

ปัญหาสำคัญที่ทำให้การรักษาโรคมะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดไม่มีประสิทธิภาพและไม่ประสบผลสำเร็จคือ การดื้อยาหลายขนานของเซลล์มะเร็งหลังจากการได้รับยาเคมีบำบัดอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยามีลักษณะที่สำคัญคือบนเยื่อหุ้มเซลล์มีโปรตีนชนิดหนึ่งคือพีไกลโคโปรตีน ทำหน้าที่ในการขับยาออกนอกเซลล์ทำให้การสะสมยาอยู่ภายในเซลล์น้อยลง นักวิจัยพยายามศึกษาหาสารหรือยาจากพืชที่สามารถทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงการทำหน้าที่ของพีไกลโคโปรตีน จึงเรียกสารกลุ่มนี้ว่า เอ็มดีอาร์ โมดูเลเตอร์ มาใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคมะเร็งให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ใบมะระจีน (Momordica charantia Linn.) ทำการเก็บมาจากชมรมรักสมุนไพรไพร่ป่า และได้ทำการตรวจพิสูจน์ชนิดและสายพันธุ์ของใบมะระจีน ที่คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การทดลองนี้ได้นำใบมะระจีนมาอบแห้งที่บดเป็นผงมาทำการสกัดด้วยสารละลาย 80 % เอทานอล จากนั้นนำมาสกัดอย่างเป็นขั้นตอนด้วยการเพิ่มขั้วของสารละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน ไดเอทิลอีเธอร์ คอลโรฟอร์ม และ เอธิลอะซิเตท ตามลำดับ

เมื่อใช้สารสกัดจากใบมะระจีนดังกล่าวร่วมกับยาวิโนบลาสติน พบว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ชนิด เฮกเซน และ ไดเอทิลอีเธอร์ สามารถเพิ่มความไวของยาวิโนบลาสตินได้ดีที่สุด และเมื่อนำสารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวมาทดสอบการทำหน้าที่ต่อการสะสมและขับยาวิโนบลาสตินที่ติดผลากด้วยสารรังสีพบว่าสามารถเพิ่มการสะสมของยาวิโนบลาสตินภายในเซลล์ และสามารถช่วยลดการขับยาวิโนบลาสตินออกนอกเซลล์ทำให้ยาวิโนบลาสตินยังคงเหลือสะสมอยู่ภายในเซลล์มะเร็งที่ดื้อยาได้มากขึ้น โดยไม่มีผลต่อการสะสมยาชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา เมื่อทำการพิจารณาคุณภาพของการสกัดที่ได้ (% yield) พบว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ชนิด ไดเอทิลอีเธอร์ มี % yield มากกว่า เฮกเซน ดังนั้นในการแยกบริสุทธิ์สารสกัดมะระจีนเพื่อหาสารสำคัญ (pure compound) ในการเป็นตัวยับยั้งหรือขัดขวางการทำหน้าที่ของพีไกลโคโปรตีนทางคณะผู้วิจัยจึงทำการแยกสารสำคัญให้บริสุทธิ์โดยใช้สารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ชนิด ไดเอทิลอีเธอร์ เป็นตัวตั้งต้น โดยวิธีคลอแลมม์ โครมาโทกราฟี โดยใช้ คอลโรฟอร์ม:เมทานอล เป็นตัวชะ ซึ่งสามารถแยกสารสกัดได้ 8 ชั้น เมื่อใช้สารสกัดจากใบมะระจีนดังกล่าวร่วมกับยาวิโนบลาสตินหรือพาสลิแทกเซล พบว่าสารสกัดในชั้นที่ 2 สามารถเพิ่มความไวของยาวิโนบลาสตินและพาสลิแทกเซลได้ดีที่สุด จึงได้นำสารสกัดในชั้นที่ 2 มาทำการแยกต่อด้วยวิธี เพอร์พาทิฟ ทินแลร์ โครมาโทกราฟี (P-TLC) ซึ่งสามารถแยกสารสกัดได้ 2 ชั้น จากนั้นเมื่อนำสารสกัดชั้นที่ 2 ไปทำการตกตะกอน พบว่าได้สารผลึกรูปเข็ม สีขาว ทดสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี ทินแลร์ โครมาโทกราฟี (TLC) และโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) จากนั้นนำไปตรวจวัดคุณสมบัติ

ทางกายภาพด้วยวิธีสเปกโตรสโคปี ตลอดจนพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสำคัญโดยใช้ IR, NMR และ MS เพื่อหาสูตรโครงสร้างอย่างง่ายพบว่าสารบริสุทธิ์ดังกล่าวคือ โมมอร์ดิซิน

