

## กลไกการออกฤทธิ์การดื้อยาของเชื้อมาลาเรีย และการพัฒนายาต้านมาลาเรียใหม่

เกศรา ณ บางช้าง<sup>1</sup>, วรณา ชัยเจริญกุล<sup>1</sup> และ คณิงนิจ คงพ่วง<sup>2</sup>

<sup>1</sup>คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, <sup>2</sup>สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง

### กลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านมาลาเรีย

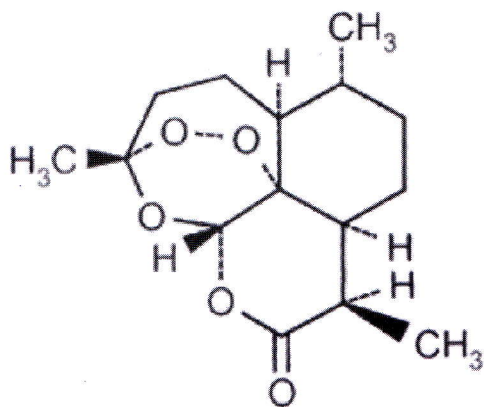
#### ยาคลอโรควินและยากุ่ม 4-อะมีโนควิโนลีน

แม้จะมีการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาคลอโรควินมานานแล้ว แต่ก็ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด ทราบเพียงว่าอาจจะเกี่ยวข้องกับการสะสมยาคลอโรควินใน digestive food vacuole ของเชื้อมาลาเรีย โดยพบว่าเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียมีการสะสมยาคลอโรควินมากกว่าเม็ดเลือดแดงปกติเป็นพันเท่า กลไกหลักของการสะสมยาคลอโรควินใน food vacuole นี้คาดว่าเกี่ยวข้องกับการจับของยาคลอโรควินกับ receptor ซึ่งคาดว่าเป็นจุดออกฤทธิ์เป้าหมายของยาคลอโรควินซึ่งก็คือ ferriprotoporphyrin IX (FPIX) ที่ digestive food vacuole นี้เองเป็นบริเวณที่เชื้อมาลาเรียนำฮีโมโกลบินที่ได้จากเม็ดเลือดแดงของโฮสต์มาย่อยสลายเรียกว่า ขบวนการ hemoglobin degradation เพื่อนำโปรตีนไปใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนฮีม (heme) ที่ถูกย่อยสลายออกมานั้นเป็นพิษต่อเชื้อมาลาเรีย ดังนั้นเชื้อมาลาเรียจึงต้องเปลี่ยนฮีมให้เป็น hemozoin หรือ malaria pigment โดยขบวนการ heme polymerization คลอโรควินและยากุ่ม 4-อะมีโนควิโนลีนออกฤทธิ์โดยการจับกับ FPIX โดยตรง จึงขัดขวางขบวนการ heme polymerization หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ heme polymerase

#### ยากุ่มควิโนลีนเมธานอล

จากข้อมูลการศึกษาที่มีอยู่คาดว่ายาเมฟโฟลควินและควินินมีกลไกการออกฤทธิ์ใกล้เคียงกับคลอโรควิน แต่เนื่องจากยากุ่มควิโนลีนเมธานอลมีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อนกว่าคลอโรควินและยาอื่นในกลุ่ม 4-อะมีโนควิโนลีนมาก จึงทำให้ยาสะสมใน digestive food vacuole ได้น้อยกว่าคลอโรควิน ฤทธิ์ฆ่าเชื้อจึงน่าจะต่ำกว่าคลอโรควิน แต่ตรงกันข้ามเมฟโฟลควินและควินินกลับมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อสูงกว่าคลอโรควิน จึงแสดงว่าน่าจะมียากลไกอื่นที่เกี่ยวข้องกับการนำยาเข้าสู่เซลล์ร่วมกับกลไกที่พบในยาคลอโรควิน ปัจจุบันเชื่อว่าเมฟโฟลควิน ควินินน่าจะออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายใน food vacuole ซึ่งก็คือการยับยั้งขบวนการ heme polymerization เช่นเดียวกับคลอโรควิน แต่แตกต่างกันที่ขั้นตอนและเป้าหมาย โดยเชื่อว่าเป้าหมายการออกฤทธิ์อาจเป็นโปรตีน Pgh-1 ซึ่งอยู่ที่เมมเบรนของ food vacuole แต่ก็ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงตำแหน่งที่อยู่ของโปรตีนนี้ว่าอยู่ที่เมมเบรนด้านในหรือด้านนอก หากโปรตีนนี้อยู่ด้านนอก การเพิ่มจำนวน copy ของยีน *pfmdr1* (over expression) น่าจะเพิ่มการนำเมฟโฟลควินเข้าสู่ food vacuole ทำให้เพิ่มความไวของเชื้อต่อยามากกว่าที่จะลดความไว (ดื้อ) ต่อยา ดังนั้นโปรตีน Pgh-1 จึงน่าจะเป็นโปรตีนเป้าหมายของการออกฤทธิ์ของเมฟโฟลควินโดยตรง การเกิด over expression อาจทำให้โปรตีนนี้ทำงานได้เมื่อมีตัวยับยั้งอยู่ด้วย

ยาอาร์ติมิซินิน (Artemisinin) และอนุพันธ์



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างยาอาร์ติมิซินิน

สูตรโครงสร้างยาอาร์ติมิซินินจะเป็น trioxane และมี peroxide bridge หรือออกซิเจน 1 และ 2 (รูปที่ 1) จากการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้พบว่า peroxide bridge เป็นส่วนสำคัญของยาอาร์ติมิซินิน และอนุพันธ์ในการออกฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เพราะส่วนนี้จะเป็นแหล่งของออกซิเจนซึ่งก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระ เช่น

hydroxyl และ superoxide สารอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการทำลายสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ ภายในตัวเชื้อ ดังนั้นการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้จึงเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดสารอนุมูลอิสระ การศึกษาต่อมาแสดงให้เห็นว่า อาร์ติมิซินินจะทำให้เกิด lipid peroxidation ซึ่งเป็นความเสียหายที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ แต่ยังไม่ทราบกลไกแน่ชัดในการแตกของ peroxide bridge แต่คาดว่าเมื่ออาร์ติมิซินินเข้าสู่ food vacuole ของมาลาเรีย อิมหรือเหล็กจะเข้ามาทำปฏิกิริยากับยาที่บริเวณ peroxide bridge ส่งผลให้เกิดการแตกตัวของออกซิเจน และเกิดสารอนุมูลอิสระตามมา ซึ่งจะเกิดผลเสียหายต่อเชื้อมาลาเรียดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น

ยาในกลุ่ม 8-อะมิโนควิโนลีน

กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม 8-อะมิโนควิโนลีน เช่น ไพรมาควิน อาจมีความสัมพันธ์กับกลไกการออกฤทธิ์ของยาอะโทวาควอน (atovaquone) ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม naphthaquinone ออกฤทธิ์โดยยับยั้ง cytochrome bc1 complex ในขบวนการ respiratory chain ที่เกิดในไมโทคอนเดรียของเชื้อมาลาเรีย

การดื้อยาของเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัม

ควิโนน

มีรายงานเชื้อฟัลซิพารัมดื้อต่อยาควิโนนครั้งแรกที่ประเทศบราซิลในปี ค.ศ. 1910 แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ทั้ง ๆ ที่มีการใช้ควิโนนกันมานานและใช้อย่างแพร่หลายมาก่อนที่จะใช้ยาสังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ แต่การดื้อควิโนนก็ไม่เพิ่มขึ้นมาก การดื้อควิโนนในระยะหลังส่วนใหญ่เกิดจากการให้ยาในขนาดต่ำหรือให้ยาไม่นานพอ ผู้ป่วยบางรายแม้จะได้รับควิโนนขนาดมาตรฐาน แต่ระดับยาในเลือดก็ไม่สูงพอ มักพบการดื้อควิโนนได้บ่อยในเด็ก เนื่องจากยาถูกกำจัดเร็ว ทำให้ระดับยาไม่ถึง minimum inhibitory concentration (MIC) ในประเทศไทยพบว่าจำเป็นต้องเพิ่มขนาดควิโนนใน 4 วันสุดท้าย เพื่อให้ได้ระดับยาที่สูงกว่า MIC จึงจะรักษาได้หายขาด ในผู้ใหญ่ก็พบการดื้อควิโนนได้บ้างโดยมากจะเป็นการดื้อแบบ RI แต่ถ้าใช้เตตราไซคลินร่วมด้วย

จะทำให้ผลการรักษาหายขาดเพิ่มขึ้น แต่ไม่ควรให้เตตราไซคลินในเด็กอายุต่ำกว่า 7 ปี ถ้าจำเป็นให้ใช้อีริโทรมัยซินแทน ในประเทศไทย MIC ของควิโนนต่อเชื้อฟัลซิพารัมเพิ่มขึ้นจาก 1.8 ไมโครโมล/มิลลิลิตร ในปี พ.ศ. 2524 เป็น 2.3 ไมโครโมล/มิลลิลิตร ในปี พ.ศ. 2541

คลอโรควิน

ในประเทศไทยพบว่าคลอโรควินเริ่มใช้รักษาผู้ป่วยมาลาเรียไม่ค่อยได้ผลมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 ต่อมาในปี พ.ศ. 2505 จึงมีรายงานยืนยันว่าเชื้อฟัลซิพารัมดื้อยาคลอโรควินภายในระยะเวลา 10 ปีต่อมาเชื้อมาลาเรียดื้อคลอโรควินแพร่กระจายไปทั่วประเทศไทย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และภูมิภาคเอเชียใต้ ในปี พ.ศ. 2521 พบการดื้อคลอโรควินในหลายประเทศของแอฟริกาตะวันออก ที่



ประเทศโคลัมเบีย ในทวีปอเมริกาใต้ ในปี พ.ศ. 2504 ต่อมาได้กระจายไปทั่วทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้

#### ซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธามีน

ยากลุ่มนี้เริ่มพบว่าให้การรักษาไม่ค่อยได้ผลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2521 โดยให้ผลการรักษาหายขาดเพียงร้อยละ 35-80 ในปี พ.ศ. 2523 พบว่าอัตราการรักษาหายขาดต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยเฉพาะเชื้อฟัลซิพารัมบริเวณชายแดนไทย กัมพูชาพบว่าดื้อต่อยานี้ในระดับสูงมาก ต่อมาจึงมีรายงานเชื้อฟัลซิพารัมดื้อยานี้ในประเทศลาว เวียดนาม เคนยา แทนซาเนีย โคลัมโบ และบราซิล ยาชนิดนี้ฆ่าเชื้อได้แต่จำเป็นต้องใช้เวลานานกว่าเชื้อจะหมดจากกระแสเลือดโดยเฉพาะในเด็กจะไม่ค่อยได้ผลนัก

#### เมฟโฟลควิน

เมฟโฟลควินเป็นยาที่นำมาใช้รักษามาลาเรียเมื่อประมาณ 20 ปีที่ผ่านมา ระยะเวลาให้ผลการรักษาดีมาก อัตราการรักษาหายขาดมากกว่าร้อยละ 95 แต่ปัจจุบันอัตราการรักษาหายขาดลดลงเหลือเพียงร้อยละ 70-80

## การดื้อยาในไวแวกซ์มาลาเรีย

ปัจจุบันมีรายงานเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ดื้อยาพัยริเมธามีน และได้แพร่กระจายไปอย่างรวดเร็ว รวมทั้งมีหลักฐานการดื้อข้ามกลุ่ม (cross-resistance) ระหว่างพัยริเมธามีน กับโปรกวานิลซึ่งออกฤทธิ์ต้านเอ็นซัยม์ dihydrofolate reductase นอกจากนี้มีรายงานเชื้อไวแวกซ์ดื้อยาไพโรมาควินโดยเฉพาะเชื้อไวแวกซ์สายพันธุ์ "chesson" หรือ tropical strain

บางพื้นที่พบเชื้อดื้อยาคิดนี้ในระดับสูง (RII/RIII) และพบได้ในประเทศที่ยังไม่เคยใช้ยานี้มาก่อนเลยด้วย เชื้อมาลาเรียที่ไวต่อเมฟโฟลควินจะถูกฆ่าเหลือเชื้อที่ดื้อยาอยู่ในกระแสเลือดทำให้ผู้ป่วยกลับเป็นมาลาเรียซ้ำอีก การใช้ยาคิดนี้อย่างพร่ำเพรื่อหรือใช้ในขนาดที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เชื้อดื้อยาได้เร็ว การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการใช้ยาซัลฟาไดออกซินชนิดออกฤทธิ์นาน หรือใช้พัยริเมธามีน ร่วมกับเมฟโฟลควินทำให้การดื้อเมฟโฟลควินเกิดได้ช้าลง จึงได้มีการนำยาทั้งสองชนิดมาผสมรวมกันเป็นยาล้ำเรือรูปเรียกชื่อทางการค้าว่า Fansimef® องค์การอนามัยโลกได้ตั้งหลักเกณฑ์ให้ใช้เมฟโฟลควิน เฉพาะผู้ที่เป็นฟัลซิพารัมมาลาเรียที่มีหลักฐานว่าดื้อต่อคลอโรควินเท่านั้น ไม่แนะนำให้ใช้ยานี้เพื่อป้องกันมาลาเรีย

#### การดื้อยาหลายชนิด (Multidrug Resistance Malaria)

ปัจจุบันพบว่าเชื้อฟัลซิพารัมดื้อต่อยาหลายชนิดที่มีใช้อยู่ (multidrug resistance) ซึ่งหมายถึงการดื้อต่อยามากกว่า 2 ชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่มที่มีโครงสร้างทางเคมีต่างกัน

ในประเทศไทยพบว่าไพโรมาควินขนาด 15 มก./วัน หรือ 22.5 มก./วัน ให้ติดต่อกันนาน 14 วัน ให้ผลการรักษาหายขาดเพียงร้อยละ 80 และ 90 ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์อื่น เช่น subtropical strain ใช้ไพโรมาควินขนาดต่ำกว่าถึง 1 เท่าก็ให้ผลการรักษาหายขาดได้



ยีน *pfmdr1* อยู่บนโครโมโซมที่ 5 เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน P-glycoprotein homologue-1 (Pgh-1) การกลายพันธุ์ที่บางตำแหน่งของยีนน่าจะเกี่ยวข้องกับการดื้อยาคลอโรควิน ถึงแม้ว่ายังไม่มียีนหลักฐานความสัมพันธ์กับการดื้อยาคลอโรควินเท่ากับที่พบในยีน *pfcr* การกลายพันธุ์ที่เกิดที่ยีน *pfmdr1* เช่นที่ codon 86 กรดอะมิโน aspartic acid ถูกแทนที่ด้วย tyrosine, หรือการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Phe184, Cys1034, Asp1042 และ Tyr1246

นอกจากยีน *pfcr* และ *pfmdr1* แล้วยังมียีนอื่น ๆ ที่มีผลการศึกษาแสดงความสัมพันธ์กับการดื้อยาคลอโรควิน เช่น ยีน *cg2* และยีน *pfcr* ยีน *cg2* เป็นยีนที่ถอดรหัสการสร้างโปรตีนขนาด 330 kDa พบว่ามีความหลากหลาย (polymorphisms) ของยีน *cg2* ในกรดอะมิโนถึง 12 ตำแหน่ง ส่วนยีน *pfcr* นั้นอาจเกี่ยวข้องกับการถอดรหัสโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการจับกับดีเอ็นเอในนิวเคลียส

#### ซัลฟาไดออกซิน/พัยริเมธาอามีน

ซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธาอามีนอยู่ในกลุ่มยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโฟเลต (folate) ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อพลาสโมเดียม ปัจจุบันกลไกการออกฤทธิ์และกลไกการดื้อยาซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธาอามีนเป็นที่ทราบแน่ชัดแล้ว

กลไกการดื้อยาซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธาอามีนในระดับโมเลกุลเกิดจากการกลายพันธุ์ของกรดอะมิโนในเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโฟเลต คือ เอ็นไซม์ dihydropteroate synthetase (DHPS) และ dihydrofolate reductase (DHFR) ตรงตำแหน่งที่เอ็นไซม์ทั้งสองจับกับยาซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธาอามีนตามลำดับ การกลายพันธุ์ทำให้ความสามารถที่จะจับกับยาซัลฟาไดออกซินและพัยริเมธาอามีนลดลง

การดื้อยาฟลิวาโดกซินเกิดจากการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโน 5 ตำแหน่งบนยีน *dhps* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการถอดรหัสการสร้างเอ็นไซม์ DHPS ได้แก่ Ala434, หรือ Phe436, Gly437, Glu540, Gly581 และ Ser613 หรือ The613 การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Gly437

และ Gly540 นั้นอาจพบเดี่ยว ๆ หรือพบร่วมกันก็ได้ ส่วนกลไกการดื้อยาพัยริเมธาอามีนนั้นจะเกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งหลัก คือ Asn108 ร่วมกับตำแหน่งอื่นอีก 3 ตำแหน่งคือ Ile51, Arg59 และ Leu164 และพบว่า quadruple mutation ที่มีกรกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Leu164 ทำให้เกิดการดื้อยาที่รุนแรงมากกว่า triple mutations ที่มีกรกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Ile51 และ Arg59 นอกจากนี้ยังพบว่ากรกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Ala16 และ Thr108 มีความสัมพันธ์กับการดื้อยาไซโคลกัวนิล (cycloguanil)

กลไกการดื้อยาดังกล่าวข้างต้นได้จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกรกลายพันธุ์ของยีนกับการตอบสนองของเชื้อพลาสโมเดียมต่อยา แต่ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ของยีน *dhfr* และ *dhps* กับการดื้อยาทางคลินิกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อพลาสโมเดียมที่มี *dhfr* ที่ยังไวต่อยาพัยริเมธาอามีนจะตอบสนองดีต่อการรักษาด้วยยาซัลฟาไดออกซิน/พัยริเมธาอามีน ไม่ว่า *dhfr* allele จะเป็นแบบใด

#### ควินิน

การกลายพันธุ์ของยีน *pfmdr1* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการดื้อยาคลอโรควินอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการดื้อยาควินินด้วยเช่นกัน โดยตำแหน่งการกลายพันธุ์ของยีนนี้ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการดื้อของเชื้อพลาสโมเดียมต่อควินินอยู่ที่ตำแหน่ง Asn86, Phe184, Asp1042, Tyr1246 และ Tyr86

#### เมฟโฟลควิน

มีรายงานการดื้อยาเมฟโฟลควินครั้งแรกในปี พ.ศ. 2523 ใกล้บริเวณชายแดนไทยกัมพูชา การดื้อยาเมฟโฟลควินนั้นมีหลักฐานแน่ชัดว่าเกี่ยวข้องกับการดื้อยา *pfmdr1* แต่กลไกการดื้อยายังไม่ทราบแน่ชัดเนื่องจากข้อมูลจากการศึกษาต่าง ๆ ยังคงมีความขัดแย้งกันอยู่ โดยเชื้อพลาสโมเดียมดื้อยาที่พบในประเทศไทยมีการเพิ่มจำนวน copy ของยีน *pfmdr1* แต่ผลการศึกษาต่อมาในประเทศไทยบราซิล ออฟริกา รวมทั้งบางการศึกษาในประเทศไทยไม่สามารถยืนยันการค้นพบนี้ได้ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า



นอกจากยีน *pfmdr1* แล้วยังมียีนอื่น ๆ อีกที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเมฟโฟลควิน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเชื้อฟัลซิพารัมที่มีการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Tyr86 (พบในประเทศแซมเบียและไทย) จะมีความไวต่อยาเมฟโฟลควินมากขึ้นซึ่งตรงกันข้ามกับที่พบในยาคลอโรควิน แต่การศึกษาโดยใช้ transfection system พบว่าเชื้อฟัลซิพารัมที่ดื้อยาเมฟโฟลควิน ควินิน และฮาโลแฟนทรินจะมี point mutation ที่ตำแหน่ง Ser1034, Asn1042 และ Asp1246

### อาร์ติมิซินิน

ปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานการดื้อยาของกลุ่มอาร์ติมิซินินและอนุพันธ์ของเชื้อฟัลซิพารัมภายหลังการรักษาด้วยยาในกลุ่มนี้ด้วยขนาดและขนาดที่เหมาะสม แต่จากการศึกษาในสัตว์ทดลองในหนู mice พบว่าเชื้อที่ดื้อยาอาร์ติมิซินินเกี่ยวข้องกับการลดการนำยาเข้าสู่เซลล์ และมีการแสดงออกที่มากเกินไปของโปรตีนเป้าหมาย คือ tumor proteins การศึกษาระดับโมเลกุลพบว่าการกลายพันธุ์ของยีน *pfmdr1* ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน Tyr86 อาจเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความไวของเชื้อฟัลซิพารัมต่อยาอาร์ติมิซินิน

## การพัฒนาต้านมาลาเรีย

การใช้เคมีบำบัดเป็นการควบคุมโรคมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพ แต่มักประสบกับปัญหาที่สำคัญคือเชื้อฟัลซิพารัมดื้อต่อยาต้านมาลาเรียแทบทุกชนิดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องคิดค้นยาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ ๆ ขึ้นมาแทน การพัฒนาต้านมาลาเรียมีแนวทางที่สำคัญ 2 ประการคือ การนำยาต้านมาลาเรียที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมาวิเคราะห์โครงสร้าง และสังเคราะห์

## เป้าหมายของยาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ๆ

จากการศึกษาชีววิทยาและจีโนมของเชื้อฟัลซิพารัมพบส่วนประกอบของเชื้อที่น่าสนใจที่สามารถใช้เป็น

ข้อมูลจากการศึกษาโดยใช้ transfection system พบว่าการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง Ser1034, Asn1042 และ Asp1246 ช่วยเพิ่มการเปลี่ยนแปลงความไวของเชื้อต่อยาอาร์ติมิซินิน การศึกษาล่าสุดพบว่าเป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มอาร์ติมิซินินคือยีน *pfATPase6* และยังพบว่าการกลายพันธุ์ของยีนที่ตำแหน่ง S769N ของเชื้อฟัลซิพารัมสายพันธุ์จาก French Guiana มีความสัมพันธ์กับค่า  $IC_{50}$  ที่สูงขึ้นของยาในกลุ่มนี้

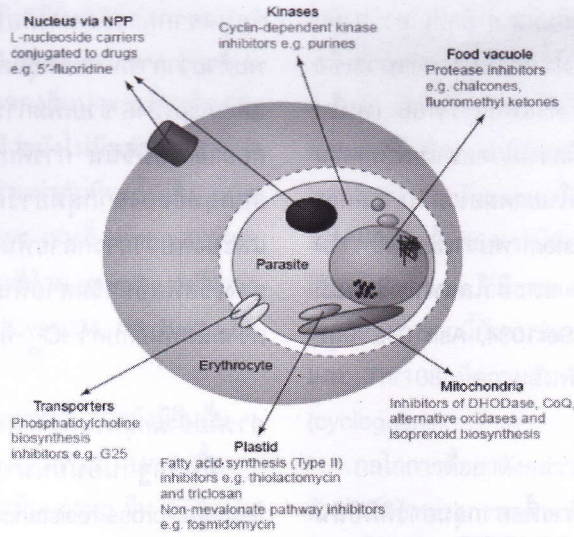
### การดื้อข้ามกลุ่มระหว่างยาด้านมาลาเรีย

มีหลักฐานยืนยันมากมายที่แสดงถึงการดื้อยาข้ามกลุ่ม (cross resistance) ระหว่างยาคลอโรควินและอะโมดิเอควิน, ระหว่างควินินและเมฟโฟลควิน และระหว่างยาควินิน เมฟโฟลควิน และฮาโลแฟนทริน แต่ไม่พบการดื้อข้ามกลุ่มระหว่างยา 4-อะมิโนควิโนลิโนกับกลุ่มควิโนลิโนเมธานอล ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าเชื้อที่ดื้อต่อยาเมฟโฟลควิน ควินิน และฮาโลแฟนทรินจะไวต่อยาคลอโรควินและอะโมดิเอควิน แสดงว่าเชื้อฟัลซิพารัมที่ดื้อต่อยาคลอโรควินในระดับสูงจะกลับทำให้มีความไวต่อยาในกลุ่มควิโนลิโนเมธานอลเพิ่มขึ้น

สารใหม่ที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม ส่วนอีกแนวทางหนึ่งคือการวิเคราะห์ชีววิทยาของเชื้อฟัลซิพารัมเพื่อหาเป้าหมายใหม่ ๆ เพื่อการสังเคราะห์ยาต้านมาลาเรียแนวทางนี้กำลังเป็นที่สนใจของนักวิจัย เพราะคาดว่าจะได้ยาต้านมาลาเรียที่มีโครงสร้างแตกต่างไปจากเดิมซึ่งจะสามารถแก้ปัญหาการดื้อยาของเชื้อฟัลซิพารัมได้

เป้าหมายใหม่ ๆ ในการพัฒนาต้านมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพ ดังแสดงในรูปที่ 2





รูปที่ 2 เป้าหมายใหม่ในการพัฒนายาต้านมาลาเรีย

(Antimalarial chemotherapy : young guns or back to the future ? Biagini et al., Trend in Parasitology 2003; 19: 479-487)

## เป้าหมายสำคัญในการพัฒนายาต้านมาลาเรีย

### 1. กระบวนการสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์

ในระหว่างการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศของเชื้อมาลาเรีย (asexual cycle) เชื้อจะอยู่ในเม็ดเลือดแดง ระยะเวลาเชื้อมาลาเรียจะสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์จำนวนมากเพื่อใช้ในการแบ่งตัวในระยะไซซอนต์ กระบวนการนี้มีเฉพาะในเชื้อมาลาเรียเท่านั้นไม่พบในโฮสต์ ดังนั้นจึงเป็นเป้าหมายสำคัญของการพัฒนายาต้านมาลาเรีย ในปี พ.ศ. 2541 Vial และคณะค้นพบสาร G25 ที่คาดว่าจะเป็ยยาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ สารนี้มีสูตรโครงสร้างเหมือนกับสารโคลีน (Choline) ที่สามารถยับยั้งการสร้าง phosphatidylcholine ในเชื้อมาลาเรีย การทดสอบในหลอดทดลองพบว่า G25 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อฟัลซิพารัมและเชื้อไวแวกซ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงมาก โดยมีค่า inhibitory concentration 50 (IC<sub>50</sub>) ต่ำ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม น้อยมาก ประมาณ 1000 เท่า เมื่อเทียบกับความเป็นพิษต่อเชื้อมาลาเรีย และยังพบว่า G25 สะสมเฉพาะในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียเท่านั้น การทดสอบ G25 ในสัตว์ทดลอง พบว่าสามารถรักษาการติดเชื้อฟัลซิพารัมและเชื้อไซโนโมลกี (*P. cynomolgi*) ซึ่งเป็นเชื้อมาลาเรียในลิงได้ ดังนั้น G25

จึงน่าจะเป็นเป้าหมายของการพัฒนายาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ได้ดี

### 2. อะพิโคพลาสต์ (apicoplast)

การศึกษาทางชีววิทยาในระดับโมเลกุลและชีววิทยาของเชื้อมาลาเรียพบว่า เชื้อฟัลซิพารัมรวมถึงปรสิตอื่น ๆ ในไฟลัม (Phylum) นี้มีออร์แกเนลล์ (organelle) ที่มีลักษณะคล้ายกับพลาสติดในพืชเรียกว่า “อะพิโคพลาสต์” ออร์แกเนลล์นี้คาดว่าเกิดจากเชื้อมาลาเรียที่เอนโดไซโตซิสสาหร่ายสีแดงในสมัยโบราณเข้าสู่เซลล์จนพัฒนากลายเป็นส่วนหนึ่งของเชื้ออะพิโคพลาสต์มีจีโนมเป็นแบบวงกลมเล็ก ๆ โปรตีนส่วนใหญ่ในอะพิโคพลาสต์ได้มาจากจีโนมของเชื้อ แม้ว่าปัจจุบันอะพิโคพลาสต์ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้เหมือนในอดีต แต่มีหน้าที่สังเคราะห์สารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเชื้อมาลาเรีย โดยเฉพาะกรดไขมัน ไอโซพรีนอยด์ และฮีม กระบวนการเหล่านี้เป็นเป้าหมายที่สำคัญของการพัฒนายาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ ๆ การพัฒนายาต้านมาลาเรียโดยอาศัยอะพิโคพลาสต์เป็นเป้าหมายนั้น กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันแบบ



ที่สอง เป็นเป้าหมายที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งพบว่าการยับยั้ง เอนไซม์ในกระบวนการนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ พิลาซิทารัมในหลอดทดลองได้ เช่น ยาแลคโตมัซซิน ออกฤทธิ์ที่จำเพาะกับเอนไซม์  $\beta$ -ketoacyl-ACP synthase เป็นต้น

กระบวนการที่เป็นเป้าหมายสำคัญอีกอย่างหนึ่งของการพัฒนายาต้านมาลาเรียคือ กระบวนการสังเคราะห์สาร ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) โดยพบว่าในอะพิโคพลาสต์ของเชื้อมาลาเรียมีการสังเคราะห์สารนี้ผ่านกระบวนการที่ไม่ขึ้นอยู่กับ mevalonate ซึ่งแตกต่างกับโฮสต์ ตัวอย่างยาที่ใช้ยับยั้งกระบวนการนี้ได้แก่ ยาฟอสโฟดีมัยซิน ซึ่งยับยั้งเอนไซม์ 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase ยานี้มีประสิทธิภาพสูงและค่อนข้างปลอดภัยเมื่อใช้กับผู้ป่วยมาลาเรีย

### 3. การสลายโปรตีนของโฮสต์

ปกติแล้วฮีโมโกลบินของโฮสต์ประมาณร้อยละ 70 จะถูกย่อยสลายในตัวเชื้อมาลาเรีย โปรตีนที่ได้มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ดังนั้นเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสลายฮีโมโกลบินจึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญของการพัฒนายาต้านมาลาเรีย สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ในกระบวนการสลายโปรตีนได้แก่ fluoromethyl ketone ซึ่งยับยั้งเอนไซม์ cysteine protease และ statine มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ aspartic proteases เป็นต้น

### 4. การควบคุมวงจรชีวิตของเซลล์

เอนไซม์ที่สำคัญในการควบคุมวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียได้แก่ cyclin-dependent kinase (CDK) มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาไปเป็นระยะต่าง ๆ เอนไซม์ที่สำคัญและมีการศึกษาถึงมากที่สุดได้แก่ PfPK5, PfPK6 และ PfRK เอนไซม์เหล่านี้มีความคล้ายคลึงกับเอนไซม์เหล่านี้ของคน แต่ก็มีแตกต่างกันในบางส่วน ทำให้สามารถแยกจากกันได้ เอนไซม์เหล่านี้จึงเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจในการพัฒนายาต้านมาลาเรีย สารยับยั้งเอนไซม์ CDK ที่น่าจะนำมาใช้เป็นยาต้านมาลาเรียได้คือ paullones และ oxindoles แต่ยังไม่ผ่านขั้นตอนการคัดกรองและทดสอบในหลอดทดลอง

### 5. การขนส่งสารเข้าออกเซลล์ของเชื้อมาลาเรีย (transportation)

การเจริญของเชื้อมาลาเรียจากระยะวงแหวนไปสู่ระยะโทรโฟซอइटจำเป็นต้องได้รับสารต่าง ๆ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงของโฮสต์ ที่เยื่อหุ้มเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องมาจากการชักนำของเชื้อทำให้เกิดกระบวนการซึมผ่านของสารละลายแบบใหม่ขึ้น การซึมผ่านของสารละลายนี้มักจะจำเพาะต่อสารที่มีประจุลบ (anion selective) จากคุณสมบัติของการขนส่งสารเข้าออกเซลล์ของเชื้อมาลาเรียที่แตกต่างจากเม็ดเลือดแดงปกตินี้ ทำให้เป็นเป้าหมายที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่งของการพัฒนายาต้านมาลาเรีย การออกแบบยาต้านมาลาเรียในกระบวนการนี้จะมี 2 แนวคิด คือ

- ก. พัฒนายาต้านมาลาเรียที่จะยับยั้งการขนส่งสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย หรือ
- ข. พัฒนายาต้านมาลาเรียที่จำเพาะต่อการขนส่งสาร โดยทำให้ยาสามารถผ่านเข้าเซลล์ของเชื้อมาลาเรียได้แล้วออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ปัจจุบันงานวิจัยส่วนมากมุ่งไปที่การพัฒนายาต้านมาลาเรียที่จำเพาะต่อการขนส่งสาร ตัวอย่างเช่นสาร L-nucleoside และสาร choline analogues เป็นต้น

### 6. ไมโตคอนเดรียของเชื้อมาลาเรีย

แต่เดิมหน้าที่ของไมโตคอนเดรียของเชื้อมาลาเรีย ถูกมองว่าไม่ค่อยมีความสำคัญเท่าไรนัก แต่จากการศึกษา มาลาเรียจีโนมพบว่า ไมโตคอนเดรียของเชื้อมาลาเรียมีหน้าที่สำคัญใน respiratory chain ซึ่งเกี่ยวข้องกับการส่งถ่ายอิเล็กตรอน เอนไซม์ tricarboxylic acid (TCA) และสารประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการส่งถ่ายอิเล็กตรอน ส่วนประกอบที่สำคัญของไมโตคอนเดรียที่น่าจับตามองคือ ubiquinone (CoQ) โดยเฉพาะ CoQ8 ที่มีความแตกต่างจากโฮสต์ ยาต้านมาลาเรียหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง CoQ8 ที่รู้จักดีได้แก่ ยาอะโทวาโคควอน ซึ่งเป็นยาที่ยับยั้งการทำงานของ CoQ โดยเข้าไปจับกับ cytochrome b ใน complex III



CoQ เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นศูนย์รวมของการส่งถ่ายอิเล็กตรอน การยับยั้งกระบวนการนี้ทำให้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ dihydro-orotate dehydrogenase (DHODase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญใน

การสร้างสารตั้งต้นของลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ นอกจากนี้ไมโตคอนเดรียของเชื้อมาลาเรียระยะที่อยู่ในกระแสเลือดจะมีหน้าที่เฉพาะในการสังเคราะห์สารต่าง ๆ แต่ขณะนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นสารชนิดใด

## เอกสารอ้างอิง

1. Biagini GA, O'Neill PM, Nzila A, Ward SA, Bray PG. Antimalarial chemotherapy: young guns or back to the future? *Trends Parasitol* 2003; 19: 479-87.
2. Bray PG, Ward SA, O'Neill PM. Quinolines and artemisinin: chemistry, biology and history. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 295: 3-38.
3. Cooper RA, Hartwig CL, Ferdig MT. *pfcr* is more than the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance gene: a functional and evolutionary perspective. *Acta Trop* 2005; 94: 170-80.
4. Duraisingh MT, Refour P. Multiple drug resistance genes in malaria--from epistasis to epidemiology. *Mol Microbiol* 2005; 57: 874-7.
5. Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacol Ther* 1998; 79: 55-87.
6. Lichtenthaler HK, Zeidler J, Schwender J, Muller C. The non-mevalonate isoprenoid biosynthesis of plants as a test system for new herbicides and drugs against pathogenic bacteria and the malaria parasite. *Z Naturforsch [C]* 2000; 55: 305-13.
7. Macreadie I, Ginsburg H, Sirawaraporn W, Tilley L. Antimalarial drug development and new targets. *Parasitol Today* 2000; 16: 438-44.
8. Meshnick SR. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. *Int J Parasitol* 2002; 32: 1655-60.
9. Nzila A. The past, present and future of antifolates in the treatment of *Plasmodium falciparum* infection. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 1043-54.
10. Pattanaik P, Raman J, Balaram H. Perspectives in drug design against malaria. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 483-505.
11. Price RN, Uhlemann AC, Brockman A, McGready R, Ashley E, Phaipun L, et al. Mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* and increased *pfmdr1* gene copy number. *Lancet* 2004; 364: 438-47.
12. Ralph SA, D'Ombra MC, McFadden GI. The apicoplast as an antimalarial drug target. *Drug Resist Updat* 2001; 4: 145-51.
13. Reed MB, Saliba KJ, Caruana SR, Kirk K, Cowman AF. Pgh1 modulates sensitivity and resistance to multiple antimalarials in *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2000; 403: 906-9.
14. Rosenthal PJ. Proteases of malaria parasites: new targets for chemotherapy. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 49-57.
15. Sharma YD. Genetic alteration in drug resistance markers of *Plasmodium falciparum*. *Indian J Med Res* 2005; 121: 13-22.

16. Sriram D, Rao VS, Chandrasekhara KV, Yogeewari P. Progress in the research of artemisinin and its analogues as antimalarials: an update. *Nat Prod Res* 2004; 18: 503-27.
17. Sullivan DJ. Theories on malarial pigment formation and quinoline action. *Int J Parasitol* 2002; 32: 1645-53.
18. Vaidya AB, Mather MW. Atovaquone resistance in malaria parasites. *Drug Resist Updat* 2000; 3: 283-7.
19. Yuthavong Y. Basis for antifolate action and resistance in malaria. *Microbes Infect* 2002; 4: 175-82.

