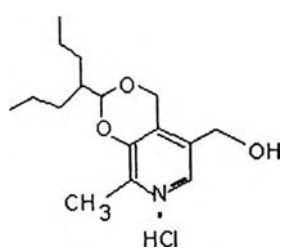
บทที่ 1

บทนำ

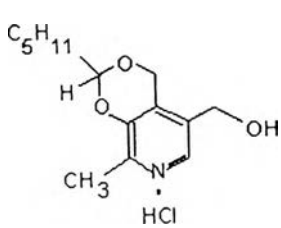
CU 763-10-01 และอนุพันธ์

CU 763-10-01 เป็นสารสังเคราะห์มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ละลายได้ดีในน้ำ, เอธานอล , เมธานอล, คลอโรฟอร์ม และอะซีโตน มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 315.85 และมีจุดหลอมเหลว 172-174°C (รูปที่ 1) ได้ถูกพัฒนาขึ้นโดย ผศ.ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้จากการรวมสูตรโครงสร้างของ 2-propylpentanal acetals ซึ่งเป็น prodrug ของ valproic acid เข้ากับ pyridoxine โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ออกฤทธิ์เป็นยาต้านชัก และลดปัญหาการเตรียมตำรับยา เนื่องจาก valproic acid ไม่ละลายน้ำ ส่วนสาเหตุที่ใช้ pyridoxine (vitamin B_6) รวมเข้าไปในโครงสร้าง เนื่องจาก pyridoxine ทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ของ glutamic acid decarboxylase (GAD) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสร้าง GABA (inhibitory neurotransmitter) การขาด vitamin B_6 อาจทำให้เกิดการชักได้ จึงเป็นที่คาดว่าเมื่อ CU 763-10-01 เข้าสู่ร่างกายจะผ่านกระบวนการเมตาบอลิสึมได้เป็น valproic acid และ pyridoxine



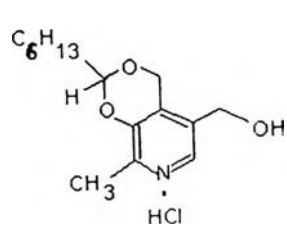
CU 763-10-01

MW = 315.85



CU 763-14-07

MW = 287



CU 763-14-10

MW = 301

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ CU 763-10-01 และอนุพันธ์ (CU 763-14-07 และ CU 763-14-10)

จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้นในหนูถีบจักร พบว่า CU 763-10-01 ออกฤทธิ์ต้านชักที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฟฟ้า (Maximal Electroshock Seizure, MES) โดยขนาดของยาที่สามารถป้องกันการชักได้ร้อยละ 50 (median effective dose : ED_{50}) เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า valproic acid (ED_{50} = 320 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) การศึกษาด้านพิษวิทยาของสารต่อการทำงานของระบบประสาทโดยวิธี Rotorod test พบว่าขนาดที่มีผลต่อการทำงานของระบบประสาทที่ทำให้กล้ามเนื้อเสียไปร้อยละ 50 (median neurotoxic dose, TD_{50}) เท่ากับ 310 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าของ valproic acid (TD_{50} = 430 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) แต่ขนาดที่ให้ผลในการต้านชักไม่มีผลต่อระบบประสาท (มยุรี ตันติสิระ และทิพย์สุชน ชุนงาม, 2538)

การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นต่อกล้ามเนื้อเรียบของกระต่ายและหนูขาว พบว่า CU 763-10-01 ออกฤทธิ์เป็น nonspecific antagonist สามารถยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อลำไส้เล็กกระต่ายได้ ลดการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดแดงกระต่าย และลดการหดตัวของกล้ามเนื้อท่ออสุจิของหนูขาวได้ โดยมีกลไกไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ผ่านทาง ROC (receptor operated calcium channel) หรือ POC (potential operated calcium channel) เป็นหลัก (อุรารัตน์ ศักดิ์สิทธิ์วิวัฒนะ, 2539)

การศึกษาทางด้านผลต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว พบว่า CU 763-10-01 มีผลต่อหน้าที่ทางชีวพลังงานของไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของไมโตคอนเดรียทั้ง state 3 และ 3u เมื่อใช้ NAD^+ -linked substrate (glutamate+malate, α-ketoglutarate และ β-hydroxybutyrate) มีการยับยั้งเป็นแบบ dose-dependent มีค่า IC50 เท่ากับ 6.60 μM แต่จะมีผลยับยั้งน้อยมากเมื่อใช้ succinate เป็นสับสเตรท และได้สรุปว่า CU 763-10-01 ยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนในลูกโซ่หายใจที่ complex I แสดงว่าสารนี้มีผลต่อกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชั่น (oxidative phosphorylation) ของไมโตคอนเดรีย และพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว (สุธาทิพ เกษตรลักษมี, 2539)

จากการที่ CU 763-10-01 มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายประการดังกล่าวรวมทั้งการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ทำให้มีการสังเคราะห์สารใหม่ขึ้นมาจำนวนหนึ่ง โดยดัดแปลงสูตรโครงสร้างบางส่วนของ CU 763-10-01 เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเบื้องต้น ในจำนวนนี้มี CU 763-14-07 และ CU 763-14-10 รวมอยู่ด้วย (สุทธาทิพย์ ปรัชญชรินกร, 2540) ดังแสดงในรูปที่ 1

จากการศึกษาผลของ CU 763-10-01 และอนุพันธ์คือ CU 763-14-07 ต่อสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว เปรียบเทียบกับ clorgyline (selective MAO-A inhibitor) และ pargyline (nonselective inhibitor) พบว่าสารทั้งสองตัวเป็น nonselective inhibitors โดย CU 763-14-07 มีความแรงในการยับยั้งเอนไซม์มากกว่า CU 763-10-01 นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาจลนศาสตร์ของการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส พบว่า CU 763-10-01 มีการยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) ส่วน CU 763-14-07 พบว่ามีการยับยั้งแบบผสม (mixed inhibition) ระหว่างการยับยั้งแบบแข่งขันและไม่แข่งขัน (competitive-non-competitive inhibition) ในกรณีการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ และมีการยับยั้งแบบแข่งขัน ในกรณีการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (ชนิกา รัตนชล, 2540)

สืบเนื่องจากผลการวิจัยดังกล่าว จึงนำมาสู่การสังเคราะห์ CU 763-14-10 ขึ้นมาและเป็นสารอนุพันธ์อีกตัวหนึ่งของ CU 763-10-01 เช่นกัน จากการศึกษานำร่องพบว่า CU 763-14-10 มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาวโดยใช้ tyramine เป็นสับสเตรทได้ แต่มีผลต่อกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริลเลชั่นของไมโตคอนเดรียน้อยกว่า CU 763-10-01ดังนั้นในการวิจัยนี้จะทำการศึกษาฤทธิ์ของสารทั้งสองตัวนี้ต่อสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งชนิดเอและบี ความน่าสนใจอยู่ที่ว่าถ้าสารนี้มีความสามารถที่จะยับยั้งเอนไซม์ได้ดี และมีความจำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดใดชนิดหนึ่งแล้ว จะนำไปสู่การศึกษาวิจัยและพัฒนาสารในกลุ่มนี้ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ต่อไป

Monoamine oxidase (MAO)

เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (Monoamine oxidase ; MAO) พบได้ทั่วไปในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในอวัยวะต่างๆ เช่น สมอง, ตับ, ลำไส้ และอวัยวะอื่นๆ ในปริมาณที่แตกต่างกันไป เอนไซม์นี้จะอยู่ที่ผนังชั้นนอกของไมโตคอนเดรีย โดยฝังตัวแน่นในลักษณะของ integral protein (Schnaitman, Erwin and Greenawalt, 1967) เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา oxidative deamination ของสารสื่อประสาทเอมีนต่างๆ ได้แก่ epinephrine, norepinephrine, dopamine, tyramine และ 5-hydroxytryptamine (5-HT) โดยมีบทบาทสำคัญในการควบคุมปริมาณของสารเหล่านี้ในระบบประสาท ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิสมสารกลุ่ม catecholamines ร่วมกับกระบวนการ methylation และ conjugation นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ควบคุมปริมาณสารเอมีนอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นยาหรืออาหารที่ร่างกายได้รับจากภายนอกอีกด้วย

แหล่งสำคัญของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส

เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสพบกระจายอยู่ทั่วไปในอวัยวะต่างๆ โดยจะมีสมรรถนะ (activity) ของเอนไซม์ทั้งสองชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกัน (Houslay, Tipton and Yodim, 1976) เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสมีลักษณะเป็นไอโซไซม์ (isozymes) ที่มีหลายชนิด (multiple forms) ซึ่งมีอยู่สองชนิดที่มีความสำคัญและมีการศึกษากันมากคือเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (MAO-A) และเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (MAO-B) ดังตัวอย่างที่แสดงสัดส่วนของสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิดของหนูขาวในแต่ละอวัยวะ พบว่ามีสัดส่วนของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งชนิดเอและชนิดบีที่แตกต่างกัน โดยพบสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอสูงที่สุดในส่วนของม้าม (spleen) ส่วนสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีพบสูงที่สุดในส่วนของ denervated pineal gland (ตารางที่ 1)

Organs	Species A Activity (Percent of total)	Species B Activity (Percent of total)
Liver	40	60
Liver Parenchymal Cells	50	50
Denervated Liver	40	60
Kidney	70	30
Intestine	70	30
Intestinal Mucosa	60-70	30-40
Spleen	95	5
Lung	50	50
Testis	90	10
Brain	55	45
Superior Cervical Ganglia	90	10
Pineal Gland	15	85
Denervated Pineal Gland	5	95
Vas Deferens	50	50
Denervated Vas Deferens	35	65

ตารางที่ 1 แสดงสัดส่วนของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสแอคติวิตี้ทั้งสองชนิดของหนูขาว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเลือกชนิดและอวัยวะของสัตว์ทดลองสำหรับทำการศึกษา เพื่อใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ทั้งการศึกษาใน *in vitro* และ *in vivo* เป็นสิ่งสำคัญที่ควรพิจารณา โดยอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่มักจะเลือกใช้ในการศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ทั้งสองชนิดใน *in vitro* เป็นส่วนใหญ่ คือ สมองและตับของหนูขาว เนื่องจากสามารถศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ได้ทั้งสองชนิด โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสที่พบในสมองส่วนใหญ่มีสมรรถนะของเอนไซม์ทั้งสองชนิดใกล้เคียงกัน (Neff and Yang, 1974) เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนี้นอกจากจะพบที่ระบบประสาทส่วนกลางแล้ว ยังพบได้ที่ระบบประสาทส่วนปลายโดยเฉพาะที่ปลายประสาทซิมพาเธติก (sympathetic) แต่ไม่พบสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสที่ปลายประสาทโคลิเนอจิก (cholinergic) บางแห่งพบสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดใดชนิดหนึ่งมากกว่าเช่น ในเกร็ดเลือด (human platelet) พบสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีมากกว่าเก้าสิบเปอร์เซนต์ (Collins and Sandler, 1971 ; Donnelly and Murphy, 1977) ตรงกันข้ามกับบริเวณปลายประสาทเช่น บริเวณ superior cervical ganglion ซึ่งจะพบว่ามีสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอมากกว่าถึงเก้าสิบเปอร์เซนต์ (Goridis and Neff, 1971) ดังนั้นกรณีที่ต้องการศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดใดชนิดหนึ่ง อาจเลือกอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่มีสมรรถนะเฉพาะเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดนั้นๆเด่นกว่าอีกชนิดหนึ่ง ดังเช่น การศึกษาเฉพาะสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี ส่วนใหญ่จึงมักเลือกใช้เกร็ดเลือดเป็นแหล่งของเอนไซม์ โดยยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในเกร็ดเลือดจะสัมพันธ์โดยตรงกับการยับยั้งเอนไซม์นี้ในสมอง ส่วนการศึกษาสมรรถนะเฉพาะเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ จะใช้รก (human placenta) ในการศึกษาวิจัย

โครงสร้างและคุณสมบัติของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส

การศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนั้น มีการศึกษากันมานานแล้วแต่มีข้อขัดแย้งกันมาก พบว่ามีสาเหตุมาจากส่วนประกอบของผนังชั้นนอกของไมโตคอนเดรียที่เอนไซม์ฝังตัวอยู่นั้นไม่ละลาย (Schnaitman et al., 1967) ทำให้การแยกเอนไซม์ออกจากผนังหุ้ม (purified) ก่อนนำมาทำการศึกษา ส่วนใหญ่จึงต้องใช้สาร detergent ไปทำลายเมมเบรนเพื่อละลายเอนไซม์ก่อน จากนั้นจึงจะสามารถแยกเอนไซม์ได้โดยวิธี electrophoresis เมื่อได้แถบของเอนไซม์ชนิดต่างๆออกมาแล้วจึงนำเอนไซม์แต่ละชนิดนั้นมาศึกษาถึงคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเตรทและต่อตัวยับยั้ง ในระยะแรกมีการศึกษาโดยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสจากตับหนูขาวและจากรกของคน จะถูกจำแนกออกเป็นหลายชนิดโดยมีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์สับสเตรทและความไวในการถูกยับยั้งแตกต่างกัน (Yodim and Sandler, 1967) ในขณะเดียวกันก็มีผู้พบเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสจากตับและสมองหนูขาว โดยใช้วิธี cellulose acetate

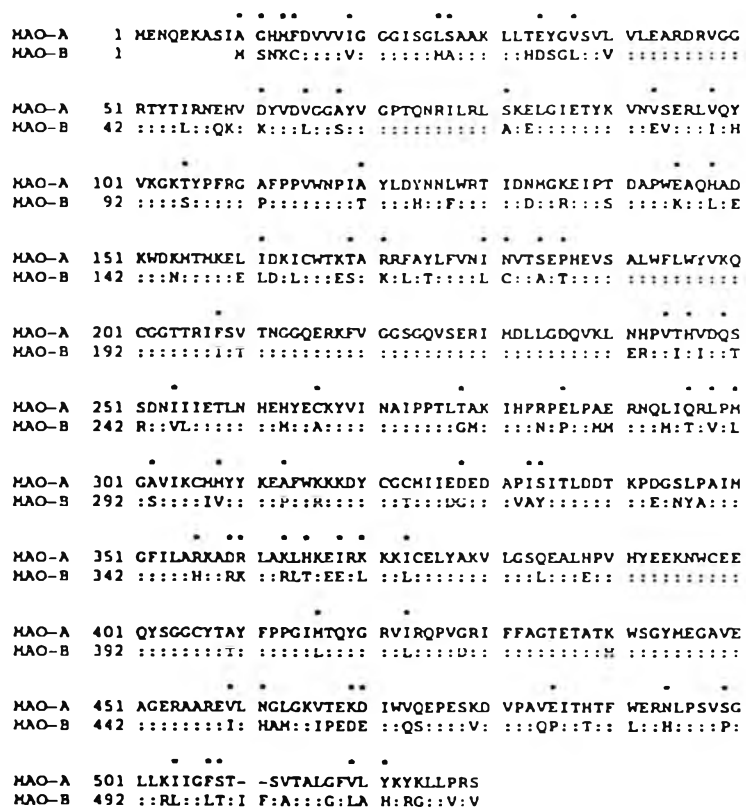
electrophoresis (Kim and D'Iorio, 1968) แต่ต่อมาได้มีผู้ทำการศึกษาและวิจัยพบว่าถ้าแยกเอนไซม์ออกจากเมมเบรนเพียงบางส่วนด้วย perchlorate ก่อนทำ electrophoresis จะพบเอนไซม์เพียงชนิดเดียว พร้อมทั้งเสนอว่าการพบเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสหลายชนิดในร่างกาย แท้จริงเป็นผลมาจากคุณสมบัติของ phospholipid บริเวณที่เอนไซม์ฝังตัวอยู่ และการพบเอนไซม์หลายชนิดโดยวิธี electrophoresis นั้น เกิดขึ้นเนื่องจากขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์ที่ต้องใช้สารพวก sephadex ในการทำลายเมมเบรนเพื่อแยกเอนไซม์ออกมา ทำให้เกิดการเกาะกันและตกตะกอนของเอนไซม์ (Housley and Tipton, 1973)

จากการศึกษาที่พบว่าเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสมีลักษณะเป็นไอโซไซม์ (isozymes) ที่มีหลายชนิด (multiple forms) ซึ่งมีอยู่สองชนิดที่มีความสำคัญและมีการศึกษากันมากคือเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (MAO-A) และเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (MAO-B) เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีกำเนิดมาจากยีนคนละตัวซึ่งมีความใกล้ชิดกันมากบน short arm ของ X-chromosome (Levy et al.,1989) โครงสร้างของสายโปรตีนมีทั้งความเหมือนและแตกต่างกันในบางส่วน จากการศึกษาโดยวิธี cDNA cloning พบว่าเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ และเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีมีขนาดต่างกันเล็กน้อย

- ในมนุษย์ (Bach et al., 1988 ; Hsu, 1988)
  เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (MAO-A) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 527 หน่วย
  เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (MAO-B) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 520 หน่วย
- ในหนูขาว (Ito et al., 1988 ; Kuwahara, Takamoto and Ito, 1990)
  เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (MAO-A) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 526 หน่วย
  เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (MAO-B) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 520 หน่วย

เมื่อเปรียบเทียบการเรียงลำดับกรดอะมิโนในสายโปรตีนของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเดียวกันในสัตว์แต่ละชนิด พบว่ามีความเหมือนกันมากกว่าเอนไซม์ต่างชนิดในสัตว์ชนิดเดียวกัน ตัวอย่างเช่น เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีในมนุษย์กับหนูขาวเหมือนกันถึงเกือบร้อยละเก้าสิบ ในขณะที่เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอและชนิดบีในมนุษย์เหมือนกันเพียงร้อยละเจ็ดสิบ (Powell, 1991) ความเหมือนกันในการเรียงลำดับกรดอะมิโนในสายโปรตีนของเอนไซม์นี้ในสัตว์แต่ละชนิด เป็นการรักษาส่วนสำคัญของเอนไซม์ในช่วงวิวัฒนาการ บริเวณที่เหมือนกันในสัตว์ทุกชนิดและในเอนไซม์ทั้งสองชนิดคือ ส่วนที่อยู่ใกล้กับ C-terminus บนสายโปรตีน รวมทั้งบริเวณที่ ฟลาวินโคแฟคเตอร์ (flavin cofactor) เกาะกับเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์ ก็คือตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 406 ในสายโปรตีนโมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ และตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 397 ในสายโปรตีนโมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี รวมทั้ง

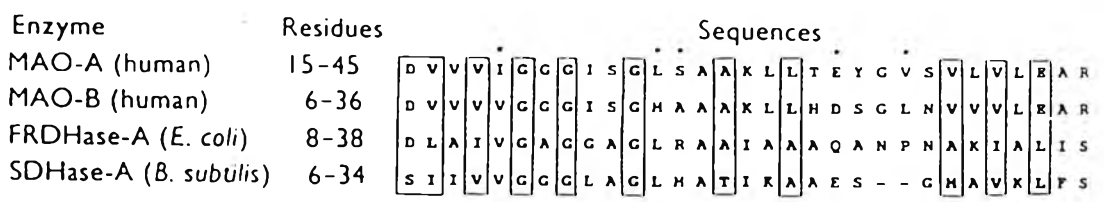
บริเวณที่อยู่กลางๆของสายโปรตีน คือตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 187-230 ในสายโปรตีนโมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ ส่วนบริเวณที่มีตำแหน่งของกรดอะมิโนต่างกันระหว่างเอนไซม์สองชนิดซึ่งจะเป็นลักษณะอย่างเดียวกันนี้ในสัตว์ทุกชนิด ที่เชื่อว่าเป็นบริเวณสำคัญที่มีส่วนทำให้เอนไซม์ชนิดเอและชนิดบีมีคุณสมบัติต่างกัน โดยจะพบตำแหน่งที่มีความต่างกันนี้กระจายอยู่ทั่วไป แต่จะพบหนาแน่นตรงบริเวณ N-terminus และบริเวณตำแหน่งที่ 360 บนสายโปรตีนของโมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (รูปที่ 2)



Sequences were deduced from cDNA clones. Colons indicate identity between MAO-A and MAO-B sequences, conserved amino acid residues differing between MAO-A and MAO-B are marked by asterisks.

รูปที่ 2 เปรียบเทียบการเรียงลำดับกรดอะมิโนในเอนไซม์ทั้งสองชนิดของมนุษย์

เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสประกอบด้วย flavin adenine dinucleotide (FAD) เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) จากการทดลองในสัตว์หลายชนิดพบว่ามีจำนวน flavin adenine dinucleotide 1 โมลต่อโมโนเอมีนออกซิเดสโปรตีน 120,000 – 150,000 กรัม (Erwin and Hellerman, 1967; Oreland, 1971) จากลำดับของกรดอะมิโนพบว่าปริมาณ N-terminus ของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสมีความคล้ายคลึงกันกับเอนไซม์หลายชนิดที่มี FADเป็นโคแฟคเตอร์ ซึ่งเป็นบริเวณที่ FAD เข้าจับเอนไซม์หลายชนิด โดยตำแหน่งที่ 8α ของ FAD จะจับกับเอนไซม์ที่ cysteinyl ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ 406 บนสาย MAO-A และตำแหน่งที่ 397 บนสาย MAO-B ด้วยพันธะโควาเลนต์ (Kearney et al., 1971 ; Walker et al., 1971) ดังนั้น FAD จึงเป็นส่วนสำคัญของเอนไซม์ในการทำปฏิกิริยากับสับสเตรทและตัวยับยั้ง (รูปที่ 3)



FRDHase-A : fumarate reductase-A (Escherichia coli) ; SDHase-A : succinate dehydrogenase-A (Bacillus subtilis). Boxed amino acids form part of the predictive fingerprint for a nucleotide binding domain.

