การศึกษาฤทธิ์ของ OVS1 โมโนโคลนอลแอนติบอดี ที่เชื่อมกับ α-mangostin ในการรักษามะเร็งรังไข่ แบบเฉพาะเจาะจง

นาย ณัฐพล ใจสุภา
นางสาว วันชุลี สโมสร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ.2548

EFFECT OF OVS1 MONOCLONAL ANTIBODY CONJUGATED WITH α-MANGOSTIN FOR TARGETING OVARIAN CANCER THERAPY

MR. NATTAPON JAISUPA

MISS WANCHULEE SAMOSORN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY

FACULTY OF PHARMACY

MAHIDOL UNIVERSITY

2005

โครงการพิเศษ

เรื่อง การศึกษาฤทธิ์ของ OVS1 โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่เชื่อมกับ

α-mangostin ในการรักษามะเร็งรังไข่แบบเฉพาะเจาะจง

.....

(นายณัฐพล ใจสุภา)

.....

(นางสาววันชุลี สโมสร)

.....

(รศ.ดร. ปริ่มเฉนียน มุ่งการดี)

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(รศ.ดร. อ้อมบุญ ล้วนรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....

(ศ.พญ. นีโลบล เนื่องตัน)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

การศึกษาฤทธิ์ของ OVS1 โมโนโคลนอลแอนตีบอดีที่เชื่อมกับ α- mangostin ในการรักษามะเร็งรังไข่แบบจำเพาะเจาะจง

ณัฐพล ใจสุภา, วันชุลี สโมสร

อาจารย์ที่ปรึกษา: ปริ่มเฉนียน มุ่งการดี*, อ้อมบุญ ล้วนรัตน์**, นีโลบล เนื่องตัน***

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

***ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: OVS1 โมโนโคลนอล แอนติบอดี, มังคุด, ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งแบบเฉพาะเจาะจง

การศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งแบบจำเพาะเจาะจงของ OVS1 โมโนโคลนอล แอนติบอดี (OVS1 MAb) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนบนผิวเซลล์มะเร็งรังไข่ โดยทำการเชื่อมกับสารบริสุทธิ์คือ α-mangostin (MG) ที่แยกได้จากมังคุดเพื่อเตรียมเป็น immunotoxin โดยเปรียบเทียบผลของ OVS1 MAb ที่เชื่อมกับสารสกัด α-mangostin (OVS1 MAb-MG) ต่อ human ovarian cancer cells (SKOV3) และ human endothelial cells (ECV3O4) ซึ่งใช้เป็นเซลล์เปรียบเทียบ สาร MG ที่ทดลองเตรียมจากการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดโดยเครื่อง Soxhlet extractor ด้วยเมทานอล หลังจากนั้นนำมาผ่าน silica gel column chromatography และ HPLC สาร MG ที่ได้มีปริมาณร้อยละ 2.05 ของน้ำหนักผงเปลือกมังคุด ทำการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางพฤกษเคมีโดยใช้วิธีหาจุดหลอมเหลว, MS, IR, NMR และตรวจสอบเชิงปริมาณด้วยวิธี HPLC จากนั้นนำสารสกัดบริสุทธิ์ MG ที่ได้มาเชื่อมกับ OVS1 MAb โดยประยุกต์วิธีการต่าง ๆ ตามเอกสารที่มีผู้รายงานแล้ว โดยคำนวณผลการเชื่อมได้อัตราส่วนเป็น 0.45 : 1 โมลต่อโมล นำ OVS1-MG ที่เตรียมมาศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งรังไข่ (SKOV3) โดยตรวจฤทธิ์การฆ่าเซลล์ด้วยวิธี MTT ได้ค่า EC_{50} ที่ทดสอบด้วย MG และ OVS1-MG เป็น 3.5 และ 29.6 μg/ml ตามลำดับ สำหรับ ECV3O4 ซึ่งเป็นเซลล์เปรียบเทียบได้ค่า EC_{50} เป็น 3.4 และ 42.8 μg/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของเซลล์ พบว่าเซลล์ SKOV3 ที่ถูกจับด้วย immunotoxin มีลักษณะการตายแบบ apoptosis ในขณะที่เซลล์ ECV3O4 ไม่พบผลของปฏิกิริยา จากการศึกษานี้สรุปว่า OVS1-MG มีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งแบบจำเพาะเจาะจง การทดลองนี้เป็นก้าวแรกในการนำ MG มาเชื่อมต่อกับ OVS1 MAb ดังนั้นจึงควรที่จะพัฒนาวิธีการเตรียม immunotoxin (OVS1-MG) ให้มีศักยภาพ เพื่อหวังผลให้นำไปใช้ได้จริงในการรักษา

Abstract

Effect of OVS1 monoclonal antibody conjugated with α-mangostin for targeting ovarian cancer therapy

Nattapon Jaisupa, Wanchulee Samosorn
Project advisor: Primchanien Moongkarndi*, Omboon Luanratana**, Neelobol Neungton***
*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University
**Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University
***Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University
Key words: OVS1 monoclonal antibody, mangosteen, targeting therapy

OVS1 monoclonal antibody (OVS1 MAb), specifically recognized the surface antigen of ovarian cancer, was conjugated with α-mangostin (MG) isolated from mangosteen for studying the targeting anticancer effect as immunotoxin. The activity was determined on human ovarian cancer cells (SKOV3) comparing to human endothelial cells (ECV3O4) as negative control cells. MG was prior extracted from the dried powder of mangosteen peels, using methanol in Soxhlet extractor. The crude extract was further purified by silica gel column chromatography and HPLC. The yield of MG was obtained at 2.05% of dried powder (w/w). The melting point, MS, IR, NMR were performed to determine the characteristic of MG. OVS1 MAb was conjugated with MG by applying combination of documented methods described previously. After conjugation OVS1 to MG, the ratio of MG per OVS1 MAb was calculated to be 0.45 : 1 mol/mol. MTT cytotoxic assay was performed to detect the activity of OVS1-MG, the EC_{50} values for the MG and OVS1-MG were at 3.5 and 29.6 μg/ml against SKOV3 cells, and 3.4, 42.8 μg/ml on ECV3O4 cells respectively. Moreover, the morphological changes of cancer cells were determined by incubating OVS1-MG with cells and observing on inverted fluorescence microscope. The cell death, supposing to be apoptotic cells, was demonstrated after binding of conjugated OVS1-MG molecules on targeted SKOV3 cells but not on ECV3O4 control cells. The potential of conjugated OVS1-MG as immunotoxin could be possibly effective for future application. Intensive study for improving the techniques of conjugation for better results has to be performed for truly use as novel targeting drug against ovarian cancer.