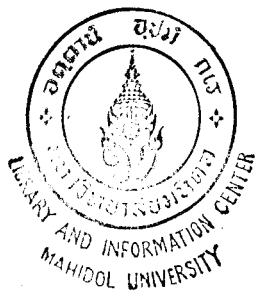


- 6 AUG 2001



**STUDIES ON THE INTERACTION BETWEEN
HEMIN AND ARTEMISININ**

TATSANEE CHUCHUE

อธิษฐานณาการ

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

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

2001

ISBN 974-665-838-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH

T219st

2001

Copyright by Mahidol University

4036414 SCBC/M: MAJOR: BIOCHEMISTRY; M. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : MALARIA/ ARTEMISININ/ THALASSEMIA/ HEMIN

TATSANEE CHUCHUE: STUDIES ON THE INTERACTION BETWEEN HEMIN AND ARTEMISININ. THESIS ADVISORS: PRAPON WILAIRAT, Ph.D., YONGYUTH YUTHAVONG, D.Phil. 93 p. ISBN 974-665-838-7

Artemisinin and its derivatives, endoperoxide-containing compounds, are a new family of potent drugs that act rapidly to clear parasites in multidrug resistant malaria and in severe complicated cases, with no serious side effect. Up to now, there has been no report of falciparum malaria resistant to artemisinin. However, *Plasmodium falciparum* infecting α -thalassemic (hemoglobin (Hb) H and Hb H/Hb Constant Spring (CS)) red cells are more resistant to artemisinin *in vitro* than that infecting normal erythrocytes. The explanations previously given are the competition of drug uptake by uninfected erythrocytes and the inactivation of drug by cytosolic and membrane fractions of α -thalassemic and normal erythrocytes.

In this research the effect of heme iron and non heme iron on drug activity were studied. Both ferroprotoporphyrin IX (FeII-heme) and ferriprotoporphyrin IX (FeIII-hemin) inactivated artemisinin. Heme was slightly more effective than hemin. The ineffectiveness of drug depended on hemin concentration and incubation time. Inactivation by hemin comparable to that of 10% α -thalassemic hemolysate was obtained with 0.2 μ M hemin. Hemin inactivated drug more efficiently in phosphate buffer saline containing 1% SDS, in which hemin was in a monomeric form, than in phosphate buffer saline without SDS, in which it probably existed in a polymeric form. The presence of excess globin and albumin could partially prevent artemisinin inactivation by hemin. Artemisinin in the presence of hemin had the ability to alkylate both globin and albumin. The lack of effect upon addition of deferiprone, an iron chelator, to hemolysate showed that chelatable iron in hemolysate played no role in drug inactivation. The findings in this thesis provided another explanation for artemisinin resistance of malaria parasites infecting α -thalassemic compared with normal erythrocytes.

4036414 SCBC/M: สาขาวิชา: ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

ทัศนีย์ ชูเชื้อ: การศึกษาการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างฮีมินและยาอาร์ทีมิซินิน (STUDIES ON THE INTERACTION BETWEEN HEMIN AND ARTEMISININ) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph.D., บงยุทธ ยุทธวงศ์ D.Phil. 93 หน้า ISBN 974-665-838-7

ยาอาร์ทีมิซินินและสารอนุพันธ์เป็นยาในกลุ่มที่มีหมู่เปอร์ออกไซด์อยู่ในโมเลกุล ยาในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมที่ดื้อต่อยาอื่นๆ โดยไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีรายงานการดื้อยาในกลุ่มนี้ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม แต่จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีการดื้อยาอาร์ทีมิซินินของเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมที่เลี้ยงในเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มาจากผู้ป่วยธาลัสซีเมียเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าการดื้อยาเกิดจากเม็ดเลือดแดงที่ไม่ติดเชื่อสามารถแย่งสะสมยาทำให้ปริมาณของยาที่จะฆ่าเชื้อลดลงซึ่งเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะสะสมยาได้มากกว่าของคนปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งส่วนของเมมเบรนและไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงสามารถที่จะทำลายประสิทธิภาพของยาได้ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าฮีมและฮีมินสามารถทำลายประสิทธิภาพของอาร์ทีมิซินิน โดยที่ฮีมสามารถทำลายได้มากกว่าฮีมินเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าเหล็กซึ่งเป็นส่วนประกอบของฮีมและฮีมิน เป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการทำลายยาอาร์ทีมิซินิน จากการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ฮีมินพบว่าประสิทธิภาพของยาอาร์ทีมิซินินที่ลดลงนั้นขึ้นกับปริมาณของฮีมินและระยะเวลาในการเกิดปฏิสัมพันธ์และยังพบว่าฮีมินที่เป็นโพลีเมอร์ซึ่งน่าจะพบในสภาวะธรรมชาติของไซโตซอลมีความสามารถในการทำลายยาแต่น้อยกว่าพวกที่เป็น โมโนเมอร์ เมื่อเปรียบเทียบผลการทำลายยาของฮีมินกับผลจากไซโตซอลในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียพบว่า ความเข้มข้นฮีมิน 0.02 ไมโครโมลาร์ทำลายประสิทธิภาพของยาได้เท่ากับไซโตซอลที่เจือจางเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าโกลบินและแอลบูมินสามารถป้องกันไม่ให้ฮีมินทำลายยาได้บางส่วน อาร์ทีมิซินินยังมีความสามารถในการอัลคิลเลท(alkylate) โกลบินและแอลบูมินเมื่อมีฮีมินอยู่ในปฏิกิริยา นอกจากนี้พบว่าโมเลกุลอิสระของเหล็กในไซโตซอลไม่มีผลในการทำลายประสิทธิภาพของอาร์ทีมิซินิน กลไกการทำลายประสิทธิภาพของยาอาร์ทีมิซินินที่พบครั้งนี้อาจนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงยาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้นและการระวังในการใช้ยาให้มากขึ้นเพื่อป้องกันการดื้อต่อยาในกลุ่มนี้