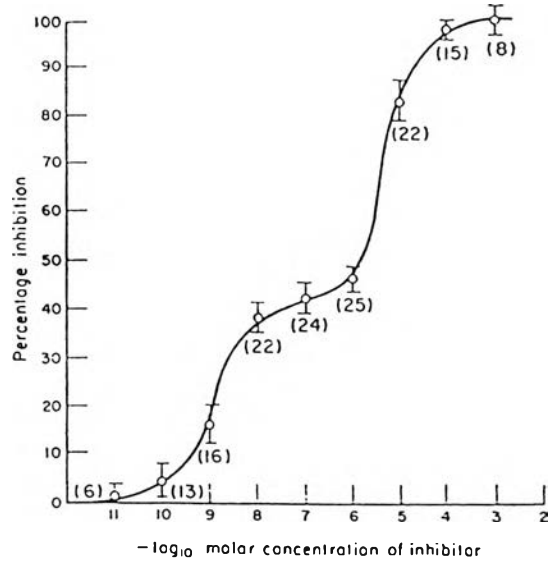
รูปที่ 3 เปรียบเทียบลำดับของกรดอะมิโนบริเวณ FAD-binding fold ของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิดในมนุษย์กับ flavoenzymes ตัวอื่น

ความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเตรทและตัวยับยั้งของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส

การที่สารเคมีหรือยาใดก็ตามที่ออกฤทธิ์จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่ง (selective inhibitor) หมายความว่าที่ความเข้มข้นของสารเคมีหรือยาขนาดต่ำๆ จะมีความสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดหนึ่งได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งได้ โดยที่ความเข้มข้นสูงๆจะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้เช่นเดียวกับกรณีของสับสเตรท

ส่วนสารเคมีหรือยาใดก็ตามที่ออกฤทธิ์ไม่จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่ง (nonspecific inhibitor) หมายความว่าความเข้มข้นของสารเคมีหรือยาที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้มีขนาดที่ใกล้เคียงกัน

การศึกษาเกี่ยวกับความจำเพาะเจาะจงต่อตัวยับยั้งของเอนไซม์ ได้มีผู้ทำการศึกษาแล้วพบว่า clorgyline (N-methyl-N-propargyl-3-(2,4-dichlorophenoxy) propylamine) ซึ่งเป็น irreversible inhibitor สำหรับเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส สามารถใช้แบ่งชนิดของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสในสมองได้เป็นสองชนิด จากการทดลองเมื่อให้ tyramine (substrate for both species) เป็นสับสเตรท พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ clorgyline ทำให้มีการยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสเป็นสองตอน เรียกลักษณะนี้ว่า biphasic inhibition (รูปที่ 4) แสดงว่ามีเอนไซม์สองชนิดที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดย clorgyline ที่แตกต่างกัน จึงได้เรียกเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดที่ถูกยับยั้งโดย clorgyline ที่ความเข้มข้นขนาดต่ำกว่าว่า "โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ" และเรียกเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดที่ต้องใช้ clorgyline ความเข้มข้นขนาดสูงจึงจะสามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ว่า "โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี" (Johnston, 1968) ซึ่งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีนี้พบภายหลังว่าไวต่อการถูกยับยั้งโดย deprenyl หรือ selegiline (Fowler, 1982)



ตัวเลขในวงเล็บแสดงจำนวนครั้งของการทดลอง

รูปที่ 4 แสดงลักษณะการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสแบบ biphasic inhibition โดย clorgyline เมื่อใช้ tyramine (substrate for both species) เป็นสับสเตรท

เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสสามารถออกซิไดซ์สับสเตรทซึ่งเป็นสารเอมีนได้ทุกชนิดทั้ง primary, secondary และ tertiary amines (Blaschko, 1963) แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิดก็ยังมีความจำเพาะเจาะจงในการออกซิไดซ์สับสเตรทที่แตกต่างกัน (substrate specificity) โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอจะชอบออกซิไดซ์ 5-hydroxytryptamine (Johnston, 1968) ในขณะที่เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีจะชอบออกซิไดซ์ benzylamine มากกว่า (Hall, Logan and Parsons, 1969) ส่วน tyramine เป็นสับสเตรทที่ถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิดได้ดีพอๆกัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าที่ความเข้มข้นของสับสเตรทสูงๆ อาจถูกออกซิไดซ์ได้โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิดเช่นกัน

ความจำเพาะเจาะจงต่อสับสเตรทและความไวต่อการยับยั้งของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนี้จะมีความแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิด หรือแม้แต่ในสัตว์ชนิดเดียวกันแต่ต่างกันที่บริเวณหรืออวัยวะ นอกจากนี้ผลจากการศึกษาภายนอกตัวสัตว์ทดลอง (*in vitro*) อาจไม่เหมือนกับที่เกิดขึ้นภายในร่างกายของคน เช่นเมื่อให้ clorgyline (selective MAO-A inhibitor) ในขนาดที่ยับยั้งเฉพาะ MAO-A เข้าไปในร่างกายจะพบว่าระดับของ norepinephrine และ serotonin ในสมอง ซึ่งมักถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอเพิ่มขึ้น ในขณะที่ระดับของ dopamine ซึ่งมักถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์โมโนเอ

มีนออกซิเดสทั้งสองชนิดก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน แต่กลับพบว่าถ้าให้ deprenyl (selective MAO-B inhibitor) จะมีเฉพาะระดับของ dopamine ในสมองเท่านั้นที่เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาจากสูตรโครงสร้างของสับสเตรทและตัวยับยั้ง จะพบว่าสับสเตรทและตัวยับยั้งมีความสัมพันธ์กับชนิดของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ตัวอย่างสับสเตรทและตัวยับยั้งของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (ตารางที่ 2) เช่น serotonin, norepinephrine ซึ่งเป็นสับสเตรท และ clorgyline ซึ่งเป็นตัวยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ จะมี aromatic ring ที่มีความเป็น polar มากกว่า benzylamine, β-phenylethylamine ซึ่งเป็นสับสเตรท และ deprenyl ซึ่งเป็นตัวยับยั้งที่จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติความเป็น polar ของสารด้วยการเติมกลุ่ม hydroxyl ให้กับ β-phenylethylamine ทำให้ได้เป็น tyramine หรือด้วยการเอากลุ่ม hydroxyl ออกจากโครงสร้างของ serotonin ทำให้ได้เป็น tryptamine เป็นสาเหตุที่ทำให้สับสเตรทที่ไม่จำเพาะเจาะจง สามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิด (Neff and Yang, 1974)

	Monoamine oxidase	
	Type A	Type B
Preferred Substrates	Serotonin Norepinephrine Normetanephrine	Benzylamine β-phenylethylamine
Specific Inhibitor Drugs	Clorgyline Harmaline	Deprenyl
Common Substrates	Dopamine Tyramine Tryptamine	
Nonspecific Inhibitor Drugs	Pargyline* Isocarboxazid Phenelzine Iproniazid	Tranylcypromine Nialamide Pheniprazine

*May preferentially inhibit type B enzyme

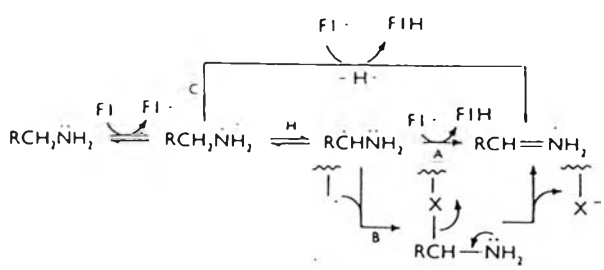
ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างสับสเตรทและตัวยับยั้งของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอและชนิดบี

กลไกการออกซิไดซ์สับสเตรท

กลไกการออกซิไดซ์สับสเตรทของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสมีลักษณะเป็น one-electron mechanisms (Silverman, 1980) โดยเริ่มจากการที่กลุ่มอะมิโนจากสารเอมีนส่งอิเลคตรอนตัวแรกให้แก่ออกซิไดซ์ฟลาวิน (oxidized flavin) ทำให้กลายเป็น amine radical cation จากนั้นจะสูญเสียโปรตอนได้เป็น carbon radical ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปได้สองลักษณะ คือ

- pathway A เป็นการส่งผ่านอิเลคตรอนตัวที่สองให้ flavin radical กลายเป็นสาร imine
- pathway B เกิด radical combination กับ active site amino acid radical (cysteinyl radical) ตามด้วยการเกิด β–elimination ได้เป็นสาร imine

ก่อนที่จะเข้าสู่กระบวนการ hydrolysis ต่อไป ได้เป็น aldehyde metabolite (รูปที่ 5)

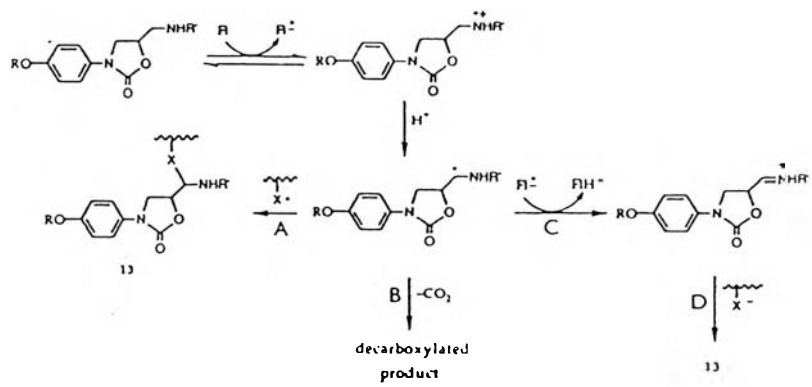


รูปที่ 5 แสดงกลไกการออกซิไดซ์สารเอมีนโดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสแบบ one-electron mechanisms

กลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส

กลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสสอดคล้องกับกลไกการออกซิไดซ์สับสเตรทแบบ one-electron mechanisms ดังกล่าวข้างต้น กลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนั้นจะมีหลักการเดียวกันกับการออกซิไดซ์สับสเตรท (Silverman, 1991) โมเดลที่ใช้อธิบายกลไกนี้ จะใช้ 5-(aminomethyl)-3-aryl-2-oxazolidinones เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ (รูปที่ 6) จากรูป R = 3-aryl-2-oxazolidinone-5-yl ลักษณะของตัวยับยั้งเอนไซม์ที่มีโครงสร้างคล้ายสับสเตรท จึงเหมือนกับเป็น analog ของสับสเตรท โดยเริ่มจากการที่ตัวยับยั้งจะสูญเสียอิเลคตรอนให้แก่ออกซิไดซ์ฟลาวิน

(oxidized flavin) ทำให้กลายเป็น amine radical และสูญเสียโปรตอนเป็นลำดับต่อมาทำให้กลายเป็น carbon radical ซึ่งกลไกต่างๆข้างต้นนี้จะเหมือนกับการออกซิไดซ์สับสเตรท แต่ขั้นตอนต่อไปนั้นจะต่างกัน โดยกรณีการออกซิไดซ์สับสเตรทพบว่า carbon radical จะถูกออกซิไดซ์ต่อไปได้สาร imine และ aldehyde ตามลำดับ แต่กรณีการยับยั้งเอนไซม์พบว่า ตัวยับยั้งจะเกิดปฏิกิริยากับ active site radical ของเอนไซม์กลายเป็น covalent intermediate เสถียรภาพของพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นนี้จะถูก stabilize โดยกลุ่ม β–N-substituted 2-oxazolidinone จึงจับเอนไซม์อย่างถาวร



รูปที่ 6 แสดงกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดย 5-(aminomethyl)-3-aryl-2-oxazolidinones

ปัจจัยที่มีผลต่อสมรรถนะของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส

ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (FAD) เป็นโคแฟคเตอร์ที่มีส่วนสำคัญในการทำหน้าที่รับส่งอิเลคตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทั้งการออกซิไดซ์สับสเตรทและการถูกยับยั้ง (Silverman, 1991) ดังนั้นปัจจัยใดก็ตามที่มีผลต่อฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ จึงมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสด้วย โดยพบว่าที่โครงสร้างส่วนหนึ่งของฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์เป็นไรโบฟลาวิน (riboflavin) ดังนั้นอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ในหนูทดลองที่ขาดวิตามินชนิดนี้จะมีแอคติวิตี้ของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสลดลงกว่าครึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับอาหารปกติ (Sagara and Ito, 1982) และสมรรถนะของเอนไซม์ยังสัมพันธ์กับการลดลงของฟลาวินอิสระ ผลของการขาดไรโบฟลาวินนอกจากจะทำให้ความสามารถในการออกซิไดซ์สารตั้งต้น

ลดลงแล้ว ยังมีผลในการทำให้ความไวต่อการถูกยับยั้งเปลี่ยนไปด้วย (Smith and Reid, 1978) นอกจากนี้ฟลาวินอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ยังเป็นโคแฟคเตอร์ในเอนไซม์หลายชนิด โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิสมของไขมัน การขาดฟลาวินอาจทำให้ส่วนประกอบของชั้นไขมันซึ่งได้แก่ ฟอสโฟไลปิดบนเมมเบรนที่เอนไซม์ฝังตัวอยู่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้งในแง่ของความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นและความไวต่อตัวยับยั้ง ทั้งนี้เพราะโครงสร้างของฟอสโฟไลปิดในบริเวณที่เอนไซม์ฝังตัวอยู่มีส่วนสำคัญต่อการเข้าจับของสับสเตรทหรือตัวยับยั้งที่แหล่งเร่งปฏิกิริยา (active site) ของเอนไซม์

อุณหภูมิก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ ความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของฟอสโฟไลปิดที่อยู่รอบเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่อยู่ในบริเวณฟอสโฟไลปิดที่ชอบน้ำ (hydrophilic) จะทนต่อความร้อนได้มากกว่าเอนไซม์ที่อยู่ในบริเวณฟอสโฟไลปิดที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เช่น เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีจะไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนมากกว่าเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอ (Yang, Goridis and Neff, 1972)

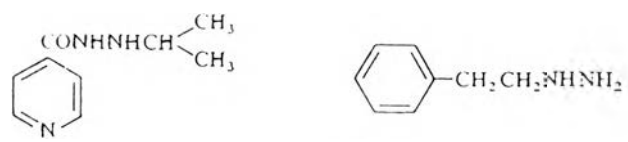
ฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส โดยพบว่าแอคติวิตี้ของเอนไซม์ในผนังมดลูก (human endometrium) จะเพิ่มขึ้นถึงสิบเท่าในครึ่งหลังของรอบประจำเดือน และเกี่ยวข้องกับการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) (Southgate et al.,1968) อิทธิพลของฮอร์โมนต่อการทำงานของเอนไซม์เช่นนี้พบได้ในสัตว์หลายชนิด เช่น สมรรถนะของเอนไซม์ในสมอง, ต่อมหมวกไต และรังไข่ ของหนูขาวเพศเมีย จะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นและลดลงในช่วงของรอบประจำเดือน นอกจากนี้การหลั่ง estradiol มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์ลดลง ในขณะที่การหลั่ง progesterone ทำให้สมรรถนะของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Holzbauer and Yodim, 1972)

Monoamine oxidase inhibitors

สารเคมีหรือยาที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ อาจแบ่งเป็นสองประเภทใหญ่ๆ คือ

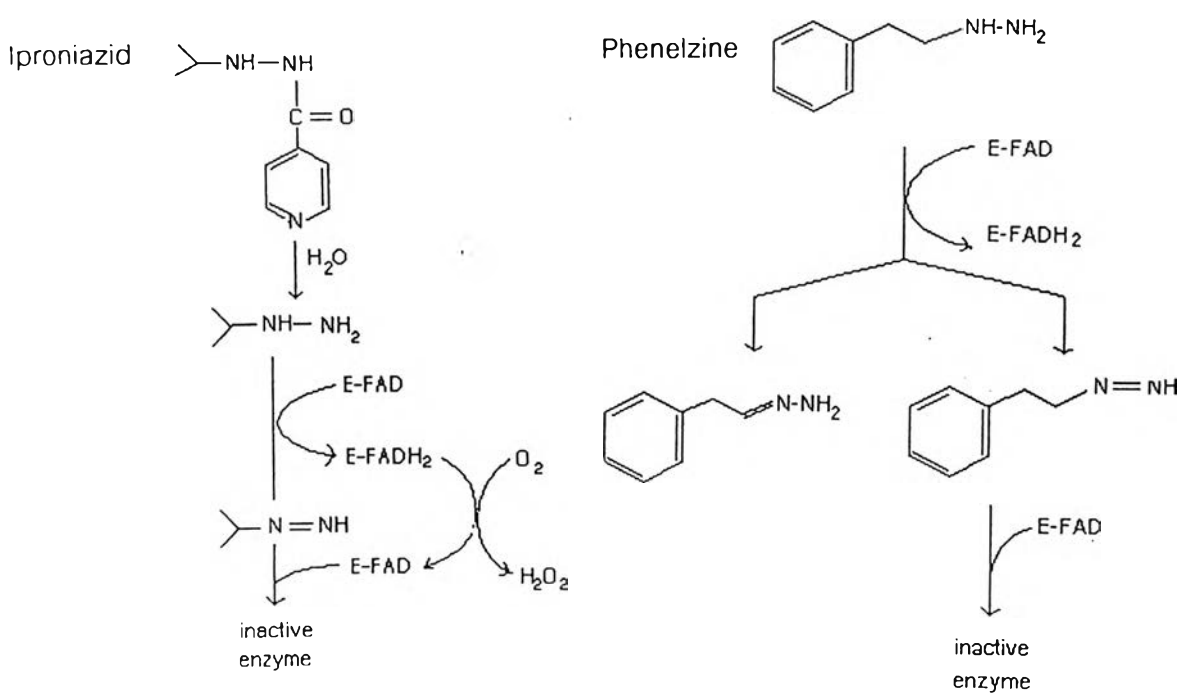
1. Hydrazides (hydrazines) ได้แก่สารที่มี C-N-N อยู่ในโมเลกุล
2. Non-hydrazides ซึ่งมีอยู่หลายกลุ่มโดยแบ่งตามสูตรโครงสร้าง ได้แก่ cyclopropyl amines, allyl amines และ propargyl amines

Hydrazide มีกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดย ฟลาวินอิสระจะถูกรีดิวซ์โดย hydrazides ในขั้นแรก และถูกออกซิไดซ์กลับโดยโมเลกุลของออกซิเจน (Davison, 1957 ; Patek and Hellerman, 1974) ในขณะที่ตัว hydrazides เองถูกออกซิไดซ์ไปเป็น diazines จากนั้น diazines จึงจับกับฟลาวินโคแฟคเตอร์แบบถาวรด้วยพันธะโควาเลนต์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถออกซิไดซ์สับสเตรทได้ ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ (รูปที่ 7)ได้แก่ iproniazid ซึ่งเป็นยารักษาวัณโรคที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ สารตัวนี้จะถูกไฮโดรไลซ์ได้เป็น isopropylhydrazine ก่อนที่จะยับยั้งเอนไซม์ และ phenelzine (2-phenylethylhydrazine) สารตัวนี้เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น hydrazone (inert hydrazone) และ diazine (reactive diazine) จากนั้น diazine จึงจะไป inactivate เอนไซม์ที่ถูกรีออกซิไดซ์ (Hellerman and Erwin, 1968) (รูปที่ 8)



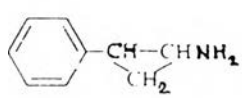
Iproniazid Phenelzine

รูปที่ 7 ตัวอย่างสารกลุ่ม hydrazides ได้แก่ Iproniazid และ Phenelzine

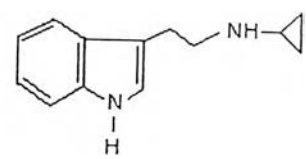


รูปที่ 8 แสดงตัวอย่างกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดยสารกลุ่ม hydrazides คือ Iproniazid และ Phenelzine

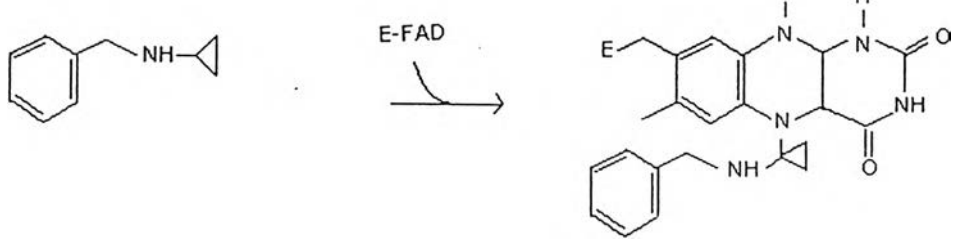
Cyclopropyl amines กลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดย สารกลุ่มนี้เมื่อถูกออกซิไดซ์โดยฟลาวินอิสระ จะกลายเป็น cyclopropanimines ไปจับบริเวณ active site ของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถออกซิไดซ์สับสเตรทได้ (Paech, Salach and Singer, 1980 ; Silverman and Hoffman, 1980 ; Zeller and Sarkar, 1962) แต่อย่างไรก็ตามการเกิดพันธะระหว่าง cyclopropanimines กับฟลาวินโคแฟคเตอร์ไม่ได้จับกันอย่างแน่นหนา แต่จะอยู่ในรูปของ flavin-inhibitor adduct ซึ่งสามารถถูกแทนที่ได้ด้วยสับสเตรท ดังนั้นเอนไซม์ที่ถูกยับยั้งด้วยสารกลุ่มนี้จะถูก reactivate ได้อย่างช้าๆ ถ้า incubate กับสับสเตรทบางตัวเช่น 4-phenylbutylamine (Zeller and Sarkar, 1962) หรือ benzylamine (Silverman and Hoffman, 1980) ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ (รูปที่ 9) ได้แก่ tranylcypromine ((+) – trans – phenylcyclopropylamine), N- cyclopropyltryptamine และ N-cyclopropylbenzylamine



