

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของยาขับเหล็กตัวใหม่ 1-(N-acetyl-6-aminohexyl)-3-hydroxy-2-methylpyridin-4-one และสารสกัดชาเขียวที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียม

ผู้เขียน นายพิชญ์สินี ทิพย์อุบล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษา รศ.ดร. สมเดช ศรีชัยรัตนกุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ดร. ชัยรัตน์ อุทัยพิบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อ.ดร. วชิราภรณ์ ทิพย์สุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ธาตุเหล็กเป็นธาตุอาหารรองที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตรวมถึงไปเชื่อมาลาเรียพลาสมาโมเดียม ธาตุเหล็กมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาทางชีวเคมีมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการเจริญเติบโตและกระบวนการแบ่งเซลล์ เชื้อพลาสมาโมเดียมจึงจำเป็นต้องใช้ธาตุเหล็กโดยการนำเหล็กจากภายนอกหรือภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงเข้าบ้านเข้าสู่เชื้อพลาสมาโมเดียม ดังนั้นยาขับเหล็ก เช่น DFO, DFP และ DFX ที่ใช้ทั่วไปในการรักษาภาวะเหล็กเกินในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียมได้อย่างไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอีกด้วย ยาขับเหล็กตัวใหม่ 1-(N-acetyl-6-aminohexyl)-3-hydroxypyridin-4-one หรือ CM1 ซึ่งมีการศึกษามากมายทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง มีความสามารถในการละลายในไขมันของสารได้ดีกว่ายาขับเหล็กดีเฟอริโพรน และยังสามารถจับเหล็กได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ที่น่าสนใจไปกว่านั้นยาขับเหล็กตัวใหม่นี้ยังสามารถจับเหล็กในพลาสมาที่อยู่ใน non-transferrin-bound serum iron (NTBI) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อ peripheral blood mononuclear cells (PBMC) ในหลอดทดลอง CM1 ยังลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นจากปฏิกิริยา redox ที่เหนี่ยวนำโดยธาตุเหล็ก และยังคงระดับเหล็กในรูปแบบ labile iron pool (LIP) ในเซลล์ตับเพาะเลี้ยงที่จำลองสภาวะเหล็กเกิน การศึกษานี้ต้องการศึกษาผลของ CM1 และ สารสกัดชาเขียว (GTE) ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียมฟาลซิพารัมและเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กี

ไอ การศึกษานี้จึงนำเทคนิค flow cytometry มาใช้ในการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมโดยการย้อมด้วยสารเรืองแสง SYBR Green I ซึ่งผลของ CM1 และ GTE ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียมโดยใช้ค่าความเข้มข้นของสาร ณ ค่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิผลในการยับยั้งที่ระดับ 50% เรียก inhibitory concentration at 50% of maximum effect หรือ IC₅₀ และนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากยาขับเห็ดอีกชนิดอื่น ได้แก่ เดสเฟอร์ร็อกซามีน (DFO), ดีเฟอร์ริโพรน (DFP) และ ดีเฟอร์ราซิริค (DFX) ค่า IC₅₀ ของ DFO, GTE, CM1, DFX และ DFP ที่ได้คือ 14.09, 21.11, 35.14, 44.71 and 58.25 ไมโครโมลาร์ตามลำดับยิ่งไปกว่านั้น CM1 มีผลในการลดระดับของ LIP มากกว่า DFP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ GTE ยังสามารถลดระดับ Reactive Oxygen Species (ROS) ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้ออีกด้วย การทดลองในสัตว์ทดลองพบว่า CM1 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอในหนูทดลอง ค่า ED₅₀ เท่ากับ 56.91 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนัก ในการรักษาที่ใช้ยาร่วม ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อพลาสมาโมเดียมของยาไพริเมธาซีนในหลอดทดลอง ถูกต้านโดย CM1 และ GTE ที่ความเข้มข้นต่ำมีเพียงเฉพาะ GTE เท่านั้นที่เสริมฤทธิ์ประสิทธิภาพของยาไพริเมธาซีนในหนูทดลองที่ติดเชื้อพลาสมาโมเดียมเบอร์กีไอ อาจเป็นไปได้ว่า CM1 และ GTE รบกวนการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ หรือมีผลในการลดระดับ LIP ภายในเซลล์ของเชื้อพลาสมาโมเดียมเอง ซึ่งนำไปสู่การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพลาสมาโมเดียม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Effect of a Novel Iron Chelator, 1-(<i>N</i> -acetyl-6-aminohexyl)-3-hydroxy-2-methylpyridin-4-one, and Green Tea Extract on <i>Plasmodium</i> spp. Growth Inhibition	
Author	Mr. Phitsinee Thipubon	
Degree	Master of Science (Biochemistry)	
Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Somdet Srichairatanakool	Advisor
	Dr. Chairat Uthaipibull	Co-advisor
	Lect. Dr. Wachiraporn Tipsuwan	Co-advisor

ABSTRACT

Iron is an essential trace element required by all living organisms including malaria parasites (*Plasmodium* spp.) for many biochemical reactions. Malaria parasites can take up the iron from outside and/or inside parasitized red blood cells (PRBC). Iron chelators such as desferrioxamine (DFO), deferiprone (DFP) and deferasirox (DFX) are widely used for treatment of thalassemia-related iron overload and inhibit parasite growth at levels which are non-toxic to mammalian cells. Our novel synthetic iron chelator, 1-(*N*-acetyl-6-aminohexyl)-3-hydroxypyridin-4-one (CM1), is a bidentate chelator which is more lipophilic than DFP. CM1 effectively chelates plasma non-transferrin-bound serum iron (NTBI), labile plasma iron (LPI) and intracellular labile iron pools (LIP). Importantly, the compound is not toxic to normal cell cultures up to 48 hours and mice up to 8 months. Green tea (*Camellia sinensis*) extract (GTE) is abundant in epigallocatechin 3-gallate (EGCG) which exhibits strong antioxidant and iron-chelating activities. In this study, we examined inhibitory effect of CM1 and GTE on growth of *P. falciparum* *in vitro* and *P. berghei* in mice. Fluorescent probes-associated flow cytometric technique was used to determine %parasitemia, LIP and reactive oxygen species (ROS) in the PRBC. We found the inhibitory concentration at 50% against *P. falciparum* (IC₅₀)

of DFO, GTE, CM1, DFX and DFP were 14.09, 21.11, 35.14, 44.71 and 58.25 μM , respectively. Importantly, CM1 was more effective in decreasing LIP level in the *P. falciparum*-infected RBC than DFP ($p < 0.05$). GTE could reduce intracellular ROS level except CM1 and DFP treatment. In 4-days suppressive test, CM1 inhibited growth of *P. berghei* in mice at effective dose at 50% (ED_{50}) value of 56.91 mg/kg. In combination treatments, *in vitro* anti-malarial activity of PYR was antagonized by CM1 and GTE at low concentrations, and was synergized by the compounds at high concentrations. Obviously, only GTE synergized PYR activity in *P. berghei*-infected mice. Possibly, CM1 and GTE could interfere with the uptake of exogenous iron into or deplete intracellular labile iron in malaria parasites, leading to inhibition of their growth. CM1 and GTE would be adjunctive with pyrimethamine to enhance its anti-malarial activity and minimize drug resistance.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved