Chula Med J Vol. 50 No. 2 February 2006

เชื้อมาลาเรีย: จีโนมิกส์ และ ชีวเคมี กับตำแหน่งเป้าหมายในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรีย

จิระพันธ์ กรึงไกร *
สุดารัตน์ กรึงไกร **

Krungkrai J, Krungkrai S. Malaria parasite: Genomics, biochemistry and drug target for antimalarial development. Chula Med J 2006 Feb; 50(2): 127 - 42

Malaria remains a global health problem attributed by its major cause of morbidity and mortality in developing and tropical countries. Of these, 400-500 million people are infected with the parasite, and two million die each year. Plasmodium falciparum, the etiologic agent of the most lethal and severe form of the four species that infect humans, is resistant to most of the currently available antimalarial drugs. The need of more efficacious agents — particularly rational drugs that exploit metabolic pathways and targets unique to the malaria parasite — is therefore urgent. The basic knowledge of the current genomics and biochemistry of the parasite are essential to the design and development of new antimalarial drugs. This paper reviews the most recent information on P. falciparum genomics and metabolomics, and will apply the data for drug development, and also identify the molecular targets of the drug.

Keywords: *Malaria, Plasmodium falciparum, Genomics, Biochemistry, Drug target, Antimalarial drug.*

Reprint request: Krungkrai J. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. E-mail: fmedjkk@md2.md.chula.ac.th.

Received for publication. September 30, 2005.

* ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

จิระพันธ์ กรึงไกร, สุดารัตน์ กรึงไกร. เชื้อมาลาเรีย: จีโนมิกส์ และ ชีวเคมี กับตำแหน่งเป้าหมายในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรีย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2549 ก.พ; 50(2): 127 – 42

มาลาเรียเป็นโรคที่มีอุบัติการณ์ และอัตราการเสียชีวิตสูงในประชากรตามภูมิภาคร้อนชื้นทั่วโลก มีการติดเชื้อมาลาเรียประมาณ 400-500 ล้านคน และเสียชีวิตด้วยโรคนี้ประมาณ 2 ล้านคนต่อปี ปัญหาที่สำคัญในการรักษาคือ เชื้อมาลาเรียชนิด Plasmodium falciparum มีการดื้อต่อยารักษาที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน จึงมีความจำเป็นในการพัฒนายาชนิดใหม่โดยอาศัยองค์ความรู้เกี่ยวกับข้อมูลจีโนมิกส์ และชีวเคมีของเชื้อมาลาเรีย บทความนี้จะสรุปความรู้ก้าวหน้าของจีโนมิกส์ และการนำองค์ความรู้ดังกล่าวของเชื้อที่มีอยู่ในขณะนี้ไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนายาชนิดใหม่ รวมทั้งจะแสดงตำแหน่งโมเลกุลเป้าหมายในวิถีเมตาบอลิสมต่าง ๆ ที่คาดว่าจะได้ยาชนิดใหม่ไปยับยั้งที่ตำแหน่งเหล่านี้ได้และไปทำลายเชื้อมาลาเรียที่มีการดื้อต่อยาได้

คำสำคัญ : *เชื้อมาลาเรีย, Plasmodium falciparum, จีโนมิกส์, ชีวเคมี, ตำแหน่งเป้าหมายของยา, ยารักษาโรคมาลาเรีย*

วัตถุประสงค์ :

1. เพื่อให้ทราบความรู้ความก้าวหน้าด้านจีโนมิกส์ของเชื้อมาลาเรียที่ทำให้เกิดโรคในคน
2. เพื่อให้เข้าใจถึงความรู้พื้นฐานชีวเคมีของเชื้อมาลาเรีย
3. เพื่อให้ทราบตำแหน่งเป้าหมายใหม่ในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรียในอนาคต
4. เพื่อให้เข้าใจแนวทางในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรีย โดยอาศัยความรู้ด้านจีโนมิกส์และชีวเคมีของเชื้อมาลาเรีย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มาลาเรียเป็นโรคที่มีอุบัติการณ์และอัตราการเสียชีวิตสูงในประชากรตามภูมิภาคที่มีอากาศร้อนชื้นทั่วโลก รองจากการติดเชื้อนิวโมเนีย (pneumococcal acute respiratory infections) และวัณโรค (tuberculosis) จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก [1] พบว่ามีการติดเชื้อมาลาเรียประมาณ 400-500 ล้านคนในแต่ละปี และเสียชีวิตด้วยโรคนี้ประมาณ 2 ล้านคนต่อปี โดยมีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* หรือ *Plasmodium ovale* ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือ 2 ชนิดปนกัน [2,3] สำหรับโรคนี้ในประเทศไทย จากสถิติปี 1998 ของกระทรวงสาธารณสุข พบว่ามีอัตราการติดเชื้อประมาณ 100 ราย และการเสียชีวิตประมาณ 1.26 รายต่อประชากร 1 แสนคน [4]

การติดเชื้อชนิด *P. falciparum* ทำให้เกิดโรคมาลาเรียชนิดรุนแรง (severe malaria) ผู้ป่วยบางรายอาจเป็นมาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria) มีอาการแทรกซ้อนที่รุนแรง อาทิเช่น ภาวะเลือดจางรุนแรง (severe anemia) ไตวาย (renal failure) ปอดบวมน้ำ (pulmonary edema) ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) มีเลือดออก (bleeding) ชักรุนแรง (repeated generalized convulsion) ภาวะกรดสูง (acidemia/acidosis) และปัสสาวะสีดำ (malaria hemoglobinuria) เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ [5] ปัญหาที่สำคัญในการรักษาคือ เชื้อมาลาเรีย ดังกล่าวมีการดื้อต่อยารักษาที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน รวมทั้งยาหลายชนิดมีข้อจำกัดในการใช้ อาทิเช่น ความเป็นพิษ คุณภาพไม่ดี และราคาแพง เป็นต้น (ตารางที่ 1) ในช่วงปี 1975 -1997 ได้มีการพัฒนายาทั่ว ๆ ไปถึง 1,223 ชนิด แต่มียาใหม่นำมาใช้สำหรับรักษาโรคมาลาเรียเพียง 3 ชนิดคือ halofantrine, mefloquine และ malarone และในระยะ 3-4 ปีที่ผ่านมาได้มีความพยายามมากขึ้นของหลายองค์กรที่ให้ทุนสำหรับการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรียชนิดใหม่ โดยอาศัยองค์ความรู้เกี่ยวกับข้อมูลจีโนมิกส์ (genomics) และชีวเคมีของเชื้อมาลาเรียมาใช้

Table 1. Overview of antimalarial drugs.

Drug	Target	Main limitation[1]
Chloroquine	food vacuole	resistance
Quinine	not known	compliance/safety/resistance
Amodiaquine	not known	safety/resistance
Mefloquine	not known	(safety)/resistance/(cost)
Primaquine	not known	safety
Halofantrine	not known	safety/resistance/cost
Artemisinins (artemether,arteether,artesunate)	food vacuole	compliance/(safety)/(GMP)[2]/(cost)
Sulfadoxine-pyrimethamine (Fansidar^{R})	folate pathway (DHPS-DHFR)[3]	resistance
Atovaquone-proguanil (Malarone^{R})	mitochondrion-folate	resistance / potential/cost
Lumefantrine-artemether (Coartem^{R})	not known-food vacuole	(compliance)/resistance/potential(cost)
Antibiotics used in combination	apicoplast	(safety)/(cost)

[1] Liabilities placed in brackets refer to issues that are less serious for the drug in question than those liabilities not placed in brackets.

[2] GMP= good manufacture practice.

[3] DHPS-DHFR= dihydropteroate synthase-dihydrofolate reductase .

