

**Thesis Title** The Effect of Thai Herb Extracts Mediated COX-2 and IL-8 mRNA Levels in Gastric Cancer Cell Line

**Author** Miss Sirichat Kaowinn

**Degree** Master of Science (Biochemistry)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Luksana Makonkawkeyoon Chairperson

Asst. Prof. Dr. Wirote Tuntiwechapikul Member

## ABSTRACT

Gram-negative bacterial *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is a major risk factor for development of gastric cancer. Importantly, lipopolysaccharide (LPS) which is a component of the bacterial outer membrane can activate NF- $\kappa$ B pathway leading to synthesize and release of pro-inflammatory enzyme cyclooxygenase-2 (COX-2) and various chemokines such as IL-8. In the previous results from many researchers show the anti-inflammatory properties from several crude extracts including rhizomes of *Curcuma longa* Linn., *Languas galanga* (Linn.) Stuntz., *Zingiber cassumunar* Roxb., *Zingiber officinalis* Roscoe and leaves of *Ocimum sanctum* Linn. Therefore, in this study we focused on the effect of these Thai herb extracts mediated COX-2 and IL-8 mRNA levels in gastric cancer cell line (AGS) which be co-treated with LPS. Firstly, the effect of these Thai herb extracts on cell

viability was examined by MTT assay. Then, we employed the Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) as a suitable technique for the identification of plant extracts inhibiting the expression of COX-2 and IL-8 at the mRNA levels. We found that dichloromethane extraction from *Languas galanga* (Linn.) Stuntz. was the most effective the expression of COX-2 and IL-8 mRNA levels in a dose-dependent manner. When determined an active ingredient of this crude extract by Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), 1'S-1'- Acetoxychavicol acetate (ACA) was found to be the main constituent and significantly inhibited COX-2 and IL-8 mRNA levels in a dose-dependent manner. Moreover, ACA at 5  $\mu$ M inhibited the expression of COX-2 and IL-8 mRNA levels similar to those in the cells culture in the presence of a selective NF- $\kappa$ B inhibitor PDTC (100  $\mu$ M). Interestingly to use crude extract from *Languas galanga* (Linn.) Stuntz. to prevention and treatment of gastric cancer.

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อระดับ mRNA ของ COX-2 และ IL-8 ในเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร

**ผู้เขียน** นางสาว สิริฉัตร ขาวอิน

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รศ. ดร. ลักษณ์า มกรแก้วเกตุร

ประธานกรรมการ

ผศ.ดร. วิโรจน์ ตันติเวชอภิกุล

กรรมการ

### บทคัดย่อ

การติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) เป็นปัจจัยหลักของการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารไลโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียชั้นนอกสามารถกระตุ้นกระบวนการอักเสบในส่วนของ NF- $\kappa$ B pathway นำไปสู่การสร้างและหลั่งของเอนไซม์ Cyclooxygenase-2 (COX-2) และ IL-8 จากงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในการต้านกระบวนการอักเสบของสารสกัดสมุนไพรไทยได้แก่ เหง้าของขมิ้นชัน ข่า ไพล จิง และใบกระเพรา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งความสนใจที่ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยดังกล่าวต่อระดับเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ของเอนไซม์ COX-2 และ IL-8 ในเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS) ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ในส่วนแรกทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่างๆต่อความสามารถในการอยู่รอดของเซลล์ AGS โดยค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ทำการวิเคราะห์โดยวิธี MTT จากนั้นทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อระดับเอ็มอาร์เอ็นเอของเอนไซม์ COX-2 และ IL-8 โดยวิธี Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) พบว่าสารสกัดข่าในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) มีฤทธิ์สูงสุดในการลดการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 และ IL-8 ในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอโดยแปรผันตามความเข้มข้นที่ใช้ เมื่อนำสารสกัดในส่วนนี้มาทำการวิเคราะห์หาสาระสำคัญที่ออกฤทธิ์โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และ High Performance Liquid Chromatography

(HPLC) พบว่า 1'S-1'- Acetoxychavicol acetate (ACA) คือสารสำคัญที่มีผลในการลดการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 และ IL-8 ในระดับเอ็มอาร์เอ็นเอโดยแปรผันตามความเข้มข้นที่ใช้ ซึ่งความเข้มข้นของ ACA ที่ความเข้มข้น 5  $\mu\text{M}$  ออกฤทธิ์ได้เทียบเท่ากับ PDTC ซึ่งเป็น NF- $\kappa\text{B}$  inhibitor ที่ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  ดังนั้นในการนำสารสกัดจากข่าจึงอาจนำมาใช้ในการป้องกันหรือรักษาโรคมะเร็งกระเพาะอาหารร่วมกับยาเคมีบำบัดต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved