

Thesis Title Effect of Dried Longan Extract on Induction of Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Human Colon Cancer Cells

Author Miss Natvipa Phromnate

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisor Prof. Dr. Usanee Vinitketkumnuen

ABSTRACT

Euphoria longana Lam. or longan is a valuable subtropical plant, which is wildly grown in Southeast Asia including Thailand. It is a major Thai fruit export.

The crude acetone extracts of dries longan pulp and seed were fractionated by solvent partition using ethyl acetate. The crude acetone extract and the ethyl acetate-soluble fraction of pulp (EFLP) and seed (EFLS) were determined total phenolic and flavonoid contents, DPPH scavenging activity and antiproliferative property on colon cancer cells. The results of antioxidant assessments were similar to the trend of total phenolic and flavonoid contents: EFLS > crude acetone extract of seed > EFLP > crude acetone extract of pulp. Treatment with EFLS significantly reduced the proliferation rate of colon cancer cell lines HCT-15 and RKO, while the other extracts had less

cytotoxic to both kinds of cells. To study whether the effect of EFLS on colon cancer cell lines involved the induction of apoptosis, the effect of EFLS on HCT-15 and RKO was investigated on DNA fragmentation, caspase-3 activity and the expression of apoptotic-related proteins. The results showed that EFLS induced fragmented DNA and activated caspase-3 activity in both HCT-15 and RKO cells. EFLS was able to decrease expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 in HCT-15 cells and increase expression of pro-apoptotic protein Bax in both HCT-15 and RKO cells. Moreover, EFLS blocked the PI3K/Akt signal pathway by decreased expression of p-Akt protein.

The effect of EFLS on cell cycle phase distribution was studied on HCT-15 and RKO cells. The mechanism of cancer cell growth inhibition was shown to occur via cell cycle arrest. EFLS induced S phase arrest in both HCT-15 and RKO cells which accompanied with apoptosis induction. In addition, Sub G₁ hypodiploid cells (apoptotic cells) increased in both kind of cells in a dose-dependent manner.

In conclusion, longan seed extract has anticancer property. EFLS can induce cell cycle arrest and lead to the induction of apoptosis in HCT-15 and RKO colon cancer cells. These result suggested that longan seed extract may be applied in prevention or treatment of colon cancer. Thus, its active compound and more detailed mechanism of action should be further studied.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลของสารสกัดลำไยอบแห้งต่อการเหนี่ยวนำอะพอพโทซิสและ

การหยุดวัฏจักรของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของมนุษย์

ผู้เขียน

นางสาวณัฐวิภา พรหมเนตร

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ. ดร. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวน

บทคัดย่อ

ลำไยเป็นพืชกิ่งเขตร้อนที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งซึ่งนิยมปลูกโดยทั่วไปในแถบเอเชีย

ตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทยและเป็นสินค้าหลักในการส่งออกของประเทศไทยด้วย ใน

การศึกษาครั้งนี้ สารสกัดอะซิโตนจากเนื้อและเมล็ดลำไยอบแห้งถูกนำมาเขย่าด้วยตัวทำละลาย

เอทิลอะซิเตต สารสกัดเนื้อและเมล็ดที่สกัดด้วยอะซิโตนและสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิ

เตตของเนื้อและเมล็ดถูกนำมาตรวจหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ของสารสกัดต่าง ๆ มีแนวโน้มเดียวกันกับปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัด คือ

สารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ด > สารสกัดเมล็ดด้วยอะซิโตน > สารสกัดส่วนที่

ละลายในเอทิลอะซิเตตของเนื้อ > สารสกัดเนื้อด้วยอะซิโตน การบ่มเซลล์ไลน์ด้วยสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดสามารถลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ได้แก่ HCT-15 และ RKO ได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สารสกัดอื่น ๆ มีความเป็นพิษน้อยต่อเซลล์ทั้งสองชนิด เพื่อศึกษาว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดนี้มีความเกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำอะพอพโทซิสหรือไม่ จึงทำการตรวจสอบ การแตกหักของดีเอ็นเอ การทำงานของเอนไซม์แคสเปส-3 และการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอะพอพโทซิส พบว่าสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดเหนี่ยวนำการแตกหักเป็นท่อนของดีเอ็นเอในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งสองชนิดและสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์แคสเปส-3 สารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดสามารถลดการแสดงออกของแอนติอะพอพโตติกโปรตีน Bcl-2 ในเซลล์ HCT-15 และสามารถเพิ่มการแสดงออกของโปรอะพอพโตติกโปรตีน Bax ทั้งในเซลล์ HCT-15 และ RKO นอกจากนี้สารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดสามารถขัดขวางการส่งสัญญาณในวิถี PI3K/Akt โดยลดการแสดงออกของโปรตีน p-Akt

เมื่อศึกษาผลของสารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดต่อการกระจายตัวของเซลล์ในวัฏจักรเซลล์ในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HCT-15 และ RKO พบว่ากลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งโดยสารสกัดนี้เกี่ยวข้องกับการหยุดวัฏจักรของเซลล์มะเร็งไว้ที่ระยะ S ทั้งในเซลล์ HCT-15 และ RKO นอกจากนี้ยังสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นของเซลล์ Sub-G₁ (hypodiploid) อย่างมีนัยสำคัญในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ทั้งสองชนิด

โดยสรุป สารสกัดส่วนที่ละลายในเอทิลอะซิเตตของเมล็ดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านมะเร็ง โดยสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหยุดวัฏจักรของเซลล์และนำไปสู่การตายแบบอะพอพ

โทซินในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิด HCT-15 และ RKO ผลการศึกษารังนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไยนี้อาจจะนำมาใช้ในการป้องกันหรือรักษามะเร็ง ดังนั้นสารสำคัญในสารสกัดและรายละเอียดเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์จึงเป็นงานที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved