

การศึกษ้อันตรกิริยาของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย

นางสาวชมพูนุท กสิชีวิน

การศึกษ้อิสระ เสนอเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

มีนาคม 2562

มหาวิทยาลัยพะเยา

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

คณะกรรมการสอบการศึกษาอิสระ อาจารย์ที่ปรึกษา และคณบดีคณะ
วิทยาศาสตร์ได้พิจารณาการศึกษาอิสระ เรื่อง “การศึกษาอันตรกิริยาของยาฆ่าเชื้อ
มาลาเรีย” เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร
บัณฑิต สาขาวิชาเคมี ของมหาวิทยาลัยพะเยา

See.

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เอกสุรีย์ ตักดีศรีชัย)

ประธานกรรมการ

ชัยพัฒน์ ลาพินี่

.....
(ดร.ชัยพัฒน์ ลาพินี่)

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา

Li.

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุฑารัตน์ กำวินจันทร์)

กรรมการ

See

.....
(รองศาสตราจารย์ปริญนันท์ แสนโกชนม์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

มีนาคม 2562

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาอิสระฉบับนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงด้วยดีเนื่องจากคณาจารย์สาขาเคมีทุกท่านซึ่งได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้มาโดยตลอด โดยเฉพาะการให้คำแนะนำและปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดีจาก อาจารย์ ดร. ชัยพัฒน์ ลาพิณี ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการจัดการโครงการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. นิติพล ศรีมงคล พิทักษ์ ที่ให้การสนับสนุนยาและสารเคมีในการวิจัยครั้งนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์เอกสุรีย์ คักดีศรีชัย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ จุฑารัตน์ กำวิณจันทร์ ที่ได้สละเวลาเป็นกรรมการในการสอบการศึกษาอิสระในครั้งนี้ ตลอดจนให้ความรู้ ข้อเสนอแนะและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ

ขอขอบพระคุณ ดร. นิติพล ศรีมงคลพิทักษ์ ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโพรตีนลิแกนด์และสารชีวโมเลกุล (BIOTEC) ที่ได้ให้ตัวอย่างยาด้านมาลาเรียมาให้ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ สารเคมีและให้คำปรึกษาเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

ท้ายสุดขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ผู้มีพระคุณที่คอยให้กำลังใจ กำลังทรัพย์และสนับสนุนส่งเสริมการศึกษาจนประสบความสำเร็จ ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด

ชมพูนุท กสิชีวิน

ชื่อเรื่อง	การศึกษาอันตรกิริยาของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย
ผู้ศึกษาค้นคว้า	นางสาวชมพูนุท กลีชีวิน
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ชัยพัฒน์ ลาพิณี
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	สาขาวิชาเคมี
คำสำคัญ	เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR), ฮีมิน, ยาต้านมาลาเรียไดไฮโดรอาร์ทีมิซินิน (DHA), พันธะเอ็นโดรเปอร์ออกไซด์, ดีออกซีไดไฮโดรอาร์ทีมิซินิน (Deoxy-DHA)

บทคัดย่อ

เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR) ได้ถูกนำมาใช้ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของฮีมิน ยาต้านมาลาเรียไดไฮโดรอาร์ทีมิซินิน (DHA) และดีออกซีไดไฮโดรอาร์ทีมิซินิน (Deoxy-DHA) การศึกษาครั้งนี้เพื่อวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของยาต้านมาลาเรียที่ทำปฏิกิริยากับฮีมินในตัวทำละลายที่แตกต่างกันและมีส่วนผสมของวิตามินซี ทำการศึกษาการเตรียมตัวอย่างในตัวทำละลายน้ำ DI และ DMSO ผลการศึกษาพบว่าสเปกตรัม FTIR ของ DHA ที่ทำปฏิกิริยากับ Hemin (อัตราส่วน 1:1) ในตัวทำละลายน้ำ DI และ DMSO ที่ความถี่ 824.62 cm^{-1} มีการแตกแยกของพันธะเอ็นโดรเปอร์ออกไซด์ (-O-O-) และสเปกตรัมของ Deoxy-DHA ที่ทำปฏิกิริยากับ Hemin (อัตราส่วน 1:1) ในตัวทำละลายน้ำ DI ที่ความถี่ $1111.07\text{--}1206.63\text{ cm}^{-1}$ มีการแตกแยกของหมู่ฟังก์ชันอีเทอร์ (-O-) จากนั้นทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันเมื่อเติมวิตามินซี (5 เท่าของฮีมินและยาต้านมาลาเรีย) ในตัวทำละลายที่มีออกซิเจนและในตัวทำละลายที่มีไนโตรเจน พบว่าในตัวทำละลายที่มีออกซิเจนเกิดหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล (-C=O) แต่ในตัวทำละลายที่มีไนโตรเจนไม่พบหมู่ฟังก์ชันคาร์บอนิล ผลจากการศึกษาทั้งหมดนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาอันตรกิริยาของยาต้านมาลาเรียที่ทำปฏิกิริยากับฮีมิน

Title	STUDY ON ANTIMALARIAL DRUG INTERACTION
Author	Miss Chompunoot Kasicheewin
Advisor	Dr. Chaipat Lapinee
Bachelor of Science	Program in Chemistry
Keywords	Fourier-Transform Infrared spectroscopy (FTIR), Hemin, Dihydroartemisinin, Endoperoxide bond, Deoxy-Dihydroartemisinin

Abstract

The Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) technique has been used to analysis the change of the functional group of hemin, antimalarial drug-Dihydroartemisinin (DHA) and Deoxy-Dihydroartemisinin (Deoxy-DHA). The aim of this study was to analysis the functional groups of antimalarial drugs that react with hemin in different solvents and the Mixture of Vitamin C. Sample preparation in DI water and DMSO. The result found that DHA spectrum of DHA that reacts with Hemin (ratio 1:1) in DI water and DMSO at frequency is 824.62 cm^{-1} . There is a breakdown of endoperoxide ($-O-O-$) bonding and Deoxy-DHA spectrum that reacts with hemin (ratio 1:1) in DI water solvent at frequency $1111.07-1206.63\text{ cm}^{-1}$ presenting the breakdown of the ether functional group. The change of the functional group was done in vitamin C (ratio 1:5) with and without oxygen (N_2 gas) in solution. In solvents which has oxygen found the carbonyl functional group ($-C = O$) but the carbonyl functional group and in N_2 gas solution was not found the carbonyl functional group ($-C = O$). The results from all of these studies are preliminary data to study the interactions of antimalarial drugs that interact with hemin. This study provides significantly data on the interactions of antimalarial drugs that interact with hemin.

สารบัญ

	หน้า
หน้าอนุมัติ.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ข
บทคัดย่อ.....	ค
ABSTRACT.....	ง
สารบัญเรื่อง.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฉ
อักษรย่อ.....	จ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตของการศึกษา.....	3
1.5 ระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา.....	3
1.6 สถานที่ศึกษา.....	3
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.8 แนวทางการดำเนินงานวิจัยไปใช้ประโยชน์.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลทั่วไปของโรคมาลาเรีย.....	4
2.2 Plasmodium Species.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3 ข้อมูลทั่วไปของ Heme และ Hemin.....	22
2.4 กลไกการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย.....	23
2.5 การวิเคราะห์โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี...	30
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	34
บทที่ 3 การดำเนินงานและการวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	40
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	40
3.3 การเตรียมตัวทำละลาย.....	40
3.4 การเตรียมตัวยาต้านเชื้อมาลาเรียสำหรับการวิเคราะห์.....	41
3.5 การวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR).....	44
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin, DHA และ Deoxy-DHA ในรูปแบบผง โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR)...	45
4.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA และ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme ในตัวทำละลาย DI water โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR).....	47
4.3 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme, DHA และ Deoxy-DHA ในตัวทำละลาย DMSO โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR).....	48

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme, DHA และ Deoxy-DHA ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR).....	51
4.5 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme.....	54
4.6 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA.....	55
4.7 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA.....	56
 บทที่ 5 สรุปผลดำเนินการวิจัย	
5.1 สรุปผลการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin, DHA และ Deoxy-DHA....	57
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	57
บรรณานุกรม	59
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก.....	63
ภาคผนวก ข.....	64
ภาคผนวก ค.....	66
ภาคผนวก ง.....	67
ประวัติผู้ศึกษาวิจัย	69

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงตัวอย่างฮีมินและยาด้านมาลาเรียที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีนลิแกนด์และสารชีวโมเลกุล (BIOTEC).....	41

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แสดงถึงวงชีวิตของเชื้อมาลาเรีย.....	8
2 เชื้อ Plasmodium ระยะต่างๆ ที่พบในเม็ดเลือดแดงเมื่อย้อมด้วยสีกิมซ่า.....	10
3 ความชุกของโรคมาลาเรียทั่วโลก.....	15
4 ความชุกของโรคมาลาเรียในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้.....	16
5 พื้นที่ตรวจพบโรคมาลาเรีย.....	23
6 กลไกการออกฤทธิ์ของยารักษามาลาเรีย.....	24
7 กลไกการเปลี่ยน Heme เป็น Hemozoin.....	26
8 โครงสร้างของ Heme และ Hematin.....	26
9 โครงสร้างของ Hemozoin.....	26
10 ¹ H Spectrum of Artemisinin.....	29
11 ¹³ C Spectrum of Artemisinin.....	29
12 DEPT-13 Spectrum of Artemisinin.....	29
13 อินฟราเรดสเปกตรัมก่อนและหลังผลการแปลงฟูเรียร์.....	30
14 องค์ประกอบและหลักการทำงานของเครื่อง FTIR.....	31
15 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะแก๊ส.....	33
16 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะของเหลว.....	33
17 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน.....	45
18 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน.....	46
19 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน.....	46
20 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Heme (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI water.....	47

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
21 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Heme (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI water.....	48
22 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin ในตัวทำละลาย DMSO.....	48
23 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5) ในตัวทำละลาย DMSO.....	49
24 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DMSO.....	50
25 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DMSO.....	51
26 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน.....	52
27 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน...	53
28 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน.....	54
29 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง Hemin.....	54
30 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง DHA.....	55
31 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง Deoxy-DHA.....	56
32 ตัวอย่างของ DHA.....	63
33 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA.....	63
34 ตัวอย่างของ Hemin.....	64
35 ตัวอย่างของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5).....	64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
36 ตัวอย่างของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5 : 1).....	65
37 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5 : 1).....	65
38 ตัวอย่างของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5).....	66
39 ตัวอย่างของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5 : 1).....	66
40 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 : 5 : 1).....	67
41 การวิเคราะห์ตัวอย่างในรูปแบบของสະລະລາຍ.....	67
42 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FT-IR Spectrometer) รุ่น Nicolet 6700.....	68
43 การ Flow Nitrogen gas เป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที.....	68

อักษรย่อ

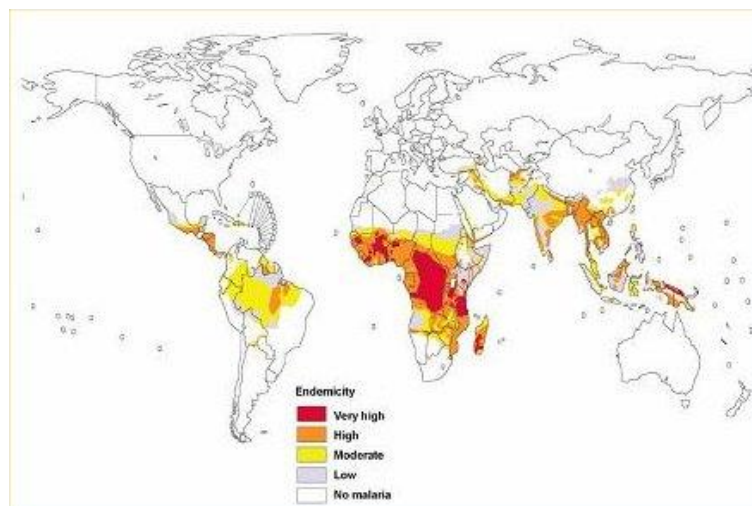
DHA	=	Dihydroartemisinin
Deoxy-DHA	=	Deoxy-Dihydroartemisinin
DMSO	=	Dimethyl Sulfoxide
DI Water	=	Deionized Water
FTIR	=	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
cm ⁻¹	=	เฮิรตซ์ (Hz)
%T	=	ความส่องผ่านของแสง (Transmittance)
Wavenumbers	=	ความถี่
Fe ²⁺	=	Ferrous
Fe ³⁺	=	Ferric iron

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันนี้เรื่องของสุขภาพและโรคภัยไข้เจ็บยังคงเป็นประเด็นสำคัญที่ผู้คนทั่วโลกให้ความสนใจกันถ้วนหน้า โดยเฉพาะโรคร้ายอย่างโรคมาลาเรีย เป็นโรคร้ายที่คร่าชีวิตในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก การแพร่ระบาดของโรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาใหญ่ด้านสาธารณสุขของโลก สถิติขององค์การอนามัยโลกในปี 2016 ระบุว่า ทั่วโลกมีผู้ติดเชื้อไข้มาลาเรียถึง 216 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิตเพราะโรคนี้ถึง 445,000 คน ซึ่งส่วนมากเป็นเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ขวบในทวีปแอฟริกา และยิ่งระบุอีกว่าทุกๆ 30 วินาที จะต้องมียุติกรรม 1 คนที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อมาลาเรีย และเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยเช่นกัน ในปี 2556 ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนตุลาคมมีผู้ป่วยทั้งประเทศจำนวน 12,000 ราย เสียชีวิต 12 ราย ส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ชายแดนด้านไทย-พม่า และชายแดนไทย-กัมพูชา โดยพบจำนวนผู้ป่วยสูงสุดที่จังหวัดตาก ตามด้วย จังหวัดระนอง แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรีและชุมพร ซึ่งสาเหตุหลักเกิดจากรับประทานยาไม่ต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อมาลาเรีย^[1]



โรคมาลาเรีย (Malaria) หรือไข้มาลาเรีย มีขอบเขตการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก ซึ่งโรคมาลาเรียเกิดจากเชื้อโปรโตซัวซึ่งเป็นสัตว์เซลล์เดียวใน

จีนัส พลาสโมเดียม โดยมียุงก้นปล่องเพศเมียเป็นพาหะ โดยเชื้อโปรโตซัวพลาสโมเดียม มีอยู่ 5 ชนิด ได้แก่ พลาสโมเดียมฟัลซิพารัม พลาสโมเดียมไวเว็กซ์ พลาสโมเดียมมาลาเรียอี พลาสโมเดียมโอวาเล่ และพลาสโมเดียมโนวไซ เชื้อที่พบในไทยมากที่สุดในปี 2556 คือ ไวเว็กซ์ ร้อยละ 52 รองลงมา คือ ชนิดฟัลซิพารัม ร้อยละ 48 ในแต่ละปีมีผู้ติดเชื้อมาลาเรียถึง 212 ล้านคนทั่วโลก โดยสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อปรสิตที่มียุงเป็นพาหะ วิธีการรักษาหลัก คือ การให้ยาอาร์ทิมิซิซินิน ควบคู่ไปกับยาไพเพอราควิน แต่ยังคงมีการเผยแพร่รายงานดังกล่าวในวารสารการแพทย์ Lancet Infectious Diseases โดยระบุว่าพบการแพร่ระบาดของเชื้อปรสิตที่คือ ยาอาร์ทิมิซิซินิน ซึ่งเป็นยาชนิดหลักที่ใช้รักษามาลาเรียในหลายประเทศของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลสำหรับงานวิจัยนี้ที่ทำการ ศึกษาอันตรายกิริยาของยาฆ่าเชื้อ มาลาเรีย เพื่อที่เป็นประโยชน์หรือต่อยอดของงานวิจัยอื่นต่อไป^[2]

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่ทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบิน โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี
2. เพื่อศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่ทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบิน โดยเปรียบเทียบการวิเคราะห์ที่มีส่วนผสมของวิตามินซีและไม่มีส่วนผสมของวิตามินซี
3. เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่จะศึกษาหาอันตรายกิริยาของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย และยังเป็นข้อมูลให้กับงานวิจัยอื่นๆ และผู้ที่สนใจ

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1. หมู่ฟังก์ชันของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียแต่ละตัวที่ทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบิน มีหมู่ฟังก์ชันที่ทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน
2. หมู่ฟังก์ชันของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียแต่ละตัวที่ทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบิน โดยเตรียมยาแต่ละตัวกับฮีโมโกลบินและมีส่วนผสมของวิตามินซีในอัตราส่วนของฮีโมโกลบินต่อวิตามินซี คือ 1 ต่อ 5 อาจทำให้หมู่ฟังก์ชันทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีขอบเขตงานวิจัยดังนี้

1. เปรียบเทียบสึมในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เพื่อนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันที่ทำปฏิกิริยากับสึม โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี
2. เปรียบเทียบสึมและมีส่วนผสมของวิตามินซีในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 เพื่อนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันที่ทำปฏิกิริยากับสึม โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี

1.5 ระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา

เดือนมกราคม 2562 – เดือนมีนาคม 2562

1.6 สถานที่ศึกษาและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเคมี SC3310 SC4314 และ SC1304 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ได้ฝึกทักษะการเรียนรู้ และเทคนิคต่างๆของวิทยาศาสตร์ในระหว่างการทำวิจัย
2. ทำให้ทราบถึงแนวทางการศึกษาอันตรกิริยาและการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียกับสึม
3. ทำให้สามารถนำข้อมูล และความรู้ที่ได้จากการศึกษาการทำวิจัยนี้มาเป็นพื้นฐาน และแนวทางในการปรับปรุง นำไปต่อยอดในงานวิจัยอื่นๆต่อไป

1.8 แนวทางการนำวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาอันตรกิริยาของยาฆ่าเชื้อมาลาเรียชนิดอื่นๆที่ถูกต้องพบโดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปีหรือใช้เทคนิคอื่นๆได้
2. เพื่อใช้ข้อมูลที่ได้เป็นแนวทางในการศึกษาต่อแก่ผู้สนใจ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของโรคมาลาเรีย

2.1.1 ประวัติความเป็นมาของโรคมาลาเรีย

ตามหลักฐานการบันทึกได้มีการรายงานว่าการติดเชื้อโรคมาลาเรียในประชากรมนุษย์นั้น มีมานานกว่า 50,000 ปีแล้ว และเชื่อกันว่าอาจเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ที่มีการกำเนิดมาพร้อมกับการมีมนุษย์บนโลกก็เป็นได้ พบว่าเชื้อที่มีความใกล้เคียงกับมาลาเรียสามารถเป็นปรสิตในลิงชิมแปนซีซึ่งมีความใกล้เคียงกับมนุษย์มากในช่วงประวัติศาสตร์ของมนุษยชาติ การติดเชื้อมาลาเรียได้มีการถูกบันทึกไว้อย่างต่อเนื่อง นับตั้งแต่ในประเทศจีนเมื่อ 2700 ปีก่อนคริสตกาล คำว่ามาลาเรียมีที่มาจากภาษาอิตาลีโบราณคำว่า *malaria* ซึ่งแปลว่า อากาศที่ไม่ดี

การศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์ได้ก่อให้เกิดความก้าวหน้าที่มีสำคัญต่อองค์ความรู้เรื่องโรคมาลาเรียในปี พ.ศ. 2423 เมื่อแพทย์ทหารชาวฝรั่งเศสที่ทำงานในประเทศอัลจีเรียชื่อ Charles Louis Alphonse Laveran ได้สังเกตเห็นปรสิตในเม็ดเลือดแดงของคนที่เป็นโรคมาลาเรีย จึงเสนอแนวคิดว่าสาเหตุก่อโรคมาลาเรีย คือ เชื้อโปรโตซัว ซึ่งการตั้งสมมุติฐานนี้เป็นครั้งแรกที่มีการระบุว่าเชื้อโปรโตซัวเป็นสาเหตุของโรค จากการค้นพบครั้งนี้และงานอื่นๆ ทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาและการแพทย์ในปี พ.ศ. 2450 เชื้อโปรโตซัวนี้ได้รับการตั้งชื่อว่า *Plasmodium* (พลาสโมเดียม) โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอิตาลีชื่อ Ettore Marchiafava และ Angelo Celli ในปีต่อมา แพทย์ชาวคิวบาชื่อ Carlos Finley ซึ่งปฏิบัติหน้าที่รักษาผู้ป่วยโรคไข้เหลืองในฮาวานาได้เสนอว่ามาลาเรียสามารถติดต่อได้โดยมียุงเป็นพาหะ อย่างไรก็ตาม แพทย์ชาวอังกฤษชื่อ Sir Ronald Ross ที่ทำงานอยู่ในประเทศอินเดียได้พิสูจน์ในปี พ.ศ. 2441 ว่าเชื้อมาลาเรียติดต่อผ่านทางยุงได้จริง เขาสามารถพิสูจน์ได้ว่ายุงชนิดหนึ่งได้นำเชื้อโรคนี้ติดต่อไปยังนก และสามารถสกัดปรสิตมาลาเรียจากต่อม

น้ำลายของยุงที่ไปกัดคนที่ติดเชื้อมันนั้นได้จากการวิจัยนี้ทำให้ Ross ได้รับรางวัลโนเบล สาขาการแพทย์ในปี พ.ศ. 2445 หลังจากลาออกจากการปฏิบัติงานทางการแพทย์ในประเทศอินเดีย Ross ได้เข้าทำงานใน Liverpool School of Tropical Medicine ที่เพิ่งก่อตั้งขึ้นใหม่ และมีส่วนร่วมในการควบคุมโรคมาลาเรียในประเทศอียิปต์ ปานามา กรีซ และ มอริเชียส การค้นพบของ Finlay และ Ross ได้รับการยืนยันในเวลาต่อมาโดย medical board นำโดย Walter Reed ในปี พ.ศ. 2443 และได้รับการนำไปใช้ William C. Gorgas ในหน่วยงานสาธารณสุขระหว่างการก่อสร้างคลองปานามา การปฏิบัติงานทางสาธารณสุขนี้ ได้ช่วยชีวิตคนงานนับพันและได้เริ่มสร้างวิธีการในการต่อสู้กับโรคมาลาเรียในปัจจุบัน [3]

2.1.2 พาหะของโรคมาลาเรีย

โรคมาลาเรียมีพาหะ คือ ยุงก้นปล่องเพศเมียซึ่งเวลากัดคนจะยกกันขึ้นทำมุม 45 องศากับผิวหนังในประเทศไทยมียุงก้นปล่องประมาณ 100 ชนิด และมี 6 ชนิดที่สามารถนำเชื้อมาลาเรียได้ โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1. **ยุงพาหะหลัก (primary vector)** ยุงในกลุ่มนี้มีบทบาทสูงในการแพร่เชื้อมาลาเรีย ในท้องที่ป่าเขา สวนยางและสวนผลไม้ ได้แก่ยุงก้นปล่องชนิด *Anopheles dirus*, *Anopheles minimus*, *Anopheles maculatus*

Anopheles dirus พบในป่าที่ขอบออกไข่ตามแอ่งน้ำนิ่งซึ่งตามธรรมชาติ ลักษณะนิสัยชอบกินเลือดคนมาก ไม่ชอบกินเลือดสัตว์อื่นออกหากินตอนกลางคืนถึงเช้ามืด แต่ถ้าป่าที่เบาๆ ก็หากินช่วงกลางวันด้วย ยุงชนิดนี้เป็นชนิดที่มีความสามารถในการแพร่เชื้อมาลาเรียมากกว่ายุงพาหะชนิดอื่นในประเทศไทย

Anopheles minimus พบได้มากตามบริเวณชายป่าเชิงเขา ตลอดจนท้องที่ราบที่มีแหล่งน้ำลำธารไหลผ่าน ชอบเพาะพันธุ์ตามลำธารน้ำใสไหลริน มีแสงแดดส่องถึง และอาจพบตามบริเวณบ่อน้ำพุ และน้ำซับน้ำซึมที่ใสสะอาด มีหญ้าขึ้นปกคลุมตามขอบลำธารหรือบ่อน้ำ

Anopheles maculatus พบกระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย อาศัยตามบริเวณป่าโปร่งและตามเชิงเขา ป่าสวนยาง ชอบเพาะพันธุ์ตามบ่อน้ำพุ น้ำซับน้ำซึม ตามบริเวณป่าเชิงเขา นอกจากนี้ยังพบตามแอ่งหินน้ำซัง ตามลำธารมีต้นไม้ปกคลุมริมฝั่งที่มีแสงแดดส่องถึง

2. **ยุงพาหะรอง (secondary vector)** เป็นกลุ่มที่มีความสำคัญและความสามารถในการนำเชื้อรองลงมา ได้แก่ยุงก้นปล่องชนิด *Anopheles acunitus*, *Anopheles sundaicus*, *Anopheles balabacensis*

Anopheles acunitus พบกระจายอยู่ทั่วไปในเกือบทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะในท้องที่ราบ ทุ่งนา และตามบริเวณป่า สวนผลไม้ ชอบเพาะพันธุ์ตามน้ำขังในนาข้าว ร่องสวนหลุมบ่อที่มีน้ำขัง และตามลำธารน้ำไหลสะอาดมีพืชน้ำขึ้นตามริมลำธาร

Anopheles sundaicus เป็นพาหะปรากฏอยู่ในแถบชายทะเล โดยเฉพาะตามบริเวณฝั่งตะวันออกและฝั่งตะวันตกของอ่าวไทย ตลอดจนเกาะแก่งต่าง ๆ ชอบเพาะพันธุ์ในแหล่งน้ำกร่อยใกล้ทะเล มีแสงแดด ส่องถึงและมีสาหร่ายลอยอยู่ในน้ำ

Anopheles balabacensis พบได้ในบริเวณเทือกเขา ป่าดงดิบ หรือในภูมิภาคที่มีสภาพคล้ายป่า เช่น สวนยาง สวนทุเรียน ชอบเพาะพันธุ์ตามบริเวณแหล่งน้ำขังใต้ร่มเงาหรือน้ำขังในรอยเท้าสัตว์ ตามบ่อที่คนขุดทิ้งไว้ ลักษณะน้ำค่อนข้างใสและมีใบไม้แช่ปนทับถมอยู่^[4]

2.1.3 สาเหตุของโรคมาลาเรีย

โรคมาลาเรีย เกิดจากการติดเชื้อโปรโตซัวชื่อ พลาสโมเดียม (*Plasmodium*) ซึ่งเชื้อที่ก่อโรคในคนมีอยู่ 5 species คือ

1. *Plasmodium falciparum* พบทั่วไปในเขตร้อนและเขตอบอุ่น แต่จะไม่พบเชื้อชนิดนี้ในแถบที่ช่วงฤดูร้อนมีอุณหภูมิต่ำกว่า 21.1 องศาเซลเซียส (70 องศาฟาเรนไฮต์) และช่วงฤดูหนาวมีอุณหภูมิต่ำกว่า 8.8 องศาเซลเซียส (48 องศาฟาเรนไฮต์) โดยพบมากในเขตร้อนของแอฟริกาอเมริกาและเอเชีย ในประเทศไทยพบได้ทั่วประเทศโดยเฉพาะบริเวณชายแดน

2. *Plasmodium vivax* มีการแพร่กระจายเป็นอาณาบริเวณกว้างมาก คือ จากบริเวณเส้นรุ้งที่ 40 องศาใต้ ไปจนถึงเส้นรุ้งที่ 60 องศาเหนือ แต่ที่พบมาก คือ บริเวณเส้นรุ้งที่ 30 องศาใต้ ไปจนถึงเส้นรุ้งที่ 45 องศาเหนือ ในทวีปแอฟริกาพบน้อย ส่วนในประเทศไทยพบมากบริเวณภาคใต้

3. *Plasmodium ovale* พบมากในแอฟริกาตะวันตก และมีรายงานพบในฟิลิปปินส์ บอร์เนียว เซลล์เบส หมู่เกาะโมลุกกะ ออสเตรเลียเหนือ หมู่เกาะโซโลมอน และนิวเฮบริดิส สำหรับประเทศไทยพบน้อยมาก เพียงปีละ 1-2 ราย และมักพบบริเวณจังหวัดชายแดนซึ่งมีมาลาเรียชุกชุม

4. *Plasmodium malariae* เป็นเชื้อมาลาเรียที่พบค่อนข้างจำกัดในแอฟริกากลาง แอฟริกาตะวันตก ศรีลังกา บางส่วนของมาเลเซีย และพบได้บ้างในบางพื้นที่ทางภาคใต้ของประเทศไทย

5. *Plasmodium knowlesi* เป็นเชื้อมาลาเรียที่ก่อโรคในลิง พบรายงานครั้งแรกในลิง แสมและต่อมาในปี ค.ศ. 1932 Knowles และ Das Gupta พบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนในเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนและก่อโรคมมาลาเรียในคนได้ โดยมีรายงานการติดเชื้อครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 ในผู้ป่วยชาวอเมริกันที่เดินทางกลับจากประเทศมาเลเซีย โรคมมาลาเรียจากเชื้อ *Plasmodium knowlesi* พบมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในประเทศมาเลเซีย สำหรับประเทศไทยมีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 2000 ในผู้ป่วยชายจากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์¹⁵¹

2.1.4 การแพร่กระจายเชื้อของโรคมมาลาเรีย

การติดเชื้อมาลาเรียเริ่มต้นจากยุงที่เป็นพาหะดูดเลือดและปล่อยเชื้อที่อยู่ในน้ำลาย เข้าสู่กระแสเลือดคน โดยประมาณ 30 นาที เชื้อจะเข้าสู่ตับและแบ่งตัวเพิ่มจำนวน หลังจากนั้น เชื้อจะกลับเข้าสู่กระแสเลือดและเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงเพื่อแบ่งตัวเพิ่มจำนวน จนกระทั่งเซลล์เม็ดเลือดแดงแตก เชื้อจะเข้าไปอาศัยและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเซลล์เม็ดเลือดแดงใหม่ต่อไป โดยเชื้อแต่ละชนิดจะใช้เวลาในการแบ่งตัวและทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกแตกต่างกันไป เช่น

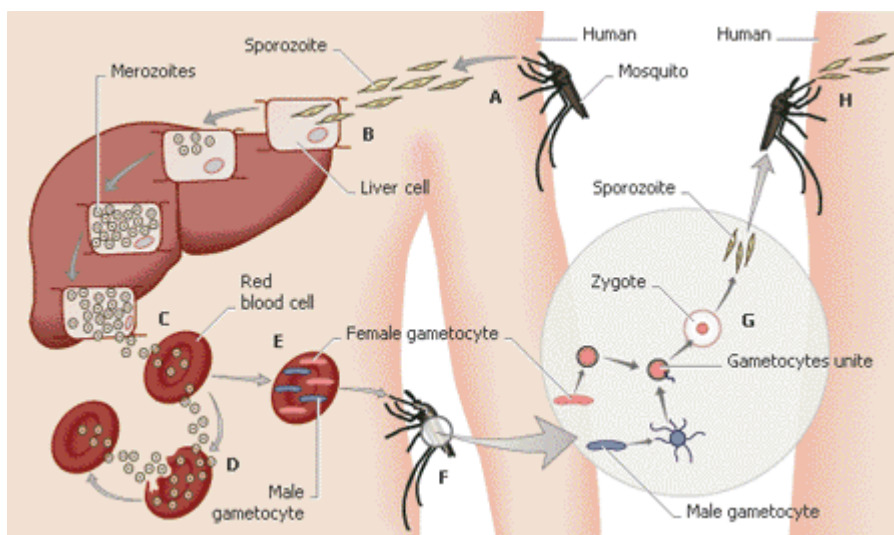
- *Plasmodium falciparum* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 42-48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ ทุกวันที่ 3 ผู้ป่วยฟัลซิพารัมมาลาเรีย ในระยะแรกของโรคจะมีอาการไข้ ปวดเมื่อยตามตัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องหรือท้องเดิน บางคนอาจมีไอหรือลักษณะคล้ายไข้หวัดได้ใน 4-5 วันแรกของโรค ไข้จะสูงลอยตลอดเวลา เนื่องจากการแตกของเม็ดเลือดแดงแต่ละ

