คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของสารโปรไซยานิดินของโกโก้กับประโยชน์ด้านสุขภาพ

Chemical and biological properties of procyanidins of cocoa and health benefits

ดร.สมัชญา งามสุข (Dr.Samuchaya Ngamsuk)

ฝ่ายเคมีและกายภาพอาหาร (Department of Food Chemistry and Physics)
สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (Institute of Food Research and Product Development)
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University)

จุดเด่น

- โกโก้ประกอบด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลและโปรไซยานิดินในปริมาณที่สูง
- โปรไซยานิดินจากโกโก้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ
- การบริโภคโกโก้หรือผลิตภัณฑ์จากโกโก้ในปริมาณที่พอดีถือว่าปลอดภัย

Highlights

- Cocoa contains high amounts of polyphenols and procyanidins
- Procyanidins from cocoa had bioactive activity
- The intake of moderate quantities of cocoa or cocoa product as safe

บทคัดย่อ

สารประกอบโพลีฟีนอลมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน ได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง การต่อต้านริ้วรอย ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านการอักเสบ ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น สารประกอบโพลีฟีนอลเป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติที่มีงานวิจัยจำนวนมากให้ความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยในเมล็ดโกโก้อุดมไปด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลที่ช่วยทำให้หลอดเลือดเกิดการขยายตัวและทำให้เลือดไหลเวียนได้ดีในผู้ที่บริโภคโกโก้เป็นประจำ นอกจากนี้ยังพบว่าโกโก้อาจช่วยลดความเสี่ยงของโรคที่เกี่ยวกับระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสมองและสารในกลุ่มโพลีฟีนอลในโกโก้อาจส่งผลดีต่ออารมณ์และอาการซึมเศร้าโดยไปลดระดับความเครียด ลดความเสี่ยงของโรคเบาหวาน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบและป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง เมล็ดโกโก้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารที่อยู่ในรูปโมโนเมอร์ (monomer) ได้แก่ คาเทชิน (catechin) และ อีพีคาเทชิน (epicatechin) และสารที่อยู่ในรูปพอลิเมอร์ (polymer) โดยเมล็ดโกโก้ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ ฟลาโวนอยด์

ที่สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย ดังนี้ สารโปรไซยานิดิน (procyanidins) 58% ฟลาแวน-3-โอล (flavan-3-ols) 37% และสารแอนโทไซยานิน (anthocyanins) 4% สารโปรไซยานิดินเป็นสารสำคัญที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและเป็นสารประกอบฟีนอลที่พบได้ตามธรรมชาติ สำหรับโครงสร้างของสารโปรไซยานิดินเป็นที่น่าสนใจมาก เนื่องจากมีกิจกรรมทางชีวภาพที่หลากหลายด้านไม่ว่าจะช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ ลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ลดการเกิดโรคเบาหวาน ลดความดันโลหิตสูง อีกทั้งมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ และการนำมาใช้ในการรักษาโรคเรื้อรังแบบไม่ติดต่อ

คำสำคัญ : เมล็ดโกโก้ กิจกรรมทางชีวภาพ คุณสมบัติทางเคมี สารโปรไซยานิดิน

Keywords : cocoa beans, bioactive activity, chemical properties, procyanidins

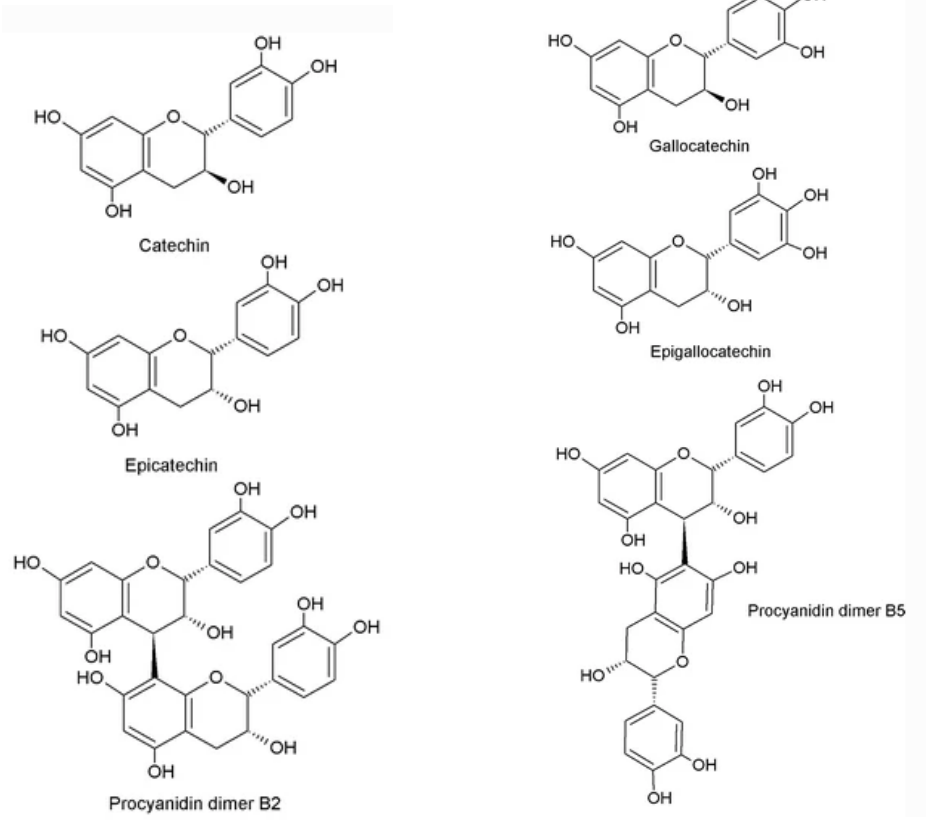
บทนำ

โกโก้เป็นเมล็ดพืชที่นิยมนำมาผลิตเป็นช็อคโกแลต เนื่องจากเมล็ดโกโก้มีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้ไขมันในเมล็ดโกโก้ก็สามารถนำมาผสมในครีมบำรุงผิวเพื่อป้องกันริ้วรอยและเพิ่มความชุ่มชื้นแก่ผิว ถึงแม้ว่าโกโก้จะมีประโยชน์มากมายแต่ผู้บริโภคเองก็ควรรับประทานในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อป้องกันผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้นได้ โกโก้ประกอบไปด้วยสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส ทองแดง เหล็ก แมงกานีส เป็นต้น ในช่วงเกือบ 20 ปี ที่ผ่านมามีงานวิจัยจำนวนมากต่างสนใจสารต้านอนุมูลอิสระจากโกโก้และช็อคโกแลตมาใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพมากขึ้น มีการศึกษาถึงสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ องค์ประกอบทางเคมีและคุณประโยชน์ที่ช่วยในการรักษาโรคและการป้องกันโรคต่าง ๆ ของโกโก้และผลิตภัณฑ์ของโกโก้ อีกทั้งยังมีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คาเทชิน โปร-ไซยานิดิน เป็นต้น โดยมีหลายงานวิจัยได้พบว่าสารโปรไซยานิดินส่งผลดีต่อสุขภาพในด้านต่าง ๆ ดังนี้ ช่วยควบคุมระดับความดันเลือด ลดระดับคอเลสเตอรอล ต้านอนุมูลอิสระ ลดความเครียด ช่วยการทำงานของระบบประสาท ช่วยชะลอการเสื่อมโทรมของผิว เป็นต้น การตรวจสอบเบื้องต้นเกี่ยวกับกิจกรรมทางชีวภาพทำโดยการจำลองสภาวะการทำงานในหลอดทดลองชี้ให้เห็นว่าโปรไซยานิดินจากโกโก้อาจมีผลต่อภูมิคุ้มกันของร่างกาย เมื่อไม่นานมานี้เริ่มมีการศึกษาที่เน้นย้ำถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรไซยานิดินที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณต่างของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการตาย การเพิ่มจำนวน การอยู่รอดและการตอบสนองต่อการอักเสบ จึงเป็นแรงจูงใจให้รวบรวมผลงานวิจัยและเรื่องราวคุณประโยชน์ของโกโก้แล้วเรียบเรียงเป็นบทความที่เป็นปัจจุบันให้เกิดประโยชน์แก่ผู้สนใจนำไปใช้ประโยชน์

โปรไซยานิดินในโกโก้

โกโก้เป็นแหล่งของสารประกอบโพลีฟีนอลหลายชนิด ได้แก่ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (gallic acid, syringic acid, protocatechuic acid, vanillic acid) กรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ (caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, phloretic acid, clovamide, dideoxyclovamide) และ flavan-3-ols (catechin, epicatechin, procyanidins) นอกจากนี้ยังมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (quercetin, luteolin, apigenin, naringenin) (Borchers *et al.*, 2000; Natsume *et al.*, 2000; Counet *et al.*,

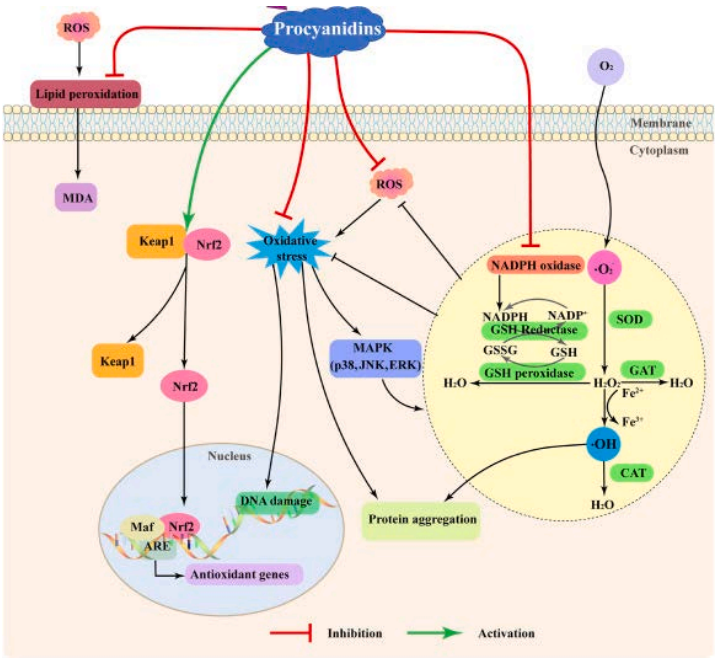
2004) กลุ่มของสารโพลีฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบหลักของโกโก้สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 1 โปรไซยานิดิน (procyanidins) ได้มาจากโปรแอนโธไซยานิดินหรือที่รู้จักกันในการเกิดการควบแน่นของแทนนิน (Han *et al.,* 2007) โปรไซยานิดินอาจเกิดจากโอลิโกเมอร์หรือพอลิเมอร์ของ flavan-3-ol ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย คือ คาเทชินหรืออิพิคาเทชิน และ 3-O-gallates โปรไซยานิดินสามารถแบ่งออกตามการจัดเรียงของสเตอริโอเคมีและระดับของการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันได้เป็น A – type และ B-type (Tsao and McCallum, 2010; Bittner *et al.,* 2013) โปรไซยานิดิน B-type มีลักษณะเฉพาะโดยมีพันธะเดี่ยวที่ interflavan bond ระหว่าง carbon-4 ของ B-ring และ either carbon-8 หรือ carbon-6 ของ C-ring โปรไซยานิดิน B-type นั้นพบได้มากที่สุด เช่น procyanidins B1 procyanidins B2, procyanidins B3 และ procyanidins B4 สำหรับโปรไซยานิน A-type นั้นไม่เพียงแต่มีพันธะระหว่าง interflavan bond เท่านั้นแต่ยังมีการเชื่อมกับ ether-2 ที่อยู่ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล A-ring และ carbon-2 ของ A-ring โปรไซยานิดิน A-type ที่พบได้มากที่สุด ได้แก่ procyanidins A1 และ procyanidins A2 (Bittner *et al.,* 2013) นอกจากนี้สารประกอบโอลิโกเมอร์ของโปรไซยานิดินสามารถแยกได้เป็นสารในกลุ่มโมโนเมอร์ที่พบตามธรรมชาติ ได้แก่ คาเทชิน อิพิคาเทชิน gallocatechin, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, procyanidins B1, procyanidins B2, Procyanidins B3, procyanidins B4, procyanidins B5, procyanidins C1, procyanidins C2 และ procyanidins D1 (Santos-Buelga and Scalbert, 2000; Gu *et al.,* 2006) โดยโกโก้สามารถพบโปรไซยานิดิน B-type ซึ่งประกอบด้วย procyanidins B1 และ procyanidins B2 (Miller *et al.,* 2006)