Tranylcypromine



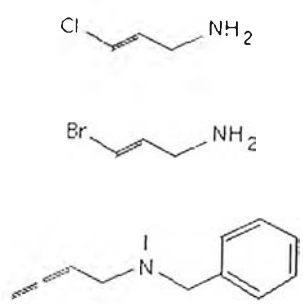
N-cyclopropyltryptamine



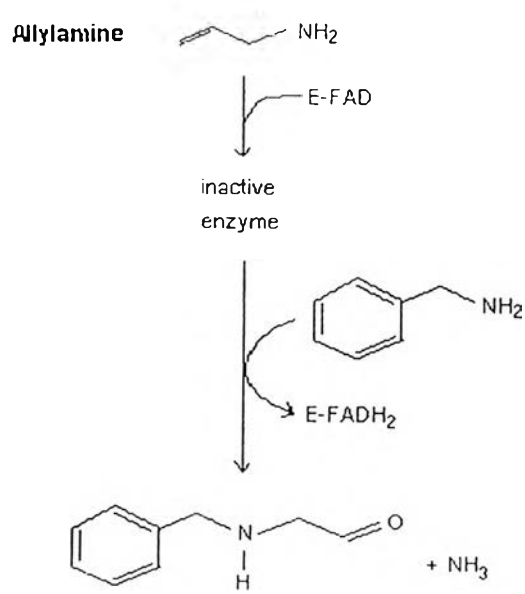
N-cyclopropylbenzylamine

รูปที่ 9 ตัวอย่างสารกลุ่ม cyclopropyl amines ได้แก่ Tranylcypromine, N-cyclopropyltryptamine และ N-cyclopropylbenzylamine

Allyl amines และอนุพันธ์พวก halogenated allyl amines มีกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดยจับกับฟลาวินโคแฟคเตอร์เกิดเป็นสารที่คงตัวและถาวร เช่น cis-3-chloroallylamine (รูปที่ 10) ยกเว้นถ้า incubate กับ benzylamine จะทำให้การยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดย allyl amines สามารถผันกลับได้อย่างช้าๆ (รูปที่ 11) เช่นเดียวกับกรณีของ tranylcypromine (กลุ่ม cyclopropyl amines) (Alston, 1981) แต่ยังไม่มีสารตัวใดในกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้เป็นยา

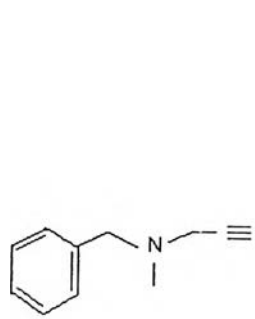


รูปที่ 10 ตัวอย่างสารกลุ่ม allenic amines และ halogenated allyl amines

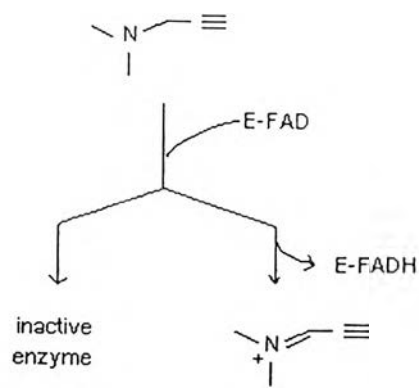


รูปที่ 11 แสดงตัวอย่างกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดย allyl amine ซึ่งถูกแย่งจับโดย benzylamine

Propargyl amines มีกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสโดยจับกับฟลาวินโคแฟคเตอร์และการยับยั้งเป็นแบบถาวร (Chuang et al.,1974 ; Hellerman and Erwin, 1968) เช่น pargyline (N-methyl-N-(2-propynyl) benzylamine) แต่มีสารในกลุ่มนี้บางตัวจะถูกออกซิไดซ์ได้เป็น imine (reactive imine)โดยไม่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Maycock et al., 1976) เช่น N,N-dimethylpropargylamine (รูปที่ 12) อนุพันธ์ของ propargyl amines ที่มีกลุ่ม acetyl อยู่ในโมเลกุล (acetylenic amines) เช่น clorgyline และ deprenyl (รูปที่ 13) เป็นกลุ่มที่ออกฤทธิ์ค่อนข้างจำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์มากกว่ากลุ่มอื่นๆโดยมีกลไกการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสด้วยการจับกับกับฟลาวินโคแฟคเตอร์แบบหลวมๆ ก่อนที่จะเกิดเป็นพันธะโควาเลนต์ที่จะยับยั้งเอนไซม์แบบถาวร (Tipton, 1994)

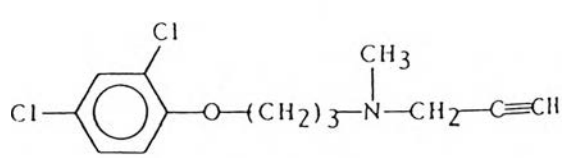


Pargyline

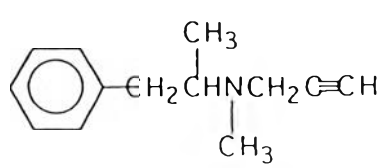


N,N-dimethylpropargylamine

รูปที่ 12 ตัวอย่างสารกลุ่ม propargyl amines ได้แก่ pargyline และ N,N-dimethylpropargylamine (อาจถูกออกซิไดซ์ได้ reactive imine โดยไม่ยับยั้งเอนไซม์)



clorgyline



deprenyl (selegiline)

รูปที่ 13 ตัวอย่างสารกลุ่ม acetylenic ได้แก่ clorgyline และ deprenyl

Tricyclic antidepressants เป็นกลุ่มยาที่ใช้เป็นยารักษาอาการซึมเศร้า โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการ reuptake ของสารสื่อประสาทพวก norepinephrine และ 5-hydroxytryptamine ที่บริเวณปลายประสาท โดยมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ด้วย แต่การยับยั้งนั้นไม่ถาวรและค่อนข้างจำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี (Roth, 1978)

ประโยชน์ในทางการแพทย์ของ monoamine oxidase inhibitors

การศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสนี้เริ่มขึ้นเมื่อมีผู้ค้นพบ tyramine oxidase ในตับของกระต่าย (Hare, 1928) ต่อมามีผู้ค้นพบเอนไซม์อีกหลายตัวที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นของสารเอมีน ได้แก่ adrenaline oxidase และ aliphatic amine oxidase (Blaschko, Richter and Schlossmann, 1937 ; Pugh and Quastel, 1937) เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีคุณสมบัติที่เหมือนกันหลายประการ ภายหลังจึงได้ตั้งชื่อขึ้นใหม่โดยรวมเรียกว่า "โมโนเอมีนออกซิเดส"

เนื่องจากสมมติฐานเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดโรคซึมเศร้าเกี่ยวข้องกับระดับสารสื่อประสาทเอมีนในสมองได้แก่ 5-hydroxytryptamine (serotonin) และ norepinephrine ต่ำกว่าปกติ การที่เอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้รับความสนใจเกี่ยวกับการบำบัดรักษาโรคซึมเศร้า เนื่องจากการยับยั้งเอนไซม์นี้ในร่างกาย จะมีผลทำให้ระดับสารสื่อประสาทเอมีนในสมองสูงขึ้น ในขณะเดียวกันระดับของเอมีนเมตาบอไลท์ก็จะลดลงด้วย (Tipton, 1977)

นอกจากนี้การศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง พบว่าการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสมีผลทำให้พฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไป จึงทำให้สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส ถูกพัฒนาเป็นยารักษาโรคซึมเศร้าควบคู่ไปพร้อมกับยากลุ่มอื่นได้แก่ tricyclic antidepressants และ selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) จนถึงปัจจุบันนี้มีผู้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสไม่ว่าจะเป็นการศึกษาถึงโครงสร้างและลักษณะ การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการออกซิไดซ์สับสเตรท กลไกการออกฤทธิ์ของตัวยับยั้ง บริเวณที่เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยา การศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์ และอื่นๆอีกมากมาย เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นยารักษาโรคซึมเศร้าที่มีประสิทธิภาพ รวมไปถึงการพัฒนาสารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์เพื่อใช้รักษาโรคอื่นๆ เช่น โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease)

