

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



E41054



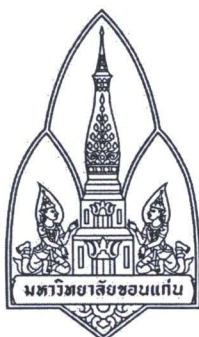
EFFECTS OF COMPOUNDS FROM *CLINACANTHUS NUTANS*  
AND *ANDROGRAPHIS PANICULATA* ON DENGUE VIRUS 2  
INFECTION AND PROSTAGLANDIN E2 PRODUCTION

MISS SUJITTRAPORN SITTISO

A THESIS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
KHON KAEN UNIVERSITY  
2011



E41054



**EFFECTS OF COMPOUNDS FROM *CLINACANTHUS NUTANS*  
AND *ANDROGRAPHIS PANICULATA* ON DENGUE VIRUS 2  
INFECTION AND PROSTAGLANDIN E2 PRODUCTION**



**MISS SUJITTRAPORN SITTISO**

**A THESIS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
KHON KAEN UNIVERSITY**

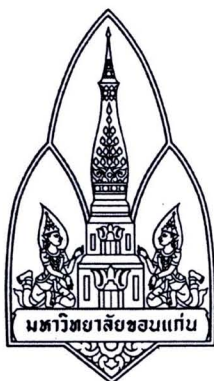
**2011**



**EFFECTS OF COMPOUNDS FROM *CLINACANTHUS NUTANS*  
AND *ANDROGRAPHIS PANICULATA* ON DENGUE VIRUS 2  
INFECTION AND PROSTAGLANDIN E2 PRODUCTION**

**MISS SUJITTRAPORN SITTISO**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF MASTER OF ARTS  
IN PHILOSOPHY  
GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY  
2011**



**THESIS APPROVAL**  
**KHON KAEN UNIVERSITY**  
**FOR**  
**MASTER OF SCIENCE**  
**IN MEDICAL MICROBIOLOGY**

**Thesis Title:** Effects of compounds from *Clinacanthus nutans* and *Andrographis paniculata*  
on Dengue virus 2 infection and prostaglandin E2 production

**Author:** Miss Sujittraporn Sittiso

**Thesis Examination Committee:**

Assoc. Prof. Dr. Santi Sakdarat	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Chantana Aromdee	Member
Assoc. Prof. Tipaya Ekalaksananan	Member
Assoc. Prof. Dr. Chamsai Pientong	Member

**Thesis Advisors:**

Tipaya Ekalaksananan..... Advisor  
(Assoc. Prof. Tipaya Ekalaksananan)

Nicha Charoensri..... Co-Advisor  
(Dr. Nicha Charoensri)

L Manmart  
(Assoc. Prof. Dr. Lampang Manmart)  
Dean, Graduate School

Pisake Lumbiganon  
(Prof. Dr. Pisake Lumbiganon)  
Dean, Faculty of Medicine

Copyright of Khon Kaen University

สุจิตรภรณ์ สิริโส. 2554.ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรพญาขอและฟ้าทะลายโจรต่อ การติดเชื้อ  
dengue virus 2 และ การสร้าง prostaglandin E2. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น .  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ. ทิพย์ เอกลักษณ์นันท์, ดร. นิชา เจริญศรี

บทคัดย่อ

E 41054

ไวรัสเดงกีซึ่งมีอยู่ 4 ซีโรไทป์ (DV1, 2, 3 และ 4) เป็นสาเหตุโรคไข้เลือดออกเดงกี ซึ่งเป็น  
โรคที่มีอยู่เป็นพาหะ และเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในหลายประเทศทั่วโลก ในปัจจุบันยังไม่มี  
ยาด้านไวรัสหรือวัคซีนสำหรับการรักษาหรือการป้องกันโรคที่ได้รับการรับรอง

ตั้งแต่สมัยโบราณมีการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรค รวมทั้งพืชสมุนไพรไทยก็ถูก  
ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัสบางชนิด มีรายงานว่าพญาขอซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ *Acanthaceae* มี  
สรรพคุณเป็นยาที่ใช้ในการรักษาผื่นที่ผิวหนัง ถอนพิษแมลงกัดต่อยและงู โรคติดเชื้อไวรัส เช่น  
เริ่มและงูสวัด ส่วนสมุนไพรฟ้าทะลายโจร จัดอยู่ในวงศ์ *Acanthaceae* มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่  
หลากหลาย ใช้ในการลดไข้ ลดการอักเสบ ด้านไวรัส ด้านมะเร็ง ด้านไวรัสเ็ปส์ไคน์บาร์ และมี  
ฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน

วัตถุประสงค์ในการศึกษารั้ครั้งนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่เตรียมมาจากพืชสมุนไพร  
ไทยประกอบด้วย สารประกอบ 7 ชนิดที่สกัดได้จากส่วนใบและลำต้นของพญาขอ และ  
สารประกอบ 3 ชนิดที่ได้จากฟ้าทะลายโจรต่อการต้านเชื้อไวรัสเดงกี และศึกษาสารประกอบ  
เหล่านี้ต่อการสร้าง  $PGE_2$  ในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี โดยทำการศึกษาระดับของ  $PGE_2$  และ การ  
แสดงออกของ COX-2 ในเซลล์เพาะเลี้ยง

สารสกัดจากพญาขอและฟ้าทะลายโจรถูกนำมาศึกษาหาความเข้มข้นในระดับที่ไม่เป็นพิษ  
ต่อเซลล์ เพื่อใช้ในการศึกษาการต้านการติดเชื้อไวรัสเดงกีในเซลล์เพาะเลี้ยง A549 ใช้วิธี RT-PCR  
ตรวจสอบการเพิ่มจำนวนไวรัส และตรวจยืนยันด้วยวิธี immunofluorescence การศึกษาผลต่อการสร้าง  
 $PGE_2$  ใช้เซลล์ A549 ที่ติดเชื้อไวรัสเดงกี และไม่ติดเชื้อ ซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีและไม่มีสาร  
สกัดเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วตรวจวัดระดับ  $PGE_2$  ในเซลล์และอาหารเลี้ยงเซลล์โดยวิธี ELISA  
และสกัด mRNA จากเซลล์เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีน COX-2 โดยวิธี quantitative real-time  
RT-PCR

จากการตรวจคัดกรองฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสเดงกีของพญาขอ (สารประกอบ 7 ชนิด) และ ฟ้า  
ทะลายโจร (สารประกอบ 3 ชนิด) ในเซลล์เพาะเลี้ยง A549 โดยใช้ dextran sulfate และ ribavirin  
เป็นกลุ่มควบคุม พบว่า สารประกอบ 2 ชนิดจากพญาขอ ( $C_{55}H_{74}N_4O_5$  (136B) และ  $C_{55}H_{70}N_4O_7Mg$

**E41054**

(11(3))) และ 1 ชนิดจากฟ้าทะลายโจร (14-deoxy-11,12-didehydroandro- grapholide (SS2)) (เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับไม่เป็นพิษต่อเซลล์ 15, 14, 12  $\mu$ M ตามลำดับ) สามารถยับยั้งไวรัสแดงก็ได้ เมื่อใช้ไวรัสปริมาณ 0.01 MOI ผลจากการศึกษาเพิ่มเติมแสดงให้เห็นว่า สาร SS2 และ 11(3) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อไวรัสแดงก็ในระยะก่อนไวรัสเข้าสู่เซลล์ ในขณะที่ 136B มีฤทธิ์ยับยั้งไวรัสหลังการเข้าสู่เซลล์