ชุดไม่พร้อมกัน แต่หลังจากเชื้อมาลาเรียเจริญอยู่ในระยะเดียวกันแล้ว เม็ดเลือดแดงจะแตกพร้อมกันทุก 48 ชั่วโมง ผู้ป่วยอาจซีดและเหลือง ตับม้ามโต

- *Plasmodium vivax* และ *Plasmodium ovale* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3 อาการของผู้ป่วยไวดเวกซ์มาลาเรีย จะมีลักษณะคล้ายกับฟิลิซิปาร์มาลาเรีย แต่จะพบหนาวสั่นได้บ่อยกว่า และขณะเกิดหนาวสั่น มักมีอาการปวดหัว ปวดกล้ามเนื้อมาก ผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาอาการไข้จะค่อยๆ ทุเลาและหายได้ แต่จะเป็นซ้ำได้อีกภายใน 2 ปี นานที่สุด 8 ปี และผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดโอวัลเล่ จะมีลักษณะคล้ายกับไวดเวกซ์มาลาเรีย แต่จะมีอาการน้อยกว่า และมีเชื้อกลับเป็นซ้ำน้อยกว่า ถ้าไม่ได้รับการรักษาอาการไข้จะทุเลาและหายไปได้เอง แต่เป็นซ้ำได้อีกภายใน 1 ปี นานที่สุด 5 ปี

- *Plasmodium malariae* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 72 ชั่วโมง จะทำให้เกิดมีไข้หนาวสั่นวันเว้น 3 วัน คือมีไข้วันที่ 1 แล้วสบายอยู่ 3 วัน วันที่ 4 ผู้ป่วยมักไม่มีอาการรุนแรง และกว่าจะเกิดอาการไข้ อาจใช้เวลานานเป็นปี เชื้อมาลาเรียอยู่ในคนได้เป็นเวลานานหลายปี มีรายงานนานถึง 53 ปี

- *Plasmodium knowlesi* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 24 ชั่วโมง อาการไข้จึงเกิดทุกวัน



ภาพที่ 1 แสดงถึงวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรีย

เชื้อมาลาเรียสามารถแพร่ไปยังผู้อื่นได้จากยุงที่ไปกัดผู้ป่วยมาลาเรีย แต่ไม่สามารถติดต่อกันจากคนสู่คนได้ นอกจากนี้จะเป็นการติดต่อจากแม่สู่ทารกในครรภ์ นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจติดเชื้อมาลาเรียได้จากการรับเลือดหรือการใช้เข็มฉีดยาร่วมกัน แต่จะเป็นกรณีที่พบได้น้อยมาก^[6]

2.1.5 อาการของโรคมาลาเรีย

อาการของโรคมาลาเรียไม่มีลักษณะพิเศษบ่งเฉพาะ โดยมากจะมีอาการนำคล้ายกับคนเป็นไข้หวัด คือ มีไข้ต่ำ ๆ ปวดศีรษะ ปวดตามตัว และกล้ามเนื้อ อาจมีอาการคลื่นไส้เบื่ออาหารได้ อาการนี้จะเป็นเพียงระยะสั้นเป็นวัน หรือหลายวันได้ ขึ้นอยู่กับระยะพักตัวของเชื้อ ชนิดของเชื้อ จำนวนของสปอโรซอยต์ที่ผู้ป่วยได้รับเข้าไป ภาวะภูมิคุ้มกันต้านต่อเชื้อมาลาเรียของผู้ป่วย ภาวะที่ผู้ป่วยได้รับยาป้องกันมาลาเรียมาก่อน หรือได้รับยารักษา มาลาเรียมาบ้างแล้ว อาการไข้ซึ่งเป็นอาการที่เด่นชัดของมาลาเรีย ประกอบด้วย 3 ระยะคือ

1. ระยะสั้น ผู้ป่วยจะมีอาการหนาวสั่น ปากและตัวสั่น ซีด ผิวหนังแห้งหยาบ อาจจะมีเกิดขึ้นนานประมาณ 15 – 60 นาที ระยะนี้ตรงกับ การแตกของเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรีย
2. ระยะร้อน ผู้ป่วยจะมีไข้สูง อาจมีอาการคลื่นไส้อาเจียนร่วมด้วย หน้าแดง ระยะนี้ใช้เวลา 2 – 6 ชั่วโมง
3. ระยะเหงื่อออก ผู้ป่วยจะมีเหงื่อออกจนชุ่มที่นอน หลังจากระยะเหงื่อออก จะมีอาการอ่อนเพลีย ไข้ลด

ปัจจุบันนี้จะพบลักษณะทั้ง 3 ระยะได้น้อยมาก ผู้ป่วยจะมีไข้สูงลอยตลอดเวลา โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็นมาลาเรียครั้งแรก เนื่องจากในระยะแรกของการติดเชื้อมาลาเรีย เชื้ออาจเจริญถึงระยะแก่ไม่พร้อมกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากได้รับเชื้อในเวลาต่างกัน เชื้อจึงเจริญในเม็ดเลือดแดงไม่พร้อมกัน ทำให้เกิดมีเชื้อหลายระยะ การแตกของเม็ดเลือดแดงจึงไม่พร้อมกัน ผู้ป่วยมาลาเรียในระยะแรกอาจมีไข้สูงลอยตลอดเวลาแต่เมื่อผ่านไประยะหนึ่งแล้ว การแตกของเม็ดเลือดแดงเกิดขึ้นพร้อมกัน จะเห็นผู้ป่วยมีการจับไข้หนาวสั่นเป็นเวลาแยกได้ชัดเจนตามชนิดของเชื้อมาลาเรีย เชื้อไวแวกซ์ ฟัลซิพาร์ม และโอวัลเล่ ใช้เวลาใน

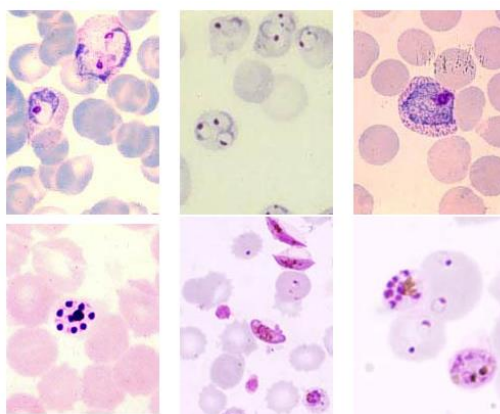
การแบ่งตัว 48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3 ส่วนมาลาเรีย ใช้เวลา 72 ชั่วโมง อาการไข้ จึงเกิดทุกวันที่ 4

ภายหลังที่เป็นมาลาเรียได้ระยะหนึ่ง จะตรวจพบว่าผู้ป่วยซีด บางคนมีตัวเหลือง ตา เหลือง ตับและม้ามโต บางรายกดเจ็บ ถ้าเม็ดเลือดแดงแตกมากๆ จะพบว่าผู้ป่วยมี บัสสาวะดำ^[7]

2.1.6 การวินิจฉัยโรคมาลาเรีย

เนื่องจากอาการของโรคมาลาเรียในวันแรกๆจะไม่จำเพาะ อาการไข้เกิดขึ้นไม่เป็น เวลา มีการสั่น ดังนั้นผู้ป่วยที่มีใช้ร่วมกับมีประวัติการอยู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค มาลาเรีย หรือได้เคยเดินทางไปยังพื้นที่เหล่านั้นจะต้องสันนิษฐานไว้ก่อนว่า อาจติดเชื้อ มาลาเรียมาและต้องส่งเลือดไปตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัย ซึ่งได้แก่

1. การตรวจหาเชื้อมาลาเรียโดยใช้เลือดจากปลายนิ้ว (finger prick) หรือเจาะจาก หลอดเลือดดำ(venipuncture) นำมาทำฟิล์มเลือดและย้อมด้วยสีกิมีซ่า ซึ่งนอกจากจะ ตรวจหาว่ามีเชื้อมาลาเรียในกระแสเลือดหรือไม่แล้ว การตรวจหายังต้องบ่งถึงชนิดของเชื้อ มาลาเรียด้วย ฟิล์มเลือดที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อมาลาเรีย มี 2 ชนิดคือ (1) ฟิล์มเลือดบาง (thin blood film) ในฟิล์มเลือดบางจะเห็นลักษณะของเชื้อมาลาเรียชัดเจนเห็นเม็ดเลือดแดง ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ สามารถแยกชนิดของมาลาเรียได้ และ (2) ฟิล์มเลือดหนา (thick blood film) ซึ่งจะมีโอกาสเห็นเชื้อมาลาเรียได้มากขึ้น (ความไวของวิธีนี้จะสูงกว่าเมื่อ เปรียบเทียบกับฟิล์มเลือดบาง) แต่จะไม่เห็นเม็ดเลือดแดง และแยกชนิดของมาลาเรีย ได้ยาก



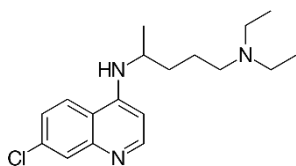
ภาพที่ 2 เชื้อ Plasmodium ระยะต่างๆ ที่พบในเม็ดเลือดแดงเมื่อย้อมด้วยสีกิมีซ่า

2. การตรวจหาสารประกอบของเชื้อมาลาเรีย มีชุดตรวจสำเร็จรูปทำได้ง่ายและรวดเร็ว แต่ราคาอาจแพงกว่าการตรวจดูเม็ดเลือดแดง

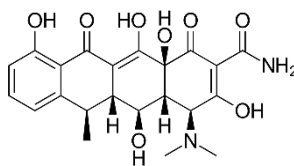
3. การตรวจในระดับยีน (gene) ของเชื้อมาลาเรีย เป็นวิธีการตรวจที่ไวและผลลบต่ำ แต่ราคาแพงมาก ไม่เหมาะกับประเทศกำลังพัฒนา^[8]

2.1.7 การรักษาโรคมาลาเลีย

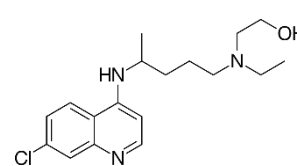
มาลาเรียรักษาได้ หากได้รับการวินิจฉัยและการรักษาอย่างทันท่วงที แพทย์จะรักษาด้วยการดูแลระดับประคองอาการ รวมทั้งบำบัดรักษาภาวะแทรกซ้อน และให้ยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย (Antimalarial) ซึ่งการเลือกชนิดของยาหรือรูปแบบการให้ยาจะประกอบไปด้วยหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น ชนิดของโปรโตซัว ความรุนแรงของอาการ อายุของผู้ป่วย การตั้งครรภ์ รวมไปถึงการตีอยา ยาด้านมาลาเรียที่นำมาใช้บ่อย ได้แก่



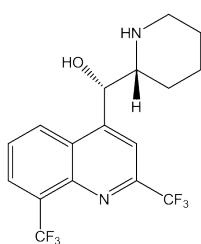
Chloroquine



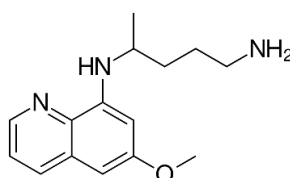
Doxycycline



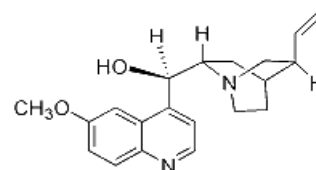
Hydroxychloroquine



Mefloquine

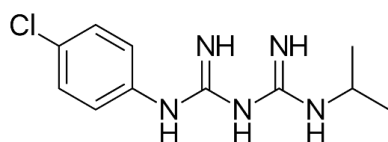


Primaquine

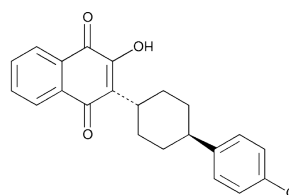


Quinine Sulfate

การใช้ร่วมกันระหว่างยา Proguanil และ Atovaquone

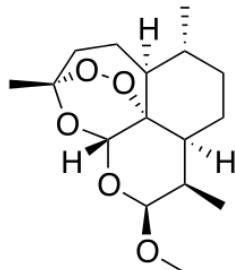


Proguanil

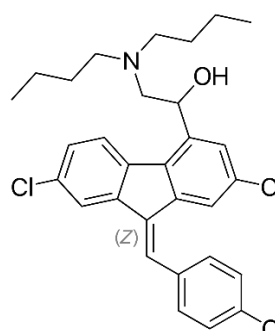


Atovaquone

การใช้ร่วมกันระหว่างยา Artemether และ Lumefantrine



Artemether



Lumefantrine

ข้อสำคัญในการเลือกชนิดของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย ควรพิจารณาประสิทธิภาพของยา เพราะการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียในพื้นที่ต่าง ๆ จะแตกต่างกัน สำหรับภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เชื้อมาลาเรียจะดื้อยาคลอโรควิน (Chloroquine) เป็นส่วนใหญ่^[9]

2.1.8 ภาวะแทรกซ้อนของโรคมาลาเรีย

ภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงและเป็นอันตรายถึงชีวิต ได้แก่

- ภาวะโลหิตจาง (Anaemia) เป็นภาวะที่เม็ดเลือดแดงไม่สามารถลำเลียงออกซิเจนไปยังกล้ามเนื้อและอวัยวะที่สำคัญของร่างกาย เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกทำลาย
- มาลาเรียขึ้นสมอง (Cerebral Malaria) เชื้อมาลาเรียส่งผลกระทบต่อสมอง ทำให้หลอดเลือดในสมองบวม ซึ่งสร้างความเสียหายให้สมองได้อย่างถาวร และอาจทำให้เกิดอาการชักหรือโคมาได้
- ปอดบวมน้ำ (Pulmonary Oedema) เกิดการสะสมของเหลวในปอดทำให้มีปัญหาในการหายใจ

- อวัยวะภายในล้มเหลว เช่น ตับ ไต หรือม้าม
- ม้ามบวมและแตก
- ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycaemia)
- ภาวะการหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน (Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS)

- อาการช็อกเนื่องจากความดันโลหิตลดลงอย่างรวดเร็ว

ภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วยที่กำลังตั้งครรภ์ ได้แก่

- คลอดก่อนกำหนด
- ทารกแรกเกิดมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปกติ
- ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์
- ทารกเสียชีวิตในครรภ์ระหว่างการคลอด
- แท้งบุตร
- ในกรณีรุนแรงอาจทำให้ผู้ป่วยตั้งครรภ์เสียชีวิต^[10]

2.1.9 การป้องกันโรคมาลาเลีย

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีมีวัคซีนป้องกันมาลาเลียซึ่งกำลังอยู่ในกระบวนการทดลอง เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคดังกล่าวนี้ผู้ที่อาศัยหรือเดินทางไปยังพื้นที่ที่มีการระบาดของมาลาเลีย ต้องดูแลและป้องกันตนเองดังนี้

การพิจารณาเพื่อเลือกใช้ยาป้องกันมาลาเลีย มีดังนี้

- การใช้ยาป้องกันมาลาเลียจะแตกต่างกันออกไปแต่ละประเทศและยาที่ใช้สำหรับแต่ละประเทศจะเรียงลำดับตามตัวอักษรและเปรียบเทียบคุณสมบัติของยาไว้อย่างชัดเจน ควรปรึกษากับแพทย์หรือเภสัชกรสำหรับการเลือกใช้อย่างเหมาะสม

- ยาต้านมาลาเลียไม่สามารถป้องกันโรคได้ 100% เลือกใช้ยาเมื่อได้ประโยชน์จากยามากกว่าผลข้างเคียงจากการใช้ยา และต้องอาศัยวิธีการป้องกันของตนเองร่วมด้วย เช่น ใช้ยาทาไล่ยุง ใส่เสื้อแขนยาวหรือกางเกงขายาว และนอนในมุ้ง

- การใช้ยาต้านมาลาเรีย ต้องพิจารณาถึงปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับยาชนิดอื่นที่กำลังใช้อยู่ รวมไปถึงการตรวจสอบข้อควรระวังการใช้ยา เช่น การแพ้ยา ควรปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกร

- เมื่อได้ยาต้านมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพกับตนเองแล้ว ต้องใช้ยาก่อนการเดินทาง ซึ่งหากมีข้อสงสัยควรปรึกษาแพทย์หรือเภสัชกร

- ควรใช้ยาตามที่แพทย์หรือเภสัชกรแนะนำอย่างเคร่งครัด

- หลังจากกลับมาจากการเดินทางควรใช้ยาอย่างต่อเนื่อง ประมาณ 4 สัปดาห์ขึ้นไป ซึ่งเป็นระยะฟักตัวของโรค และระยะเวลาในการใช้ยาจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของยา

- ในประเทศไทยโดยทั่วไปแพทย์มักไม่แนะนำให้รับประทานยาป้องกันมาลาเรีย เนื่องจากความชุกชุมของมาลาเรียยังไม่มาก แต่ผู้ป่วยควรแจ้งแพทย์สำหรับผู้ที่พบว่ามิใช่ภายใน 1 สัปดาห์-2 เดือน หลังออกจากป่าหรือพื้นที่เสี่ยง

ผู้ที่อาศัยหรือต้องเดินทางไปยังพื้นที่ที่มีการระบาดป้องกันตนเองจากการถูกยุงกัดได้ ดังนี้

- สวมเสื้อผ้าสีอ่อนและปกปิดร่างกายได้อย่างมิดชิด เช่น เสื้อแขนยาวและกางเกงขายาว

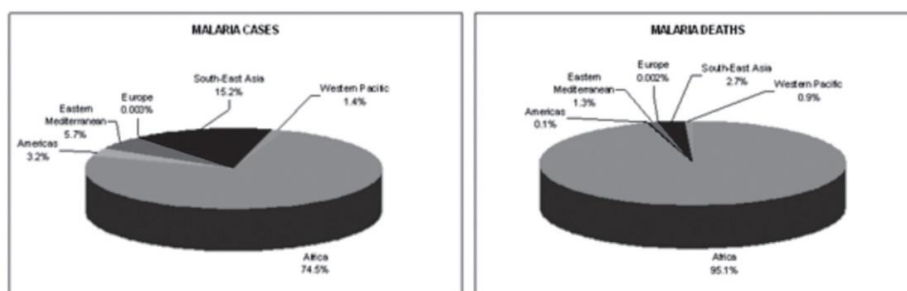
- ใช้ยาที่มีสารไล่แมลงทาผิวหนัง ซึ่งสารไล่แมลงที่มีประสิทธิภาพที่สุด ได้แก่ สาร Diethyltoluamide : DEET ซึ่งมีจำหน่ายทั้งรูปแบบสเปรย์ โรลออน แบบแท่งและครีม โดยอาจต้องทาซ้ำบ่อย ๆ เพื่อการป้องกันที่มีประสิทธิภาพ ไม่ควรใช้ในเด็กเล็ก

- นอนในมุ้งหรือบริเวณที่ปลอดภัยจากยุง อาจใช้มุ้งชุบยาไล่ยุงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันยุง

- หากสงสัยหรือต้องการตรวจสอบการระบาดของมาลาเรีย โดยเฉพาะผู้ที่ต้องเดินทางไปยังพื้นที่เสี่ยง ตรวจสอบและหาข้อมูลได้จากกรมควบคุมโรค โทร. 1422 เพื่อการป้องกันอย่างทันท่วงที^[11]

2.1.10 สถานการณ์ทั่วโลก

ประมาณร้อยละ 40 ของประชากรโลก หรือ ประมาณ 2 พันล้านคนในกว่า 90 ประเทศ อยู่ในพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรีย โดยเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium vivax* และ *Plasmodium malariae* พบได้ทั่วโลกในเขตอบอุ่นและเขตร้อน *Plasmodium falciparum* พบในเขตร้อนและกึ่งร้อน *Plasmodium ovale* พบในเขตร้อนของทวีปแอฟริกาและในเอเชีย ส่วน *Plasmodium knowlesi* พบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในประเทศมาเลเซีย จากรายงานขององค์การอนามัยโลก มีประมาณการว่าในปี ค.ศ. 2010 มีผู้ติดเชื้อมาลาเรียทั่วโลกสูงถึง 216 ล้านคน โดยร้อยละ 91 ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* ทั้งนี้ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่อยู่ในทวีปแอฟริกา (ร้อยละ 81) รองลงมา คือ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (ร้อยละ 13) และแถบตะวันออกเฉียงของทะเลเมดิเตอร์เรเนียน (ร้อยละ 5) ตามลำดับ และมีรายงานผู้เสียชีวิตทั่วโลกประมาณ 655,000 ราย โดยประชากรกลุ่มที่มีการติดเชื้อและเสียชีวิตจากโรคมาลาเรียสูงสุด คือ เด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี อย่างไรก็ตามจากการสำรวจพบว่าสถานการณ์ของโรคมาลาเรียมีแนวโน้มที่ดีขึ้นเนื่องจากพบว่าการติดเชื้อและเสียชีวิตจากโรคมาลาเรียของประชากรทั่วโลกลดลงในช่วงปี ค.ศ. 2000-2010

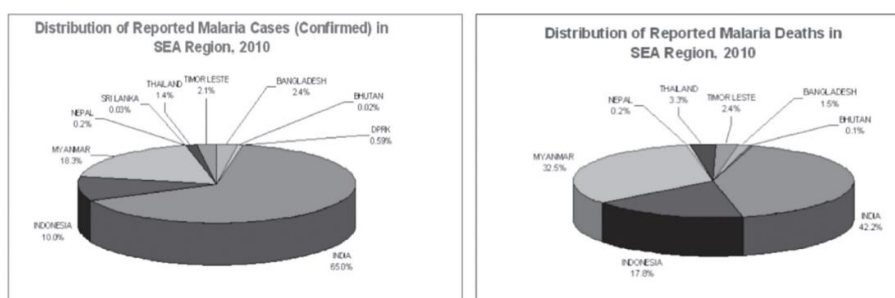


ภาพที่ 3 ความชุกของโรคมาลาเรียทั่วโลก

สถานการณ์ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

โรคมาลาเรียเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประชากร 1,322 ล้านคนหรือร้อยละ 76 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยง เนื่องจากปัญหาสังคมและเศรษฐกิจของภูมิภาคทำให้การควบคุมป้องกันโรคมาลาเรียยังเป็นไปได้ยาก โดยเฉพาะการติดเชื้อและการเสียชีวิตจากโรคมาลาเรียในประเทศบังคลาเทศ อินเดีย อินโดนีเซีย พม่า ไทยและติมอร์เลสเต ประชากรกลุ่มที่มีความเสี่ยงมากที่สุดได้แก่เด็กอายุน้อยกว่า 5 ปีและ

หญิงตั้งครรภ์ และสามารถพบได้ในกลุ่มอื่นๆ อาทิ ผู้มีอาชีพหาของป่า คนงานในเหมือง ผู้อพยพ จากรายงานใน ปีค.ศ. 2000–2010 พบอุบัติการณ์ของโรคมาลาเรีย 2.30–3.08 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิต 2,423–6,978 คน ประเทศที่มีรายงานผู้ติดเชื้อและผู้เสียชีวิต สูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ ประเทศอินเดีย รองลงมา ได้แก่ ประเทศพม่าและอินโดนีเซีย ตามลำดับ โดยเชื้อที่พบมากที่สุดได้แก่ *Plasmodium falciparum* และเป็นที่น่าสังเกตว่า อุบัติการณ์ของเชื้อ *Plasmodium falciparum* ในภูมิภาคนี้สูงขึ้นจากร้อยละ 12.93 ในปี ค.ศ. 1997 เป็นมากกว่าร้อยละ 60 ในปี ค.ศ. 2010 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัญหา เชื้อมาลาเรียดื้อยาที่มีมากขึ้นในปัจจุบันอย่างไรก็ตามจากการสำรวจในช่วงปี ค.ศ. 2000–2010 พบว่ามีจำนวนผู้ติดเชื้อและผู้เสียชีวิตลดลง ร้อยละ 25.3 และ 57.6 ตามลำดับ โดย ในหลายประเทศ ได้แก่ ศรีลังกา ภูฏาน ไทย และเนปาลมีแนวโน้มการลดลงมากกว่า ร้อยละ 50



ภาพที่ 4 ความชุกของโรคมาลาเรียในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

สถานการณ์ในประเทศไทย

การระบาดของไข้มาลาเรียในประเทศไทยมีลักษณะไม่ต่อเนื่อง ทำให้คนส่วนใหญ่ไม่มีภูมิคุ้มกันจึงสามารถเกิดไข้มาลาเรียชนิดรุนแรงได้ในประชากรทุกกลุ่มอายุ โดยพบได้บ่อยในกลุ่มอาชีพที่ต้องเข้าไปในถิ่นระบาด เช่น คนงานเหมือง ทหาร คนหาของป่าผู้อพยพลี้ภัย และนักท่องเที่ยว ในประเทศไทยจากรายงานของสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กองควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขเมื่อเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2555 พบอัตราป่วยทั่วประเทศเฉลี่ย 0.22 ต่อประชากร 1000 คน โดยพบการติดเชื้อมาลาเรียได้ทั้ง 5 ชนิด ที่พบมากที่สุดได้แก่ *Plasmodium falciparum* บริเวณชายแดนไทย-พม่าพบเชื้อมาลาเรียชนิดนี้ร้อยละ 70 ส่วนด้านชายแดนไทย-กัมพูชาพบร้อยละ 50 รองลงมาได้แก่ *Plasmodium vivax*,

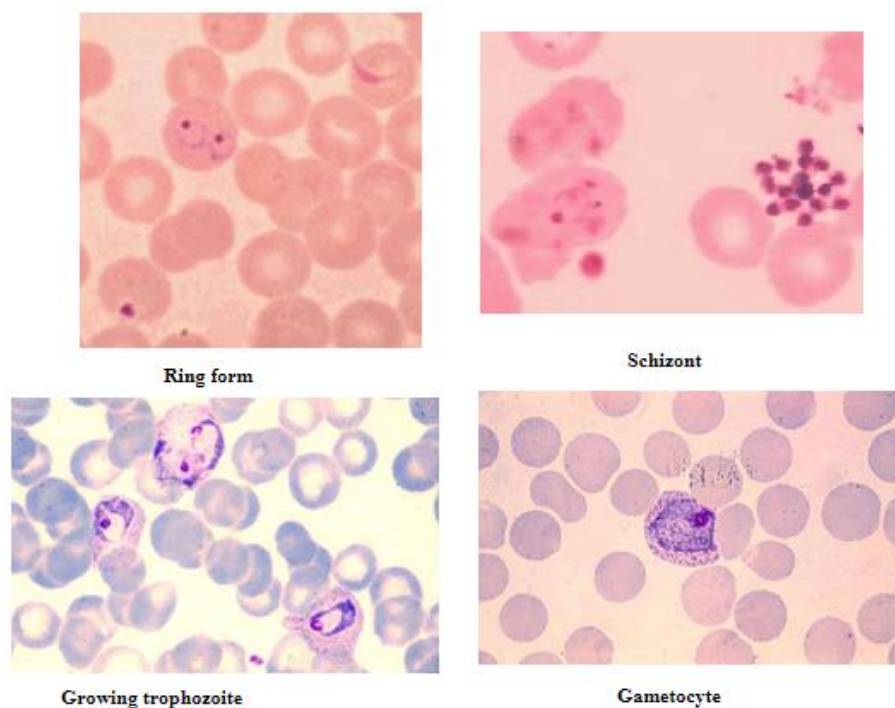
Plasmodium malariae และ *Plasmodium ovale* ตามลำดับ สำหรับ *Plasmodium knowlesi* เป็นเชื้อที่พบได้น้อยมากไม่ถึงร้อยละ 1 นอกจากนั้นยังพบการติดเชื้อแบบผสม ซึ่งมักเป็น *Plasmodium falciparum* ผสมกับ *Plasmodium vivax* ในผู้ป่วยรายเดียวกัน โดยพบประมาณ ร้อยละ 0.5 ต่อปี

โรคไข้มาลาเรียสามารถพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่พบกระจายอยู่ใน 15 จังหวัด ได้แก่ ตากแม่ฮ่องสอน ราชบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ จันทบุรี ตรวต ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี พังงา ยะลา และ นราธิวาส โดยมีการระบาดมากที่สุดในช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน มีน้ำท่วมขัง ทำให้ยุงก้นปล่องซึ่งเป็นพาหะนำโรคมียังเพิ่มมากขึ้นจากรายงานการแพ้ ระวังโรคมาลาเรียของประเทศไทยโดยสำนักโรคติดต่อหน้าโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข มีรายงานพบผู้ป่วย (ตามปีงบประมาณ) ในปี พ.ศ. 2553 จำนวน 47,824 คน แยกเป็นผู้ป่วยชาวไทย 24,847 คน และชาวต่างชาติ 22,977 คน ปี พ.ศ. 2554 จำนวน 34,002 คน แยกเป็นผู้ป่วยชาวไทย 15,396 คน และชาวต่างชาติ 18,606 คน และรายงานล่าสุดในปี พ.ศ. 2555 (ตั้งแต่ 1 มกราคม - 23 มิถุนายน 2555) พบผู้ป่วยชาวไทยทั่วประเทศจำนวน 4,381 คน (ลดลงร้อยละ 21.06 จากช่วงเดียวกันของปี 2554) คิดเป็นอัตราป่วย (ต่อ 1,000 คน) = 0.07 และผู้ป่วยต่างชาติ 4,781 คน (ลดลงร้อยละ 47.16 จากช่วงเดียวกันของปี 2554) จังหวัดที่มีอัตราป่วยด้วยไข้มาลาเรียสูงที่สุด 5 อันดับแรก ได้แก่ ตาก กาญจนบุรี แม่ฮ่องสอน สุราษฎร์ธานี และระนอง^[12]

2.2 *Plasmodium* Species

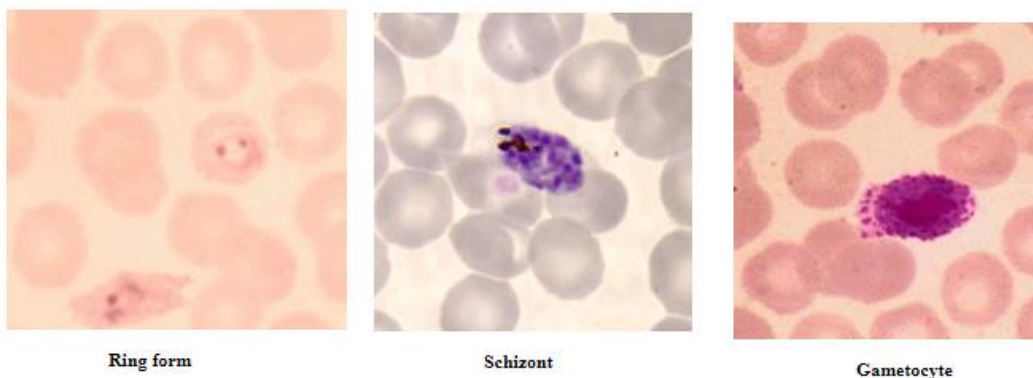
พลาสโมเดียม (*Plasmodium*) เป็นสกุลของเชื้อปรสิตโปรโตซัวชนิดหนึ่งซึ่งทำให้เกิดโรคมาลาเรีย ในวงชีวิตของเชื้อชนิดนี้ต้องการโฮสต์สองตัว ได้แก่ พาหะที่เป็นยุงและโฮสต์ที่เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลัง มีเชื้อพลาสโมเดียมไม่ต่ำกว่าสิบชนิดที่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในมนุษย์ได้ ส่วนชนิดอื่นๆ ก็ทำให้เกิดการติดเชื้อในสัตว์ชนิดอื่น เช่น นก สัตว์เลี้ยงคาน หรือ สัตว์ฟันแทะ เป็นต้น ซึ่งทั้ง 4 ชนิดนี้^[13]