รูปที่ 1 กลุ่มของสารโพลีฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบหลักของโกโก้
ที่มา : Rusconi *et al.* (2013)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การเกิดออกซิเดชันเป็นกระบวนการปกติที่เกิดขึ้นในร่างกายของเรา ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (oxidative stress) คือภาวะที่ร่างกายมีอนุมูลอิสระมากจนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีปริมาณไม่เพียงพอส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันและโมเลกุลต่าง ๆ (Kregel and Zhang, 2007; Chandra *et al*., 2015) ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเกี่ยวข้องกับโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคพาร์กินสัน โรคอัลไซเมอร์ โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคเบาหวาน โรคอ้วน และโรคต้อกระจก (Murphy, 2011) โกโก้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ จากธรรมชาติ เช่น ไวน์แดง ชาเขียว และชาดำ ซึ่งฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโกโก้นั้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณของโปรไซยานิดินที่พบในโกโก้ (Lee *et al*., 2003) โดยพบว่า บริโภคผงโกโก้ 5 กรัม และดาร์กช็อคโกแลต 40 กรัม จะทำให้ได้รับปริมาณของโปรไซยานิดินสูงถึง 108 และ 517 มิลลิกรัม/ตัวอย่าง ตามลำดับ (Gu *et al*., 2006) ซึ่งสูงกว่าอาหารชนิดอื่น เช่น องุ่น รำข้าวฝ่าง แครนเบอร์รี และบลูเบอร์รี (Steinberg *et al*., 2003; Gu *et al*., 2006) โปรไซยานิดินมีประสิทธิ์ภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ เช่น 2.2'-azino-bis (3-ethylbenthiazoline-6-sulphonic acid ($ABTS^+$), 2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl (DPPH), singlet oxygen ($^1O_2$), superoxide anion (O_2-), hydroxyl (OH), nitric oxide (NO), alkyl peroxyl (ROO) และ chelating Fe^{2+} เป็นต้น (Lee *et al*., 2003; Morel *et al*., 1993; Sana *et al*., 2003) รวมไปถึงสามารถป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดง (Zhu *et al*., 2002) ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโปรไซยานิดินสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2 ซึ่งคล้ายกับการรายงานของ Gu และคณะ (2006) พบว่า ผลิตภัณฑ์โกโก้และช็อคโกแลตมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีโปรไซยานิดินเป็นองค์ประกอบและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับมีปริมาณของโปรไซยานิดินในผลิตภัณฑ์ จากข้อมูลข้างต้นจึงสามารถบอกได้ว่าโปรไซยานิดินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี



รูปที่ 2 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของโปรไซยานิดิน

ที่มา : Yang *et al*. (2021)

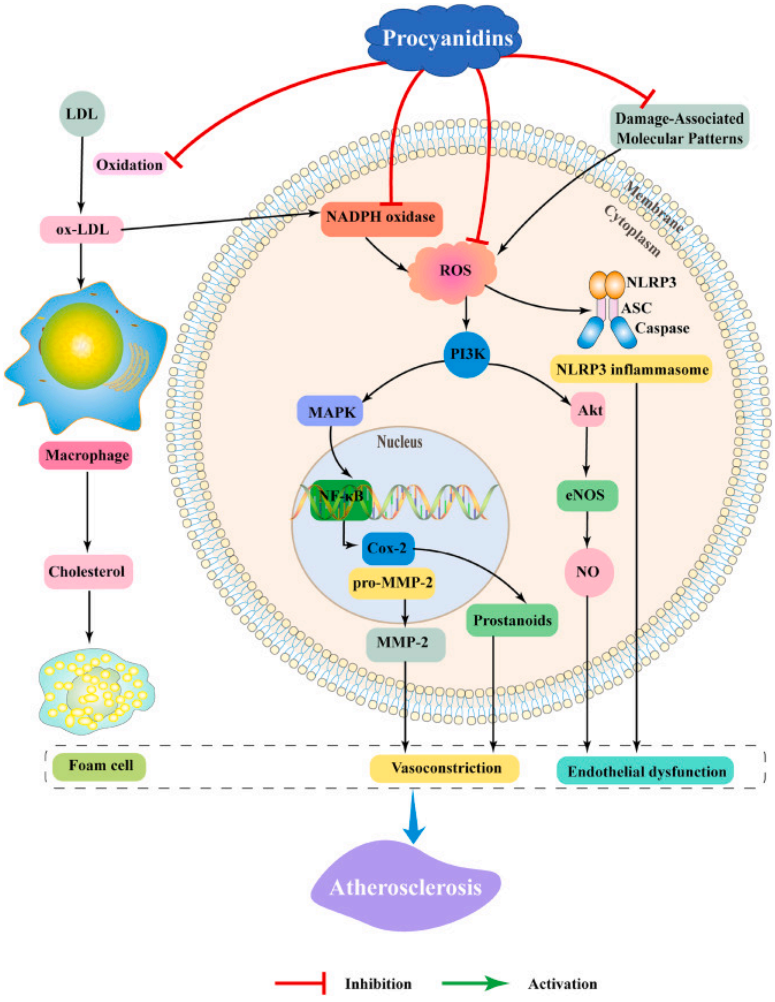
ฤทธิ์ต้านเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่ประชากรทั่วโลกกำลังเผชิญในระดับต้น ๆ โรคเบาหวานสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ 1) โรคเบาหวานชนิดที่ 1 เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายไม่สามารถผลิตอินซูลินเองได้ ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 1 มีประมาณ 10% ของผู้ป่วยทั้งหมด และ 2) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายผลิตอินซูลินไม่เพียงพอต่อการใช้งานหรือร่างกายผลิตอินซูลินแต่ร่างกายไม่สามารถเอาไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ทั่วโลกมีมากถึง 90% ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 นี้ถือเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญยิ่ง ส่งผลให้ทุกประเทศทั่วโลกจำเป็นต้องมีการจัดสรรงบประมาณจำนวนมากเพื่อดูแลผู้ป่วย ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการหลั่งอินซูลินของเซลล์ตับอ่อนชนิด β มีความผิดปกติและอาจเกิดจากการดื้อต่ออินซูลินของ peripheral tissues (Klover and Mooney, 2004) โปรไซยานิดินจะเข้ากระตุ้นให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์ไกลโคเจนที่เพิ่มขึ้นและเกิดการยับยั้งการเกิด gluconeogenesis ในตับและกล้ามเนื้อ ทำให้ปริมาณกลูโคสเข้าสู่สภาวะสมดุล (Xiao, 2020) มีการศึกษาผลของโกโก้ต่อการลดลงของเบาหวานแล้วพบว่า หนูเพศหญิงอายุ 3 สัปดาห์ที่ได้รับสารโปรไซยานิดินจากโกโก้ในปริมาณ 0.5 และ 1% (w/w) อย่างต่อเนื่องเมื่อตรวจวัดระดับน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 5 พบว่า มีระดับน้ำตาลที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทดลองที่ได้รับตัวอย่างโกโก้ที่มีโปรไซยานิดิน 0% (w/w) (Tomaru *et al*., 2007) ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Murphy และคณะ (2003) ที่รายงานว่าเมื่อมีการให้โกโก้ที่มีการเสริมสารฟลาโว-นอยด์และโปรไซยานิดินปริมาณ 243 กรัมต่อวันแก่ประชากรวัยผู้ใหญ่ที่สุขภาพดีและไม่สูบบุหรี่จำนวน 23 คน (เพศหญิง 15 คน และเพศชาย 17 คน) เป็นเวลา 28 วัน ส่งผลให้พลาสมาของประชากรมีความเข้มข้นของคาเทชินและอิพิคาเทชินปริมาณ 81% และ 28% ตามลำดับ และส่งผลให้การทำงานของเกล็ดเลือดลดลง นอกจากนี้โปรไซยานิดินในโกโก้ยังส่งผลต่อระดับอินซูลินในมนุษย์อีกด้วย มีการนำโปรไซยา-นิดินที่สกัดได้จากโกโก้มาทดสอบการต้านเบาหวานในแบบจำลองการทำงานของเซลล์ โดยที่โปรไซยานิดินไปกระตุ้นการสังเคราะห์การสร้างไกลโคเจนและการดูดซึมกลูโคส แต่สารโปรไซยานิดินของโกโก้จะทำงานโดยไม่ผ่านการกระตุ้นโปรตีน adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) หรือ Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II activities ที่เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสมดุลพลังงานของเซลล์ที่ทำหน้าที่เผาผลาญกลูโคสและไขมัน (Bowser *et al*., 2017) นอกจากนี้สารโปรไซยานิดินจากโกโก้ทำให้เกิดกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรตและการดูดซึมกลูโคสที่ช้าลงในกระเพาะอาหาร ซึ่งส่งผลดีต่อระดับกลูโคสในร่างกาย รวมไปถึงสามารถยับยั้งการสร้างเอนไซม์ α-amylase ของตับอ่อน เอนไซม์ lipase ของตับอ่อน และการหลั่งของ phospholipase A2 (Gu *et al*., 2011)

การลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด

ปัจจุบันโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก ซึ่งมีสถิติของการเสียชีวิตเพิ่มมากขึ้นในทุกปีพบว่า ผู้ที่มีอายุมากกว่า 40 ปี จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจมากถึง 50% มีปัจจัยเสี่ยงหลายอย่างที่ส่งผลต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น ผลจากโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง การมีไขมันในเลือดสูง) เกิดจากกรรมพันธุ์หรือมีประวัติคนใน

ครอบครัวเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด การมีภาวะโรคอ้วน การดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ ภาวะความเครียด และการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง เป็นต้น โดยทั่วไประดับของคอเลสเตอรอลในเลือดสูง โดยเฉพาะระดับ LDL (low density lipoprotein) จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด อย่างไรก็ตามปริมาณ LDL ที่เสื่อมคุณภาพ (oxidized-LDL) การรวมตัวกันของเกล็ดเลือดที่มากเกินไป การทำงานของเยื่อบุผนังหลอดเลือดที่เปลี่ยนแปลงไป และการทำงานของภูมิคุ้มกันที่ลดลง ก็สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ได้เช่นกัน (Victor *et al*., 2009) โปรไซยานิดินสามารถยับยั้งการเกิดการออกซิเดชันของ LDL ในหลอดเลือด (Murphy *et al*., 2003) (รูปที่ 3) สำหรับการทดลองในวัยผู้ใหญ่ 10 คน (เพศหญิง 5 คน และเพศชาย 5 คน) ที่ช่วงอายุ 21-49 ปี พบว่า เครื่องดื่มโกโก้ปริมาณ 300 มิลลิลิตร จะมีสารโปรไซยานิดินประมาณ 19 มิลลิกรัม ซึ่งสามารถลดการสร้างเกล็ดเลือดและลดการทำงานของเกล็ดเลือดได้ (Rein *et al*., 2000) ซึ่งสอดคล้องกับ Bearden และคณะ (2000) พบว่าโอลิโกเมอร์ของโปรไซยานิดินจากช็อคโกแลตและโกโก้แล้วสามารถยับยั้งการปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL ได้



รูปที่ 3 กลไกการยับยั้งการเกิดการออกซิเดชันของ LDL ของสารโปรไซยานิดิน
ที่มา : Yang *et al*. (2021)

ตารางที่ 1 ผลของสารโปรไซยานิดินของโกโก้ต่อการลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์

ตัวอย่าง	เซลล์	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
Cocoa catechin and procyanidin fractions (0.1-10.0μg/mL)	Liposomoes and human LDL	↓ LDL oxidation	Lotito *et al.*, 2000
Cocoa catechin, epicatechin, procyanidin B2 and Procyanidin C1 (0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 μg/mL)	Human LDL	↓ LDL oxidation	Osakabe *et al.*, 2002
Cocoa epicatechin and procyanidin (10 μmol/L)	Recombinant human 5-LOX	↓ 5-LOX activity	Schewe *et al.*, 2002
Cocoa epicatechin and procyanidin (2.9 mg/mL)	Isolated rabbit 15-LOX-1 Recombinant human platelet 12-LOX	↓15-LOX actvitiy in dose-dependent ↓12-LOX activity in dose-dependent	Schewe *et al.*, 2001

จากข้อมูลในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่า สารโปรไซยานิดินจากโกโก้อาจจะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชันของ LDL ช่วยยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด และช่วยในการทำงานของเยื่อบุผนังหลอดเลือด นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณ HDL และช่วยลดความดันโลหิตที่จะส่งผลต่อความเสี่ยงที่จะส่งผลให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดลดลงด้วย

ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

การอักเสบ (inflammation) เป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อสิ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อของร่างกายได้รับบาดเจ็บ เช่น เชื้อโรค การตายของเซลล์จากการขาดเลือดหรือการขาดออกซิเจน การอักเสบถือเป็นกลไกที่สำคัญในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกาย การตอบสนองต่อการอักเสบของร่างกายที่มากเกินไปหรือเรื้อรังมีส่วนก่อให้เกิดโรคเรื้อรังได้หลายชนิด (Libby, 2007) สำหรับการอักเสบที่เนื่องมาจากระบบภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นจากระบบภูมิคุ้มกันที่ติดตัวมาแต่กำเนิด (innate immunity) ร่วมกับสารที่หลั่งจากเซลล์และสารจากพลาสมา เช่น cytokines, prostaglandins, leukotrienes, platelet activating factor (PAF), bradykinin, histamine, interferons (IFN) และ complement system การเกิดการอักเสบชนิดนี้เกิดจาก macrophages neutrophils และ dendritic cell กลืนกินไวรัสหรือแบคทีเรียแล้วปล่อยโปรตีนของไวรัสหรือผนังเซลล์ของแบคทีเรียออกมา ทำให้โปรตีนเหล่านี้เหนี่ยวนำและกระตุ้นเซลล์ให้เกิดการอักเสบด้วยการหลั่งสารสื่อกลางทางเคมี (chemical mediators) เช่น histamine nitric oxide (NO) prostaglandins E_2 (PGE_2) และ leukotrienes ออกมา โดยสารสื่อกลางทางเคมีส่งผลให้ leukocytes เคลื่อนตัวออกจากหลอดเลือดแล้วไปรวมตัวในบริเวณที่มีการอักเสบและ leukocytes จะหลั่งสารกลุ่ม proinflammatory cytokines เช่น tumor necrosis factor-α (TNF-α) interleukin-1 (IL-1) interleukin-6 (IL-6) IFN และ colony stimulating factors (CSF_s) และ chemokines เช่น macrophage inflammatory protein 1α interleukin-8 (IL-8) monocyte chemoattractant proteins-1 และผลิตอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) สำหรับการปรับการตอบสนองต่อการอักเสบของร่างกายโดยการบริโภคสารที่ออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพนั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Gonzalez *et al.*, 2011) และสารโปรไซยานิดินก็มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบเช่นกัน (Wollgast and Anklam, 2000) จากงานวิจัยของ Erlejman และคณะ (2008) ได้ศึกษาสกัดโปรไซยานิดินจากโกโก้และทำการทดลองในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์ Caco-2 พบว่า สารโปรไซยานิดินที่ความเข้มข้น 2.5-20 μM สามารถยับยั้งการหลั่ง TNF-α, NF-κB และ iNOS ได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Mackenzie และคณะ (2008) ที่นำสารโปรไซยานิดินชนิด บี2 (procyanidin B_2) มาทดสอบในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์ Hodgkin's lymphoma พบว่า สารดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของ NF-κB, RelA และ p50 ได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกหลายชิ้นที่ได้ทำการศึกษาผลของโปรไซยานิดินต่อการลดการอักเสบที่อาจเกิดจากการยับยั้งเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของสารโปรไซยานิดินในโกโก้ต่อการลดการอักเสบในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์

ตัวอย่าง	เซลล์	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
Cocoa procyanidins (10-25 μg/mL)	HT-29 cells	↓ IL-8	Bitzer *et al.*, 2015
Cocoa rich procyanidins	Isolated rabbit aortic rings	↑ NOS activity	Karim *et al.*, 2000
Cocoa procyanidin B2 (1.7 – 50 μM)	Caco-2 cell. HepG2	↓ NF-κB, TNF-α and PMA-induced NF-κB	Martin *et al.*, 2016

ฤทธิ์ต้านมะเร็ง

โรคมะเร็งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก ปัจจุบันประชาคมโลกต่างก็ให้ความสำคัญกับโรคมะเร็ง การเกิดโรคมะเร็งร้อยละ 90 เกิดจากปัจจัยภายนอกที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมในการดำรงชีวิต เช่น การรับประทานอาหารประเภททอด ปิ้งย่าง หรืออาหารที่มีไขมันสูง การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ ความเครียด การได้รับฝุ่น ควันหรือรังสี การติดเชื้อไวรัส และอื่น ๆ เป็นต้น สำหรับกลไกในการยับยั้งเซลล์มะเร็งนั้นมีทั้งหมด 4 แบบ ได้แก่ 1) การชักนำการตายแบบ apoptosis 2) การยับยั้งวงวัฏจักรของเซลล์ 3) การยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี และ 4) การเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานที่เกี่ยวกับ ATP-binding cassette transporters

1) การชักนำการตายแบบ apoptosis เป็นการตายของเซลล์ที่มีแบบแผน (programmed cell death) ซึ่งเป็นการตายปกติของเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการพัฒนาและรักษาสมดุลของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง โดยในระหว่างที่เซลล์เกิดการตายแบบ apoptosis จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (morphology) เช่น ไซโทพลาซึมและออร์-แกเนลล์จะมีลักษณะหนาแน่นขึ้น เซลล์เหี่ยว เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการแฟบ (membrane blebbing) โครมา-ตินจับกันแน่น (chromatin condensation) ดีเอ็นเอและนิวเคลียสเกิดการแตกหัก (DNA and nuclear fragmentation) สุดท้ายแล้วเซลล์มีการแยกเป็นถุงเล็ก ๆ (apoptotic bodies) ที่มีองค์ประกอบของเซลล์อยู่ข้างในและถูกจับกินโดย macrophage โดยไม่เกิดการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ วิถีการตายแบบ

apoptosis แบ่งได้ 2 วิถี ได้แก่ วิถีภายนอก หรือวิถีตัวรับตาย (extrinsic pathways หรือ death receptor pathway) ซึ่งเกิดจากการจับของลิแกนด์จากภายนอกเซลล์ เช่น tumor necrosis factor (TNF)-α, Fas ligand, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) กับตัวรับ (death receptors) ที่ผิวเซลล์ เช่น tumor necrosis factor receptor (TNFR)-1, Fas, DR5 ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของ death domians ของตัวรับกับ adaptor molecules เช่น FADD, TRADD ส่งผลให้เกิด death inducing signaling complex (DISC) ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-8 และ caspase-8 ที่ถูกกระตุ้นนี้จะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspases-3, caspases-6 และ caspases-7 ซึ่งเอนไซม์ caspase จะไปย่อยสารตั้งต้นของมันและส่งผลให้เซลล์เกิดการตายแบบ apoptosis สำหรับอีกวิถี คือ วิถีภายในหรือวิถีไมโทคอนเดรีย เกิดจากการที่ไมโทคอนเดรียเกิดความเสียหายทำให้เกิดการปลดปล่อยของโปรตีน cytochrome c ออกมาสู่ไซโตพลาซึมและไปรวมตัวกับโปรตีน Apaf-1 ทำให้เกิด apoptosome ที่ไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase-9 และ caspase-9 ที่ถูกกระตุ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspases-3, caspases-6 และ caspases-7 ส่งผลให้เซลล์เกิดการตายแบบ apoptosis และโปรตีนที่หลั่งออกมาจากไมโทคอนเดรีย เช่น Smac จะไปยับยั้งโปรตีนที่ยับยั้งการตายแบบ apoptosis (inhibitors of apoptosis proteins; IAPs) ทำให้ IAPs ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ caspase ซึ่งส่งผลให้เกิดการตายแบบ apoptosis ยิ่งไปกว่านั้นพบว่า การกระตุ้นด้วยสัญญาณการรอดชีวิตของเซลล์ ทำให้มีการเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่ต้านการตายแบบ apoptosis เช่น Bcl-2, Bcl-xL โดยการกระตุ้นการทำงานของ transcription factor ที่ชื่อ NF-KB ซึ่งโปรตีนที่ต้านการตายแบบ apoptosis เหล่านี้จะไปยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่ส่งเสริมการตายแบบ apoptosis นอกจากนี้ยังพบว่า สัญญาณการตายแบบ apoptosis ที่มาจากความเสียหายของดีเอ็นเอสามารถกระตุ้นการทำงานของโปรตีน p53 ซึ่งเป็นทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่ทำให้เกิดการแดงออกแบบ proapoptotic proteins และ p53 ยังกดการแสดงออกของโปรตีนที่ต้านการตายแบบ apoptosis (Denault and Sakvesen, 2002; Gewies, 2003)