ผลการศึกษาในเซลล์ A549 พบว่าการสร้าง  $\text{PGE}_2$  มีระดับที่สูงขึ้น เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสแดงก็ เช่นเดียวกับเมื่อมีการเติมสาร 136B, 11(3) และ SS2 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ โดยปริมาณการสร้าง  $\text{PGE}_2$  ในเซลล์ที่มีการเติมสารสกัดสูงกว่าในเซลล์ติดเชื้อไวรัสและเซลล์ควบคุม นอกจากนี้ ในเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสและมีการเติมสารสกัด (11(3) และ SS2 ลงในอาหาร มีระดับ  $\text{PGE}_2$  สูงกว่า เซลล์ติดเชื้อที่ไม่มีการเติมสาร ในทางตรงกันข้าม ในเซลล์ติดเชื้อและมีการเติมสาร 136B มีระดับ  $\text{PGE}_2$  ต่ำกว่าในเซลล์ติดเชื้อที่ไม่มีการเติมสาร ผลที่ได้นี้ตรวจยืนยันโดยตรวจหาการแสดงออกของยีน COX-2 พบว่าให้ผลสัมพันธ์กันกับการศึกษาระดับการสร้าง  $\text{PGE}_2$

ผลการศึกษาสรุปได้ว่า chlorophyll relative compound (11(3)) จากพญาขอ และ 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (SS2) จากฟ้าทะลายโจรในระดับความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้าง  $\text{PGE}_2$  ในเซลล์ A549 ที่ติดเชื้อไวรัสแดงก็และมีฤทธิ์ต้านไวรัสแดงก็ในระยะก่อนเข้าเซลล์ ในขณะที่ chlorophyll relative compound (136B) จากพญาขอมีคุณสมบัติกดการสร้าง  $\text{PGE}_2$  ในเซลล์ A549 ที่ติดเชื้อไวรัสแดงก็และมีฤทธิ์ต้านไวรัสแดงก็ในระยะหลังเข้าเซลล์



Sujittraporn Sittiso. 2011. **Effects of compounds from *Clinacanthus nutans* and *Andrographis paniculata* on dengue virus 2 infection and prostaglandin E2 production.** Master of Science Thesis in Medical Microbiology, Graduate School, Khon Kaen University.

**Thesis Advisors:** Assoc. Prof. Tipaya Ekalaksananan, Dr. Nicha Charoensri

## ABSTRACT

**E41054**

Dengue viruses classified into 4 serotypes (DV1, 2, 3 and 4) are etiological agents of dengue hemorrhagic fever that are arthropod-borne diseases and cause a serious global health problem. There are no specific approved drugs or vaccines for the treatment or prevention of DV infections.

Medicinal plants have been used since ancient time for the treatment of some diseases as well as several Thai medicinal plants are used for protection and treatment of viral diseases. *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau, a Thai medicinal plant belonging to the family *Acanthaceae* has been used to treat skin rashes, insect and snake bite, and diseases caused by some viruses such as herpes simplex virus and varicella-zoster virus. *Andrographis paniculata* Nees, *Acanthaceae*, another Thai medicinal plant, possesses a variety of pharmacological properties, including anti-pyretic, anti-inflammatory, anti-viral, anti-cancer, anti- Epstein-Barr virus and immunostimulant activities.

Thus, this study aimed to investigate not only anti-DV2 activity of compounds prepared from these 2 Thai medicinal plants including 7 compounds extracted from the aerial parts of *C. nutans* and 3 compounds from *A. paniculata* but also the inhibitory effects of these compounds on PGE<sub>2</sub> production in DV2 infected cells by detection of PGE<sub>2</sub> level and COX-2 expression in cell culture.

The CC<sub>50</sub> and subcytotoxic concentration of isolated compounds from *C. nutans* and *A. paniculata* were determined for using in evaluation of anti-DV2 activity in A549 cell line. The viral replication was detected by RT-PCR and immunofluorescence technique. Furthermore A549 cells and DV2-infected A549 cells were cultured in media with and without the studied compounds for 48 hours.

**E41054**

The PGE<sub>2</sub> in the culture was examined by ELISA and COX-2 gene expression was determined in extracted mRNA from the cells by quantitative real-time RT-PCR.

The anti-DV activity of *C. nutans* (7 compounds) and *A. paniculata* (3 compounds) was screened in A549 cell line and compared with dextran sulfate and ribavirin which were used as positive control. It was observed that two compounds from *C. nutans* (C<sub>55</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (136B) and C<sub>55</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>Mg (11(3))) and one from *A. paniculata* (14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (SS2)) suppressed DV2 replication when the cells were infected with 0.01 MOI of DV2 and subcytotoxic concentrations of compounds (15, 14 and 12 µM, respectively) were used. These compounds were further proven their anti-DV activities and demonstrated that SS2 and 11(3) had effects in the pre-entry step of DV replication whereas 136B inhibited DV RNA replication when this compound was added after infection.

The results showed that PGE<sub>2</sub> production was enhanced by DV2 as well as 136B, 11(3) and SS2 compounds. The amount of PGE<sub>2</sub> produced in compound treated cells was higher than those in DV2-infected cells and control cells. PGE<sub>2</sub> levels in DV2-infected cells treated with compounds (11(3) and SS2) were higher than those in non-treated DV2-infected cells whereas PGE<sub>2</sub> level in DV2-infected cells treated with compound 136B was lower than those in non-treated DV2-infected cells. In the same experiments, the COX-2 expression correlated with the PGE<sub>2</sub> production.

It can be concluded that chlorophyll relative compound (11(3)) from *C. nutans* and 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide (SS2) from *A. paniculata* exhibited immunostimulating property in A549 cells at subcytotoxic level and decreased viral load by inhibiting DV adsorption in pre-entry step of replication, whereas chlorophyll relative compound (136B) from *C. nutans* suppressed PGE<sub>2</sub> production as well as DV replication in the tested cells. This finding may be the starting point for further study in more detail of virus-compound interaction to understand the inhibitory effect of these compounds on DV infection.



**Goodness portion to the present thesis is dedicated  
for my parents, relatives and the entire teaching staffs.**

## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest and sincere gratitude to my advisor, Assoc. Prof. Tipaya Ekalaksananan and co-advisor Dr. Nicha Charoensri for her valuable advice, guidance, intense interest, and kindness in providing an opportunity to be her advisee, throughout the course in the study and also to my advisory committee, Assoc. Prof. Dr. Chamsai Pientong, Assoc. Prof. Dr. Santi Sakdarat and Assoc. Prof. Dr. Chantana Aromdee for their helpfulness, valuable advice, useful comments and suggestions, I deeply appreciate the time they spared me during the preparation of this thesis.

Appreciation is also expressed to all teaching staff and member of the Department of Microbiology, Pharmacology Faculty of Medicine, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Department of Clinical Microbiology, Faculty of Associated Medical Science Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand and School of Chemistry, Institute of Science, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand for their helpfulness, kindness, wonderful environment and provision of the extract for use in the study. I deeply appreciate the time they spared me during the preparation of this thesis.

Gratefulness is also expressed to my friends in the Department of Microbiology for their friendship during the time of this study, practical help in any ways providing kindness, and also expressed to whom that may be concerned to my study, at did not mentions here.

I would like to gratefully acknowledge the research grant from the Faculty of Medicine and Graduate School, Khon Kaen University for the supported financial.

Finally, I would like to express my deepest appreciation and sincere gratitude to my family for their love, devotion, understanding, and encouragement through my entire study.

Sujittraporn Sittiso

## TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACT (IN THAI)	i
ABSTRACT (IN ENGLISH)	iii
DEDICATION	v
ACKNOWLEDGEMENTS	vi
LIST OF TABLES	xii
LIST OF FIGURES	xiii
LIST OF ABBREVIATIONS	xvi
CHAPTER I INTRODRUCTION	
1. Rationale and background	1
2. The objectives of thesis	4
3. Scope and limitation of research	4
4. Research site	4
5. Anticipate outcome	4
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	
1. Nature of virus	5
Structure and genome	7
Proteins and Properties	11
2. Target Cell	15
3. Replication of DV	16
Attachment molecules	18
Entry	19
Expression of the viral genome	22
Viral protein processing	22
Replication of the viral RNA	24
Formation of the virus	25
4. Prevalence of dengue infection	26
Racial predisposition	27
Sex differences	28
Rural spread	28



## TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
Seasonality and climate variability	29
5. Pathogenesis of DHF	30
Naturally acquired immunity	31
Role of non-neutralizing antibodies in the pathogenesis of DHF	31
Role of cytokines in the pathogenesis of DHF	33
Cell-mediated immunity	33
Cytokine	35
Complement activation in patients with DHF	37
Virulence of viruses as a cause of DHF	37
6. Clinical manifestations of DV Infection	38
Undifferentiated fever	39
Dengue fever	39
Dengue hemorrhagic fever	40
Dengue shock syndrome	40
7. Treatment	40
8. Vaccines	41
DNA vaccines	42
Inactivated vaccines	42
Live attenuated vaccines -	42
Chimeric live attenuated vaccines	43
Replication-incompetent vaccines	44
9. Anti-viral agents for dengue infection	45
10. Medicinal plant	47
<i>Andrographis paniculata</i>	49
<i>Clinacanthus nutans</i>	49

## TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
CHAPTER III RESEARCH METHODOLOGY	
Materials and methods	51
1. Preparation of <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> compound solution	51
2. Cell line	51
3. Virus preparation and titer determination	52
4. Cytotoxicity study of compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i>	52
5. Screening of anti-dengue virus activity	53
Viral RNA quantification by RT-PCR	54
6. Anti-viral activity in pre-entry step of viral infection	55
7. Anti-viral activity in adsorption step	55
8. Pre-binding assay	56
9. Anti-viral internalization assay	56
10. Anti-viral activity in post-entry step of viral infection	57
11. Determination of PGE <sub>2</sub> production by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	57
12. Determination of COX-2 gene expression by real-time PCR	59
Sample preparation	59
RNA extraction	59
Synthesis of the first-strand cDNA	60
Real-time PCR	60

## TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
CHAPTER IV RESULTS	
1. Cytotoxicity and subtoxic concentration	62
2. Anti-DV activity of compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i>	63
2.1 Screening inhibitory effect of compounds from <i>C. nutans</i> (7 compounds) and <i>A. paniculata</i> (3 compounds) on DV2 infection	63
2.2 Anti-DV2 activity in pre-entry	64
2.2.1 Anti-DV activity in adsorption step	66
2.2.2 Pre-binding assay	67
2.2.3 Anti-internalization	68
2.3 Anti-DV2 post-entry	69
3. Effect of compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> on pro-inflammatory cytokine	70
3.1 DV-induced PGE <sub>2</sub> production	70
3.2 Effect of compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> on PGE <sub>2</sub> production	71
3.3 Effect of compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> on virus-induced PGE <sub>2</sub> during post-infection	72
CHAPTER V DISSION	76
REFERENCES	83
APPENDICES	108
APPENDIX A List of chemicals and instruments	109
APPENDIX B Reagents for Cell Culture	112
APPENDIX C Components and Reagents for RNA Extraction and Reverse transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	116



**TABLE OF CONTENTS (Cont.)**

	Page
APPENDIX D Components and Reagents for Electrophoresis	118
APPENDIX E Components and Reagents for RNA Extraction and Real Time Polymerase Chain Reaction (Real Time - PCR)	120
RESEARCH PRESENTATION	121
CURRICULUM VITAE	122

## LIST OF TABLES

	Page
Table 1 Properties of DV proteins	13
Table 2 50% cytotoxicity and subtoxic concentration of compounds	61

## LIST OF FIGURES

	Page
Figure 1	A neighbour-joining phylogenetic tree analysis of a fragment of 3'UTR region (nt 121) of DV
	6
Figure 2	<i>Aedes aegypti</i> adult
	6
Figure 3	DV structure
	7
Figure 4	Drawing DV structure
	7
Figure 5	Structure of Dengue E protein
	8
Figure 6	The DV genome and the major functions of the gene products
	11
Figure 7	The flavivirus life cycle
	17
Figure 8	Proposed mechanism for fusion mediated
	20
Figure 9	Configuration of glycoproteins of alphaviruses and flaviviruses on the surface of virions at neutral pH and the proposed configuration at acid pH
	21
Figure 10 A	A Structure of DV genome
	23
Figure 10 B	Putative membrane topology of DV proteins and proteinases involved in polyprotein cleavage
	24
Figure 11	Conserved nucleotide sequence element in 5' region encoding the C protein in six different mosquito-borne flavivirus
	25
Figure 12	Geographic distribution of Dengue and areas at risk
	29
Figure 13	Schematic representation of the immunopathogenesis of severe dengue disease
	35
Figure 14	Structure of dengue 2 E protein
	47
Figure 15	<i>Andrographis paniculata</i> (Burn) Wall
	49
Figure 16	<i>Clinacanthus nutans</i> (Burm.f.) Lindau
	50
Figure 17	ELISA principle
	58
Figure 18	Screening of anti-DV2 activities
	64



## LIST OF FIGURES (Cont.)

	Page
Figure 19	The fluorescent infected cells detected by IF technique at 7 days post-infection 64
Figure 20	Anti-DV2 activity in pre-entry step 65
Figure 21	The tested cells without fluorescent signal detected by IF technique at 7 days post-infection 66
Figure 22	The effect of 11(3) and SS2 compounds on anti-DV infection in adsorption step (RT-PCR) 67
Figure 23	The effect of 11(3) and SS2 compounds on anti-DV infection in adsorption step (Immunofluorescent) 67
Figure 24	Lack of inhibitory effect of compounds on pre-binding assay 68
Figure 25	Lack of inhibitory effect of compounds on anti-internalization step 69
Figure 26	Immunofluoresce staining infected cell at 7 days of infection 69
Figure 27	Anti-DV2 activities in post-entry of compounds by RT-PCR method 70
Figure 28	DV stimulated PGE <sub>2</sub> production in A549 cell 71
Figure 29	All compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> stimulated PGE <sub>2</sub> production in A549 cells 72
Figure 30	COX-2 expression in infected A549 cells treat with compounds from <i>C. nutans</i> and <i>A. paniculata</i> 73
Figure 31A	The amount of PGE <sub>2</sub> produced by SS2 compound treated cells 73
Figure 31B	Show dengue virus 2 induced PGE <sub>2</sub> production was inhibited by 136B compound from <i>C. nutans</i> 74
Figure 31C	The amount of PGE <sub>2</sub> produced by 11(3) compound treated cells 74

**LIST OF FIGURES (Cont.)**

	Page
Figure 32      dengue virus 2 induced COX-2 expression in A549 cells was apparently inhibited by 136B	75

## LIST OF ABBREVIATIONS

/	Per
%	Percent
$\mu$	Micro ( $10^{-6}$ )
$^{\circ}\text{C}$	Degree Celsius
$\mu\text{g}$	Microgram
$\mu\text{L}$	Microliter
Ab	Antibody
<i>A. paniculata</i>	<i>Andrographis paniculata</i>
AP-1	Activator protein-1
<i>C. nutans</i>	<i>Clinacanthus nutans</i>
cm	Centimeter
DF	Dengue fever
DHF	Dengue hemorrhagic fever
COX-2	Cyclooxygenase-2
DNA	Deoxyribonucleic acid
DSS	Dengue shock syndrom
DV	Dengue virus
DW	Distilled water
<i>e.g.</i>	For example
<i>et al.</i>	<i>Et. Alii</i> (Latin), and others
<i>etc.</i>	and others
g	Gram
h	Hour
HSV	Herpes simplex virus
k	Kilo ( $10^3$ )
L	Liter
m	Milli ( $10^{-3}$ )
M	Molar
min	Minute

**LIST OF ABBREVIATIONS (Cont.)**

mL	Milliliter
n	Nano ( $10^{-9}$ )
NF- $\kappa$ B	Nuclear factor-kappa B
nm	Nanometer
NaCl	Sodium chloride
NaOH	Sodium hydroxide
OD	Optical density
PBS	Phosphate buffer saline
PCR	Polymerase chain reaction
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E2
PGH <sub>2</sub>	Prostaglandin H2
sec	Second
TAE	Tris-acetate EDTA
U	Unit
UV	Ultraviolet
V	Volt
V/V	Volume by volume
W/V	Weight by volume