เมื่อใช้สารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากใบมะระขี้นก(โมมอร์ดิซิน) ร่วมกับยาวินบลาสติน หรือ พาสลิแทกเซลพบว่าสามารถลดค่า IC_{50} ของยาวินบลาสตินและ พาสลิแทกเซลในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยาได้ โดยสามารถทำให้เซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยามีความไวต่อยา วินบลาสติน และ พาสลิแทกเซลเพิ่มขึ้น แต่ไม่แสดงผลกระทบต่อความไวของยาดังกล่าวในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา เมื่อนำสารดังกล่าวมาทดสอบการทำหน้าที่ต่อการสะสมและจับยาวินบลาสตินที่ติดฉลากด้วย สารรังสีพบว่าสามารถเพิ่มการสะสมของยาวินบลาสตินภายในเซลล์มากขึ้น และสามารถช่วยลดการจับยาวินบลาสตินออกนอกเซลล์ทำให้ยาวินบลาสตินยังคงเหลือสะสมอยู่ในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยาได้มากขึ้นอีกด้วย โดยไม่มีผลต่อการสะสมยาชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา และเมื่อทดสอบการทำหน้าที่ต่อการสะสมสารฟลูออเรสเซนซ์ได้แก่ แคลซิน-เอเอ็ม และ โรดามีน 123 พบว่าสามารถเพิ่มการสะสมของ สารฟลูออเรสเซนซ์ ดังกล่าวในเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยามากขึ้นเช่นกัน โดยไม่มีผลต่อการสะสมยาชนิดนี้ในเซลล์มะเร็งที่ไม่ดื้อยา

ดังนั้นการใช้สารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากใบมะระขี้นก(โมมอร์ดิซิน)ร่วมกับยารักษามะเร็งปากมดลูกสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโดยทำให้ยารักษามะเร็งปากมดลูกสะสมอยู่ในเซลล์มากขึ้นและทำให้การรักษามะเร็งปากมดลูกที่ดื้อยามีประสิทธิภาพมากขึ้น

Multidrug resistance (MDR) is known as a problem limiting the successful of therapy in patients treated long term with 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, phytochemical have been reported to be interesting MDR-modulators in order to increase the efficacy of chemotherapeutic drugs.

In this study, bitter melon leaves (*Momordica charantia* Linn.) were harvested from the plantation of Lampang Herb Conservation Assembly and voucher specimen numbers were certified by herbarium at Flora of Thailand Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University. Fresh leaves of bitter melon were dried at 30-45 °C and ground. Dried powdery plant samples were extracted exhaustively with 80% ethanol by maceration at 37 °C for 16 hours. The ethanolic fraction was subsequently extracted with solvents increasing in polarity (i.e. ethanol, hexane, diethylether, chloroform and ethyl acetate).

Hexane and diethyl ether fractions (at 50 µg/ml) had the highest MDR reversing property so, these fractions were used in the analysis of ³H-vinblastine accumulation and efflux assay. The results indicated that the hexane and diethyl ether fractions increased intracellular ³H-vinblastine accumulation about 2.4 and 4.9 folds and decreased the ³H-vinblastine efflux about 4.0 and 3.0 folds, respectively in KB-V1 cells while no change was observed in KB-3-1 cells. Moreover, partition with diethyl ether provides higher % yield than hexane, so we purified the active ingredient(s) which play important role in P-gp modulation using diethyl ether fraction as a starting material by silica gel 60 column chromatography (CHCl₃:MeOH). 8 fractions were collected and we found that fraction 2 had the highest MDR reversing property, therefore we continuous using diethyl ether fraction as a starting material by preparative thin layer chromatography (CHCl₃:MeOH) that afforded 2 frations. Recrystallization of fraction 2 provided a white amorphous solid (compound 2). The structure of compound 2 was determined to be (IR, NMR and MS) momordicine I

From the results found that momordicine I had MDR reversing property both with vinblastine and paclitaxel, this compound was used in the analysis of ^3H -vinblastine accumulation and efflux assay. The results indicated it could increased intracellular ^3H -vinblastine accumulation and decreased the ^3H -vinblastine efflux in KB-V1 cells while no change was observed in KB-3-1 cells. Moreover, momordicine I be able to increase the accumulation of fluorescence substrates; Cacién-AM and Rhodamine123 in KB-V1 cells while no change was observed in KB-3-1 cells.

This study demonstrated that momordicine I is an effective inhibitor of Pgp activity in vitro which can be an effective chemosensitizer for treating cancers expressing Pgp-mediated MDR.