ในปัจจุบัน Malaria Genome Project สำหรับเชื้อ *P. falciparum* ได้สำเร็จลงแล้ว [6, 7] และใกล้จะสำเร็จแล้วสำหรับเชื้อ *P. yoelii* ที่ติดเชื้อเฉพาะในหนูถีบจักร [8] ส่วนข้อมูลสำหรับเชื้อ *P. vivax* คาดว่าจะสำเร็จเร็ว ๆ นี้ [9] ข้อมูลจีโนมิกส์ ที่ได้ดังกล่าวทำให้ความรู้พื้นฐานด้านชีวเคมีของเชื้อ *P. falciparum* มีความกระจ่างชัดขึ้น ถึงแม้จะต้องรอการศึกษาต่อไปอีกในยุคหลังจีโนมิกส์ (post-genomics era) ซึ่งเป็นการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่การทำงานของ genome เหล่านี้ อาทิเช่น gene knockout, transcriptomics, DNA microarrays, RNA interference, proteomics, metabolomics เป็นต้น เพื่อให้ข้อมูลพื้นฐานมีความสมบูรณ์ขึ้นและประยุกต์ใช้งานได้

บทความนี้จะเน้นการนำองค์ความรู้ทางจีโนมิกส์และชีวเคมีของเชื้อไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนายารักษามาลาเรียชนิดใหม่ได้ และจะยกตัวอย่างตำแหน่งโมเลกุลเป้าหมาย (molecular drug targets) ในวิถีเมตาบอลิสมต่าง ๆ ที่คาดว่าจะได้ยาใหม่ไปยับยั้งที่ตำแหน่งเหล่านี้ได้ และไปทำลายเชื้อมาลาเรียที่มีการดื้อต่อยาได้ในที่สุด

จีโนมิกส์และชีวเคมีของเชื้อมาลาเรีย

(Genomics and biochemistry of malaria parasite)

ตั้งแต่ปี 1996 The Institute for Genomic Research, The Wellcome Trust Sanger Institute และ Stanford Genome Technology Center ได้ร่วมกันทำ

Table 2. Malaria parasites have three genomes: one chromosomal and two organellar genomes.

Genome		Size	Numbers of Genes&protein	RNA genes	Protein targeting
Chromosomal DNAs		2.28 Mb	5,268	43	4,471 (cytosol/membrane)
Chromosome	1	0.64 Mb	143	0	ND[1]
	2	0.95 Mb	223	1	ND
	3	1.06 Mb	239	2	ND
	4	1.20 Mb	237	5	ND
	5	1.34 Mb	312	5	ND
	6	1.38 Mb	312	3	ND
	7	1.35 Mb	277	7	ND
	8	1.32 Mb	295	0	ND
	9	1.54 Mb	365	0	ND
	10	1.69 Mb	403	0	ND
	11	2.04 Mb	492	2	ND
	12	2.27 Mb	526	3	ND
	13	2.75 Mb	672	5	ND
	14	3.29 Mb	769	2	ND
Extrachromosomal (organellar) DNAs					
Mitochondrial DNA		6 kb[2]	3		246
Apicoplast DNA		35 kb[3]	30		551

[1]ND= not determined.

[2] linear DNA with A+T = 69 %

[3] circular DNA with A+T= 86 %

Malaria Genome Project โดยมีจุดหมายในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ genomeในเชื้อ *P. falciparum* ซึ่งมี chromosomes อยู่ทั้งสิ้น 14 คู่ที่เรียงขนาดจากเล็กไปใหญ่ (chromosome 1 มีขนาด 0.64 Mb → chromosome 14 มีขนาด 3.29 Mb) โดยอาศัยความช่วยเหลือจากบริษัท Cerela Genomics ในการจัดเรียงลำดับของแต่ละ gene ลงบนแต่ละ chromosome และกำหนดว่าเป็น gene ที่ code สำหรับ protein และ gene สำหรับ RNA อะไรบ้าง รวมทั้งไปทำหน้าที่ที่ไหนบ้าง (protein targeting) อาทิ เช่น ไซโตซอล (cytosol) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) หรือ apicoplast (ตารางที่ 2) เชื้อ *P. falciparum* genome มีประมาณ 5,300 genes (ทั้ง nuclear genomes และ extrachromosomal genomes ซึ่งก็ได้แก่ genome ในmitochondria และ apicoplast) และได้ประกาศความสำเร็จเมื่อเดือนตุลาคม ปี 2002 ที่ผ่านมา [6]

Genome ของเชื้อ *P. falciparum* มีลักษณะสำคัญต่าง ๆ ได้นำมาเปรียบเทียบกับ genomes ของ *P. vivax*, ยุงพาหะ *Anopheles* spp. รวมทั้งของมนุษย์ [6, 10-14] นอกจากนี้เชื้อมาลาเรียยังมี genome อันที่ 2 อยู่ที่ออร์กาเนล ไมโตคอนเดรีย ซึ่งมีขนาด 6 kb และเป็นเส้นตรง (linear DNA) จะมี genes เพียง 3 ชนิด และมี genome อันที่ 3 อยู่ที่ออร์กาเนล apicoplast ซึ่งมีขนาด 35 kb และเป็นวงกลม (circular DNA) จะมี genes ประมาณ 30 ชนิด (ตารางที่ 3) ออร์กาเนลไมโต-คอนเดรีย และ apicoplast มีระบบ transcription และ translation เป็นแบบเซลล์โปรคารีโอต (prokaryotic cell) และแบคทีเรีย จึงเป็นตำแหน่งเป้าหมายของยา antibiotics (ตารางที่ 1) ขณะนี้ยังได้ใช้ประโยชน์ของ 6kb-DNA จากไมโตคอนเดรีย บอกถึงการวิวัฒนาการซึ่งเชื่อว่า *P. falciparum* แยกมาจาก *P. reichenowi* ของลิงชิมแปนซีเมื่อประมาณ 5 -10 ล้านปีก่อน และมีจุดกำเนิดที่ทวีปอัฟริกา และกระจายไปสู่ภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วโลกเมื่อประมาณ 5 หมื่นปีที่ผ่านมา [15] ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการวิเคราะห์ single nucleotide polymorphisms (SNPs) บน chromosome 3 ที่บอกจุดกำเนิดของ *P. falciparum* ว่ามีอายุ ประมาณ 1 แสนปีกว่า [16]

Table 3. Unique characteristics of genomes in *P. falciparum*, *P. vivax*, *Anopheles* spp. and human.

Characteristic	*P. falciparum*[1]	*P. vivax*	*Anopheles*	Human
Size (Mb)	23	24	280	2,900
(A+T) content (%)	81	60	ND[2]	59
Number of genes	5,268	5,126	15,000	31,000
Hypothetical protein (%)	60	ND	ND	ND
Gene density (kb per gene)	4.3	4.4	ND	ND
Genes with introns (%)	54	ND	ND	>90
Percent coding	53	ND	ND	<5
Number of exons per gene	2.4	ND	ND	ND
Microsattelites frequency	++	+	ND	++++
SNPs (site)	10,000[3]	ND	400,000	1,420,000

[1] Comparative genomics of *P. falciparum* and *Arabidopsis thaliana* shows the most similarity.[6, 12]

[2] ND= not determined.

[3] SNPs (single nucleotide polymorphisms) of *P. falciparum* is only determined in chromosome 3 (~403 sites), the value is based on our calculation for all 14 chromosomes, assuming 1 SNP site per 2.3 kb).

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการศึกษาชีวเคมีของเชื้อ *P. falciparum* ในขณะนี้ทราบว่ามีโปรตีนที่ทำหน้าที่ต่าง ๆ แล้ว 39% ของจำนวนโปรตีนทั้งหมด อาทิเช่น structural proteins, cell adhesion, chaperone, defense/immunity, carrier, transporter, โปรตีนควบคุมกระบวนการการ transcription และ translation และเอนไซม์ เป็นต้น (ตารางที่ 4) มีโปรตีนที่คาดไว้แต่ยังไม่ทราบหน้าที่อีก 61 % ของจำนวนโปรตีน นอกจากนี้ยังได้มีการจัดทำ website metabolomics ของ metabolic pathways ต่าง ๆ ของเชื้อ *P. falciparum* [17] โดยใช้แผนที่ภาพของ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway [18] และความรู้จากการศึกษาทางชีวเคมีในช่วง 30-40 ปีที่ผ่านมา รวมทั้งข้อมูลจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ใน Malaria Genome Project [6, 8, 9] สามารถเชื่อมโยงฐานข้อมูลต่าง ๆ เช่น Entrez, Swiss-protein database, KEGG เป็นต้น

ภาพรวมเมตาบอลิสมของเชื้อมาลาเรีย (Overview of malaria parasite metabolism)

ข้อมูลทันสมัยจาก Malaria Genome Project พบว่า เชื้อ *P. falciparum* มีเอนไซม์ 733 ชนิด (ประมาณ 14 % ของจำนวนโปรตีนทั้งหมด 5,268 ชนิด, ตารางที่ 4) สามารถสร้างวิถีเมตาบอลิสม (metabolic pathways) ต่าง ๆ อาทิเช่น glycolysis, tricarboxylic acid cycle (Krebs cycle), electron transport pathway, pentose phosphate pathway, fatty acid biosynthetic pathway, heme biosynthetic pathway, coenzyme Q biosynthesis, shikimic acid pathway, amino acid metabolism, purine และ pyrimidine pathway, folate metabolism และ hemoglobin catabolic pathway (รูปที่ 1)

