

Thesis Title Effect of *Momordica Charantia* Extract on Vinblastine Accumulation and Efflux Across P-glycoprotein in Human Cervical Carcinoma Cells

Author Mr. Komsak Pintha

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Porn-ngarm Limtrakul Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Luksana Makornkewkeyoon Member

ABSTRACT

Multidrug resistance (MDR) is known as a problem of successful therapy in long term chemotherapeutic drug treated patients. The characteristic of drug resistance is mainly due to the overexpression of the transmembrane transport pump P-glycoprotein (P-gp), which causes reduction in drug accumulation in the cancer cells. Many drugs have been reported to inhibit the P-gp function and so called MDR-modulators. Recently, chemicals from dietary herbs have been reported to be interesting MDR-modulators in order to increase the efficacy of chemotherapeutic drugs.

In this study, novel chemical modulator(s) from bitter melon (*Momordica charantia* Linn.) extracts obtained from the whole plants, leaves, fruits and tendrils were tested for their abilities to modulate the function of P-gp in the multidrug resistant human cervical carcinoma KB-V-1 cells (high P-gp expression) in comparison with wild type drug sensitive KB-3-1 cells (lack of P-gp). The effects of bitter melon extracts on P-gp activity were studied in cultured KB-V-1 and KB-3-1 cells by assessing the modulation of MDR phenotype and the transmembrane transport of a chemotherapeutic drug, vinblastine. The MDR phenotype was studied by using an MTT assay and, the transmembrane transport across P-gp performed by using the assay of ^3H -vinblastine accumulation and efflux.

Modulation of MDR phenotype by the whole plant and leaf extracts combined with vinblastine decreased the IC_{50} of vinblastine in KB-V-1 cells in a dose dependent manner but these extracts did not affect MDR phenotype in KB-3-1 cells. The fruit and tendril extracts did not affect MDR phenotype in both cell lines. The investigation of bitter melon extracts on $^3[H]$ -vinblastine accumulation indicated that the whole plant and leaf extracts increased intracellular $^3[H]$ -vinblastine accumulation in KB-V-1 cells in a dose dependent manner while no change was observed for the fruit and tendril extracts. The slight increase of $^3[H]$ -vinblastine accumulation in KB-3-1 cells was found only with the treatment with a high concentration of the whole plant extract. By modulating the P-gp-mediated vinblastine efflux, the whole plant and leaf extracts decreased the $^3[H]$ -vinblastine efflux in KB-V-1 cells in a dose dependent manner, but not in KB-3-1 cells. In addition, the leaf extract inhibited P-gp function more productively than the whole plant extract based on the same dose used in the drug efflux experiment. It appeared that treatment of vinblastine with the whole plant and leaf extracts increased their sensitivity to vinblastine, which was consistent with an increased intracellular accumulation of vinblastine.

In summary, this study describes the modulation of P-gp function by whole plant and leaf extracts from bitter melon. These extracts may become candidates of multidrug resistance reversing agents and may be an attractive new agent for the chemosensitization in cancer chemotherapy.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดมะระขี้นกต่อการสะสมและการขับ
ยาวินบลาสติน ผ่านพิกัลยโคโปรตีนในเซลล์มะเร็ง
ปากมดลูกมนุษย์

ผู้เขียน นาย คมศักดิ์ พิณธะ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. พวงาม ลิ่มตระกูล ประธานกรรมการ
รศ. ดร. ลักษณา มกรแก้วเกตุร กรรมการ

