

Thesis Title                    Effect of Curcumin on Skin Tumorigenesis in Mice  
Author                            Miss Onanong Namwong  
M.Sc.                              Pharmacology  
Examining committee :  
                                 Associate Prof. Dr. Amphawan Apisariyakul    Chairman  
                                 Assistant Prof. Dr. Porn-ngarm Limtrakul      Member  
                                 Associate Prof. Dr. Chaichan Sangdee          Member

#### ABSTRACT

Laboratory animal model studies have suggested that curcumin may play an important role in inhibiting the process of carcinogenesis. Curcumin, the yellow pigment that is obtained from rhizomes of the plant *Curcuma longa* Linn (Family Zingiberaceae), is commonly used as a spice and food coloring agent. The present study was designed to investigate the chemopreventive action of the dietary curcumin on 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-initiated and 12, 0-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-promoted skin tumor formation in male Swiss albino mice. At 6 weeks of age, groups of animals were fed the control (modified AIN-76A) diet or a diet containing 0.25%, 0.5%, 1% or 2% curcumin and 2% turmeric. At 8 weeks of age, all animals, except those in the vehicle (acetone)-treated groups, received 100 µg of DMBA dissolved in 100 µl of acetone in a single application to the skin of the back. From 1 week after DMBA application, tumor promotor, 2.5 µg of TPA dissolved in 100 µl of acetone, was applied to the same areas on

mouse skin twice a week for 26 weeks. All groups were continued on their respective dietary regimen until the termination of the experiment. The results indicate that dietary administration of curcumin significantly inhibited the numbers of tumors per mouse ( $p < 0.05$ ) and the tumor volume ( $p < 0.01$ ). The percentage of tumor-bearing mice tended to be lower in the mice on the curcumin diet and turmeric diet than those in the control diet. There was no difference in growth between mice of the control and 0.25%, 0.5%, 1% or 2% curcumin and 2% turmeric groups. Our studies have demonstrated that dietary curcumin at concentration levels from 0.25% to 2% and 2% turmeric caused a decrease in tumor incidence as well as a distinct decrease in tumor volume. At the lowest concentration of curcumin (0.25%) used in this experiment was compared to higher curcumin concentration at 1% and 2% on the tumor development. Curcumin concentration 0.25% in diet inhibited the number of tumors per mouse better than 1% ( $p < 0.25$ ) and 2% curcumin ( $p < 0.001$ ). 0.25% curcumin diet significantly inhibited the tumor volume ( $p < 0.001$ ) and percentage of tumor-bearing mice ( $p < 0.05$ ) more effectively than 2% curcumin diet whereas it was not significantly different between 0.25% curcumin diet and 1% curcumin diet ( $p > 0.05$ ). It might be possible due to the impurities or other substances present in the curcumin preparation, and might act as an anti-tumor promoter inhibitor at the significant concentration. Also, turmeric was found to be a comparable inhibitor at a concentration of 2% in diet which corresponded to about 0.1% curcumin. The results indicate the anti-carcinogenic effect of curcumin in mice. Protein kinase C is a lipid-regulated and calcium-dependent protein kinase, plays an important role in trans-membrane signal transduction. It was

also found to induce many cellular responses including cell proliferation, differentiation, gene expression and tumor promotion. Dietary curcumin inhibited TPA-induced PKC activity in cytosolic fraction of mouse epidermis dose responsively. Curcumin inhibited TPA-induced PKC activity in cytosolic and membrane fractions of mouse epidermis *in vitro*. The maximal inhibition was obtained at 120  $\mu$ M concentration of the curcumin.

(กลุ่มควบคุม)หรือด้วยอาหารที่มีเคอร์คิวมิน 0.25, 0.5, 1, 2 เพอร์เซ็นต์และอาหารที่มี 2 เพอร์เซ็นต์เทอเมอร์ริก (turmeric) (กลุ่มทดลอง) เมื่ออายุครบ 8 สัปดาห์หนูถีบจักรกลุ่มควบคุม จะได้รับการทาด้วยตัวทำละลาย (acetone) ส่วนหนูถีบจักรกลุ่มทดลองจะได้รับการทาด้วย DMBA 100 ไมโครกรัมละลายใน acetone 100 ไมโครลิตรที่ผิวหนังส่วนหลังครั้งเดียว หลังจากทาด้วย DMBA 1 สัปดาห์จะทาสารส่งเสริมการเกิดมะเร็ง TPA 2.5 ไมโครกรัมละลายใน acetone 100 ไมโครลิตรที่ผิวหนังบริเวณเดียวกันสัปดาห์ละ 2 ครั้งเป็นเวลา 26 สัปดาห์ หนูทุกกลุ่มจะได้รับการเลี้ยงด้วยอาหารที่กำหนดต่อไปจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง ผลการทดลองชี้ว่าเคอร์คิวมินที่ได้รับจากอาหารสามารถยับยั้งจำนวนก้อนเนื้องอก ( $p < 0.05$ ) และลดปริมาตรของก้อนเนื้องอก ( $p < 0.01$ ) ในหนูแต่ละตัวอย่างมีนัยสำคัญ เพอร์เซ็นต์ของหนูที่ได้รับอาหารที่มีเคอร์คิวมินและอาหารเทอเมอร์ริกมีแนวโน้มการเกิดเนื้องอกน้อยกว่าหนูที่ได้รับอาหารมาตรฐาน ไม่มีความแตกต่างด้านการเจริญเติบโตของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารมาตรฐานและกลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมิน 0.25, 0.5, 1, 2 เพอร์เซ็นต์และเทอเมอร์ริก 2 เพอร์เซ็นต์ การศึกษาของเราแสดงว่าเคอร์คิวมินในอาหารที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.25 ถึง 2 เพอร์เซ็นต์และอาหารที่มีเทอเมอร์ริก 2 เพอร์เซ็นต์ทำให้อุบัติการณ์การเกิดเนื้องอกและปริมาตรของเนื้องอกลดลง เคอร์คิวมินความเข้มข้นต่ำที่ใช้ในการทดลองนี้ (0.25 เพอร์เซ็นต์) ได้นำมาเปรียบเทียบกับเคอร์คิวมินความเข้มข้นสูง 1 เพอร์เซ็นต์และ 2 เพอร์เซ็นต์เกี่ยวกับการเกิดเนื้องอก เคอร์คิวมินความเข้มข้น 0.25 เพอร์เซ็นต์ในอาหารยับยั้งจำนวนก้อนเนื้องอกในหนูแต่ละตัวได้ดีกว่า 1 เพอร์เซ็นต์ ( $p < 0.05$ ) และ 2 เพอร์เซ็นต์อาหารเคอร์คิวมิน ( $p < 0.001$ ) เคอร์คิวมินในอาหาร

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ของเคอร์คิวมินต่อการเกิดมะเร็งบนผิวหนังในหนูถีบจักร	
ชื่อผู้เขียน	นางสาว อรอนงค์ นามวงศ์	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาเภสัชวิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อัมพวัน อภิสริยะกุล	ประธานกรรมการ
	ผศ.ดร. พรงาม ลิ้มตระกูล	กรรมการ
	รศ.ดร. ชัยชาญ แสงดี	กรรมการ

### บทคัดย่อ

การศึกษาในสัตว์ทดลองชี้ว่าเคอร์คิวมินอาจมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็งได้ เคอร์คิวมินเป็นสารสีเหลืองซึ่งได้จากรากของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn. วงศ์ Zingiberaceae) ซึ่งใช้เป็นเครื่องเทศและแต่งสีของอาหารอย่างแพร่หลาย การศึกษาในครั้งนี้มุ่งไปในการทดสอบฤทธิ์ของเคอร์คิวมินในอาหารในการป้องกันการเกิดมะเร็งโดย 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) และการส่งเสริมการเกิดมะเร็งผิวหนังโดย 12, 0-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ในหนูถีบจักร Swiss albino เพศผู้ เมื่อหนูถีบจักรทุกกลุ่มมีอายุ 6 สัปดาห์จะได้รับการเลี้ยงด้วยอาหารมาตรฐาน AIN-76A ที่ปรับปรุงแล้ว

0.25 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งปริมาณก่อนเนื้องอก ( $p < 0.001$ ) และเปอร์เซ็นต์ของหนูที่เกิดก้อนเนื้องอก ( $p < 0.05$ ) ได้ดีกว่า อาหารเคอร์คิวมิน 2 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างอาหารเคอร์คิวมิน 0.25 เปอร์เซ็นต์และอาหารเคอร์คิวมิน 1 เปอร์เซ็นต์ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารเจือปนที่ผสมอยู่ในสารสกัดเคอร์คิวมินซึ่งมีฤทธิ์คล้ายเป็นตัวยับยั้งสารต่อต้านอนุมูลอิสระ โปรโมเตอร์ที่ความเข้มข้นใดความเข้มข้นหนึ่ง พบว่าเทอเมरिकเป็นสารที่ยับยั้งการเกิดเนื้องอกได้เช่นกัน ในความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ของอาหารหรือเทียบเท่ากับประมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์เคอร์คิวมิน ผลการศึกษาชี้ถึงฤทธิ์ของเคอร์คิวมินในการต้านการเกิดเนื้องอกในหนูถีบจักร เอ็นไซม์โปรตีนไคเนสซีเป็นเอ็นไซม์ที่สำคัญในการส่งสัญญาณผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยฟอสโฟลิปิดและแคลเซียม (phospholipid- and calcium-dependent enzyme) ซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์, การเพิ่มจำนวนเซลล์, การแสดงออกของยีน และเป็นตัวส่งเสริมให้เกิดมะเร็ง เคอร์คิวมินในอาหารสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โปรตีนไคเนสซีในส่วนไซโตพลาสซึมได้ตามความเข้มข้น การทดลองในหลอดทดลองพบว่าเคอร์คิวมินสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โปรตีนไคเนสซีทั้งในส่วนของไซโตพลาสซึมและส่วนที่อยู่บนผนังเซลล์ในความเข้มข้นสูงสุด 120 ไมโครโมลาร์