วิถีเมตาบอลิสมเหล่านี้อาจถูกจัดแบ่งแยกเป็นส่วนต่าง ๆ ที่บางวิถีเมตาบอลิสมไม่พบในเซลล์ของมนุษย์ อาทิเช่น ออร์กาเนล apicoplast หรือบางวิถีเมตาบอลิสมอาจพบได้ในเซลล์ของมนุษย์แต่มีลักษณะต่าง ๆ ของเอนไซม์ในวิถีนั้น ๆ แตกต่างไป เช่น การสลายน้ำตาลกลูโคส จะเป็นแบบไม่ใช้ O_2 (anaerobic glycolysis) หรือบางวิถีเมตาบอลิสมมีความเหมือนกันกับวิถีที่พบในเซลล์แบคทีเรีย อาทิเช่นวิถีการสังเคราะห์โคเอนไซม์โฟเลต ซึ่งใช้เป็นตำแหน่งเป้าหมายของยารักษามาลาเรียกลุ่ม antifolates ตัวอย่างเช่น pyrimethamine, cycloguanil, sulfonamides เป็นต้น ความรู้ความเข้าใจลักษณะที่เป็นเอกลักษณ์จำเพาะของวิถีเมตาบอลิสมเหล่านี้ที่พบได้ในเชื้อ *P. falciparum* โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา

Table 4. Possibly molecular functions predicted from *P. falciparum* genomics.

Function	% of total protein
Structural molecule	3
Cell adhesion molecule	2
Chaperone	2
Defense/Immunity protein	2
Enzyme	14
Enzyme regulator	1
Ligand binding or carrier	10
Transporter	2
Transcription regulator	1
Translation regulator	1
Other	1
No assignment	61

จำเพาะอาจจะเป็นตำแหน่งโมเลกุลเป้าหมาย สำหรับการพัฒนายารักษามาลาเรียชนิดใหม่ รวมทั้งเป็นเอนไซม์ตำแหน่งเป้าหมายของยารักษาที่ใช้ในปัจจุบันได้ (รูปที่ 2)

เมื่อปี 2002 Robert Ridley ผู้เชี่ยวชาญขององค์การอนามัยโลกได้สรุปตำแหน่งเป้าหมายไว้ในวิถีเมตาบอลิสมต่าง ๆ ที่พบทั้งในส่วนไซโตซอล ถุงอาหาร (food vacuole) ไมโตคอนเดรีย apicoplast รวมทั้งเยื่อหุ้มเซลล์ โดยอาศัยองค์ความรู้เกี่ยวกับชีวเคมีของเชื้อมาลาเรียและแนวทางการพัฒนายารักษามาลาเรียชนิดใหม่ [19]

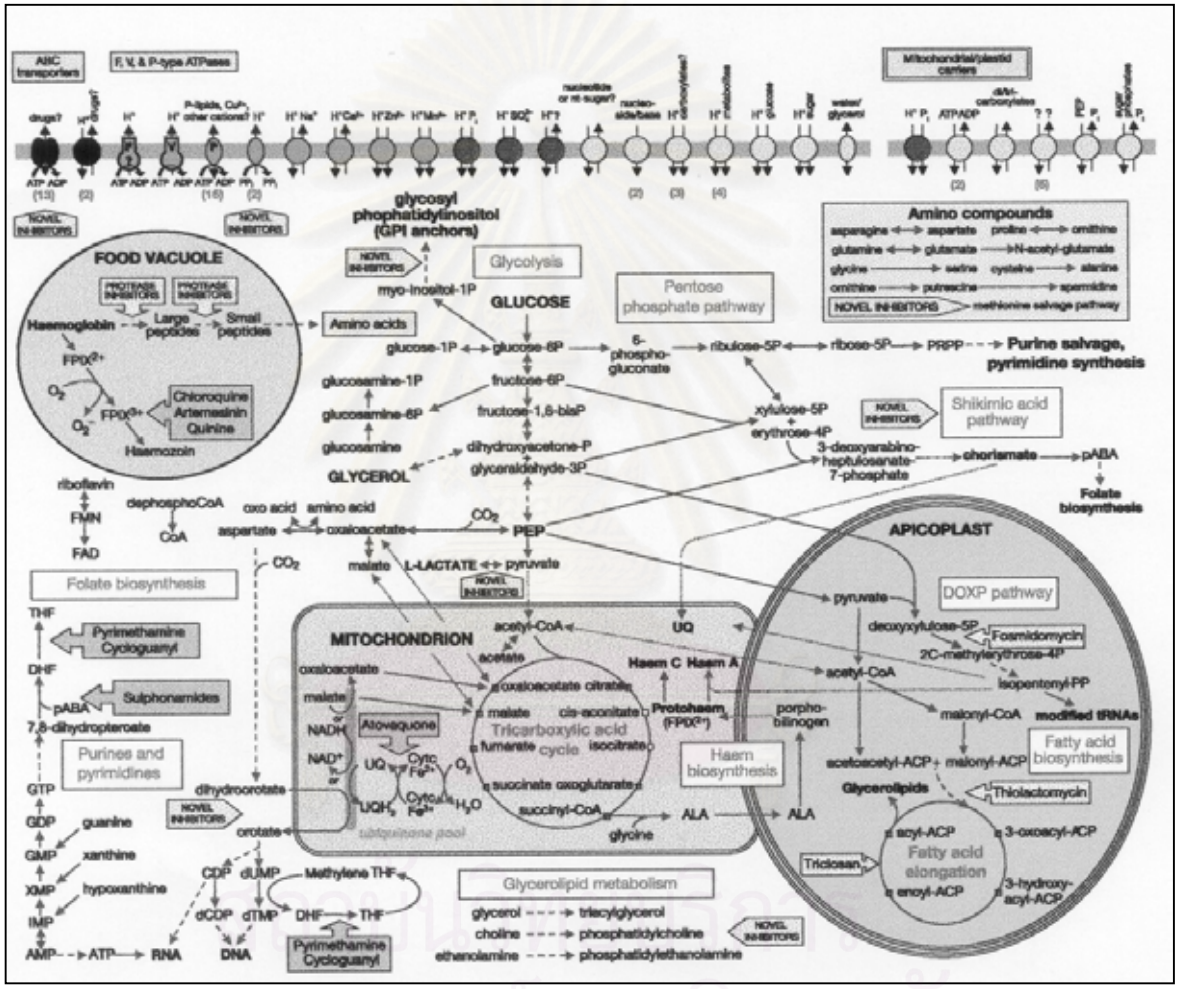

Figure 1. Overview of metabolism in *P. falciparum*. Glucose and glycerol are carbon sources. Broken lines indicate several omitted steps of a metabolic pathway. In various metabolic pathways, anaerobic glycolysis to generate ATP operates in cytosol, Krebs cycle exists in a mitochondrion and operates only in sexual gametocytes but not in asexual stages, heme and fatty acid synthesis operate in apicoplast, hemoglobin catabolic pathway operates in food vacuole. The known antimalarial drug targets are also illustrated (Ref. 6).