บทคัดย่อ

ปัญหาสำคัญที่ทำให้การรักษา มะเร็งปากมดลูกด้วยยาเคมีบำบัดไม่มีประสิทธิภาพและ
ไม่ประสบผลสำเร็จคือ การดื้อยาของเซลล์มะเร็งหลังจากการได้รับยาเคมีบำบัดอย่างต่อเนื่องเป็น
ระยะเวลานาน ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยามีลักษณะที่สำคัญคือบนเยื่อหุ้มเซลล์มีโปรตีนชนิดหนึ่งคือ
พิกัลยโคโปรตีน ทำหน้าที่ในการขับยาออกนอกเซลล์ทำให้การสะสมยาอยู่ภายในเซลล์น้อยลง
นักวิจัยพยายามศึกษาหาสารหรือยาที่สามารถทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงการทำหน้าที่ของ
พิกัลยโคโปรตีน ในปัจจุบันมีความสนใจสารที่มีอยู่ในธรรมชาติและบริโภคอยู่เป็นประจำในชีวิต
ประจำวันมาใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งให้มีประสิทธิ
ภาพมากยิ่งขึ้น

จากการศึกษาความสามารถของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะระขี้นกคือส่วนทั้งต้น ใบ
ผลและก้าน ต่อการทำหน้าที่ของพิกัลยโคโปรตีนในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยา KB-V-1
(P-gp แสดงออกมาก) เทียบกับเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ไม่ดื้อยา KB-3-1 (ไม่มี P-gp) และทำการ
วัดผลกระทบที่เกิดจากสารสกัดมะระขี้นกต่อการทำงานของพิกัลยโคโปรตีน โดยศึกษาการ
เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการดื้อยาของเซลล์มะเร็งด้วยวิธีเอ็มทีที จากนั้นทำการศึกษาถึงความ
สามารถในการขนส่งยารักษา มะเร็ง (วินบลาสติน) ผ่านพิกัลยโคโปรตีนโดยดูการสะสมและขับยา
³[H]-วินบลาสติน ในเซลล์ KB-V-1 และ KB-3-1

เมื่อใช้สารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบของมะระขี้นก ร่วมกับยาวิงบลาสตินพบว่าสามารถลดค่า IC_{50} ของยาวิงบลาสตินในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยาได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ไม่แสดงผลกระทบต่อความไวของยาดังกล่าวในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา และพบว่าสารสกัดจากส่วนของผลและส่วนของก้านของมะระขี้นกไม่มีผลต่อความไวของยาในทั้งสองเซลล์

เมื่อพบว่าสารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบของมะระขี้นกสามารถเพิ่มความไวของยาวิงบลาสตินได้แล้วยังพบอีกว่าสามารถเพิ่มการสะสมของยาวิงบลาสตินในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในส่วนของผลและลำต้นไม่แสดงผลใดๆ ในการทำหน้าที่ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยานี้ สำหรับการสะสมยาในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยาพบว่าสารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบมีการสะสมของยาภายในเซลล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นสูงเท่านั้น การศึกษาการขับยาวิงบลาสตินออกนอกเซลล์พบว่าสารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบสามารถช่วยลดการขับยาวิงบลาสตินออกนอกเซลล์ทำให้ยาวิงบลาสตินสะสมอยู่ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยาได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยไม่มีผลต่อการสะสมยาชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา ดังนั้นการใช้สารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบของมะระขี้นกร่วมกับยาวิงบลาสตินสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาวิงบลาสตินทำให้ยาวิงบลาสตินสะสมอยู่ในเซลล์และทำให้การรักษามะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยามีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในการศึกษารุ่นนี้เป็นการศึกษาการทำหน้าที่ของ ฟิกัลยโคโปรตีน โดยใช้สารสกัดจากมะระขี้นกและพบว่าสารสกัดจากส่วนทั้งต้นและส่วนใบเท่านั้นที่คาดว่าจะสามารถที่จะช่วยเป็นตัวขัดขวางการทำหน้าที่ของ ฟิกัลยโคโปรตีน และสามารถที่จะนำไปประยุกต์หรือหาสารตัวใหม่หรือสารที่สามารถขัดขวางการทำหน้าที่ของ ฟิกัลยโคโปรตีน เพื่อใช้รักษาร่วมกับยาเคมีบำบัดต่อไป