืองร้อนประเภทผลเดี่ยวมีผลรูปทรงกลมรี ผิวผลขรุขระลักษณะเปลือกสีแดง เป็นผลไม้ที่มีรสชาติอร่อย หวานหอม สีสวย จึงทำให้เป็นที่ต้องการทั้งภายในและต่างประเทศ นอกจากจะรับประทานสดแล้ว ยังสามารถแปรรูปเป็นลื่นจี่บรรจุกระป๋องจึงถือว่าเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ลิ้นจี่เป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยสารอาหารและสรรพคุณด้านสมุนไพรต่างๆ มากมายเช่น สรรพคุณเป็นยาช่วยย่อยอาหาร บำรุงอวัยวะภายในต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นม้าม หรือระบบประสาท นอกจากนี้ ลิ้นจี่ยังช่วยในการบรรเทาอาการกระหายน้ำได้ และหากนำเนื้อลิ้นจี่ตากแห้งมาต้มกินเป็นประจำ ก็จะช่วยบรรเทาอาการปวดอันเนื่องมาจากโรคไตเสื่อมและยังช่วยรักษาโรคโลหิตจางได้อีกด้วย [4] นอกจากนั้นรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากเปลือกลิ้นจี่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม [5-6] และเซลล์มะเร็งตับ [7] อย่างไรก็ตามพบว่าในส่วนของเมล็ดลิ้นจี่นั้นยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน จากคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเซลล์มะเร็งของ

สารสกัดจากลิ้นจี่ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ การวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการคัดกรองฤทธิ์ต้านมะเร็งเบื้องต้นของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่เพื่อนำผลการทดสอบที่ได้ไปใช้พัฒนาเป็นยาต้านมะเร็งที่มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งและไม่มีผลข้างเคียงต่อเซลล์ปกติได้ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเซลล์ Human mouth carcinoma (CLS-354 cells)

เลี้ยงเซลล์ CLS-354 (Cell Line Service, Germany) (passage 24) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 (PAA, Austria) ซึ่งมีองค์ประกอบต่างๆ ครบคือ 10% fetal bovine serum (Biochrom AG, Germany) และ 1% penicillin/streptomycin (PAA, Austria) และ 2 mM glutamine (PAA, Austria) ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ CO₂ 5% และความชื้น 95 % โดยมีจำนวนเซลล์ 1 x 10⁶ เซลล์ใน flask ซึ่งมีพื้นที่ 75 ตารางเซนติเมตร เลี้ยงไว้เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมงก่อนที่จะทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลไม้และสมุนไพรต่อเซลล์

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว (normal lymphocytes)

คัดเลือกอาสาสมัครผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงดีจำนวน 4 คน ที่ประสงค์ยินยอมเข้าร่วมวิจัย (โครงการนี้ได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เลขที่ 52/036) หลังจากนั้นจะเลือกอาสาสมัครให้หลอดที่มีสารกันเลือดแข็ง ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) แล้วนำเลือดดังกล่าวมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 ที่มีองค์ประกอบต่างๆ ครบในสัดส่วน 1:2 หลังจากนั้นค่อยๆ เติมเลือดที่เจือจางไว้ลงไปในหลอดที่มีน้ำยา IsoPrep (Robbins Scientific Corporation,

USA) อย่างช้าๆ หลังจากนั้นนำไปปั่นที่ 3000 rpm เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาแยก peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) ซึ่งอยู่ระหว่างชั้น (interphase) ออกมาใส่หลอดใหม่และล้างด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์อีก 2 ครั้ง แล้วจึงนำเซลล์มาแบ่งให้เท่ากันในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 ที่มีองค์ประกอบต่างๆ ครบ หลังจากนั้นนำเซลล์มาบ่มเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ CO₂ 5% และความชื้น 95 %

ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งช่องปากและความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่

นำสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยเมทานอล โดยวิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่อง (continuous extraction) และตามด้วยการทำสารสกัดให้เข้มข้นโดยวิธีการกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) มาเจือจางแล้วนำแต่ละการเจือจางมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งช่องปากและเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีจำนวนเซลล์ 3x10⁴ และ 1x10⁵ เซลล์ตามลำดับ ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม (24-well plate) โดยเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุมคือเซลล์ที่เติม dimethyl sulfoxide (DMSO) ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายของสารสกัดแล้วนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ CO₂ 5% และความชื้น 95 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์โดยวิธี MTT (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay.

