

***IN VITRO* SUSCEPTIBILITY OF THAI ISOLATES  
*PLASMODIUM FALCIPARUM* TO PYRONARIDINE**



**KITTIYA MAHOTORN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE (MICROBIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2016**

Copyright by Mahidol University

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

*IN VITRO* SUSCEPTIBILITY OF THAI ISOLATES *PLASMODIUM FALCIPARUM*  
TO PYRONARIDINE

KITTIYA MAHOTORN 5636659 SCMI/M

M.Sc. (MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : PEERAPAN TAN-ARIYA, Ph.D.

MATHIRUT MUNGTHIN, M.D., Ph.D.

ABSTRACT

Pyronaridine is a Mannich base antimalarial agent with a high activity against chloroquine-resistance *Plasmodium falciparum*. To date, Thailand has been known as an endemic area of multidrug-resistant *P. falciparum*. Artesunate-pyronaridine, an artemisinin derivative based combination therapy (ACT) could be one of the choices for treatment of uncomplicated falciparum malaria. However, parasites in this area have not been recently evaluated for *in vitro* pyronaridine susceptibility. The aim of this study was to determine *in vitro* susceptibility of pyronaridine against Thai isolates of *P. falciparum*. Cross resistance between pyronaridine and other antimalarial drugs was also evaluated. In addition, the influence of known resistance genes on *in vitro* pyronaridine susceptibility was determined. *In vitro* pyronaridine susceptibility of parasites isolated from Thai-Cambodia and Thai-Myanmar borders were examined using the <sup>3</sup>H-hypoxanthine uptake inhibition method. The mean IC<sub>50</sub> of pyronaridine was 5.4±3.3 nM (range 0.2-15.4) with a significant positive correlation with mean IC<sub>50</sub> of artesunate ( $r=0.296$ ,  $p=0.001$ ) and amodiaquine ( $r=0.220$ ,  $p=0.042$ ) and a significant negative correlation with mean IC<sub>50</sub> of quinine ( $r=-0.248$ ,  $p=0.005$ ) respectively. Polymorphisms of resistant genes were assessed using PCR techniques. All parasites carried *pfcr* K76T mutation, while *pfmdr1* mutations were relatively rare and gene amplification was detected. However, there was no significant association between gene polymorphisms and the *in vitro* pyronaridine activity. Artesunate-pyronaridine could be considered as the treatment of choice in multidrug-resistant areas of Thailand with careful monitoring.

KEY WORDS: *PLASMODIUM FALCIPARUM* / *IN VITRO* SUSCEPTIBILITY /  
PYRONARIDINE / ARTESUNATE / RESISTANT GENES

Copyright by Mahidol University

การศึกษาความไวของเชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียมจากประเทศไทยต่อยาไพโรนาริดีน

*IN VITRO* SUSCEPTIBILITY OF THAI ISOLATES *PLASMODIUM FALCIPARUM* TO  
PYRONARIDINE

กิตติญา มโหธร 5636659 SCMI/M

วท.ม. (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: พิศพรธม ตันอารีย์, Ph.D., พ.อ. มทธีรุต มุ่งถิ่น, M.D., Ph.D.

บทคัดย่อ

ยาไพโรนาริดีน เป็นยามาลาเรียที่มีความไวอย่างสูงในการตอบสนองต่อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมที่ดื้อต่อยาคลอโรควิน ในปัจจุบันประเทศไทยมีการแพร่กระจายของเชื้อพลาสโมเดียมที่ดื้อต่อยาหลากหลายชนิด ยาร่วมไพโรนาริดีนและอาร์ทิซูเนต เป็นยาในกลุ่มของอาร์ทิมิซินิน อาจเป็นหนึ่งในทางเลือกสำหรับนำมารักษาเชื้อพลาสโมเดียมมาลาเรียชนิดไม่รุนแรง อย่างไรก็ตามเชื้อพลาสโมเดียมมาลาเรียในบริเวณดังกล่าว ยังไม่เคยได้ทดลองศึกษาหาการตอบสนองต่อยาไพโรนาริดีนมาก่อน ซึ่งจุดประสงค์ของการศึกษานี้คือ ศึกษาการตอบสนองของเชื้อพลาสโมเดียมในไทยต่อยาไพโรนาริดีนและความสัมพันธ์ของการตอบสนองของยาไพโรนาริดีนกับยามาลาเรียชนิดอื่น นอกจากนี้ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของการตอบสนองของยาไพโรนาริดีนกับยีนคือยาต่างๆ จากการศึกษาการตอบสนองของยาโดยวิธีรับสารรังสี <sup>3</sup>H-hypoxanthine พบว่ามีค่าเท่ากับ  $5.4 \pm 3.3$  nM (ช่วง 0.2-15.4) โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับยาอาร์ทิซูเนต ( $r=0.296, p=0.001$ ) และยาอะโม่ไดอาควิน ( $r=0.220, p=0.042$ ) และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับยาควินิน ( $r=-0.248, p=0.005$ ) ตามลำดับ สำหรับการศึกษาคความหลากหลายของยีนคือยาได้ใช้วิธี PCR พบว่าเชื้อพลาสโมเดียมมาลาเรีย มียีนการเปลี่ยนแปลงของยีน *pfert* ทั้งหมด ส่วนการเปลี่ยนแปลงของยีน *pfmdr1* ก็พบความสัมพันธ์น้อยมาก และยังพบการเพิ่มขึ้นของยีน *pfmdr1* อีกด้วย อย่างไรก็ตาม ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างการตอบสนองของยาไพโรนาริดีนกับยีนคือยาต่างๆ ดังนั้น ยาร่วมไพโรนาริดีนและอาร์ทิซูเนต อาจสามารถนำมาใช้เป็นยาทางเลือกในการรักษาเชื้อพลาสโมเดียมมาลาเรียชนิดไม่รุนแรงในประเทศไทยในพื้นที่ที่มีการดื้อต่อยาหลากหลายชนิดโดยใช้อย่างเฝ้าระวัง

Copyright by Mahidol University