2) การยับยั้งวงวัฏจักรของเซลล์ เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเซลล์ยูคาริโอตระหว่างที่มีการเจริญและเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ประกอบด้วยระยะต่าง ๆ ได้แก่ ระยะ G1 เป็นระยะที่เซลล์มีกระบวนการเมแทบอลิซึมปกติเพื่อเตรียมสำหรับการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ระยะ S เป็นระยะที่เซลล์มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอเพิ่มเป็นสองเท่า ระยะ G2 เป็นระยะที่เซลล์มีการเจริญอย่างต่อเนื่องและมีขบวนการเมแทบอลิซึมปกติเพื่อเตรียมสำหรับการแบ่งเซลล์ ซึ่งตั้งแต่ระยะ G1, S และ G2 เรียกรวมว่า interphase ส่วนระยะ M เป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งเซลล์โดยการแยกของโครโมโซมเป็นแบบ 2N และเรียกขั้นตอนการแบ่งเซลล์นี้ว่าไมโตซิส เซลล์อาจหยุดการแบ่งเซลล์แบบชั่วคราวหรือเรียกว่าอยู่ในระยะ G0 แต่ถ้าเซลล์หยุดการแบ่งตัวแบบถาวรจะเกิดจากการที่เซลล์แก่หรือเกิดความเสียหายของ ดีเอ็นเอซึ่งทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่นำไปสู่การตายแบบ apoptosis (Lodish *et al.,* 2004) วงวัฏจักรของเซลล์ถูกควบคุมด้วยโปรตีนกลุ่ม cyclins และเอนไซม์กลุ่ม cyclin-dependent kinases (CDKs) โดยโปรตีนและเอนไซม์ข้างต้นจะจับกันได้เป็น cyclin-CDK complexes ที่พร้อมทำงาน โดย cyclin D เป็นโปรตีนตัวแรกที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างการดำเนินไปของวงวัฏจักร

ของเซลล์มีการกระตุ้นโดยสัญญาณจากภายนอก เช่น growth factor จากนั้น cyclin D จับกับ CDK4 ที่มีอยู่ก่อนทำให้ได้ cyclin D-CDK4 complex ที่จะไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้ retinoblastoma susceptibility protein (Rb) ทำให้ Rb หลุดออกจาก E2F/DP1/Rb complex ส่งผลให้ E2F ทำงานได้ การกระตุ้นการทำงานของ E2F ทำให้มีการถอดรหัสของยีนต่าง ๆ เช่น cyclin E, cyclin A, DNA polymerase, thymidine kinase สำหรับ cyclin E จะไปจับกับ CDK2 ได้เป็น cyclin E-CDK2 complex ทำให้เซลล์ระยะ G1 เปลี่ยนไปอยู่ในระยะ S นอกจากนี้ยังพบว่า cyclin A-CDK2 complex อาจมีบทบาทในการเปลี่ยนจากระยะ G1 ไปสู่ระยะ S โดยที่ระยะ S เซลล์มีการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอในระยะนี้ cyclin A ซึ่งมีระดับต่ำในระยะ G1 จะเพิ่มสูงขึ้นจนเซลล์เข้าสู่ระยะ G2 และ cyclin A ถูกสลายไปในระยะ M ดังนั้นการทำงานของ cyclin A จึงมีบทบาทในการเปลี่ยนระยะ G2 ไปสู่ระยะ M แม้ว่าการทำงานของ cyclin A0CDK2 complex พบได้ในระยะ S และ G2 แต่การทำงานของ cyclin A-CDK1 complex พบในระยะ G2 เท่านั้น การเปลี่ยนระยะ G2 ไปสู่ระยะ M และการดำเนินของระยะ M ถูกควบคุมจากการทำงานของ cyclin B-CDK1 complex ซึ่งระดับของ cyclin B จะขึ้นลงในระหว่างการดำเนินไปของวงวัฏจักร โดยพบได้ครั้งแรกในระยะ S และเพิ่มสูงขึ้นในระยะ G2 จากนั้นสลายไปในการแบ่งเซลล์ขั้น anaphase ของระยะ M การทำงานของ cyclin B จะมากที่สุดใรช่วงที่มีการเปลี่ยนจากระยะ G2 ไประยะ M และคงอยู่จนกระทั้ง cyclin B สลายไป การดำเนินไปของวงวัฏจักรของเซลล์ถูกยับยั้งด้วยโปรตีน p21/Waf1 เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ cyclin/CDK2 complexes หรือ cyclin/CDK1 complexes การแสดงออกของโปรตีน p21/Waf1 ถูกควบคุมด้วยโปรตีน p53 ซึ่งเป็น tumor suppressor protein (Gartel and Radhakrishnan, 2005)

3) การยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี (NF-KB) เป็นกลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นทรานสคริปชันแฟคเตอร์ที่มีบทบาทสำคัญในการคสบคุมการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน และการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ของเซลล์ โปรตีนที่อยู่ในกลุ่ม NF-KB ได้แก่ RelA (p65), RelB, c0Rel, p105/p50 (NF-KB1) และ p100/p52 (NF-KB2) ในเซลล์ส่วนใหญ่ NF-KB อยู่ในรูป heterodimer ที่ประกอบด้วย p65 และ p50 โดย p65 ทำหน้าที่ในการกระตุ้นการแสดงออกของยีนในกรณีที่เซลล์ไม่ถูกกระตุ้น NF-KB จะอยู่ในไซโตพลาซึมในรูปของ inactive complex ที่จับกับ IKBα เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วยสิ่งเร้า เช่น TNF-K, IL-1,phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA), lipopolysaccharide (LPS), การฉายรังสี และยาบางชนิด IKBα จะถูกเติมฟอสเฟตและถูกสลายโดยกระบวนการที่อาศัยยูบิควิติน ทำให้ NF-KB เข้าไปอยู่ในนิวเคลียสและกระตุ้นการทรานสคริปชันหรือการแสดงออกของยีน (Hayden and Ghosh, 2004)

4) การเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานที่เกี่ยวข้องกับ ATP-binding cassette transporters การดื้อยาของเซลล์มะเร็ง คือ การที่เซลล์มะเร็งได้รับยารักษามะเร็งเพียงชนิดเดียวแต่ทำให้เซลล์มะเร็งเกิดการดื้อต่อยารักษามะเร็งชนิดอื่น ๆ ที่มีโครงสร้างต่างกัน ทำให้การรักษาโรคมะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดไม่ได้ผลการดื้อยาแบบหลายขนานเป็นอุปสรรคสำคัญที่ทำให้การรักษาโรคมะเร็งไม่ประสบความสำเร็จ การดื้อยาแบบหลายขนานเกิดจากปัจจัยของเซลล์ ได้แก่ การขับยาออกนอกเซลล์ การลดการนำยาเข้าสู่เซลล์

การเปลี่ยนแปลงของลิปิดที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ การเก็บยาไว้ในออร์แกเนลล์บางชนิด การเปลี่ยนแปลงจุดตรวจวงวัฏจักรของเซลล์ การเพิ่มหรือเปลี่ยนแปลงเป้าหมายของยา การเมแทบอลิซึมของยา การชักนำการตอบสนองของยีนเพื่อการอยู่รอด ทำให้มีการซ่อมแซมส่วนที่เสียหายและยับยั้งการตายแบบ apoptosis เช่น การยับยั้งโปรตีน p52 สำหรับการแสดงออกของโปรตีนที่อาศัย ATP ในการขับยาออกนอกเซลล์ โปรตีนเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่ม ATP-binding cassette (ABC) transporters สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างและลำดับของกรดอะมิโนได้ 7 กลุ่ม คือ ABCA ถึง ABCG (Gottesman, 2002)

มีงานวิจัยหลายชิ้นที่หาสารจากธรรมชาติเพื่อเป็นยาในการป้องกันหรือกลไกลในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งที่อาจจะช่วยยับยั้งการเกิดหรือรักษาโรคมะเร็ง มีงานวิจัยจำนวนมากเริ่มนำสารโปรไซยานิดินจากโกโก้มาใช้ประโยชน์ โดยสารโปรไซยานิดินที่สกัดได้จากโกโก้ทำให้เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากตาย เนื่องมาจากเกิดการเปลี่ยนแปลงของไมโทคอนเดรีย และเมื่อทดสอบเป็นระยะเวลาที่นานพบว่า อัตราการตายของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากก็มากขึ้น (Shang *et al.*, 2009) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้สอดคล้องกับ Kim และคณะ (2005) ที่พบว่าสารโปรไซยานิดินสามารถทำให้เซลล์มะเร็งหลายชนิดตายได้ นอกจากนี้มีการรายงานผลของการใช้สารโปรไซยานิดินในการยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งหลายชนิด แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของสารโปรไซยานิดินในโกโก้ต่อการยับยั้งโรคมะเร็งในแบบจำลองสภาวะการทำงานของเซลล์

ตัวอย่าง	เซลล์	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
Cocoa procyanidin B2, B5 and B2+B5 (0.25 – 5 μM)	HL-60 Raji cells	↓ Topoiosmerase II poison assay	Lanoue *et al.*, 2010
Cocoa pentameric procyanidins (100 μg/mL)	Breast cancer cell; MDA-MB231, MDA-MB468, MBA-MB436	↓ Proliferation, p-Cdc2, p-FOXO, p-p53	Ramljak *et al.*, 2005
Cocoa crude procyanidin and procyanidin-enriched (5-100 μg/mL)	Caco-2 cell	↓the cell cycle at the G2/M phase	Carnesécchi *et al.*, 2002

บทสรุป

โกโก้เป็นเมล็ดพืชที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ขนมและเครื่องดื่ม จากการศึกษาองค์ประกอบของเมล็ดโกโก้พบว่า โกโก้ประกอบไปด้วยสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด นอกจากนี้โกโก้ยังเป็นแหล่งของสารประกอบโพลีฟีนอลที่สำคัญและมีฤทธิ์ทางเภสัชหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีสารโปรไซยานิดินที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูง ทำให้เกือบ 20 ปี ที่ผ่านมามีงานวิจัยจำนวนมากที่สนใจศึกษากลไกการทำงานของสารโปรไซยานิดินต่อกิจกรรมทางชีวภาพในด้านต่าง ๆ แล้วพบว่า สารโปรไซยานิดินที่สกัดได้จากโกโก้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งมะเร็ง การยับยั้งการเกิดโรคเบาหวาน ลดการอักเสบ ลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดและอื่น ๆ ถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีที่มีการศึกษาการใช้สารโปรไซยานิดินจากธรรมชาติในเชิงโภชนเภสัชมากขึ้น นอกจากนี้ยังสรุปได้ว่าการบริโภคโกโก้และผลิตภัณฑ์จากโกโก้นั้นส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค แต่ควรบริโภคในปริมาณที่เหมาะสมตามฉลากที่แสดงมากับผลิตภัณฑ์

เอกสารอ้างอิง

Bearden MM, Pearson DA, Rein D, Chevaux KA, Carpenter DR, Keen CL and Schmitz H. 2000. Potential cardiovascular health benefits of procyanidins present in chocolate and cocoa. ACS Symp. Ser. 19 : 177-186.

Bittner K, Rzeppa S and Humpf HU. 2013. Distribution and quantification of flavan-3-ols and procyanidins with low degree of polymerization in nuts, cereals and legumes. J. Agri. Food Chem. 61 : 9148-9154.

Bitzer ZT, Glisan SL, Dorenkott MR, Goodrich KM, Ye L, O'Keefe SF, Lambert JD and Neilson AP. 2015. Cocoa procyanidins with different degree of polymerization possess distinct activities in models of colonic inflammation. J. Nutr. Biochem. 8 : 827-831.

Borchers AT, Keen CL, Hannum SM and Gerschwin ME. 2000. Cocoa and chocolate: Composition, bioavailability and health implications. J. Med. Food. 3(2) : 77-105.

Bowser SM, Moore WT, McMillan RP, Dorenkotte MR, Goodrich KM, Ye L, O'Keffe SF, Hulver WT and Neilson AP. 2017. High-molecular-weight cocoa procyanidins possess enhanced insulin-enhancing and insulin mimetic activities in human primary skeletal muscle cells compared to smaller procyanidins. J. Nutr. Biochem. 39 : 48-58.

Carnésecchi S, Schneuder Y, Lazarus SA, Coehlo D, Gossé F and Raul F. 2002. Flavanols and procyanidins of cocoa and chocolate inhibit growth and polyamine biosynthesis of human colonic cancer cells. Cancer Lett. 175 : 147-155.

Chandra K, Ali SS, Mohd A, Rajpoot S and Khan NA. 2015. Protection against FCA induced oxidative stress induced DNA damage as a model of arthritis and *in vitro* arthritic potential of costus speciosus rhizome extract. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res. 7(2) : 383-389.

Counet C, Quwer C, Rosoux, D and Collin A. 2004. Relationship between procyanidins and flavor contents of cocoa liquors from different origins. J. Agri. Food Chem. 52(20) : 6243-6249.

Denault JB and Salvesen GS. 2002. Caspases: keys in the ignition of cell death. Chem Rev. 102 : 4489-4500.

Erlejman AG, Jaggers G, Fraga CC and Oteiza PI. 2008. TNF-α-induced NF-KB activation and cell oxidant production are modulated by hexameric procyanidins in Caco-2-cells. Arch. Biochem. Biophys. 476 : 186-195.

Gartel AL and Radhakrishnan SK. 2005. Lost in transcription : p21 repression, mechanisms and consequences. Cancer Res. 65 : 3980-3985.

Gewies A. 2003. Introduction to apoptosis. Aporeview. 1 : 1-26.

Gottesman MM. 2002. Mechanisms of cancer drug resistance. Annu Rev Med. 53 : 615-627.

Gu L, House SE, Wu X, Ou B and Prior RL. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. J. Agri. Food Chem. 54(11) : 4057-4061.

Gu Y, Hurst WJ, Stuart DA and Lambert JD. 2011. Inhibition of key digestive enzymes by cocoa extracts and procyanidins. J. Agri. Food Chem. 59 : 5305-5311.

Hayden MS and Ghosh S. 2004. Signaling to NF-kappaB. Genes Dev. 18 : 2195-2224.

Hen X, Shen T and Lou H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. Int J Mol Sci. 8 : 950-988.

Karim M, McCormick K and Kappagoda CT. 2000. Effects of cocoa extracts on endothelium-dependent relaxation. J. Nutr. 130 : 2105-2108.

Kim YJ, Park HJ, Yoon SH, Kim MJ, Leem KH, Chung JH and Kim HK. 2005. Anticancer effect of oligomeric proanthocyanidins on human colorected cancer cell line. World J. Gastroenterol. 11(30) : 4676-4678.

Klover PJ and Mooney RA. 2004. Hepatocytes: critical for glucose homeostasis. Int. J. biochem. Cell Biol. 36 : 753-758.

Kregel KC and Zhang HJ. 2007. An integrated view of oxidative stress in aging: Basic mechanisms, functional effects and pathological considerations. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 292(1) : 18-36.

Lanoue L, Green KK, Keik-Uribe C and Keen CL. 2010. Dietary factors and the risk for acute infant leukemia evaluating the effects of cocoa-derived flavanols on DNA topoisomerase activity. Exp. Biol. Med. 235(1) : 77-89.

Lee KW, Kim YJ, Lee HJ and Lee CY. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas, red wine. J. Agri. Food Chem. 51(52) : 7292-7295.

Libby P. 2007. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. Nutr. Rev. 65 : 140-146.

Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky, L and Darnell, J. 2004. Molecular biology of the cell. 5th ed. New York : WH Freeman.

Lotito SB, Actis-Goretta L, Renart ML, Caligiuri M, Rein D, Schmitz HH, Steinbery FM, Keen CL and Fraga CG. 2000. Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 276 : 945-951.

Mackenzie G, Adamo A, Decker N and Oteiza P. 2008. Dimeric procyanidin B2 inhibitos contitutively active NF-KB in Hodogkin's lymphoma cells independently of the presence of IkB mutations. Biochem. Pharmacol. 75 : 146101471.

Martin MA, Goya L and Romas S. 2016. Preventive effect of cocoa and cocoa antioxidant in colon cancer. Diseases. 4(1) : 1-14.

Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Pasdeloup N, Brissot P, Cillard P and Cillard J. 1993. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. Biochem. Pharmacol. 45(1) : 13-19.

Miller KB, Stuart DA, Smith NL, Lee CY, McHale NL, Flanagan JA, Ou B and Hurt WJ. 2006. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidins content of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United State. J Agric Food Chem. 54(11) : 4062-4068.

Murphy KJ, Chronopoulos AK, Singh I, Francis MA, Moriarty H, Pike MJ, Turner AH, Mann NJ and Sinclair AJ. 2003. Dietary flavanols and procyanidins oligomers from cocoa (*Thecobroma cacao*) inhibit platelet function. The American J Clinical Nutr. 77(6) : 1466-1473.

Murphy L. 2011. Janeway's immunobiology. 8th edn. Garaland Science. New York. USA.

Natsume M, Osakaba N, Yamagishi M, Takizawa T, Nakamura T, Miyatake H, Hatano T and Yoshida T. 2000. Analyses of polyphenols in cacao liquor, cocoa and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. Biosci. Biotechnol. Biochem. 64 : 2581-2587.

Osakabe N, Yasuda A, Natsuma M, Takizawan T, Terao J and Kondo K. 2002. Catechins and their oligomers linked by C4-C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low-density lipoprotein from oxidation *in vitro.* Exp. Bio. Med. 227 : 51-56.

Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Pearson DA, Schmitz HH, Gosselin R and Keen CL. 2000. Cocoa and wine polyphenols modulate platelet activation and function. J. Nutr. 130 : 2120-2126.

Ramljak D, Romanczyk LJ, Metheny-Bariow LJ, Thompson N, Knezevic V, Galperin M, Ramesh A and Dickson RB. 2005. Pentameric procyanidin from *Theobroma cacao* selectively inhibits growth of human breast cancer cells. Mol. Cancer Ther. 4(4) : 537-546.

Rusconi M, Pinorini MT and Conti, A. 2013. Proanthocyanidin of cocoa : Bioavailability and biological activities. Nat. Prod. 2311-2332.

Sana M, Yoshida R, Dagawa M, Miyase T and Yoshino K. 2003. Determination of peroxy radicals scavenging activity of flavonoids and plant extract using as automatic potentiometric titrator. J. Agri. Food Chem. 51(10) : 2912-2916.

Santos-Buelga C and Scalbert A. 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effect on nutrition and health. J. Sci. Food Agric. 80 : 1094-1117.

Schewen T, Sadik C, Klotz LO, Yoshimoto T, Kuhn H and Sies H. 2001. Polyphenols of cocoa : Inhibition of mammalian 15-lipoxygenase. Biol. Chem. 382 : 1687-1696.

Schewen T, Kuhu H and Sies H. 2002. Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase. J. Nutr. 132 : 1825-1829.

Shang XJ, Yao G, Ge JP, Sun Y, Teng WH and Huang YF. 2009. Procyanidin induces apoptosis and necrosis of prostate cancer cell line PC-3 in a mitochondrin-dependent manner. J. Androl. 30 : 122-126.

Steinberg FM, Bearden MM and Keen CL. 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. J. Am. Diet. Assoc. 103 : 215-223.

Tomaru M, Takano H, Osakaba N, Yasuda A, Inoue Km Yanahisawa R, Ohwatari, T and Uematsu H. 2007. Dietarysupplementation with cacao liquor proanthocyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice. Nutr. 23 : 351-355.

Tsao R, and McCallum J. 2010. Chemistry of flavonoids, In: de la Rose LA, Alvarez-Parrilla E and Gonzalez-Aguilar GA. Eds. Fruit and vegetable phytochemicals. Wiley-Blackwell; Amers, 131-153.

Victor VM, Rocha M, Sola E, Banuls C, Garcia-Malpartida K and Hernandez-Mijares A. 2009. Oxidative stress endothelial dysfunction and atherosclerosis. Curr. Pharm. Des. 15 : 2988-3002.

Wollgast J and Anklam E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao* changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food. Res. Int. 33 : 423-447.

Xiao JB. 2020. Dietary polyphenols as antidiabetic agents: Advances and opportunities. Food Frontiers. 1 : 18-44.

Yang H, Tuo X, Wang L, Tundis R, Portillo MP, Simal-Gandara J, Yu Y, Zou L, Xiao J and Deng J. 2021. Bioactive procynaidins from dietary sources: The relationship between bioactivity and polymerization degree. Trends Food Sci Technol. 111 : 114-127.

Zhu QY, Holt RR, Lazarus SA, Orozco TJ and Keen CL. 2002. Inhibitory effects of cocoa flavonols and procyanidins oligomers on free radical-induced erythrocyte hemolysis. Exp. Bio. Med. 227 : 321-329.