



16 JUL 1994

STUDIES ON THE INHIBITORY ACTION OF 9-ANILINOACRIDINES
AGAINST *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN CULTURE

NISANA TEPSIRI

ชกนันทนาการ

๒๓๓

11/11/1993

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1993

26949

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาผลของยาในกลุ่มอะนิลิโนอะคริดีน (9-anilinoacridines) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ พลาสโมเดียม ฟัลซิพาร์ม ที่เลี้ยงในห้องทดลอง
ผู้วิจัย	นิษณา เทพศิริ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph.D. สุนันท์ นครชัย M.Sc.
วันที่สำเร็จการศึกษา	12 พฤษภาคม พ.ศ. 2537

บทคัดย่อ

โรคมาลาเรีย เป็นโรคติดต่อสำคัญที่ก่อปัญหาให้กับประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณเขตร้อนทั่วโลก เนื่องจากเชื้อมาลาเรียโดยเฉพาะฟัลซิพาร์มซึ่งมีความสามารถสูงในการดื้อต่อยารักษา มาลาเรียเกือบทุกชนิด ดังนั้นการพัฒนายาชนิดใหม่จึงมีความจำเป็นสูงเพื่อที่จะนำมาใช้ทดแทน ยาเก่าที่ดื้อยประสิทธิภาพพลง การพัฒนายารักษา มาลาเรียที่จะให้ผลดีควรทำควบคู่กับการค้นหา เป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาด้วย

กลุ่มยา อะนิลิโนอะคริดีน ที่เริ่มแรกได้พัฒนาเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคมาเร็งลูคีเมียในคน ได้นำมาพัฒนาเพื่อใช้กับเชื้อมาลาเรีย โดยได้ทำการทดสอบยาอะนิลิโนอะคริดีน จำนวน 41 อนุพันธ์กับเชื้อ พลาสโมเดียม ฟัลซิพาร์ม สายพันธุ์ K1 ซึ่งดื้อต่อยาคลอโรควิน ที่เลี้ยงในห้องทดลอง และได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของยาต่อเซลล์มาเร็ง Jurkat ที่เลี้ยงในจานทดลองควบคู่กันไป ด้วย จากการศึกษาพบว่าอนุพันธ์ที่มีอะมิโนกรุปที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 3 และ 6 ของวงแหวน อะคริดีน สามารถเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรีย และลดความเป็นพิษต่อเซลล์ มาเร็งได้เทียบกับตัวที่ไม่มีหรือมีอะมิโนกรุปเพียงหนึ่งตำแหน่งในทุกๆอนุพันธ์ เมื่ออนุพันธ์ดังกล่าวมานี้ มีหมู่ที่ช่วยดึงอิเล็กตรอนตรงตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 1' ซึ่งได้แก่ SO_2NH_2 รวมด้วยกัน จะให้ผลดีมากในการยับยั้งเชื้อมาลาเรีย และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มาเร็งน้อยที่สุด ($\text{IC}_{50P}=0.02 \mu\text{M}$, $\text{IC}_{50J}=20 \mu\text{M}$, therapeutic index [IVTI]=1000)

เนื่องจากอนุพันธ์ของอะนิลิโนอะคริดีนตัวหนึ่งได้แก่ 4'-(9-acridinylamino) methane sulfon-*m*-anisidide(*m*-AMSA) ให้ผลในการฆ่าเซลล์มะเร็งโดยไปออกฤทธิ์ที่เอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส-2 ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาการออกฤทธิ์ของยาต่อเอนไซม์ตัวนี้ที่สกัดจากเชื้อฟิลิปปารัมด้วย และพบว่าอนุพันธ์ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรียได้ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ได้เช่นกัน

การศึกษาการออกฤทธิ์ของยาอะนิลิโนอะคริดีนร่วมกับยารักษามาลาเรียชนิดอื่นๆ ได้แก่ คลอโรควิน และ ไพโรนาร์ติน พบว่ามีการต้านฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (antagonistic effect) และระหว่าง ยาอะนิลิโนอะคริดีน กับ 9-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) adenine (HPMPA) ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โพลีเมอเรส แกมมา ของเชื้อฟิลิปปารัม ให้ผลไม่เสริมฤทธิ์กัน (additive effect)

สำหรับผลการทดสอบของยาอะนิลิโนอะคริดีนต่อเชื้อมาลาเรียในหนู (*P. berghei*) พบว่า ยาไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ อาจเป็นเพราะว่ายาจําเพาะต่อเชื้อฟิลิปปารัมมากกว่า หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยาโดยขบวนการเมตาบอลิสมในหนู

Thesis Title Studies on the Inhibitory Action of 9-Anilinoacridines
against *Plasmodium falciparum* in Culture

Name Nisana Tepsiri

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

Prapon Wilairat, Ph.D.
Sunan Nakornchai, M.Sc.

Date of Graduation 12 May B.E 2537 (1994)

ABSTRACT

Malaria is an infectious disease that causes morbidity and mortality in most of tropical areas in the world. Since the most virulent human malaria parasites, *P. falciparum*, has become resistant to most of antimalarial drugs in current use, the development of novel antimalarial drugs is still urgently needed.

Forty-one derivatives of 9-anilinoacridine compounds, firstly used to treat human leukemia, were synthesized and tested against *P. falciparum* K1 (chloroquine resistant strain) in culture and against human Jurkat leukemia cell line (for toxicity). Derivatives with 3,6-diamino substitutions on the acridine chromophore resulted in lower mammalian cell cytotoxicity and higher antiparasitic activities than other substitution patterns, and when combined with 1'-SO₂NH₂ (electron withdrawing substitutions) at anilino ring, resulted in a drug with the most potent antimalarial activity and lowest mammalian cell cytotoxicity (IC₅₀P=0.02 μM, IC₅₀J=20 μM, therapeutic index [IVTI]=1000).

Since the mechanism of action of 9-anilinoacridines, such as 4'-(9-acridinylamino)methanesulfon-*m*-aniside (*m*-AMSA), the potent antileukemic drug, is inhibition of the religation activity of mammalian DNA topoisomerase II, inhibition

testings with partially purified *P. falciparum* DNA topoisomerase II were performed. Results showed that compounds which inhibited parasite growth in culture also inhibited parasite DNA topoisomerase II.

Studies on drug combinations of 9-anilinoacridines with other antimalarial drugs, viz, chloroquine and pyronardine, showed antagonistic effects, whereas an additive effect was observed in the combination of 9-anilinoacridine and 9-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl) adenine (HPMPA), *P. falciparum* DNA polymerase γ inhibitor.

However, *in vivo* testing of 9-anilinoacridines with *P. berghei* in mice failed to demonstrate antimalarial activities, possibly due to difference in the affinity of the drugs for their targets, or due to rapid metabolic inactivation of the drug by mice.