ขั้นตอนการศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์

โดยวิธี MTT assay

เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมงของการบ่มสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่กับเซลล์มะเร็งช่องปากหรือเซลล์เม็ดเลือดขาว นำอาหารเลี้ยงเซลล์ออกแล้วเติม 0.5 ml ของ 0.5 mg/ml MTT ที่ผสมกับอาหารลงในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซ CO₂ 5% และความชื้น 95 % เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อ

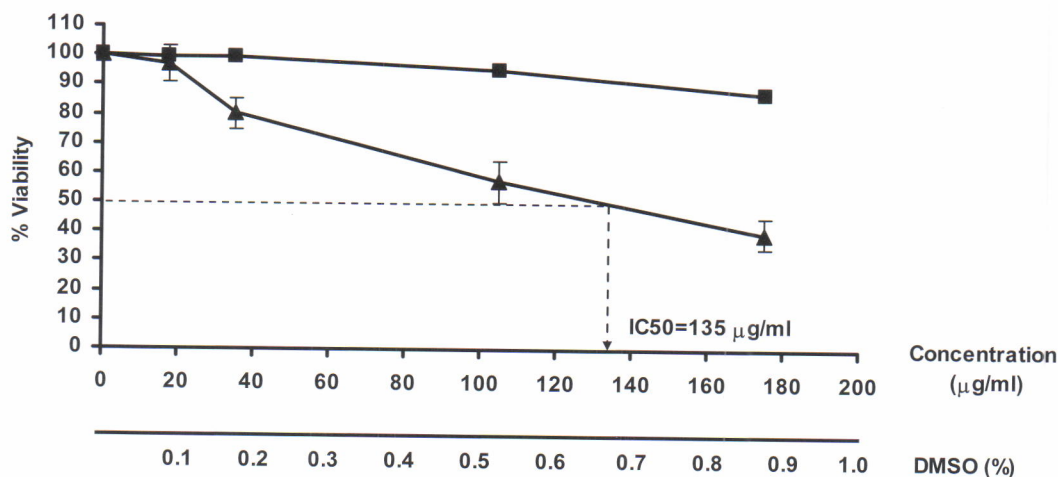
ที่จะให้ MTT ถูกเมทาบอลไลท์ เมื่อครบเวลานำอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี MTT ออก แล้วคว่ำ plate ลงบนกระดาษซับเพื่อเอาอาหารที่เหลือออกแล้วเติม DMSO ลงไปเพื่อไปละลาย formazan (MTT metabolic product) ออกมาหลังจากนั้นผสม formazan ที่ออกมากับ DMSO ให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 nm โดยทำการทดสอบซ้ำอีก 3 ครั้งแต่ละครั้งทำการทำซ้ำอีก 3 การทดสอบย่อย

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปากของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ในช่วงความเข้มข้น 17.5-175.0 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งช่องปากได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 135.0 $\mu\text{g/ml}$ ($\text{IC}_{50}=135.0 \mu\text{g/ml}$) และในช่วงความเข้มข้น 35.0-175.0 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าทำให้เซลล์มะเร็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 1 และ ตารางที่ 1) ส่วนตัวทำละลาย DMSO ที่ใช้ทดสอบในช่วงความเข้มข้น 0.1-1.0 % พบว่าไม่มีผลต่อเซลล์มะเร็งช่องปาก จากผล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาแรกที่พบว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดลิ้นจี่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากได้ ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าเปลือกของสารสกัดจากลิ้นจี่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม [5-6] และเซลล์มะเร็งตับ [7] โดยสารสกัดเมทานอลจากเปลือกลิ้นจี่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 80.0 $\mu\text{g/ml}$ [7] สารสกัดจากเปลือกลิ้นจี่ประกอบไปด้วยสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านมคือ epicatechin และ procyanidin B2 โดยสารทั้งสองสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 102.0 $\mu\text{g/ml}$ และ 99.0 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ [7] ส่วนกลไกการทำลายเซลล์มะเร็งเกิดจากการทำลาย DNA การยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งและเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซิส [7] นอกจากนี้รายงานการวิจัยที่ผ่านมายังพบอีกว่าสารสกัดจากเปลือกลิ้นจี่สามารถยับยั้งก้อนมะเร็งในสัตว์ทดลองได้อีกด้วย [6]

สารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบคือ 17.5-105.0 $\mu\text{g/ml}$ ไม่ได้ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวปกติลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นที่

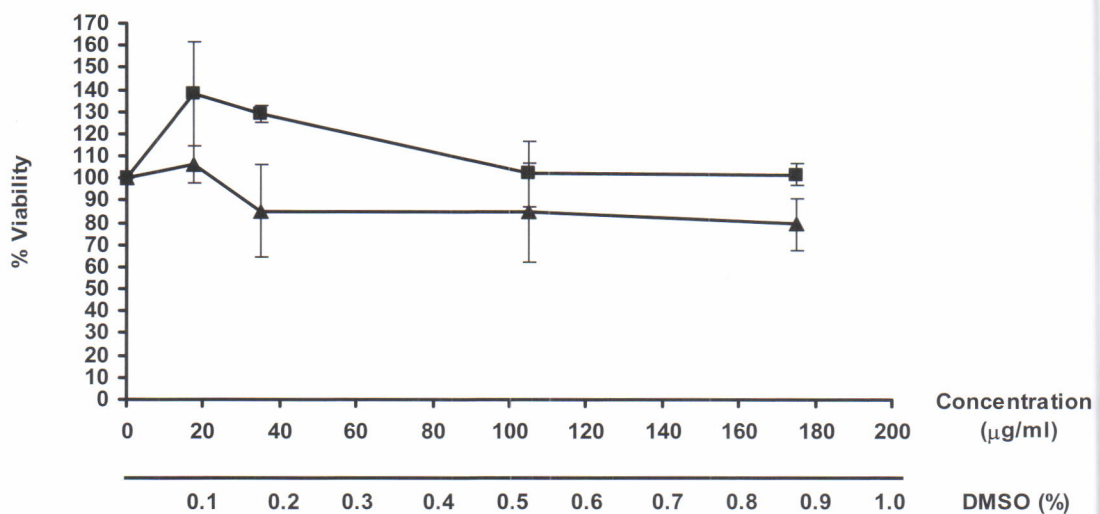


*, $p < 0.05$ vs. 0 $\mu\text{g/ml}$

ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งช่องปากที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ (▲) และที่ทดสอบด้วยตัวทำละลาย DMSO (■)

ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ทดสอบคือ 175.0 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวปกติลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ภาพที่ 2 และตารางที่ 1) ส่วนตัวทำละลาย DMSO ในช่วงความเข้มข้น 0.1-1.0 % พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ ผลการศึกษาครั้งนี้แตกต่างจากงานวิจัยหนึ่งที่พบว่าสารสกัดที่ได้จากเปลือกลิ้นจี่ช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน โดยสามารถกระตุ้นการเจริญ

เติบโตของเซลล์มะเร็งได้ที่มีความเข้มข้น 12.5 $\mu\text{g/ml}$ [5] ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันขององค์ประกอบจากเปลือกและเมล็ด ระยะเวลาความเข้มข้นของสารสกัดชนิดของเซลล์และสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติในครั้งนี้เป็นข้อมูลที่สำคัญในการศึกษาถึงความปลอดภัยที่จะนำสารสกัดดังกล่าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ต่อไปในอนาคต



*, $p < 0.05$ vs. 0 $\mu\text{g/ml}$

ภาพที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ (▲) และที่ทดสอบด้วยตัวทำละลาย DMSO (■)

ตารางที่ 1 ร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งช่องปากและเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติที่ทดสอบด้วยสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่

สารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ ($\mu\text{g/ml}$)	ร้อยละการมีชีวิตรอด (Mean $\pm$ SD)				
	0.0	17.5	35.0	105.0	175.0
เซลล์มะเร็งช่องปาก	100 $\pm$ 0	97 $\pm$ 6	80 $\pm$ 5*	57 $\pm$ 7*	40 $\pm$ 5*
เซลล์เม็ดเลือดขาวปกติ	100 $\pm$ 0	106 $\pm$ 8	85 $\pm$ 21	85 $\pm$ 22	79 $\pm$ 12*

*, $p < 0.05$ vs. 0 $\mu\text{g/ml}$

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปาก และความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ด้วยเมทานอล โดยศึกษาร้อยละของการมีชีวิตของเซลล์โดยวิธี MTT จากการศึกษพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งช่องปากโดยสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งช่องปากได้ร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 135.0 $\mu\text{g/ml}$ (IC_{50} = 135.0 $\mu\text{g/ml}$) และมีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวปกติเพียงเล็กน้อย การศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่ในครั้งนี้เป็นการนำผลไม้ที่พบในประเทศไทยมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์โดยอาจนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาเป็นสารต้นแบบเพื่อรักษาโรคมะเร็งช่องปาก ซึ่งจะต้องสกัดแยกสารด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นและการทำบริสุทธิ์เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์และทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่จากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สัญญาเลขที่ MRG5380076)

เอกสารอ้างอิง

- [1] Deerasamee, S., Martin, N., Sontipong, S., Sriamporn, S., Sriplung, S. and Srivatanakul, P. (1999). Cancer in Thailand Vol. II, 1992-1994. **IARC Technical report no. 34**. Lyon.
- [2] Thongsuksai, P., Sriplung, H., Phunggrassami, T. and Prechavittayakul P. (1997). Cancer incidence in Songkhla, Southern Thailand, 1990-1994. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**. **28**, 1-10.
- [3] Aggarwal, B.B., and Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. **Biochem Pharmacol**. **71**, 1397-421.
- [4] กองสุขาภิบาลอาหาร กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2551). **ผลไม้ไทยได้ประโยชน์**. สืบค้นเมื่อวันที่ 4 ตุลาคม 2552 จาก <http://www.apichoke.com/index.php?topic=757.0>.
- [5] Zhao, M., Yang, B., Wang, J., Liu, Y., Yu, L. and Jiang, Y. (2006). Immunomodulatory and anticancer activities of flavonoids extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn) pericarp. **Int Immunopharmacol**. **7**, 162-6.
- [6] Wang, X., Yuan, S., Wang, J., Lin, P., Liu, G. and Lu, Y. (2006). Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. **Toxicol Appl Pharmacol**. **215**, 168-78.
- [7] Wang, X., Wei, Y., Yuan, S., Liu, G., Zhang, Y.L. and Wang, W. (2006). Potential anticancer activity of lichi fruit pericarp extract against hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. **Cancer Lett**. **239**, 144-150.