เพราะฉะนั้นประโยชน์ในทางการแพทย์ที่สำคัญของสารที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ คือการใช้เป็นยารักษาโรคซึมเศร้า (antidepressant) เนื่องจากเมื่อมีการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอ

มีนออกซิเดสโดยเฉพาะเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอในระบบประสาทส่วนกลาง จะทำให้มีการสะสมของระดับเอมีนในสมองเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แล้วสารที่ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี ก็สามารถใช้เป็นยารักษาโรคพาร์กินสัน ร่วมกับ levodopa ได้

ยา MAOIs กลุ่มแรกที่ถูกค้นพบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ คือ hydrazides (hydrazines) โดยเมื่อปลายทศวรรษ 1950 มีการนำ iproniazid (อนุพันธ์ของ isoniazid) มาใช้เป็นยารักษาวัณโรค แล้วพบว่ามีผลทำให้เกิดความผิดปกติทางอารมณ์ในผู้ป่วย ต่อมาจึงมีการนำเอา iproniazid มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้า เนื่องจากมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส (Crane, 1957) แต่การนำเอา iproniazid มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคซึมเศร้าได้ลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีอาการไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น คือเป็นพิษต่อตับ ซึ่งอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นนี้เป็นพิษจากตัวยาเอง ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดส เป็นสาเหตุให้เกิดการพัฒนาค้นคว้าและวิจัยเกี่ยวกับเอนไซม์รวมไปถึงการสังเคราะห์สารจำนวนมากมายที่สามารถยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสได้ ในบรรดาสารเหล่านี้มีจำนวนไม่น้อยที่สามารถนำมาใช้ในเป็นยารักษาโรคซึมเศร้าได้ ในจำนวนนี้มีทั้งสารที่เป็นอนุพันธ์ของ hydrazines เช่น phenelzine, isocarboxazid และอนุพันธ์ของสารกลุ่มอื่น เช่น tranylcypromine แต่ยากลุ่ม hydrazines ไม่ค่อยเป็นที่นิยมใช้เนื่องจากมีพิษต่อตับ และทำให้เกิดความผิดปกติเกี่ยวกับการมองเห็นสีและทำลายระบบประสาท

ปัญหาที่สำคัญของการใช้ MAOIs คือการที่ยาออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสแบบถาวรและไม่จำเพาะเจาะจง (nonselective irreversible inhibition) ทำให้เกิดผลข้างเคียงที่สำคัญได้แก่ การเกิดความดันสูงอย่างเฉียบพลัน (hypertensive crisis) ซึ่งจะเกิดขึ้นภายหลังการรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีสารเอมีนเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง โดยเฉพาะ tyramine หรือที่รู้จักกันดีว่าเกิด "cheese reaction" (Blackwell, 1967) แม้ว่า tyramine จะถูกออกซิไดซ์ได้โดยเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสทั้งสองชนิด แต่อย่างไรก็ตามสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอได้ มักจะทำให้เกิดอาการดังกล่าวได้มากกว่าสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งจำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี เพราะว่าในลำไส้ของคนมีแอคติวิตี้ของเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอมากกว่าเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบี และผลของยายังคงอยู่หลังหยุดยาแล้ว 2-3 สัปดาห์ ทำให้กว่าที่ระดับเอมีนจะกลับสู่ภาวะปกติจึงมักจะเกิดอาการถอนยาในผู้ป่วย สันนิษฐานว่าเกิดจากการที่ยาไปจับกับเอนไซม์แบบถาวร ทำให้ร่างกายต้องใช้เวลาในการสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นใหม่

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากปัญหาดังกล่าวนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเพื่อค้นคว้าหายารุ่นใหม่มาทดแทนยารุ่นเก่าที่ใช้อยู่ โดยยารุ่นใหม่นี้มุ่งหวังให้มีฤทธิ์ที่จำเพาะเจาะจงต่อเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดใดชนิดหนึ่งและยับยั้งเอนไซม์แบบไม่ถาวร (reversible) การที่สารยับยั้งเอนไซม์แบบไม่ถาวรนี้จะมีผลดีคือ เมื่อปริมาณ tyramine เพิ่มขึ้น จะสามารถแย่งจับกับ active site ของเอนไซม์ได้ จึงเชื่อว่ายารุ่นใหม่จะออกฤทธิ์ได้แรงกว่าและสามารถลดผลไม่พึงประสงค์ดังกล่าวได้

MAOIs รุ่นใหม่ที่จัดอยู่ในกลุ่ม reversible inhibitor of MAO-A (RIMA) ได้แก่ moclobemide เป็นยาที่ได้พัฒนาขึ้นมาให้มีประสิทธิภาพสูง มีฤทธิ์ที่จำเพาะเจาะจง เมื่อยาเข้าสู่ร่างกายจะถูกเมตาบอไลท์ได้สารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดเอได้แรงกว่าตัวมันเอง มีระยะเวลาการออกฤทธิ์สั้นเพียง 12 ชั่วโมง เกิดอาการถอนยาน้อย และโอกาสเกิด "cheese effect" จากยาจะน้อยกว่ายารุ่นเก่า เนื่องจากการยับยั้งเอนไซม์นั้นไม่ถาวร ทำให้สารเอมีนจากอาหารที่รับประทานเข้าไป สามารถแย่งทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้ (Cerura and Pletscher, 1992 ; Da Prada et al., 1990) ยารุ่นใหม่ที่กำลังศึกษาอยู่ เป็นเมตาบอไลท์ของ moclobemide ได้แก่ lazabemide ซึ่งออกฤทธิ์เป็น reversible MAO-B inhibitor ที่แรงมาก (Da Prada et al., 1990)

ประโยชน์ทางการแพทย์ด้านอื่นนอกเหนือจากการนำมาใช้เป็นยารักษาโรคซึมเศร้าแล้ว ยังนำมาใช้รักษาโรคพาร์กินสัน ซึ่งยาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันคือ deprenyl (selegiline) โดยออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีได้อย่างจำเพาะเจาะจงและยับยั้งเอนไซม์แบบถาวร ผู้ป่วยจะได้รับ selegiline ร่วมกับ L-dopa เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดอาการข้างเคียงที่เกิดจาก L-dopa เนื่องจากยาไปรักษาระดับของ dopamine ในสมองไม่ให้ถูกทำลายอย่างรวดเร็ว เชื่อว่า selegiline สามารถลดการทำลายเซลล์ประสาทอันเนื่องมาจากกระบวนการออกซิเดชั่นของ dopamine และสารพิษอื่นๆเช่น MPTP โดยออกฤทธิ์เป็น antioxidant (Aminoff, 1995 : 425) และจากการศึกษาพบว่า การนำ selegiline มาใช้เดี่ยวๆสามารถชลอความก้าวหน้าของโรคได้ อย่างไรก็ตามมีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์โมโนเอมีนออกซิเดสชนิดบีอยู่น้อย เนื่องจากการใช้ selegiline ในทางคลินิคมีประสิทธิภาพดี และไม่ก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์มากเหมือนกับยาในกลุ่ม MAO-A inhibitors

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติของยากลุ่ม MAOIs

(Ranga Rama Krishnan, 1995 : 184)

Drug	Selective	Reversible
Phenelzine	No	No
Isocarboxazid	No	No
Tranylcypromine	No	No
Deprenyl	Yes[1,3]	No
Moclobemide	Yes[2]	Yes
Brofaromine	Yes[2]	Yes

[1]Selective for MAO-B at lower dose.

[2]Selective for MAO-A.

[3]Becomes nonselective at higher doses.