2.2.1 *Plasmodium vivax*



- **Ring form** มีลักษณะเป็นรูปวงแหวน ขนาดเล็กและบาง อาจพบ marginal form
 - **Growing trophozoite** ไซโตพลาสซึมจะแผ่ขยายใหญ่ขึ้น และมีรูปร่างไม่แน่นอน (irregular shape) มองดูคล้าย อะมีบา (amoeba) เม็ดเลือดแดงเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นและมี Schffner's dot ซึ่งเป็นเม็ดขนาดเล็ก ติดสีชมพูอยู่ภายในไซโตพลาสซึม
 - **Schizont** จะมี merozoite จำนวน 12-24 ตัว (เฉลี่ย 16)
 - **Gametocyte** มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ 1 อัน ภายในมี pigment มากมาย
 - **Infected red cell** จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเห็นได้อย่างชัดเจน และมี Schffner's dot มากมาย
- ในเสมียร์เลือด พบได้ทุกระยะตั้งแต่ ring form จนถึง schizont และ gametocyte^[13]

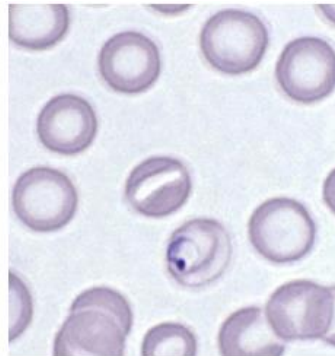
2.2.2 *Plasmodium ovale*



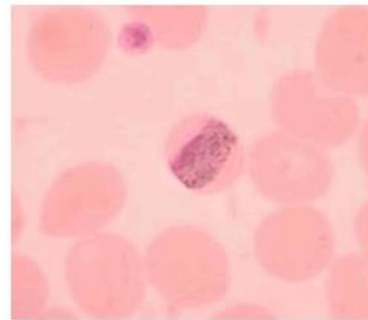
- **Ring form** มีลักษณะเป็นรูปวงแหวนคล้าย species อื่น
- **Growing trophozoite cytoplasm** เป็นแบบ amoeboid shape แต่ไม่มากเท่า *Plasmodium vivax* มี chromatin dot ขนาดใหญ่ เม็ดเลือดแดงมักจะพบมีรูปร่างรี และปลายข้างหนึ่งมีขอบไม่เรียบ (ragged margin) มี Schuffner's dot เห็นได้ชัดเจน
- **Schizont** มี merozoite จำนวน 4-12 ตัว (เฉลี่ย 8)
- **Gametocyte** มีรูปร่างกลม คล้าย *Plasmodium vivax* และ *Plasmodium malariae*
- **Infected red cell** มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีรูปร่างรี ปลายข้างหนึ่งมีขอบไม่เรียบ (ragged margin) มี Schuffner's dot เห็นได้ชัดเจน

ในเสมียร์เลือดพบได้ทุกระยะ ลักษณะที่เด่นชัดต่างจาก species อื่น คือ infected red cell ส่วนใหญ่จะมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีรูปร่างรี (oval shape) chromatin dot ทุกระยะมีขนาดใหญ่กว่า *Plasmodium vivax*^[13]

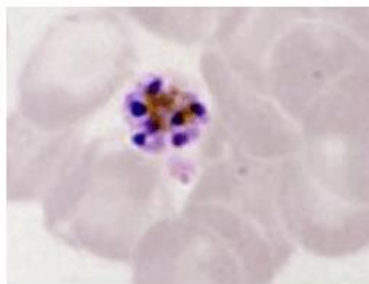
2.2.3 *Plasmodium malariae*



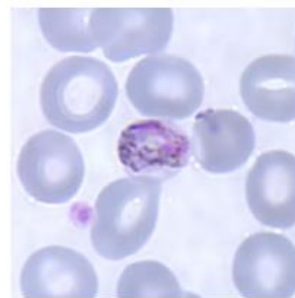
Ring form



Growing trophozoite



Schizont

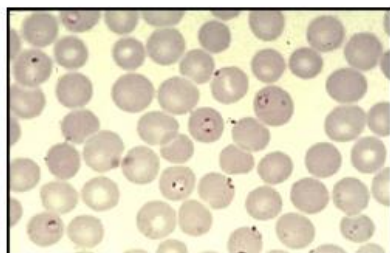


Gametocyte

- **Growing trophozoite cytoplasm** มีลักษณะ amoeboid shape น้อยมาก มักจะพบ cytoplasm เป็นแถบ (band) หรือคล้ายดาวหาง (comet) ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะไม่พบใน species อื่น
- **Schizont มี merozoite** จำนวน 6-12 ตัว (เฉลี่ย 8) และเรียงตัวกันรอบๆ malarial pigment คล้ายการเรียงตัวของกลีบดอกกุหลาบ (rosette formation)
- **Gametocyte** รูปร่างกลมคล้ายของ *Plasmodium vivax*
- **Infected red cell** มีขนาดเท่าเดิม อาจจะพบ inclusion เป็นจุดละเอียดติดสีชมพู ภายใน cytoplasm

ในเสมียร์เลือดพบได้ทุกระยะ แต่ระยะที่แตกต่างจาก species อื่นชัดเจน คือ ระยะ Growing trophozoite ซึ่งไซโตพลาสซึมมีลักษณะ amoeboid shape น้อยมาก มักจะพบไซโตพลาสซึมเป็นแถบ (band) หรือคล้ายดาวหาง (comet) ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะไม่พบใน species อื่น^[13]

2.2.4 *Plasmodium falciparum*



Ring form

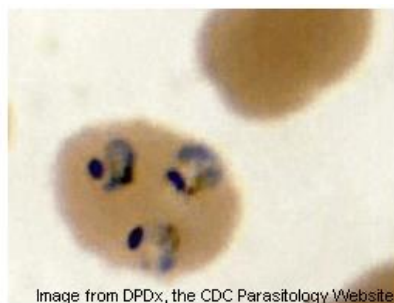
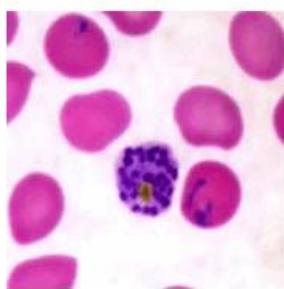
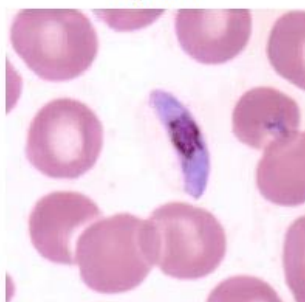


Image from DPDx, the CDC Parasitology Website

Trophozoite



Schizont



Gametocyte

- **Ring form** มีขนาดเล็ก (minute) และไซโตพลาสซึมบาง (delicate) เป็นรูวงแหวน และมักจะพบมีหลายตัวด้วยกันอยู่ในเม็ดเลือดแดง (multiple infection) ring form บางตัวอาจจะมี chromatin dot 2 อันหรือบางครั้ง cytoplasm ไม่เป็นรูวงแหวน แต่จะแผ่เป็นเส้นอยู่ขอบของเม็ดเลือดแดง (marginal form)
 - **Gametocyte** จะมีรูปร่างจำเพาะต่างจาก gametocyte ของ species อื่นๆ คือ มีรูปร่างคล้ายกล้วยหอม หรือคล้ายพระจันทร์เสี้ยว (crescent form)
 - **Infected red cell** จะมีขนาดเท่าเดิม อาจจะพบ Maurer's cleft ซึ่งมีลักษณะเป็นลิ้ม (wedge-shape) ขนาดเล็กอยู่ภายในไซโตพลาสซึม
- ในเสมียร์เลือดของผู้ที่มี *Plasmodium falciparum* โดยทั่วไปจะพบเฉพาะระยะ ring form และ gametocyte เท่านั้น ยกเว้นในผู้ที่มีการติดเชื้ออย่างมาก (heavy infection) จึงจะพบระยะอื่นต่อมาในกระแสเลือด^[13]

2.3 ข้อมูลทั่วไปของ Heme และ Hemin

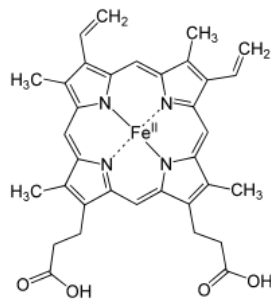
2.3.1 ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin)

ฮีโมโกลบิน ตัวย่อ คือ Hgb หรือ Hb เป็นโมเลกุลโปรตีนภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง เกิดจากโมเลกุลโปรตีน 4 ตัวที่เชื่อมต่อกัน หรือเรียกว่าสายโกลบูลิน (Globulin Chains) โครงสร้างของฮีโมโกลบินจะประกอบไปด้วยสายโกลบูลินชนิดอัลฟา 2 ตัว และสายโกลบูลินชนิดเบต้า 2 ตัว สารสำคัญในเม็ดเลือดแดง ประกอบด้วยสารที่เรียกว่า ฮีม (Heme) ประมาณ 6% และที่เหลือประมาณ 94% เป็นโปรตีนชนิดที่เรียกว่า Globin ฮีโมโกลบินเป็นตัวจับออกซิเจนโดยฮีม เพื่อการนำออกซิเจนไปยัง เซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย เพื่อให้เซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะ ได้ใช้ออกซิเจนในปฏิกิริยาเผาผลาญอาหาร เพื่อการดำรงชีวิตของ เซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะ ทั้งนี้ ฮีโมโกลบิน 1 กรัมสามารถจับออกซิเจนได้ประมาณ 1.34 มิลลิลิตร ในเม็ดเลือดแดงจะประกอบด้วย ฮีโมโกลบินประมาณ 97% ที่เหลือเป็นน้ำและเกลือแร่ เช่น เกลือแร่ โซเดียม (Sodium) เป็นต้น ซึ่งการวัดปริมาณเม็ดเลือดแดง สามารถวัดได้ทาง อ้อมจากการวัดค่าฮีโมโกลบิน ที่วัดได้จากการตรวจเลือดที่เรียกว่า ซีบีซี (CBC) โดยในผู้ชาย ค่าปกติ คือ 13.8–17.2 กรัมต่อเดซิลิตร (g/dL) ส่วนในผู้หญิงคือ 12.1–15.1 กรัม/เดซิลิตร (g/dL)^[14]

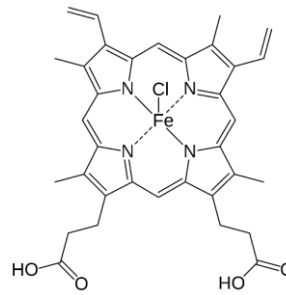
2.3.2 ฮีม (Heme) และ ฮีมิน (Hemin)

ฮีม เป็นสารประกอบชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยธาตุเหล็กและโปรตีน ฮีมเป็นส่วนประกอบสำคัญของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ซึ่งนอกจากในเม็ดเลือดแดงแล้ว ยังพบสารฮีมได้ในเนื้อเยื่อบางชนิดของร่างกาย แต่พบได้ในปริมาณน้อยกว่าในเม็ดเลือดแดงมาก เช่น ในกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อที่สำคัญของฮีม คือ การจับกับออกซิเจน ดังนั้นฮีมจึงเป็นตัวนำออกซิเจนไปยังเซลล์ต่างๆทั่วร่างกาย อวัยวะที่สร้างฮีม คือ ตับและไขกระดูก โดยสารเคมีสำคัญในการสร้างฮีม คือ สารเคมีกลุ่มที่เรียกว่า Porphyrins ร่างกายจะ กำจัดฮีมส่วนเกิน หรือฮีมที่ไม่ใช้แล้วผ่านทางม้าม โดยม้ามจะสลายฮีมเป็นสารบิลิรูบิน และธาตุเหล็ก ซึ่งตับจะนำสารบิลิรูบินไปกำจัดออก โดยสร้างเป็นส่วนประกอบของน้ำดี และกำจัดออกทางระบบทางเดินน้ำดี โดยเข้าสู่ลำไส้ และกำจัดออกจากร่างกายทางอุจจาระ (ส่วนน้อยของบิลิรูบิน กำจัดออกทางปัสสาวะ/ทางไต) ส่วนธาตุเหล็ก ส่วนใหญ่ร่างกายจะนำกลับมาใช้สร้างเม็ดเลือดแดงใหม่ โดยที่ส่วนน้อยจะกำจัดออกทางไต/ปัสสาวะ

โดยปกติแล้วเซลล์ที่มีการผลิตเม็ดเลือดแดงและสร้างฮีโมโพรตีนจะมีการควบคุมการสร้างของฮีม (Heme) และสารตัวกลางต่างๆ อย่างเหมาะสม เมื่อใดก็ตามที่ปริมาณของพอร์ไฟริน(Porphyrins) หรือฮีมพอเพียงสำหรับจับกับโปรตีน มีฮีมอิสระจะเปลี่ยนเป็น Hemin โดย Fe^{+2} กลายเป็น Fe^{+3} เนื่องจากเกิดออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนหรือคลอไรด์ ดังนั้น Hemin มีจำนวนอิเล็กตรอนลดลง^[15]



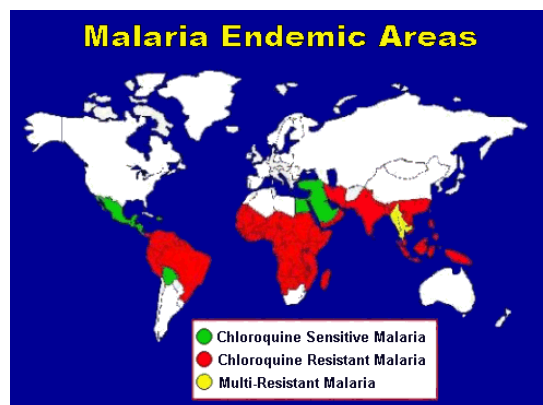
Heme



Hemin

2.4 กลไกการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย

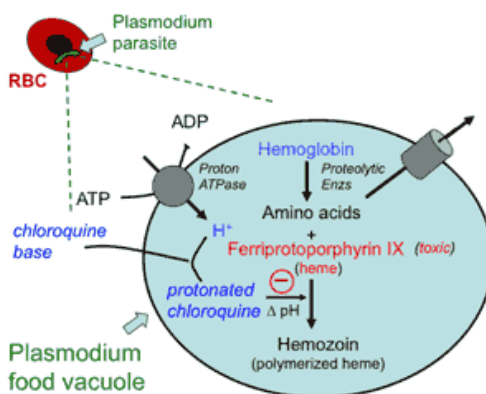
มาลาเรียเป็นโรคที่กำจัดอยู่แต่ในเขตร้อน เพราะต้องอาศัยยุงเป็นพาหะ ร่างกายของผู้ที่อยู่ในดงมาลาเรียมักจะปรับตัวให้อยู่ร่วมกับเชื้อได้อย่างสันติ กล่าวคือ มีเชื้ออยู่ตลอดเวลา แต่ไม่แสดงอาการ แต่การติดเชื้อมากครั้งแรกของคนที่เข้าไปในพื้นที่ได้สร้างความน่ากลัวจนองค์การอนามัยโลกยินยอมให้มีการใช้ยาป้องกันโรคมมาลาเรียสำหรับผู้ที่เดินทางเข้าไปในพื้นที่เสี่ยง และคาดว่าด้วยสาเหตุนี้เองที่ทำให้เชื้อมาลาเรียพัฒนาตัวเองขึ้นอย่างช้าๆ ดังจะเห็นได้จากการเพิ่มพื้นที่สีแดงที่เชื้อไม่ตอบสนองต่อยาที่เคยใช้ในแง่ป้องกัน และขยายไปถึงการื้อยาดูอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกันในพื้นที่สีเหลือง^[16]



