



**STUDIES ON ARTEMISININ-INHIBITORY CYTOSOLIC  
FACTORS IN NORMAL AND THALASSEMIC ERYTHROCYTES**

**NAPAWAN PONMEE**

อธิษัฒนาการ

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 974-665-780-1**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
N195s  
2001

4136791 SCBC/M: MAJOR: BIOCHEMISTRY; M.Sc.(BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : MALARIA/THALASSEMIA/ARTEMISININ

NAPAWAN PONMEE : STUDIES ON ARTEMISININ-INHIBITORY CYTOSOLIC FACTORS IN NORMAL AND THALASSEMIC ERYTHROCYTES. THESIS ADVISORS : PRAPON WILAIRAT, Ph.D., SUMALEE KAMCHONWONGPAISAN, Ph.D. 118 p. ISBN 974-665-780-1

Malaria is one of the most important public health problems for people in tropical and subtropical areas, including Thailand. Resistance of *Plasmodium falciparum* to widely used antimalarial drugs, like chloroquine, has rapidly increased. Artemisinin and its derivatives, endoperoxide-containing compounds, are very effective against multidrug-resistant parasites, with no serious side effects. Up to now, there have been no report of falciparum malaria resistance to artemisinin.

Inactivation of artemisinin was found *in vitro* when artemisinin was incubated with cytosol from normal and  $\alpha$ -thalassemic erythrocytes. Cytosol from both types of  $\alpha$ -thalassemic (Hb H and Hb H/Hb CS) red cells inactivated artemisinin to a higher extent than normal cytosol. Macromolecular fractions from these cytosols (MW > 10 kDa) were found to be the major factors that inactivated the drug since no effect was seen with the low molecular weight fraction. The major drug-inactivation factor in normal cytosol was heat labile whereas that in Hb H and Hb H/Hb CS cytosol was heat stable. Hemoproteins, catalase and Hb A, were able to inactivate artemisinin whereas the selenoprotein, glutathione peroxidase, did not. For Hb A, inactivation of artemisinin was more efficient by reduced Hb A than by metHb. In addition, artemisinin was also inactivated by cytochrome c. The major heat stable drug-inactivation factor in  $\alpha$ -thalassemic erythrocytes was not identified. However, spectrophotometry and SDS-polyacrylamide gel-electrophoresis showed the presence of hemoproteins in the heat stable fraction of both normal and  $\alpha$ -thalassemic erythrocytes, and one of these proteins was globin.

Understanding of factors that reduce the efficacy of this drug in host red cells will aid in the future design of better artemisinin derivatives.

4136791 SCBC/M: สาขาวิชา : ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

นภาพรรณ ผลมี : การศึกษาปัจจัยที่ยับยั้งการทำงานของยาอาร์ซีมิซินินในไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมีย (STUDIES ON ARTEMISININ-INHIBITORY CYTOSOLIC FACTORS IN NORMAL AND THALASSEMIC ERYTHROCYTES) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph.D., สุมาลี คำจรวงศ์ไพศาล, Ph.D. 118 หน้า. ISBN 974-665-780-1

โรคมาลาเรียเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญสำหรับประชากรในโลกเขตร้อนรวมถึงประเทศไทย การดื้อยาของเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพาลัมต่อยาด้านมาลาเรียที่ใช้กันอยู่ เช่น กลอโรควิน สูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อาร์ซีมิซินินและสารอนุพันธ์เป็นยาด้านมาลาเรียที่มีหมู่เอินโดเปอร์ออกไซด์ในโมเลกุล ยากลุ่มนี้มีประสิทธิภาพมากในการฆ่าเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยาโดยไม่ก่อให้เกิดอาการข้างเคียง ปัจจุบันยังไม่ปรากฏรายงานการดื้อยาอาร์ซีมิซินินของเชื้อมาลาเรียฟัลซิพาลัม

ในหลอดทดลองพบการเสื่อมฤทธิ์ของยาอาร์ซีมิซินินเมื่อยาถูกบ่มกับไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย โดยไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียทั้งชนิด Hb H และ Hb H/Hb CS ทำลายยาได้มากกว่าไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงปกติ โมเลกุลในไซโตซอลที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 กิโลดาลตันเป็นตัวการสำคัญในการทำลายยาโดยไม่พบการเสื่อมฤทธิ์ของยาดังกล่าวโดยโมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่า 10 กิโลดาลตัน ปัจจัยหลักในการทำลายยาอาร์ซีมิซินินในไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงปกติเป็นโมเลกุลที่ไม่ทนความร้อนแต่ในไซโตซอลของเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียทั้งชนิด Hb H และ Hb H/Hb CS โมเลกุลที่ทนความร้อนเป็นปัจจัยหลักในการทำลายยา อะตอะเลสและฮีโมโกลบินเอซึ่งเป็นฮีโมโพรตีนสามารถทำให้ยาอาร์ซีมิซินินเสื่อมฤทธิ์ได้ขณะที่ฮีโรโพรตีนคือกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสไม่ทำลายยา สำหรับการทำลายยาโดยฮีโมโกลบินเอนั้นฮีโมโกลบินเอในสภาพรีดิวซ์มีประสิทธิภาพในการทำลายยาดีกว่าเมทฮีโมโกลบิน นอกจากนี้ยังพบการทำลายยาอาร์ซีมิซินินได้โดยไซโตโครมซี การศึกษานี้ไม่ได้บ่งบอกชนิดของปัจจัยทนความร้อนที่เป็นตัวหลักในการทำลายยาอาร์ซีมิซินินในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย อย่างไรก็ตามการศึกษาทางสเปกโตรโฟโตเมทรีและเอสดีเอส-โพลีอะครีลาไมด์ เจล-อิเล็กโตรโฟรีซิสพบมีฮีโรโพรตีนในส่วนที่ทนความร้อนของทั้งเม็ดเลือดแดงปกติและเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย หนึ่งในโปรตีนเหล่านี้คือโกลบิน

การเข้าใจปัจจัยที่สามารถลดประสิทธิภาพของยาอาร์ซีมิซินินในเม็ดเลือดแดงเข้าบ้านนี้อาจเป็นประโยชน์ในการสร้างอนุพันธ์ของยาอาร์ซีมิซินินที่มีประสิทธิภาพดีขึ้นได้ในอนาคต