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

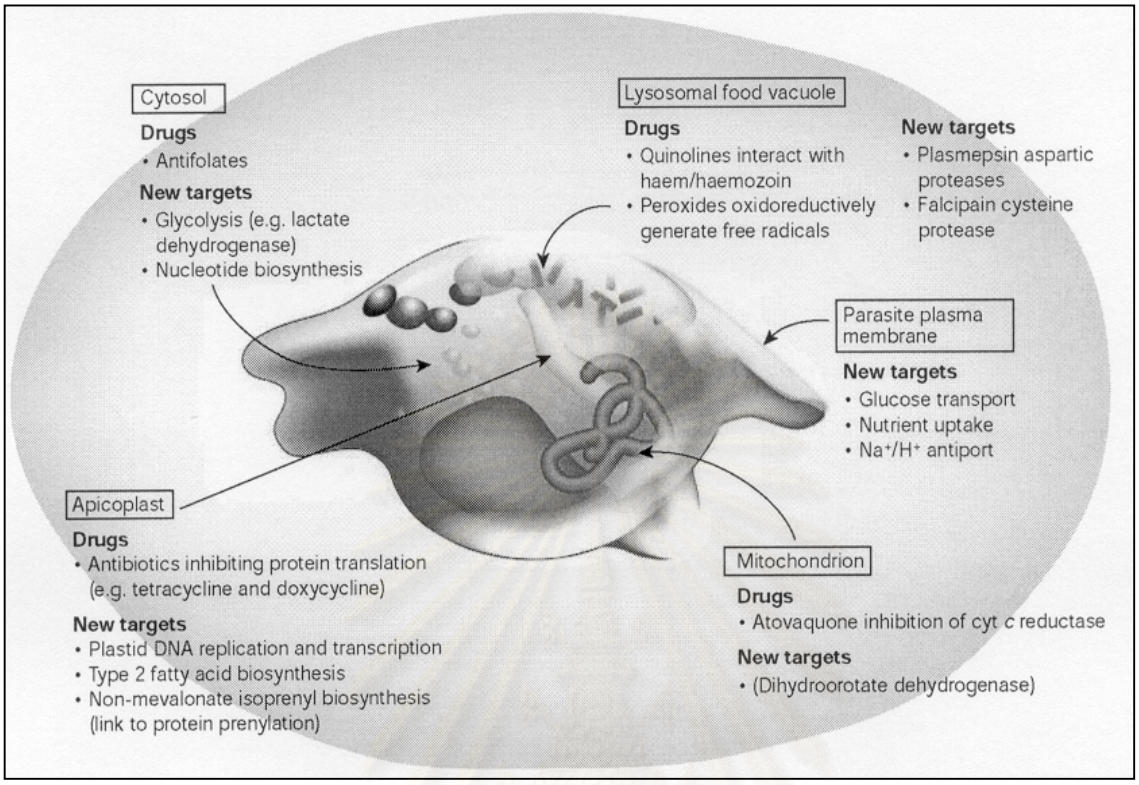

Figure 2. Growing trophozoite stage of *P. falciparum* in a human red cell. The organellar (mitochondrion, apicoplast, food vacuole) and cytosolic metabolic pathways are possible targets for new antimalarial development. Lists of about 20 enzymes in the pathways are also proposed (Ref. 19).

เมตาบอลิสมของโคเอนไซม์โฟเลต (Metabolism of coenzyme folate)

โคเอนไซม์โฟเลตทำหน้าที่เป็นตัวให้และ/หรือตัวรับหน่วยคาร์บอนในปฏิกิริยาต่าง ๆ ในวิถีเมตาบอลิสมของเพียวรีน, ไพริมิดีน, กรดอะมิโน รวมทั้งในขั้นตอนแรก ๆ ของการสังเคราะห์โปรตีน เชื้อมาลาเรียจะสังเคราะห์โฟเลตขึ้นใช้เองโดยเริ่มจากสารตั้งต้น guanosine 5'-triphosphate (GTP) เหมือนกับในเซลล์แบคทีเรียที่เป็น *de novo* pathway ในขณะที่เซลล์ของมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง [20] นอกจากนี้เชื้อยังมี shikimic acid pathway ที่จะสังเคราะห์ p-aminobenzoic acid (pABA) ให้กับวิถีสังเคราะห์โฟเลตด้วย [22] ขณะนี้พบว่ามี gene สำหรับเอนไซม์ในวิถีโฟเลตครบยกเว้น dihydroneopterin aldolase ที่ยังตรวจสอบไม่ได้ [23] ในวิถีนี้มีเอนไซม์ dihydropteroate synthase (DHPS) เป็นตำแหน่งเป้าหมายของยา sulfonamides และเอนไซม์ dihydrofolate reductase (DHFR) เป็นตำแหน่งเป้าหมายของยา pyrimethamine และ cycloguanil การเกิดผ่าเหล่าของ genes ที่ให้เอนไซม์ทั้ง 2 ทำให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ผิดปกติบริเวณ active site จะไม่สามารถจับกับยาดังกล่าวได้ดี เกิดมีภาวะการดื้อยาของเชื้อที่พบได้ในทุกภูมิภาคของโลกที่มีการระบาดของมาลาเรีย [21]

เมตาบอลิสมของเพียวรีนและไพริมิดีน (Metabolism of purine and pyrimidine)

วิถีการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของทั้งเพียวรีนและไพริมิดีน เป็นตำแหน่งเป้าหมายในการพัฒนายารักษามาลาเรียกลุ่มใหม่ (รูปที่ 1 และ 2) เชื้อมาลาเรียจะ

สังเคราะห์เพียวรีนนิวคลีโอไทด์โดยอาศัยการดึงเบสมาจากเซลล์เจ้าบ้าน (salvage pathway) และไม่มีความสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง ซึ่งต่างจากเซลล์ของมนุษย์ ดังนั้นถ้ายับยั้งเอนไซม์ในการดึงเบสมาใช้ จะสามารถฆ่าเชื้อมาลาเรียได้ เอนไซม์ที่มีการศึกษากันมากคือ purine nucleoside phosphorylase (PNP) และ hypoxanthine guanine xanthine phosphoribosyltransferase (HGXPRT) เอนไซม์ PNP จะเร่งปฏิกิริยา phosphorolysis ของ inosine ให้ hypoxanthine จากนั้นเอนไซม์ HGXPRT จะเติมหมู่ ribosyl phosphate ให้ hypoxanthine, xanthine หรือ guanine ได้เป็น inosine 5'-monophosphate (IMP), xanthosine 5'-monophosphate (XMP) และ guanosine 5'-monophosphate (GMP) ตามลำดับที่ต่างจากเอนไซม์นี้ของมนุษย์ (รูปที่ 1) genes ของทั้งเอนไซม์ HGXPRT และ PNP ของเชื้อ *P. falciparum* ได้ถูกโคลนและแสดงออกได้ดีในเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* จึงทำให้มีการศึกษาถึงสารยับยั้งที่มีโครงสร้างเหมือนกับ transition state ของเอนไซม์ทั้ง 2 ได้ คือ สาร immucillin GP [24] และสาร immucillin G [25, 26] โดยอาศัยโครงสร้าง 3 มิติที่ได้จาก x-ray crystallography ของเอนไซม์ HGXPRT ในเชื้อ *P. falciparum* [27] สาร immucillin G จับกับเอนไซม์ PNP ของเชื้อ (K_i เท่ากับ 0.03 nM) ได้ดีกว่าเอนไซม์ของมนุษย์ถึง 30 เท่า และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียได้ที่ IC_{50} (ระดับความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อตายไปครึ่งหนึ่ง) เท่ากับ 50 nM [26] ส่วนสาร immucillin GP และสาร immucillin HP ซึ่งมีหมู่ฟอสเฟตที่ปลาย 5' ของน้ำตาลไรโบส จับกับเอนไซม์ HGXPRT ของเชื้อและเอนไซม์ HGPRT ของมนุษย์ได้ดีพอ ๆ กัน และไม่มีรายงานการทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียของสารทั้งสอง [24, 27]

เชื้อ *P. falciparum* สามารถสังเคราะห์ไพริมิดีน-นิวคลีโอไทด์ได้เอง (de novo) และไม่ใช้การดึงไพริมิดีนจากเซลล์เจ้าบ้าน ซึ่งแตกต่างไปจากเซลล์ของมนุษย์ [28] ดังนั้นถ้ายับยั้งเอนไซม์ในการสังเคราะห์ดังกล่าว ก็จะสามารถฆ่าเชื้อมาลาเรียได้โดยไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ของมนุษย์ กลุ่มวิจัยของเราได้ศึกษาเอนไซม์ในวิถีการสังเคราะห์ไพริมิดีนอย่างต่อเนื่อง เอนไซม์ dihydroorotate dehydrogenase (DHOD) ของเชื้อมีความแตกต่างโดยเฉพาะที่ active site จากเอนไซม์ของมนุษย์ และเป็นตำแหน่งเป้าหมายใหม่ที่จะใช้พัฒนายารักษามาลาเรีย [28-31]

เมตาบอลิสมของการย่อยสลายฮีโมโกลบิน (Metabolism of hemoglobin breakdown)