ภาพที่ 5 พื้นที่ตรวจพบโรคมมาลาเรีย

2.4.1 กลไกการออกฤทธิ์ของยารักษามาลาเรีย

เชื้อมาลาเรียหรือเชื้อพลาสโมเดียมไม่สามารถสร้างกรดอะมิโนได้เองต้องขโมยกรดอะมิโนจากฮีโมโกลบินของโฮสต์ ขณะที่เชื้ออยู่ในเม็ดเลือดแดงของคน มันจะมีเอ็นไซม์ในกระเพาะคอยย่อยฮีโมโกลบินไปเป็นกรดอะมิโนและฮีม (heme) ซึ่งเป็นพิษต่อมัน แต่มันสามารถสลายพิษของฮีมได้ด้วยขบวนการ pH-dependent polymerization กลายเป็น Hemazoin หรือ malarial pigment ที่ตรวจพบในสไลด์เลือด ยา Chloroquine และอนุพันธ์ในกลุ่ม Quinolines ออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสลายพิษนี้ ทำให้มีฮีมสะสมในกระเพาะของเชื้อมากขึ้นจนทำลายตัวเชื้อไปเอง^[16]

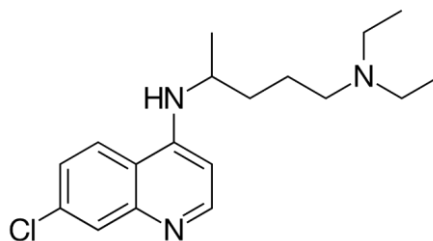


ภาพที่ 6 กลไกการออกฤทธิ์ของยารักษามาลาเรีย

กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของยารักษาโรคมาลาเรียแต่ละกลุ่มสรุปได้ดังนี้

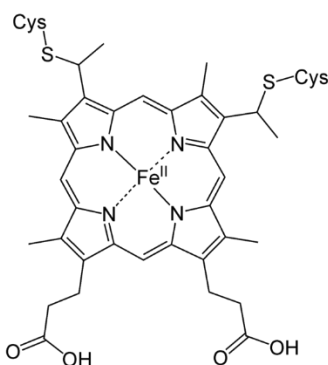
1. กลุ่มยาของ Chloroquine, Quinine และ Mefloquine มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสลายฮีม
2. กลุ่มยาของ Primaquine และ Atovaquone มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง electron transport ภายในไมโทคอนเดรียของเชื้อ
3. กลุ่มยาของ Sulfadoxine, Pyrimethamine และ Proguanil มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างโฟเลต
4. กลุ่มยาของ Doxycycline และ Clindamycin มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างโปรตีนของเชื้อ
5. กลุ่มยาของ Artemisinin มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างอนุมูลอิสระมาทำลายเชื้อ

2.4.2 กลไกการออกฤทธิ์ของยาคลอโรควินและยาในกลุ่ม 4-อะมิโนควิโนลีน

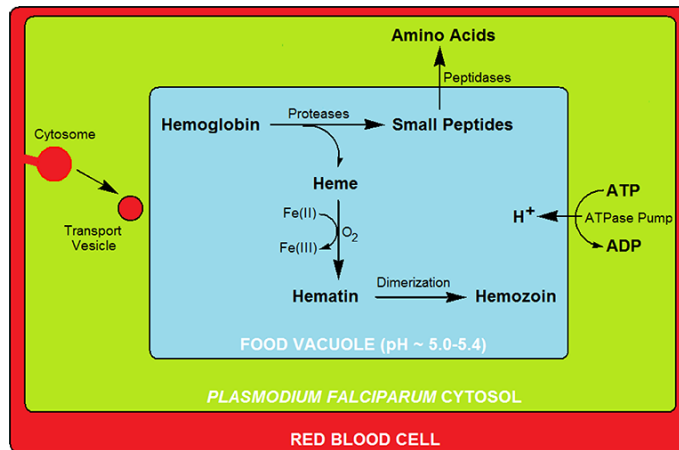


Chloroquine

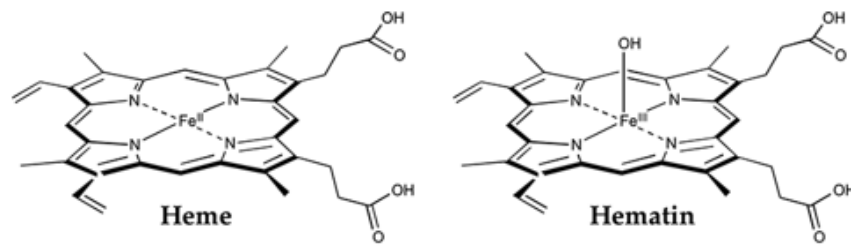
การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาคลอโรควินมาเป็นเวลาช้านานแล้ว แต่ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเพียงแต่ทราบว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการสะสมยาคลอโรควินในเชื้อมาลาเรียใน digestive food vacuole (pH 6.8–5.4) โดยเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียจะมีการสะสมยาคลอโรควินมากกว่าเม็ดเลือดแดงปกติเป็นพันเท่า กลไกหลักในการสะสมยาคลอโรควินใน food vacuole เกี่ยวกับการจับของยาคลอโรควินกับ receptor ซึ่งเป็นจุดออกฤทธิ์เป้าหมายของยาคลอโรควินคือ ferri-protoporphyrin IX (FPIX) ซึ่ง digestive food vacuole เป็นบริเวณที่นำเชื้อ hemoglobin ที่ได้จากเม็ดเลือดแดงของ host มาทำการย่อยสลาย (ขบวนการ hemoglobin degradation) เพื่อนำเอาโปรตีนมาใช้ในการเจริญเติบโต ส่วน host ที่ถูกย่อยสลายออกมานั้นมีความเป็นพิษต่อเชื้อมาลาเรีย ดังนั้น เชื้อมาลาเรียจึงเปลี่ยน heme เป็น hemozoin หรือ malaria pigment โดยขบวนการ heme polymerization คลอโรควินและยาในกลุ่ม 4-อะมิโนควิโนลีน ออกฤทธิ์โดยการจับกับ FPIX โดยตรง จึงขัดขวางขบวนการ heme polymerization หรือยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ heme polymerase^[17]



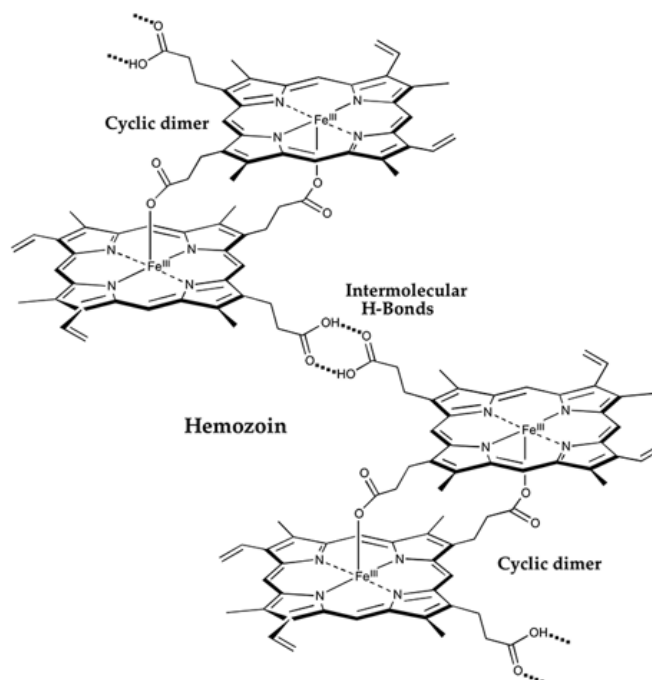
Ferri-protoporphyrin IX (FPIX)



ภาพที่ 7 กลไกการเปลี่ยน Heme เป็น Hemozoin

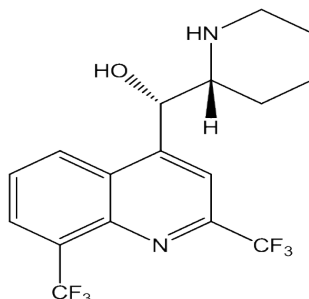


ภาพที่ 8 โครงสร้างของ Heme และ Hematin



ภาพที่ 9 โครงสร้างของ Hemozoin

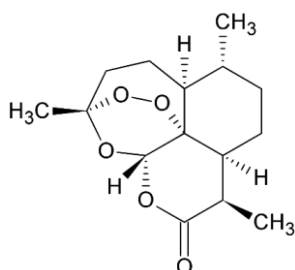
2.4.3 กลไกการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มควิโนลิโนนเมธานอล



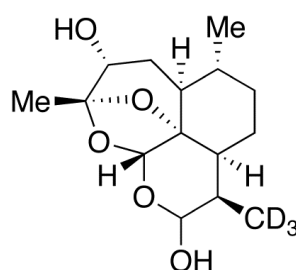
Mefloquine

จากข้อมูลการศึกษาที่มีอยู่คาดว่ายาเมฟโฟลควินและควิโนนมีกลไกการออกฤทธิ์ใกล้เคียงกับยาคลอโรควิน อย่างไรก็ตามการที่พบว่ายาในกลุ่มควิโนลิโนนเมธานอลนี้มีคุณสมบัติเป็นเบสอ่อนกว่ายาคลอโรควินและยาอื่นในกลุ่ม 4-อะมิโนควิโนลิโนนมาก และทำให้ยาสะสมใน digestive food vacuole ได้น้อยกว่า คลอโรควินจึงน่าจะมียุทธวิธีเข้าเซลล์ต่ำกว่ายาคลอโรควิน ในทางตรงกันข้ามกลับพบว่ายาเมฟโฟลควินและควิโนนกลับมียุทธวิธีเข้าเซลล์สูงกว่าคลอโรควิน แสดงว่าน่าจะมียุทธวิธีอื่นๆเกี่ยวข้องกับการนำยาเข้าเซลล์ด้วย นอกเหนือจากกลไกที่เกี่ยวข้องกับยาคลอโรควิน ทฤษฎีที่มีอยู่ในปัจจุบันเชื่อว่ายาเมฟโฟลควินน่าจะออกฤทธิ์ต่อจุดเป้าหมายใน food vacuole ซึ่งคือ ขั้นตอนการยับยั้งขบวนการ heme polymerization เช่นเดียวกับคลอโรควิน หากแต่แตกต่างกันที่ขั้นตอนของขบวนการนี้และจุดเป้าหมายโดยคิดว่าจุดเป้าหมายออกฤทธิ์นี้อาจเป็นโปรตีน Pgh-1 ซึ่งอยู่ที่ membrane ของ food vacuole แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดในเรื่องตำแหน่งที่อยู่ของโปรตีนนี้อยู่ที่ membrane ด้านในหรือด้านนอกของ food vacuole ซึ่งหากว่าโปรตีนนี้อยู่ที่ด้านนอกของ food vacuole การเพิ่มจำนวน copy ของยีน (over expression) pfmdr1 น่าจะทำให้เพิ่มการนำยาเมฟโฟลควินเข้าสู่ food vacuole และทำให้เพิ่มความไวของเชื้อต่อยามากกว่าที่จะลดความไว (คือ) ยา ดังนั้นจึงน่าจะเป็นไปได้มากกว่าโปรตีน Pgh-1 เป็นโปรตีนเป้าหมายของการออกฤทธิ์ของยาเมฟโฟลควินโดยตรง และการเกิด over expression อาจทำให้โปรตีนนี้ทำงานได้เมื่อมี inhibitor อยู่ด้วย^[17]

2.4.4 กลไกการออกฤทธิ์ของยาอาร์ติมิซินินและอนุพันธ์



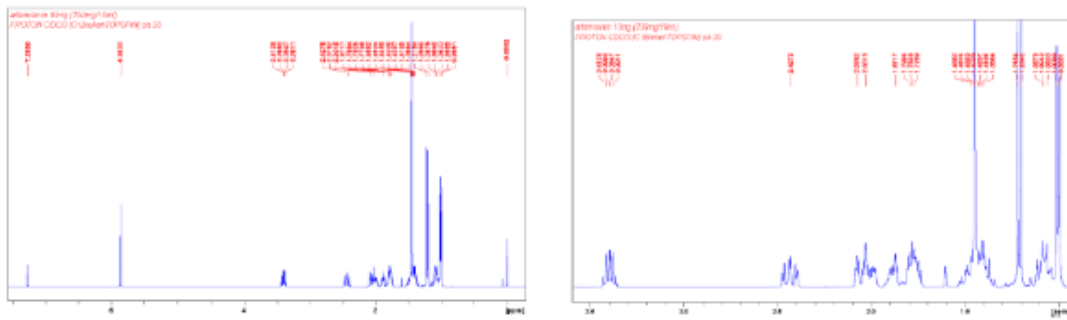
Artemisinin



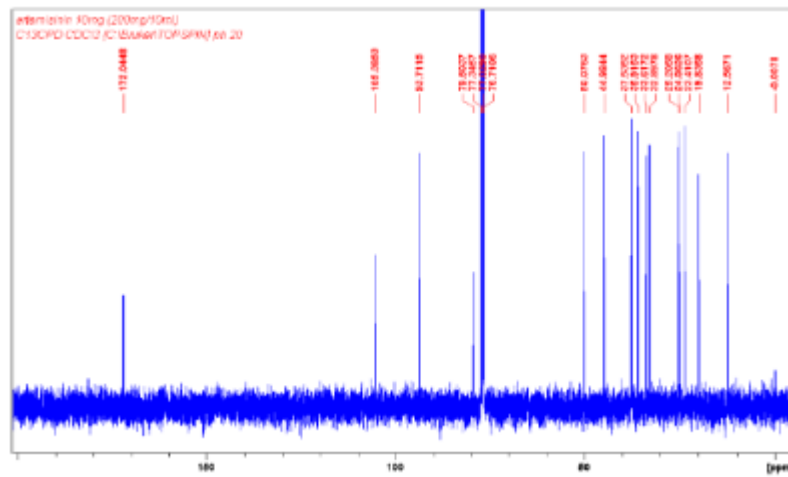
Deoxy artemisinin

ในส่วนของยาอาร์ติมิซินินและอนุพันธ์นั้น พบว่าโครงสร้างของยาในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันไป จากยาต้านมาลาเรียในกลุ่มอื่น เพราะ parent และ metabolite ที่ออกฤทธิ์จะมี endoperoxide bridges เป็นโครงสร้างสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ทฤษฎีการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้เป็นที่ยอมรับในขณะนี้ คือ ยาในกลุ่มนี้ทุกตัว ยกเว้นอาร์ติมิซินินจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอ็นไซม์ในระดับเป็นไดไฮโดรอาร์ติมิซินิน (active metabolite) ซึ่งออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินในเซลล์มาลาเรีย และแตกตัวออกมาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์มาลาเรีย จากการศึกษาต่อมาพบว่ายาอาร์ติมิซินินจะเกิดพันธะโควาเลนต์กับฮีโมโกลบินซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการฆ่าเซลล์มาลาเรีย และการศึกษาต่อมาพบว่ายาในกลุ่มอาร์ติมิซินินจะยับยั้งเอ็นไซม์ที่จำเพาะในเซลล์มาลาเรียและยับยั้ง PfATP6 ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการควบคุมแคลเซียมภายในตัวเซลล์^[17]

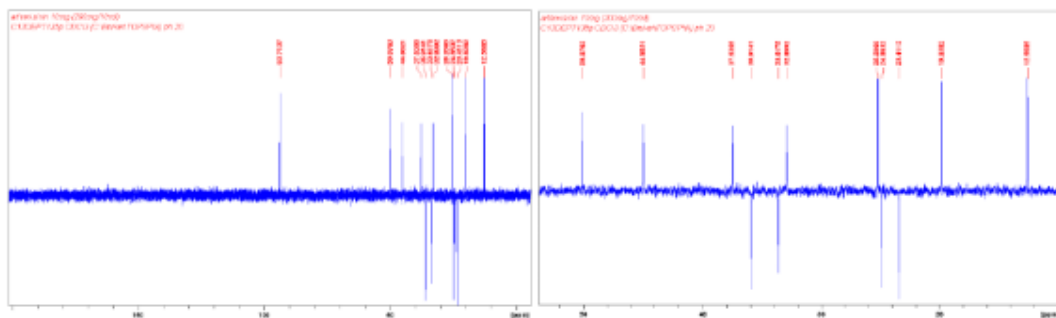
สูตรโครงสร้างยาอาร์ติมิซินินจะเป็น trioxane และมี peroxide bridge หรือออกซิเจน 1 และ 2 ซึ่งจากการศึกษาการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้พบว่า peroxide bridge เป็นส่วนสำคัญของยาอาร์ติมิซินินและอนุพันธ์ในการออกฤทธิ์ต้านมาลาเรีย เพราะส่วนนี้จะเป็นแหล่งของออกซิเจนซึ่งก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระ เช่น hydroxyl และ superoxide ซึ่งสารอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการทำลายสารชีวโมเลกุลอื่นๆภายในเซลล์ตามมา ดังนั้นการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่มนี้จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดสารอนุมูลอิสระและจากการศึกษาต่อมาแสดงให้เห็นว่ายาอาร์ติมิซินินจะทำให้เกิด lipid peroxidation ซึ่งเป็นความเสียหายที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระ ทว่ายังไม่ทราบกลไกแน่ชัดในการแตกของ peroxide bridge แต่คาดว่าเมื่อยาอาร์ติมิซินินเข้าสู่ food vacuole ของมาลาเรีย ฮีโมโกลบินหรือเหล็กจะเข้ามาทำปฏิกิริยากับยาที่บริเวณ peroxide bridge ส่งผลให้เกิดการแตกตัวของออกซิเจน และเกิดสารอนุมูลอิสระตามมา ซึ่งจะเกิดผลเสียหายต่อเซลล์มาลาเรียดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น^[18]



ภาพที่ 10 ¹H Spectrum of Artemisinin^[19]



ภาพที่ 11 ¹³C Spectrum of Artemisinin^[19]

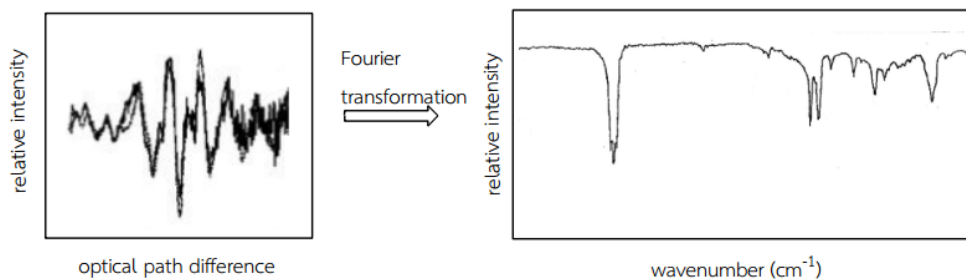


ภาพที่ 12 DEPT-13 Spectrum of Artemisinin^[19]

2.5 การวิเคราะห์โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

2.5.1 หลักการของเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

หลักการ Fourier Transform Infrared (FTIR) เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกประเภทของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และพันธะเคมีในโมเลกุล รวมถึงสามารถบอกถึงปริมาณองค์ประกอบที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารผสมตัวอย่างที่ไม่ทราบชนิด โดยอาศัยหลักการของการดูดกลืนคลื่นรังสีช่วงกลางอินฟราเรด (Middle infrared region) ประมาณ $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ เมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรดที่มีความถี่ตรงกับความถี่ของการสั่น (Stretching) หรือการหมุน (Bending) ของพันธะโคเวเลนต์ในโมเลกุล จะทำให้โมเลกุลดังกล่าวเกิดการดูดกลืนแสง และมีการเปลี่ยนแปลงค่าโมเมนต์ขั้วคู่ (Dipole moment) ของโมเลกุล จากนั้นเครื่องมือจะวัดค่าความเข้มแสงต่อความถี่หรือความยาวคลื่น (Wave number) ได้ผลเป็นสเปกตรัม ซึ่งในแต่ละพันธะของหมู่ฟังก์ชันจะแสดงค่าความยาวคลื่นเฉพาะต่างกัน หลังจากประมวลผลโดยการแปลงฟูเรียร์ (Fourier transformation) จะเปลี่ยนเป็นเส้นสเปกตรัมความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มและความถี่ ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 อินฟราเรดสเปกตรัมก่อนและหลังผลการแปลงฟูเรียร์

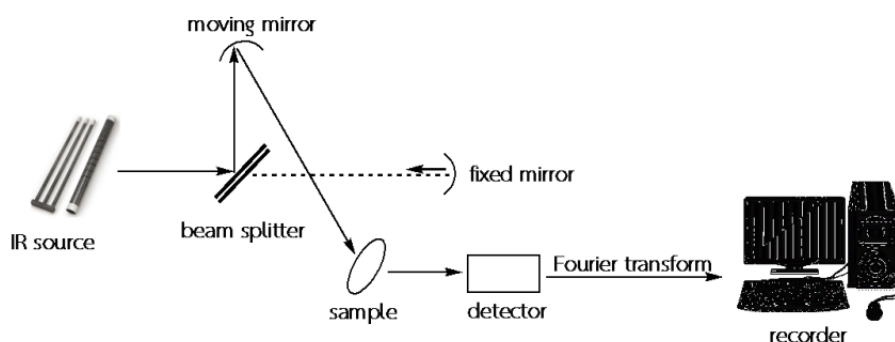
ข้อดีของเครื่อง FTIR ดังนี้

- วิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งของแข็ง ของเหลว และแก๊ส
- วิเคราะห์ตัวอย่างปริมาณน้อยหรือสารที่มีความเข้มข้นสูงได้
- มีอัตราส่วนสัญญาณต่อการรบกวนสูงกว่าเครื่องอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์แบบกระจาย (dispersive infrared spectrometer)
- สแกน (scan) ตัวอย่างได้รวดเร็ว
- ได้สเปกตรัมที่มีการแยกชัดและไม่มีพื้นหลัง (background)

- สามารถศึกษาสเปกตรัมได้ทั้งแบบสะท้อนและแบบดูดกลืนทั้งนี้ขึ้นอยู่กับข้อกำหนด (specification) ของเครื่องมือ ตัวอย่างสเปกตรัมแบบสะท้อน เช่น फिल्म ยาง พลอย และ แก้ว เป็นต้น^[20]

2.5.2 องค์ประกอบของเครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

FTIR เป็นเทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโคปีที่ใช้ อินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (Michelson Interferometer) ในการทำหน้าที่แยกแสงที่ผ่านออกจากเซลล์บรรจุสารตัวอย่างออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ สำหรับในอุปกรณ์ อินเตอร์เฟอโรมิเตอร์นั้น จะประกอบไปด้วยกระจกแบนราบ (planar mirrors) 2 แผ่นที่วางทำมุมตั้งฉากกัน โดยจะมี 1 แผ่นวางอยู่กับที่ (fixed mirror) ในขณะที่กระจกอีกหนึ่งแผ่นจะเคลื่อนที่กลับไปกลับมาด้วยความเร็วคงที่ ในทิศทางที่ตั้งฉากกับระนาบของผิวกระจกดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีตัวแยกลำแสง (beam splitter) ซึ่งวางทำมุม 45 องศา อยู่ระหว่างกระจกทั้ง 2 ^[20]



ภาพที่ 14 องค์ประกอบและหลักการทำงานของเครื่อง FTIR

- แหล่งกำเนิดแสง

ทำหน้าที่ให้รังสีอินฟราเรด ได้แก่ ไนเนิร์นสท์ (Nernst filament) โกลบาร์ (globar) และ ลวดนิโครม แต่ที่นิยม คือ ไนเนิร์นสท์ทำจากออกไซด์ของเซอร์โคเนียม (ZrO_2) ทอเรียม (ThO_2) และซีเรียม (CeO_2) ให้พลังงานสูงสุด $5,500\text{ cm}^{-1}$ และโกลบาร์ลักษณะเป็นแท่งซิลิคอนคาร์ไบด์ (silicon carbide) ให้พลังงานสูงสุด $7,100\text{ cm}^{-1}$

- เซลล์ตัวอย่าง

สำหรับตัวอย่างบางชนิดต้องบรรจุในเซลล์ตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ โดยส่วนใหญ่เซลล์ตัวอย่างทำมาจากเกลือของแฮไลด์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ ($NaCl$) โพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) ลิเทียม-ฟลูออไรด์ (LiF) และซิลเวอร์คลอไรด์ ($AgCl$) เป็นต้น มีลักษณะโปร่งใสและไม่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรดช่วงเดียวกับตัวอย่าง

- ตัวแยกรังสีแบบ Interferometer

อินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (Michelson Interferometer) ซึ่งประกอบด้วยกระจกที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (moving mirror) กระจกที่ตรึงอยู่กับที่ (fixed mirror) โดยทั้งสองตั้งฉากซึ่งกันและกัน และตัวแยกรังสีซึ่งเป็นอุปกรณ์กึ่งสะท้อนแสงลำรังสีครึ่งหนึ่ง (beam splitter) จะทะลุผ่านไปยังกระจกที่ตรึงอยู่กับที่ และอีกครึ่งหนึ่งจะสะท้อนไปยังกระจกที่สามารถเคลื่อนที่ได้หลังจากนั้นลำรังสีก็จะสะท้อนจากกระจกกลับมาวมกันที่ตัวแยกรังสี เกิดการแทรกสอดขึ้น

- Detector

เครื่องตรวจวัดทำหน้าที่ประมวลผลจากสัญญาณการแทรกสอดที่ส่งผ่านมาจากตัวแยกรังสี

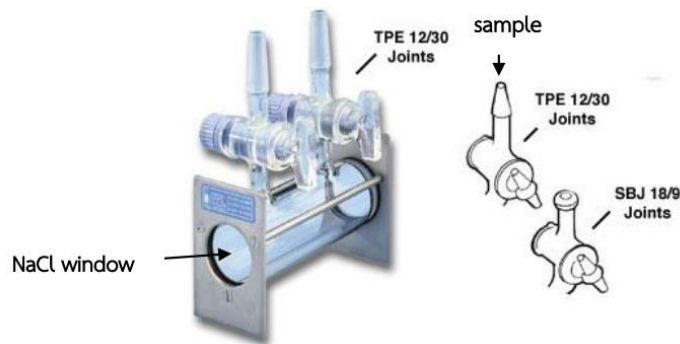
- เครื่องประมวลผล

โดยปกติจะต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ ซึ่งสามารถใช้ควบคุมการทำงานของเครื่องให้ข้อมูลต่างๆที่ต้องการ เครื่องคอมพิวเตอร์จะทำหน้าที่เก็บข้อมูล คำนวณ และพิมพ์รายงานผล

2.5.3 การเตรียมตัวอย่าง

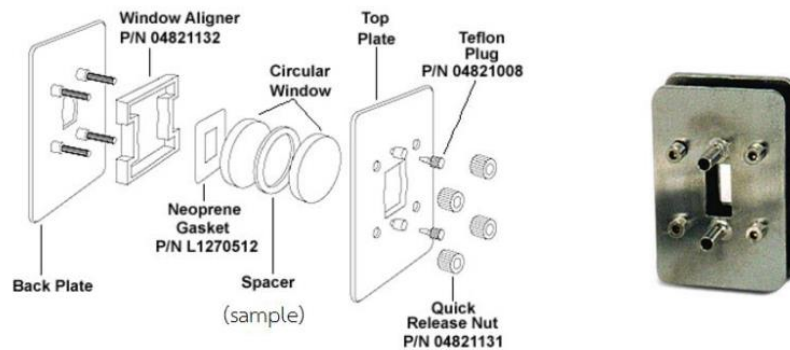
ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์หมู่ทำหน้าที่ด้วยเครื่องอินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์นั้น สถานะอาจมีได้ทั้งแก๊ส ของเหลว และของแข็ง โดยตัวอย่างแต่ละชนิดมีวิธีการเตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน ดังนี้

- ตัวอย่างสถานะแก๊ส จะบรรจุตัวอย่างตรงปลายก๊อกปิดเปิด (stopcock) ของเซลล์ตัวอย่างที่มีระบบสุญญากาศ ดังภาพที่ 15 ตัวอย่างจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดผ่านหน้าต่างโซเดียมคลอไรด์ (NaCl window) ^[20]



ภาพที่ 15 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะแก๊ส

- ตัวอย่างสถานะของเหลว ลักษณะเซลล์ตัวอย่าง ดังภาพที่ 16 กรณีตัวอย่างเป็นของเหลวหนืดเตรียมโดยทาเป็นฟิล์มบางๆ บนจาน (disc) แล้วประกบด้วยจานอีกแผ่นหนึ่ง กรณีตัวอย่างเป็นสารละลายเตรียมโดยฉีดตัวอย่างตรงช่องฉีดของเซลล์ตัวอย่าง ^[20]



ภาพที่ 16 เซลล์บรรจุตัวอย่างสถานะของเหลว

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ. 1985 งานวิจัยของ Serge Moreau และคณะ^[21] ได้ทำการศึกษาด้วยคลื่นสนามแม่เหล็กนิวเคลียร์ของปฏิกิริยาของยาต้านมาลาเรียกับ Porphyrins พบว่า Haematin (hydroxyferriprotoporphyrin IX) เป็นตัวรับที่เป็นไปได้สำหรับยาต้านมาลาเรีย เช่น chloroquine หรือควินิน รายงานฉบับนี้รายงานการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของสองโมเลกุลที่มีสอง tetrapyrrole (haematin และ uroporphyrin I) โดยใช้ 1H-NMR วิธีนี้ทำให้ทราบถึงรูปร่างเรขาคณิตของปฏิสัมพันธ์ในน้ำที่เป็นตัวกลาง ปฏิสัมพันธ์ประกอบด้วย การซ้อนกันอย่างใกล้ชิดของแหวน porphyrin และครึ่งหนึ่งของยา quinoline ใช้แบบจำลองแหวน porphyrin ปัจจุบันมันเป็นไปได้ที่จะเข้าถึงความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ของสปีชีส์ที่มีปฏิสัมพันธ์ จะสรุปได้ว่าแรงที่ไม่ชอบน้ำมีบทบาทสำคัญในการปฏิสัมพันธ์ ระหว่าง porphyrin สามารถรองรับความหลากหลายของโครงสร้างที่หลากหลายของสปีชีส์ที่มีปฏิสัมพันธ์ซึ่งนำไปสู่ความจำเพาะที่อ่อนแอ ที่ถูกกล่าวถึงนั้นคือผลที่ตามมาของโหมดการออกฤทธิ์ของยาต้านมาลาเรียนั้นถูกกล่าวถึง

