



17 คี.อ. 2532

INHIBITION OF GROWTH AND POLYAMINES BIOSYNTHESIS

IN P. FALCIPARUM BY BERENIL AND  
MEIHYLGLYOXAL BIS(GUANYLHYDRAZONE)

DARUNEE TIRAVITTAYACOM

๔

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

ฉบับนี้จัดทำขึ้น

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย ม. มหิดล.

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

1988

12058

ชื่อวิทยานิพนธ์	การยับยั้งการเจริญและการสังเคราะห์สารโปลีเอมีนส์ใน เชื้อมาเลเรียชนิดพลาซิมาร์มด้วยเบอร์นีส และเม็ทลิลไกล- ออกซอล บิส(กวานิลไฮดราโซน)
ผู้วิจัย	ครุณี ธีรวิทยาคม
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	พิณทิพ รื่นวงษา ประพนธ์ วิไลรัตน์ กัญญา พานิชพันธ์
วันที่สำเร็จการศึกษา	26 พฤษภาคม 2531

### บทคัดย่อ

เบอร์นีส และเม็ทลิลไกลออกซอล บิส(กวานิลไฮดราโซน) (เอ็มส์บีซี) เป็นสารยับยั้งเอ็นไซม์ เอส-อะดีโนซิลเมโทโอนีน คีลาร์บอกซีเลส ซึ่งจำเป็นสำหรับการสร้างสารโปลีเอมีนส์ คือ สเปอรัมิติน และสเปอรัมิน ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์โดยทั่วไป สารยับยั้งทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อมาเลเรียชนิดพลาซิมาร์ม ในจานเพาะเลี้ยงได้ โดยมีค่า  $EC_{50}$  หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเบอร์นีส และเอ็มส์บีซีนาน 48 ชั่วโมง เท่ากับ 0.41 และ 2.4  $\mu M$  ตามลำดับ จากการศึกษาโดยตรวจวัดความสามารถของเชื้อในการใช้สารกัมมันตภาพรังสีไฮโปแซนทีน พบว่า  $EC_{50}$  ของเบอร์นีส และเอ็มส์บีซี เท่ากับ 0.9 และ 4.7  $\mu M$  ตามลำดับ ทั้งเบอร์นีส และเอ็มส์บีซียับยั้งการเจริญของเชื้อมาเลเรียจากระยะโทรโพซอยต์ไปเป็นไซซอนต์ เบอร์นีส และเอ็มส์บีซียับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีนในเชื้อพลาซิมาร์มโดยที่  $EC_{50}$  ของเบอร์นีสมีค่ามากกว่า ของเอ็มส์บีซี ประมาณ 6-9 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าพิวเทรสซิน สเปอรัมิติน และ สเปอรัมินที่ความเข้มข้น 1 mM ไม่สามารถหักล้างฤทธิ์ของเบอร์นีส และเอ็มส์บีซีในการยับยั้งการเติบโต และการสังเคราะห์ กรดนิวคลีอิก และโปรตีนในเชื้อมาเลเรีย

การศึกษาถึงระดับของโปลีเอมีนส์ในเชื้อมาเลเรียชนิดพลาซิมาร์ม พบว่ามีพิวเทรสซิน 8-15%, สเปอรัมิติน 70-80%, สเปอรัมิน 8-15% ระดับของโปลีเอมีนส์จะสูงที่สุดเมื่อเชื้อ

มาเลเรียอยู่ที่ระยะไซซอนด์ เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อมาเลเรียในจานเพาะเลี้ยงที่มีเบอรินีส 5  $\mu\text{M}$  หรือ เอ็มซีบีซี 25  $\mu\text{M}$  เป็นเวลา 30 ชั่วโมง พบว่าระดับของโพลีเอมีนส์โดยเฉพาะสเปอร์มีติน ในเชื้อมาเลเรียจะลดลงเหลือ 25% และ 64% ตามลำดับ นอกจากนี้เบอรินีส และ เอ็มซีบีซี ยังยับยั้ง การสังเคราะห์โพลีเอมีนส์ จากสารกัมมันตภาพรังสี ออร์นิติน และ พิวเทรซีน และยับยั้งการขนส่ง สารกัมมันตภาพรังสีพิวเทรซีนจากเม็คเล็ดแดงเข้าไปในเชื้อมาเลเรีย

ผลการทดลองเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าการยับยั้งการสังเคราะห์สารโพลีเอมีนส์โดยเฉพาะ สเปอร์มีติน โดยเบอรินีส และ เอ็มซีบีซี ทำให้การสังเคราะห์ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน ถูกยับยั้งในเชื้อมาเลเรียชนิดพาลซิพารัม และส่งผลให้การเติบโตของเชื้อมาเลเรียถูกยับยั้งไปด้วย

**Thesis Title** : Inhibition of growth and polyamines biosynthesis in P. falciparum by berenil and methylglyoxal bis(guanylhydrazone)

**Name** : Darunee Tiravittayacom

**Degree** : Master of Science (Biochemistry)

**Thesis Supervisory Committee**

: Pintip Ruenwongsa, Ph.D.

: Prapon Wilairat, Ph.D.

: Bhinyo Panijapan, Ph.D.

**Date of Graduation** : May 26, 1988

#### ABSTRACT

Berenil and MGBG, inhibitors of S-adenosylmethionine decarboxylase effectively inhibited growth of P. falciparum in culture with  $EC_{50}$  after 48 h exposure to the drugs of 0.41 and 2.4  $\mu\text{M}$  respectively.  $EC_{50}$  as determined by [ $^3\text{H}$ ] hypoxanthine uptake was 0.9 and 4.7  $\mu\text{M}$  for berenil and MGBG respectively. Both drugs blocked development of the parasites from trophozoites to schizonts. Berenil and MGBG inhibited DNA, RNA and protein synthesis in P. falciparum. The  $EC_{50}$  for inhibiting these macromolecular synthesis of berenil was about 6-9 times higher than that of MGBG. Addition of exogenous polyamines, i.e., putrescine, spermidine or spermine at concentration of 1 mM could not reverse the inhibitory effects of berenil and MGBG on both growth and macromolecular synthesis of P. falciparum.

P. falciparum contained 8-15% putrescine, 70-80% spermidine and 8-15% spermine and the concentrations of these polyamines were

highest at schizont stage. Exposure of the parasites culture to berenil or MGBG resulted in a decrease in polyamine content in the parasites, especially spermidine decreased to 25% and 64% after exposure to 5  $\mu$ M berenil and 25  $\mu$ M MGBG for 30 h. Polyamine biosynthesis from either [ $^3$ H] ornithine or [ $^{14}$ C] putrescine in the parasites was inhibited by both berenil and MGBG. The results suggested that both drugs also inhibited the transport of [ $^{14}$ C] putrescine from red cells into the parasites.

These results suggested that inhibition of polyamines, especially spermidine biosynthesis by berenil and MGBG had led to inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in *P. falciparum*, and as a result, growth of the parasites was inhibited. Nevertheless, the mechanism of actions of berenil and MGBG might not be specific to only polyamine biosynthesis, since the inhibitory effects of these drugs could not be reversed by addition of exogenous polyamines. Thus, berenil and MGBG might also inhibit growth of *P. falciparum* by other mechanisms which are still not known.