เชื้อ *P. falciparum* มีความสามารถอย่างจำกัดในการสังเคราะห์กรดอะมิโนขึ้นเอง ถึงแม้ว่าจะมี shikimic acid pathway ช่วยสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิด aromatic ได้บ้าง รวมทั้งมีความสามารถในการเปลี่ยนกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ กลับไปมาได้บ้าง (รูปที่ 1) เป็นผลทำให้เชื้อมีการดึงกรดอะมิโนเกือบทั้งหมดมาใช้โดยตรงจากเซลล์เจ้าบ้านหรือการสลายฮีโมโกลบินของเม็ดเลือดแดงที่ถูกกินเข้าไปในถุงอาหารของตัวเชื้อ (ประมาณ 60 -70 % ของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง) เพื่อให้ได้กรดอะมิโนไปใช้ในวิถีเมตาบอลิสมต่าง ๆ และฮีมที่เกิดขึ้นอาจเป็นที่จับของยา chloroquine รวมทั้งยาสมุนไพรจีน artemisinin และอนุพันธ์ของมัน ในระหว่างปี 1988-1990 Daniel Goldberg และคณะ [32] ได้เริ่มศึกษากระบวนการสลายโกลบินในถุงอาหารของเชื้อ *P. falciparum* และค้นพบวิถีการสลายโกลบินที่จัดเป็นระเบียบโดยอาศัยเอนไซม์ที่เป็น acidic proteases หลายชนิดทั้งที่เป็น aspartate proteases เรียกชื่อเฉพาะว่า “plasmepsin” I, II, IV และ cysteine proteases ซึ่งเรียกว่า “falcipains” [33]

เอนไซม์ plasmepsin I (PM I) จะสลายโกลบินสายแอลฟาก่อนที่จำเพาะตำแหน่งเดียว จากนั้น PM II, PM IV, falcipains, facilysins จะสลายให้โกลบินเส้นสั้น ๆ แล้วจึงถูกเอนไซม์อื่น ๆ เช่น aminopeptidases สลายต่อให้กรดอะมิโนอิสระ โครงสร้างของเอนไซม์ PM II ของเชื้อมาลาเรียถือเป็นโครงสร้างแรกของเอนไซม์ในเชื้อที่มีการค้นพบ [34, 35] เอนไซม์ PM II เป็นตำแหน่งเป้าหมายใหม่ในการพัฒนายารักษามาลาเรีย [36-38] โดยจะมีบริเวณ active site ต่างจากเอนไซม์ aspartate

proteases ของมนุษย์เช่น pepsin, cathepsin D เป็นต้น สารยับยั้งที่จับเอนไซม์ PM II ของเชื้อ (K_i เท่ากับ 0.07 μM) ได้ดีกว่าเอนไซม์ cathepsin ของมนุษย์ประมาณ 22 เท่า สารยับยั้งดังกล่าวอาทิเช่น allophenylnorstatine KNI-727 มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* ได้ที่ IC_{50} เท่ากับ 10 μM. [37, 38]

เมตาบอลิสมของลิปิด (Metabolism of lipid)

เชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* ไม่สามารถสังเคราะห์ cholesterol ได้เอง จะอาศัยดึงจากเซลล์เจ้าบ้านมาใช้ แต่มีความสามารถในการสังเคราะห์ phospholipids (PL) บางชนิดขึ้นได้เอง เช่น phosphatidylethanolamine (PE) และ phosphatidylcholine (PC) โดยผ่าน Kennedy pathway เหมือนกับในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในเชื้อมาลาเรียพบว่าทั้ง PE และ PC จะเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ถึง 90 % ของ PL ทั้งหมด สำหรับ phosphatidylserine (PS) ซึ่งเป็นส่วนประกอบประมาณ 5 % ของ PL จะถูกสังเคราะห์จากเอนไซม์ PS synthase (PSS) ที่มีคุณสมบัติเหมือนกับในเซลล์แบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยน serine ไปเป็น ethanolanine โดยเอนไซม์ serine decarboxylase (SDn) ที่ต่างไปจากเซลล์ของมนุษย์ (รูปที่ 3) สำหรับการสังเคราะห์ phosphatidylinositol (PI) ในเชื้อจะคล้ายกับในเซลล์ของมนุษย์ [39, 40]

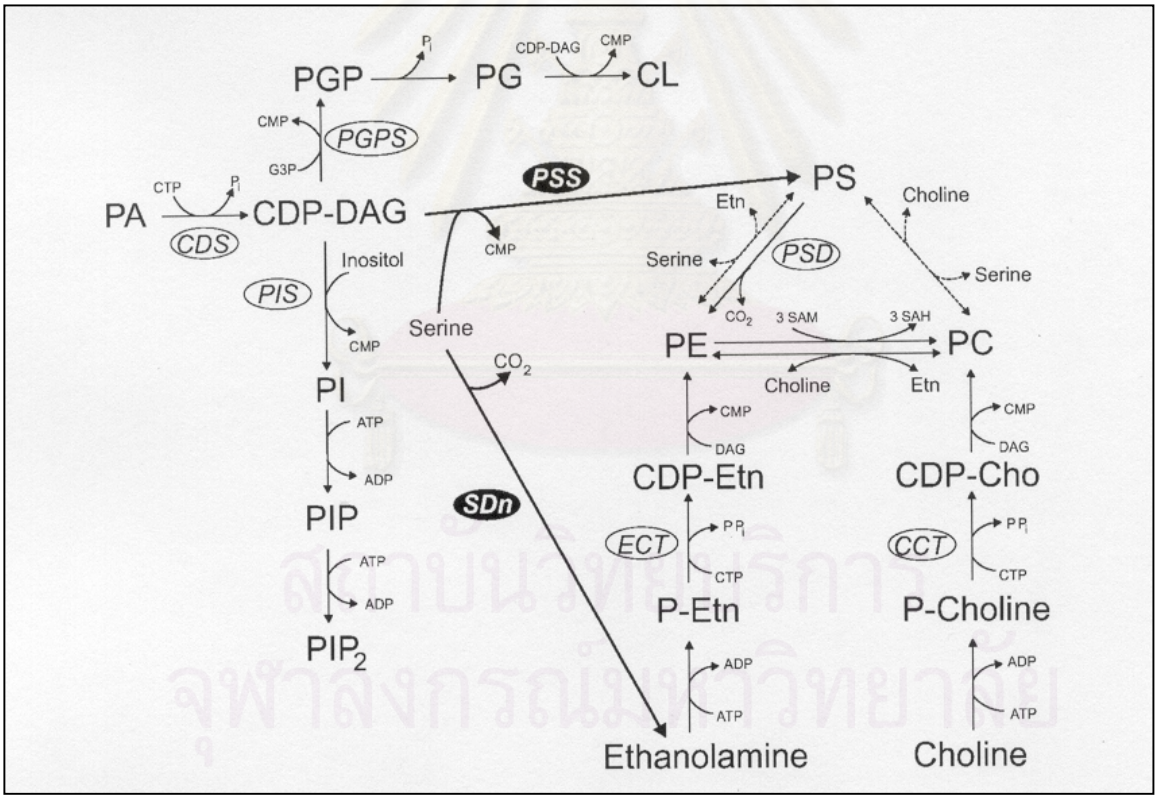

Figure 3. Biosynthesis of phospholipid (PL) in *P. falciparum*. Phosphatidylethanolamine (PE) and phhosphatidylcholine (PC) synthetic reactions are typically Kennedy pathway. Bold lines indicate the reactions operating in the malaria parasite, but absence from human cell: CDP-DAG → PS and serine → ethanolamine. Broken lines show the reactions existing in human cell, but no significance in the malaria parasite. Most abbreviations are found in the text (Ref. 39).

เนื่องจากเชื้อมาลาเรียมี apicoplast ซึ่งเป็นออร์กาเนลที่ได้จาก secondary endosymbiosis จาก algae ชนิดหนึ่งแต่ไม่สามารถทำหน้าที่สังเคราะห์แสงได้ [41, 42] ใน apicoplast มีการสังเคราะห์สาร isoprenoid เช่น isopentenyl diphosphate โดย deoxyxylulose 5-phosphate (DOXP) pathway ซึ่งเป็นแบบ non-mevalonate pathway (รูปที่ 1) โดยจะไม่พบ pathway แบบนี้ในเซลล์มนุษย์ สาร isoprenoid ดังกล่าวไปจับกับโปรตีนหลายชนิดเกิดกระบวนการ farnesylation ขึ้น DOXP pathway ก็เป็นตำแหน่งเป้าหมายหนึ่งในการพัฒนายารักษามาลาเรียกลุ่มใหม่ เช่น fosmidomycin (เป็น herbicide ชนิดหนึ่ง) ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 2-C-methyl-D-erythrose 4-phosphate synthase ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ methylerythrose phosphate จาก DOXP [6, 19, 41, 42]

ออร์กาเนล apicoplast ยังมีระบบการสังเคราะห์ mRNA และโปรตีนเป็นแบบของเซลล์แบคทีเรีย จึงเป็นตำแหน่งของยา antibiotics ที่ใช้ในการรักษาร่วมกับ

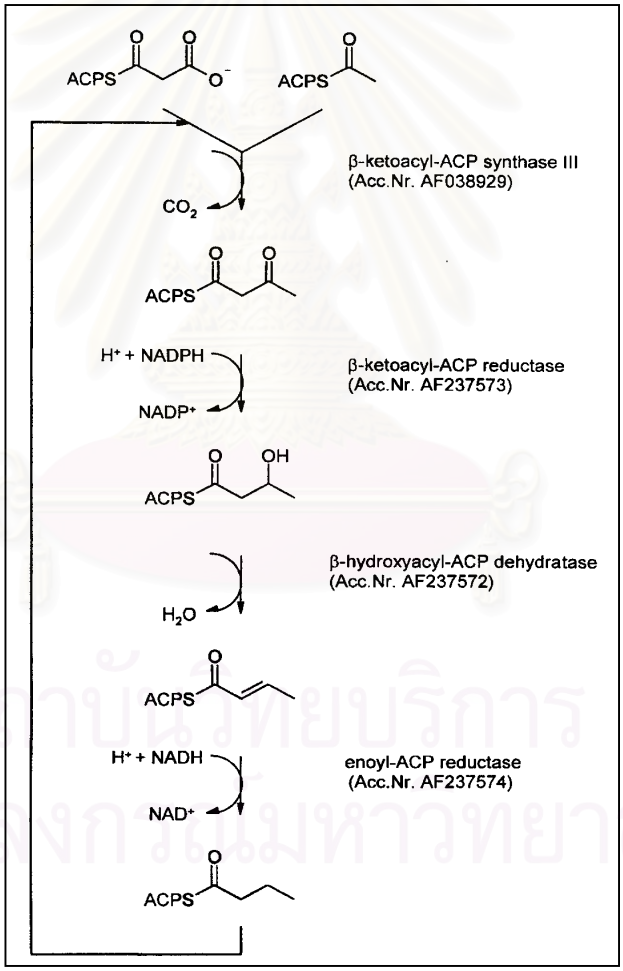

Figure 4. Four enzymatic steps in elongation of fatty acid biosynthesis in *P. falciparum*. The enzymes are shown with the GenBank database accession numbers (in brackets). Enzyme NADH-dependent enoyl-ACP reductase, catalyzes conversion of *trans*-2-enoyl-ACP into Acyl-ACP, serves as molecular drug target of antibacterial tricosan, Genz-8575 and Genz-10850.

ยารักษามาลาเรียตัวอื่น (quinine) ที่ใช้อยู่ อาทิเช่น tetracycline, doxycycline และ clindamycin เป็นต้น (ตารางที่ 1, รูปที่ 2) [41, 42] นอกจากนี้ apicoplast จะมีการสังเคราะห์กรดไขมันเป็นแบบที่ II ซึ่งต่างจากของสัตว์ทั่วไปและของมนุษย์ซึ่งเป็นแบบที่ I การสังเคราะห์กรดไขมันแบบที่ II จะพบได้ใน plastid ของพืช ใน algae และในเซลล์แบคทีเรีย เอนไซม์ในการสังเคราะห์กรดไขมันแบบที่ II นี้มีคุณสมบัติจำเพาะคือ เอนไซม์ทั้ง 7 ชนิดที่ใช้สำหรับการสังเคราะห์กรดไขมันจะไม่รวมกันเป็นกลุ่มเอนไซม์ 7 ชนิดบนโปรตีนเดียวกัน (multifunctional single polypeptide) แตกต่างไปจากเอนไซม์นี้ ที่พบในแบบที่ I (รูปที่ 4)

เอนไซม์ NADH-dependent enoyl-ACP reductase ของเชื้อมาลาเรียเป็นตำแหน่งเป้าหมายโดยสาร tricosan (ซึ่งเป็นยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดหนึ่ง) จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว โดยไปจับกับเอนไซม์ได้ดีที่ K_i ประมาณ 0.05 μM สามารถฆ่าเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* สายพันธ์ต่าง ๆ ที่ IC_{50} ในระดับ 0.7-1.5 μM [43, 44] และฆ่าเชื้อมาลาเรีย *P. berghei* ในหนูทดลองได้หมดที่ระดับ 38 mg/kg [44] ได้มีการศึกษาโครงสร้าง 3 มิติของเอนไซม์จากเชื้อมาลาเรียแล้ว รวมทั้งสาร tricosan และสาร Genz-8575 และ Genz-10850 (ได้จากการทำ high-throughput screening) ที่ไปจับกับบริเวณ active site [43, 45] ความรู้ความเข้าใจดังกล่าวทำให้เอนไซม์ enoyl-ACP reductase ที่ใช้สังเคราะห์กรดไขมันแบบที่ II ในเชื้อมาลาเรียเป็นตำแหน่งเป้าหมายที่มีความเป็นไปได้สูงที่จะพัฒนายารักษามาลาเรียชนิดใหม่ได้

บทสรุปและแนวโน้มการศึกษาวิจัย (Conclusion and research trend)

ในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมาหลังจากที่มีองค์ความรู้ด้านจีโนมิกส์ของเชื้อมาลาเรียแล้ว [46] ทำให้องค์ความรู้พื้นฐานด้านชีววิทยา [47] และด้านชีวเคมีที่ศึกษาต่อเนื่องเป็นเวลานาน [48] มีความเข้าใจกระจ่างชัดยิ่งขึ้นในวิถีเมตาบอลิสมต่าง ๆ ของเชื้อมาลาเรีย ทั้งที่บางวิถีมีความเหมือนและมีความแตกต่างจากเซลล์ของมนุษย์ที่เป็นเจ้าบ้าน สามารถนำไปประยุกต์ในการพัฒนายารักษามาลาเรียชนิดใหม่ที่อาศัยตำแหน่งเป้าหมายที่เป็นเอนไซม์ในวิถีเมตาบอลิสมที่มีเอกลักษณ์จำเพาะต่อเชื้อ และไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ของมนุษย์ จะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะได้ยาที่ใช้ในการควบคุมโรคมาลาเรียต่อไปได้ [48-51]

ในระยะทุก ๆ 5 ปี ข้างหน้า มีการคาดหมายว่าจะมียาใหม่เพิ่มขึ้น 1 ชนิดให้ได้ ขณะนี้ องค์กรต่าง ๆ ที่ให้ความสนใจมีมากขึ้นอาทิเช่น Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria [52], the Multilateral Initiative on Malaria in Africa [53, 54], the Medicines for Malaria Venture [19, 55] และ the Roll Back Malaria [56] โดยมีองค์การอนามัยโลกเป็นผู้ประสานการให้ทุนการวิจัยและพัฒนายารักษามาลาเรียตัวใหม่ อย่างไรก็ตามกระบวนการในการพัฒนายาตัวหนึ่ง ๆ จะต้องอาศัยสหศาสตร์ (multi-disciplinary) และสหทรัพยากร (multi-resources) มาร่วมกันใช้เพื่อสร้างความสำเร็จ โดยบทบาทของชีวเคมีรวมทั้งข้อมูลทางจีโนมิกส์ จะให้ตำแหน่งเป้าหมายที่คาดว่าจะพัฒนาสารยับยั้งหรือสารนำ (lead compounds) ที่ไปสู่ยารักษามาลาเรียชนิดใหม่ ๆ ได้ [57-61]

อ้างอิง

1. World Health Organization, Tropical Diseases Research: Progress 1995 -1996, Thirteenth Programme Report of the UNDP/World Bank/ WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. TDR Geneva: 1997
2. Greenwood B, Marsh K, Snow R. Why do some African children develop severe anemia. Parasitol Today 1991 Oct;7(10):277-81
3. Knight JC, Udalova I, Hill AV, Greenwood BM, Peshu N, Marsh K, Kwiatkowski D.A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with

severe malaria. Nat Genet 1999 Jun;22(2): 145 -50

4. Annual epidemiological surveillance report. Nontaburi: Division of Epidemiology, Ministry of Public Health, 1998

5. World Health Organization, Division of Control of Tropical diseases. Severe and complicated malaria. Trans R Soc Trop Med Hyg 1990; 84(Suppl 2):1-26

6. Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, Carlton JM, Pain A, Nelson KE, Bowman S, et al. Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Nature 2002 Oct;419(6906): 498 - 511

7. The Plasmodium Genome Resource [online] 2005 [cited 2005 Nov 10]. Available from: URL: http://plasmodb.org/

8. Carlton JM, Angiuoli SV, Suh BB, Kooij TW, Pertea M, Silva JC, Ermolaeva MD, Allen JE, Selengut JD, Koo HL, et al. Genome sequence and comparative analysis of the model rodent malaria parasite *Plasmodium yoelii*. Nature 2002 Oct 3;419(6906):512 - 9

9. Carlton J. The *Plasmodium vivax* genome sequencing project. Trends Parasitol 2003 May; 19(5): 227 - 31

10. Hoffman SL, Subramanian GM, Collins FH, Venter JC. *Plasmodium*, human and *Anopheles* genomics and malaria. Nature 2002 Feb 7;415(6872):702 - 9

11. Florens L, Washburn MP, Raine JD, Anthony RM, Grainger M, Haynes JD, Moch JK, Muster N, Sacci JB, Tabb DL, et al. A proteomic view of the *Plasmodium falciparum* life cycle. Nature 2002 Oct 3;419(6906):520 - 6

12. Holt RA, Subramanian GM, Halpern A, Sutton GG, Charlab R, Nusskern DR, Wincker P, Clark AG, Ribeiro JM, Wides R, et al. The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. Science 2002 Oct 4;298(5591): 129 - 49

13. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, et al. The sequence of the human genome. Science 2001 Feb;291(5507): 1304 - 51

14. Baldauf SL, Roger AJ, Wenk-Siefert I, Doolittle WF. A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. Science 2000 Nov;290(5493):972 - 7

15. Rich SM, Licht MC, Hudson RR, Ayala FJ. Malaria's Eve: evidence of a recent population bottleneck throughout the world populations of *Plasmodium falciparum*. Proc Natl Acad Sci USA 1998 Apr;95(8):4425 - 30

16. Mu J, Duan J, Makova KD, Joy DA, Huynh CQ, Branch OH, Li WH, Su XZ. Chromosome-wide SNPs reveal an ancient origin for *Plasmodium falciparum*. Nature 2002 Jul; 418(6895): 323 - 6

17. The Hebrew University of Jerusalem. Introduction [online] Last updated 9 Nov 2005 [cited 2005 Nov 10]. Available from: URL: http:// sites. huji.ac.il/malaria/introduction.html

18. Kanehisa M, Goto S, Kawashima S, Nakaya A. The KEGG databases at GenomeNet. Nucleic Acids Res 2002 Jan; 30(1):42-6

19. Ridley RG. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. Nature

2002 Feb 7;415(6872):686 - 93

20. Krungkrai J, Webster HK, Yuthavong Y. Folate and cobalamin metabolism in *Plasmodium falciparum.* Parasitol Today 1990 Dec;6(12): 388 - 91
21. Yuvaniyama J, Chitnumsub P, Kamchonwongpaisan S, Vanichtanankul J, Sirawaraporn W, Taylor P, Walkinshaw MD, Yuthavong Y. Insights into antifolate resistance from malarial DHFR-TS structures. Nat Struct Biol 2003 May;10(5):357 - 65
22. Roberts F, Roberts CW, Johnson JJ, Kyle DE, Krell T, Coggins JR, Coombs GH, Milhous WK, Tzipori S, Ferguson DJ, et al. Evidence for the shikimate pathway in apicomplexan parasites. Nature 1998 Jun; 393(6687): 801 -5
23. Nirmalan N, Wang P, Sims PF, Hyde JE. Transcriptional analysis of genes encoding enzymes of the folate pathway in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Mol Microbiol 2002 Oct;46(1):179 - 90
24. Li CM, Tyler PC, Furmeaux RH, Kicska G, Xu Y, Grubmeyer C, Girvin ME, Shramm VL. Transition-state analogs as inhibitors of human and malarial hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferases. Nat Struct Biol 1999 Jun;6(6):582 - 7
25. Kicska GA, Tyler PC, Evans GB, Furneaux RH, Kim K, Schramm VL. Transition state analogue inhibitors of purine nucleoside phosphorylase from *Plasmodium falciparum.* J Biol Chem 2002 Feb 1;277(5):3219 - 25
26. Kicska GA, Tyler PC, Evans GB, Furneaux RH, Schramm VL, Kim K. Purine-less death in *Plasmodium falciparum* induced by immucillin-H, transition state analogue of purine nucleoside phosphorylase. J Biol Chem 2002 Feb 1;277(5):3226 - 31
27. Shi W, Li CM, Tyler PC, Furneaux RH, Cahill SM, Girvin ME, Grubmeyer C, Schramm VL, Almo SC. The 2.0 A structure of malarial purine phosphoribosyltransferase in complex with a transition-state analogue inhibitor. Biochemistry 1999 Aug 3;38(31):9872 - 80
28. Krungkrai J. Dihydroorotase and dihydroorotate dehydrogenase as a target for antimalarial drugs. Drugs Future 1993 May;18(5):441 - 50
29. McRobert L, McConkey GA. RNA interference (RNAi) inhibits growth of *Plasmodium falciparum*. Mol Biochem Parasitol 2002 Feb; 119 (2):273 - 8
30. Baldwin J, Farajallah AM, Malmquist NA, Rathod PK, Phillips MA. Malarial dihydroorotate dehydrogenase. Substrate and inhibitor specificity. J Biol Chem 2002 Nov 1;277(44): 41827 - 34
31. Krungkrai J, Prapunwatana P, Wichikul C, Reungprapavut S, Krungkrai SR, Horii T. Molecular biology and biochemistry of malarial parasite pyrimidine biosynthetic pathway. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003 Dec;34 (Suppl 2): 32 - 43
32. Goldberg DE, Slater AF, Beavis R, Chait B, Cerami A, Henderson GB. Hemoglobin degradation in the human malaria pathogen *Plasmodium falciparum*: a catabolic pathway initiated by a specific aspartic protease. J Exp Med 1991 Apr;173(4):961 - 9
33. Banerjee R, Liu J, Beatty W, Pelosof L, Klemba

M, Goldberg DE. Four plasmepsins are active in the *Plasmodium falciparum* food vacuole, including a protease with an active-site histidine. Proc Natl Acad Sci USA 2002 Jan;99(2):990 - 5

34. Silva AM, Lee AY, Gulnik SV, Maier P, Collins J, Bhat TN, Collins PJ, Cachau RE, Luker KE, Gluzman IY, et al. Structure and inhibition of plasmepsin II, a hemoglobin-degrading enzyme from *Plasmodium falciparum*. Proc Natl Acad Sci USA 1996 Sep;93(19): 10034 - 9
35. Bernstein NK, Cherney MM, Loetscher H, Ridley RG, James MN. Crystal structure of the novel aspartic proteinase zymogen proplasmepsin II from *Plasmodium falciparum*. Nat Struct Biol 1999 Jan;6(1): 32 - 7
36. Francis SE, Gluzman IY, Oksman A, Knickerbocker A, Mueller R, Bryant ML, Sherman DR, Russell DG, Goldberg DE. Molecular characterization and inhibition of a *Plasmodium falciparum* aspartic hemoglobinase. EMBO J 1994 Jan;13(2):306 - 17
37. Nezami A, Luque I, Kimura T, Kiso Y, Freire E. Identification and characterization of allophenylnorstatine-based inhibitors of plasmepsin II, an antimalarial target. Biochemistry 2002 Feb 19;41(7):2273 - 80
38. Nezami A, Kimura T, Hidaka K, Kiso A, Liu J, Kiso Y, Goldberg DE, Freire E. High-affinity inhibition of a family of *Plasmodium falciparum* proteases by a designed adaptive inhibitor. Biochemistry 2003 Jul;42(28): 8459 - 64
39. Vial HJ, Eldin P, Tielens AGM, Hellemond JJ. Phospholipids in parasitic protozoa. Mol Biochem Parasitol 2003 Feb;126(2):143 - 54
40. Wengelnik K, Vidal V, Ancelin ML, Cathiard AM, Morgat JL, Kocken CH, Calas M, Herrera S, Thomas AW, Vial HJ. A class of potent antimalarials and their specific accumulation in infected erythrocytes. Science 2002 Feb 15;295(5558):1311 - 4
41. Foth BJ, Ralph SA, Tonkin CJ, Struck NS, Fraunholz M, Roos DS, Cowman AF, McFadden GI. Dissecting apicoplast targeting in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Science 2003 Jan 31;299(5607): 705 - 8
42. Foth BJ, McFadden GI. The apicoplast: a plastid in *Plasmodium falciparum* and other Apicomplexan parasites. Int Rev Cytol 2003; 224:57 - 110
43. Perozzo R, Kuo M, Sidhu AS, Valiyaveettil JT, Bittman R, Jacobs WR Jr, Fidock DA, Sacchettini JC. Structural elucidation of the specificity of the antibacterial agent triclosan for malarial enoyl acyl carrier protein reductase. J Biol Chem 2002 Apr 12;277(15):13106 - 14
44. Surolia N, Surolia A. Triclosan offers protection against blood stages of malaria by inhibiting enoyl-ACP reductase of *Plasmodium falciparum*. Nature Med 2001 Feb;7(2): 167 - 73
45. Kuo MR, Morbidoni HR, Alland D, Sneddon SF, Gourlie BB, Staveski MM, Leonard M, Gregory JS, Janjigian AD, Yee C, et al. Targeting tuberculosis and malaria through inhibition of enoyl reductase: compound

activity and structural data. J Biol Chem 2003 Jun 6;278(23):20851 - 9

46. Bahl A, Brunk B, Crabtree J, Fraunholz MJ, Gajria B, Grant GR, Ginsburg H, Gupta D, Kissinger JC, Labo P, et al. The PlasmoDB:. *Plasmodium* genome resource. A database integrating experimental and computational data. Nucleic Acids Res 2003 Jan 1; 31(1): 212 - 5
47. Aravind L, Iyer LM, Wellems TE, Miller LH. *Plasmodium* biology: genomic gleanings. Cell 2003 Dec 26;115(7):771 - 85
48. Vernick KD, Waters AP. Genomics and malaria control. N Engl J Med 2004 Oct 28; 351(18): 1901 - 4
49. Nezami A, Freire E. The integration of genomic and structural information in the development of high affinity plasmepsin inhibitors. Int J Parasitol 2002 Dec 4; 32(13):1669 - 76
50. Ralph SA, van Dooren GG, Waller RF, Crawford MJ, Fraunholz MJ, Foth BJ, Tonkin CJ, Roos DS, McFadden GI. Tropical infectious diseases: metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast. Nat Rev Microbiol 2004 Mar;2(3):203 - 16
51. Lu JZ, Lee PJ, Waters NC, Prigge ST. Fatty Acid synthesis as a target for antimalarial drug discovery. Comb Chem High Throughput Screen 2005 Feb;8(1):15 - 26
52. Kapp C. Global fund on AIDS, tuberculosis, and malaria holds first board meeting. Lancet 2002 Feb;359(9304):414
53. Nchinda TC. Malaria: a reemerging disease in Africa. Emerg Infect Dis 1998 Jul-Sep;4 (3): 398 - 403
54. Heddini A, Keusch GT, Davies CS. The multilateral initiative on malaria: past, present, and future. Am J Trop Med Hyg 2004 Aug;71(Suppl 2): 279 - 82
55. Medicines for Malaria Venture. Curing Malaria Together [online] 2005 [cited 2005 Nov 10]. Available from: URL: http://www.mmv.org
56. Roll Back Malaria [online] [cited 2005 Nov 10]. Available from: URL: http://www.rbm.who.int
57. White NJ. Antimalarial drug resistance. J Clin Invest 2004 Apr;113(8):1084 - 92
58. Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. Nat Rev Drug Discov 2004 Jun;3(6):509 - 20
59. Reungprapavut S, Krungkrai SR, Krungkrai J. *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase is a possible target for malaria chemotherapy. J Enzyme Inhib Med Chem 2004 Jun;19(3): 249 - 56
60. Krungkrai J, Scozzafava A, Reungprapavut S, Krungkrai SR, Rattanajak R, Kamchonwongpaisan S, Supuran CT. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase with aromatic sulfonamides: towards antimalarials with a novel mechanism of action? Bioorg Med Chem 2005 Jan 17;13(2):483 - 9
61. Boa AN, Canavan SP, Hirst PR, Ramsey C, Stead AM, McConkey GA. Synthesis of brequinar analogue inhibitors of malaria parasite dihydroorotate dehydrogenase. Bioorg Med Chem 2005 Mar;13(6):1945 - 67

กิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์

ท่านสามารถได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการสำหรับกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องสำหรับแพทย์ กลุ่มที่ 3 ประเภทที่ 23 (ศึกษาด้วยตนเอง) โดยศูนย์การศึกษาต่อเนื่องของแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตามเกณฑ์ของศูนย์การศึกษาต่อเนื่องของแพทย์แห่งแพทยสภา (ศนพ.) จากการอ่านบทความเรื่อง **"เชื้อมาลาเรีย จีโนมิกส์ และชีวเคมี กับตำแหน่งเป้าหมายในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรีย"** โดยตอบคำถามข้างล่างนี้ ที่ท่านคิดว่าถูกต้องโดยใช้แบบฟอร์มคำตอบท้ายคำถาม โดยสามารถตรวจจำนวนเครดิตได้จาก http://www.ccme.or.th

---

คำถาม - คำตอบ

1. เชื้อมาลาเรียที่ทำให้เกิด severe and cerebral malaria คือ
   - ก. *Plasmodium vivax*
   - ข. *Plasmodium falciparum*
   - ค. *Plasmodium malariae*
   - ง. *Plasmodium ovale*
   - จ. All of above
2. ข้อความต่อไปนี้ถูกต้องเกี่ยวกับจีโนมิกส์ของเชื้อมาลาเรีย
   - ก. Mitochondrion genome มีขนาด 16 kb เท่ากับของมนุษย์
   - ข. Apicoplast genome มีขนาด 100 kb เท่ากับ chloroplast ของพืช
   - ค. Nucleus genome มีขนาด 23 Mb เล็กกว่าของยุงก้นปล่องและมนุษย์
   - ง. มี single nucleotide polymorphisms จำนวนเท่า ๆ กับของมนุษย์
   - จ. มี genes ทั้งหมด 31,000 genes
3. Metablic pathway ที่พบเฉพาะในเชื้อมาลาเรีย และไม่พบในมนุษย์ได้แก่
   - ก. Folate biosynthesis
   - ข. Heme biosynthesis
   - ค. Anaerobic glycolysis
   - ง. Fatty acid biosynthesis
   - จ. เฉพาะข้อ ก และ ข

✂.....

คำตอบ สำหรับบทความเรื่อง **"เชื้อมาลาเรีย จีโนมิกส์ และชีวเคมี กับตำแหน่งเป้าหมายในการพัฒนายารักษาโรคมาลาเรีย"**

จุฬาลงกรณ์เวชสาร ปีที่ 50 ฉบับที่ 2 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549

รหัสสื่อการศึกษาต่อเนื่อง 3-23-201-9010/0602(1004)

ชื่อ - นามสกุลผู้ขอ CME credit.....เลขที่ใบประกอบวิชาชีพเวชกรรม.....

ที่อยู่.....

1. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
2. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
3. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
4. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)
5. (ก) (ข) (ค) (ง) (จ)

4. คู่ของเอนไซม์และยาหรือสารยับยั้งที่ทำงานใน hemoglobin catabolic pathway คือ
    ก. Heme synthetase/chloroquine
    ข. Lactate dehydrogenase/NADH
    ค. Plasmepsin/allophenylnorstatine
    ง. Dihydrofolate reductase/pyrimethamine
    จ. Purine nucleoside phosphorylase/immucillin
5. ข้อใดต่อไปนี้ถูกต้องเกี่ยวกับยารักษามาลาเรีย และตำแหน่งเป้าหมายของยา
    ก. Fansidar ®/pentose phosphate pathway
    ข. Chloroquine/glycolysis
    ค. Coartem ®/fatty acid biosynthesis
    ง. Halofantrine/purine biosynthesis
    จ. Malarone ®/mitochondrion and folate biosynthesis

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ท่านที่ประสงค์จะได้รับเครดิตการศึกษาต่อเนื่อง (CME credit)
กรุณาส่งคำตอบพร้อมรายละเอียดของท่านตามแบบฟอร์มด้านหน้า

ศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพร จิตต์มิตรภาพ
ประธานคณะกรรมการการศึกษาต่อเนื่อง
ตึกอานันทมหิดล ชั้น 5
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เขตปทุมวัน กทม. 10330