ในปี ค.ศ. 1994 งานวิจัยของ Ying-ZiYang และคณะ^[22] ได้ทำการศึกษา Alkylation ของโปรตีนโดย artemisinin และให้ผลของ heme, pH และโครงสร้างของยา พบว่า Artemisinin และอนุพันธ์ของ Artemisinin ซึ่งเป็นยาต้านมาลาเรียชนิดใหม่ที่มีแนวโน้มที่มี endoperoxide bridge [14C]Artemisinin alkylated โปรตีนต่างๆในหลอดทดลอง ระหว่าง 5 และ 18% ของการเพิ่มยาที่จับกับโปรตีนของฮีโมโปรตีน เช่น catalase, cytochrome c, และฮีโมโกลบิน อย่างไรก็ตาม ไม่เกิดปฏิกิริยากับ heme-free globin สำหรับ catalase และฮีโมโกลบินยาส่วนใหญ่ทำปฏิกิริยากับโปรตีนมากกว่าฮีโม Artemisinin ที่จับกับเซรุ่มอัลบูมินของมนุษย์ (HSA) มีประสิทธิภาพที่ pH 8.6 มากกว่า 7.4 ซึ่งประสิทธิภาพใน PBS ของ Dulbecco มากกว่าใน Tris-HCl buffer และดีกว่าเมื่อ HSA ปราศจากกรดไขมัน Dihydroartemisininmu ที่จับกับ HSA ในขณะที่ deoxyartemisinin เป็นอนุพันธ์ที่ไม่ได้ใช้งาน ไม่มีความผูกพันระหว่าง DNA กับอาร์ติมิซิน ข้อมูลเหล่านี้ให้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกของปฏิกิริยาระหว่างอาร์ติมิซินินและโปรตีน

ในปี ค.ศ. 1999 งานวิจัยของ Yang Chen และคณะ^[23] ได้ทำการศึกษาในการพิสูจน์สำหรับ hemin ในการกระตุ้นความแตกแยกของพันธะเปอร์ออกไซด์ของ artemisinin โดยใช้การศึกษาโวลแทมเมทรีแบบวัฏจักรและการศึกษา FT IR spectroelectrochemical เกี่ยวกับกลไกการลดลงของ artemisinin ต่อ hemin พบว่า Cyclic voltammetry และในการศึกษา FT-IR spectroelectrochemistry (SEC) ถูกนำมาใช้เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มเปอร์

ออกไซด์ของ artemisinin ใน Hemin บนขั้วไฟคาร์บอนอสัณฐาน พบว่า artemisinin เพียงอย่างเดียวลดลงที่ศักย์ไฟฟ้าติดลบมากกว่า -1.0 โวลต์ ใน CH_2Cl_2 เมื่อมีความเข้มข้นของ Hemin ลดลงถึง 10^{-7} โมลาร์ artemisinin สามารถลดลงได้โดยการเร่งปฏิกิริยาด้วย Hemin ในการทดลอง FT-IR SEC ได้ยืนยันการเร่งปฏิกิริยาของ Hemin สำหรับการลดลงของ artemisinin การเปลี่ยนแปลงของ IR spectra สำหรับพันธะเปอร์ออกไซด์ของ artemisinin ที่ 1114 cm^{-1} แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ามีการกระตุ้นให้เกิดการแตกแยกขั้วแคโทดของพันธะเปอร์ออกไซด์ ผลการวิจัยเหล่านี้สามารถนำไปสู่ความเข้าใจในการดำเนินการของยาต้านมาลาเรียของ artemisinin

ในปี ค.ศ. 2000 งานวิจัยของ Kapetanaki S และคณะ^[24] ได้ทำการศึกษา Fourier transform infrared (FTIR) และ resonance Raman (RR) spectroscopies ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจสอบการลดลงของพันธะ O-O ของ endoperoxide ของยาด้านมาลาเรียอาร์ทีมิซินินและแอนนาลอคไทรออกเซน โดยฮีมโตเมอร์ ผู้วิจัยได้บันทึกสเปกตรัมของ FTIR ใน $\text{V}(\text{O} - \text{O})$ และ $\text{V}_{\text{os}}(\text{Fe} - \text{O} - \text{Fe})$ ของอาร์ทีมิซินินและของฮีมโตเมอร์ที่แสดงความแตกต่างของเอนโดเปอร์ออกไซด์และของฮีมโตเมอร์ตามลำดับ และได้สังเกตเห็นผลลัพธ์ที่คล้ายกันในปฏิกิริยาของเครื่องตีแอลกอฮอล์ไทรออกเซน / ฮีมโตเมอร์ สเปกตรัม RR ของปฏิกิริยา อาร์ทีมิซินิน / ฮีมโตเมอร์ แสดงโหมดการสั่นสะเทือนที่ 850 cm^{-1} ซึ่งจะขยับค่าเป็น 818 cm^{-1} และเมื่อการทำทดลองซ้ำกับ $^{18}\text{O}-\text{O}^{18}$ เอนโดเปอร์ออกไซด์ แอลกอฮอล์ไทรออกไซด์ ซึ่งมีผลความถี่ของการสั่นสะเทือนและขนาดของการเปลี่ยนแปลงไอโซโทปที่ $^{18}\text{O} - \text{O}^{18}$ ทำให้ผู้วิจัยได้กำหนดโหมดที่ 850 cm^{-1} ให้กับ $\text{Fe IV} = \text{O}$ ซึ่งเป็นการยึดและการสั่นสะเทือนของเฟอร์ลิว - xoxo ฮีมปานกลางที่เกิดขึ้นในอาร์ทีมิซินิน / ฮีมโตเมอร์และแอลกอฮอล์ไทรออกไซด์ / ปฏิกิริยาของฮีมผลลัพธ์นี้ได้นำเสนอลักษณะเฉพาะโดยตรงของโหมด ยาด้านมาลาเรียของอาร์ทีมิซินิน และของตัวแอนนาลอคไทรออกเซน และได้แนะนำว่าอาร์ทีมิซินินดูเหมือนจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลฮีมที่ถูกรวมเข้าไปใน hemozoin และต่อมาฮีมจะทำการผลิตสารเคมีชนิดไฮโดรโคม P450

ในปี ค.ศ. 1999 งานวิจัยของ Hong-Yuan Chena และคณะ^[25] ได้ทำการศึกษาการทำงานร่วมกันระหว่างอนุพันธ์อื่นๆของอาร์ทีมิซินินและฮีมิน ถูกตรวจสอบโดยวิธีเคมีไฟฟ้าและเคมีไฟฟ้าสเปกโตร อนุพันธ์นี้สามารถลดลงได้โดยการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยฮีมินที่ขั้วคาร์บอนกลาสที่ขั้วลบจะลดลง 650 ไมโครโวลต์ วิธีเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสำหรับการแยกผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาได้ถูกสร้างขึ้น ได้ทำการระบุในน้ำ

สารละลายอาซีโตไนโตรล์ หรือในเตตระไฮโดรฟรอน ตามลำดับ โครงสร้างของผลิตภัณฑ์เหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการสลายตัวของตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยฮีมันของสารประกอบอาร์เทมิซินินในคาร์บอนกลาสหรือคาร์บอนอิเล็กโทรดที่ทำปฏิกิริยากับน้ำสามารถทำได้โดยการลดเคมีไฟฟ้าและการจัดเรียง สรุปได้ว่าปฏิกิริยาของอาร์เทมิซินินกับฮีมันเป็นขั้นตอนสำคัญในกลไกต้านมาลาเรียของอาร์เทมิซินิน

ในปี ค.ศ. 2003 งานวิจัยของ Luigi Messori และคณะ^[26] ได้ศึกษาปฏิกิริยาของฮีมันกับอาร์เทมิซินินสามตัวที่เป็นที่รู้จักกันดี คือ dihydroartemisinin, artemether และ artesunate ถูกวิเคราะห์อย่างอิสระโดย วิสลิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และโดย ESI-MS/HPLC เส้นทางการเกิดปฏิกิริยาที่คล้ายกันมากเกิดขึ้นสำหรับสารประกอบเหล่านี้ที่เข้ากันได้อย่างใกล้ชิดกับโปรไฟล์ปฏิกิริยาที่อธิบายไว้ก่อนหน้านี้สำหรับอาร์เทมิซินิน ในระหว่างเกิดปฏิกิริยา ลักษณะที่เหมือนกัน 1: 1 ยาและฮีมันจะถูกดึงเข้าหากันจะเกิดขึ้น เช่นเดียวกับในกรณีของอาร์เทมิซินิน ในที่สุดการทำลายของวงแหวนพอร์ฟิรินเกิดขึ้นในทุกกรณี ส่วนใหญ่จะเกิดผ่านการออกซิเดชันวิธีโมเลกุลที่พบบ่อยคือปฏิกิริยาของอนุพันธ์ของยาด้านมาลาเรียสามชนิด ได้แก่ artemether (I) artesunate (II) และ dihydroartemisinin (III) กับฮีมันซึ่งเป็นเป้าหมายทางชีวโมเลกุลระดับโมเลกุล

ในปี ค.ศ. 2010 งานวิจัยของ Adyasha Bharati และ S.C. Sabat^[27] ได้ทำการทดสอบสเปกโตรโฟโตเมตริกสำหรับการหาปริมาณของอาร์เทมิซินิน วิธีการที่นำเสนอสำหรับการวัดปริมาณของอาร์เทมิซินินในรูปของผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาอัลคาไลนั้นเรียบง่ายและแม่นยำสูงและไม่มีค่าใช้จ่ายเกี่ยวข้องกับการใช้เครื่องมือ วิธีการทำตามกฎของเบียร์ในช่วงความเข้มข้น 0.44–172 nmol/mL⁻¹ การตรวจสอบความแม่นยำที่ยอมรับได้อยู่ในระหว่างช่วง 9–12% โปรโตคอลปัจจุบันที่ให้ความละเอียดสเปกตรัมเดียวที่มีค่าสูงสุดที่ 291 nm นั้นมีความจำเพาะสูงต่อ artemisinin เนื่องจากโปรโตคอลไม่ตอบสนองต่ออนุพันธ์อื่น ๆ ของยาเช่น dihydroartemisinin (ที่ได้จาก Sigma) และ artesunate (Falcigo ที่ได้จากตลาดเปิด) แม้ว่าจะมีโครงสร้างกระดูกสันหลังที่คล้ายกัน งานวิจัยนี้พยายามจะเอาชนะข้อจำกัดของวิธี เพื่อเพื่อให้สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพสำหรับอุตสาหกรรมและวัตถุประสงค์ทางคลินิก นอกจากนี้ความละเอียดสเปกตรัมของผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาอาร์เทมิซินิน – โซเดียมไฮดรอกไซด์แสดงถึงรูปทรงโค้งที่อยู่ใกล้กับการแจกแจงแบบเกาส์พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นชนิดโมโน

ในปี ค.ศ. 2012 Lawal, A และคณะ^[28] ได้ทำการวิเคราะห์ยาต้านมาลาเรียอาร์ทีมิซินินและอนุพันธ์ โดย FTIR และ UV-Visible Spectrophotometer FTIR เป็นเทคนิคที่เรียบง่ายทำซ้ำได้และวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการอธิบายโครงสร้างของสารเคมีหลายชนิดและถูกใช้เป็นวิธีการที่จำเป็นในการระบุยาในตำรับเภสัชต่าง ๆ ตัวอย่างเม็ดถูกเตรียมโดยนำโพแทสเซียมโบรไมด์ 0.150 กรัมและผสมกับ 0.008 กรัมของสารมาตรฐานอ้างอิงของอาร์ทีมิซินินและอนุพันธ์ของอาร์ทีมิซินินแต่ละตัวและสเปกตรัมถูกบันทึกที่ระหว่าง 4,000 ซม.⁻¹ ถึง 500 ซม.⁻¹ โดยสแกนเฉลี่ย 10 ครั้ง แต่ละสเปกตรัมมี Shimadzu FTIR Spectrophotometer ภายใต้อุปกรณ์ที่รองรับแสดงให้เห็นว่าการโค้งงอของ C - H, การยืด C = O, อะโรมาติก C - H ในระนาบของอีเทอร์, วงแหวนขนาดใหญ่, การยืด C - O และเปอร์ออกไซด์, C - O - O - ยึดตามลำดับ พบวง IR เพิ่มเติมของ CH₂ - CH₂, การสั่นสะเทือนของวงแหวนไซโคลเฮกเซนและเอสเทอร์ นอกจากนี้วิธีการ Spectrophotometric ที่ง่ายและละเอียดอ่อนต่อยาต้านมาลาเรียเหล่านี้ ได้รับการพัฒนาโดยใช้เมทิลีนบลูและแบงก์ที่ละลายน้ำได้เป็นสาร chromogenic ในรูปแบบบริสุทธิ์ของ artemisinin (ATM) และ artesunate (ATS) และในสูตร ผลลัพธ์ที่ได้จากการกราฟมาตรฐานแสดงให้เห็นว่า R² คือ 0.9602 และ 0.9996 สำหรับ ATM และใช้ methylene blue ในขณะที่ 0.9537 และ 0.9648 สำหรับ ATM และ ATS โดยใช้แบงก์ที่ละลายน้ำได้เป็นตัวแทน chromogenic ตามลำดับ ความแปรปรวนภายในและระหว่างวันอยู่ภายในรายงานในรูปแบบของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 48.7 ถึง 96.6% ชี้ดจำกัดการตรวจวัดและการหาปริมาณพบว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ในขั้นตอนหลังการพัฒนาและการตรวจสอบความถูกต้อง ยาจะถูกสุ่มตัวอย่างและทดสอบและผลการเปิดเผยเนื้อหาของ API ของยาเสพติดอยู่ระหว่าง 78 -105% สรุปผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่นำเสนอสามารถนำมาใช้ในการกำหนดสูตรในยาต้านมาลาเรีย

ในปี ค.ศ. 2017 งานวิจัยของ Marie Asano และ Hideo Iwahashi^[29] ได้ทำการศึกษาหาโครงสร้างของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาของยาต้านมาลาเรียอาร์ทีมิซินินกับไฮดรอกซิลิก ในงานวิจัยนี้ตรวจพบและจำแนกอนุมูลอิสระของ artemisinin, artemether- และ artesunate โดยใช้ ESR, HPLC-ESR และ HPLC-ESR-MS กลไกของปฏิกิริยาต้านมาลาเรียของ artemisinin ได้รับการตรวจสอบโดยใช้ artemisinin และแบบจำลองสารประกอบ, 1,2,4,5-tetraoxane และอนุพันธ์ 1,2,4-trioxolane และใช้ artemisinin, 1,2,4-trioxolane และอนุพันธ์ของ tetraoxane 1,2,4,5-tetraoxane ประกอบด้วย endoperoxide bridge ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของ artemisinin จาก

การใช้อนุพันธ์ของออกซิเจน 1,2,4-trioxane และ 4-substituted analogs แสดงให้เห็นว่าเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจน ในทางกลับกัน heme / artemisinin, heme / 1,2,4-trioxolanes, และ heme / 1,2,4,5-tetraoxanes พบว่า artemisinin 1,2, 4-trioxolanes และ 1,2,4,5-tetraoxanes และนอกจากนี้ในการ heme, 2,2,6,6 tetramethylpiperidine 1 oxyl (TEMPO) / 1,2,4,5-tetraoxanes ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เหล็กไอออนทำให้การสร้างของสารอนุมูลอิสระจาก artemisinin ซึ่งสามารถมองเห็นได้โดยอิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์ (ESR) โดยใช้ 5,5-dimethyl-1-pyrroline- N -oxide (DMPO) นอกจากนี้ artemisinin (หรือ artemether) อนุมูลถูกตรวจพบโดยตรงโดยใช้ 3,5-dibromo-4-nitrosobenzene sulfonate (DBNBS) และ 2-methyl-2-nitrosopropane (MNP)

ในปี ค.ศ. 2017 งานวิจัยของ Sunday O. Awofisayo และคณะ^[30] ได้ทำการศึกษาปฏิสัมพันธ์ของโมเลกุลระหว่างสารออกฤทธิ์ในยาต้านมาลาเรีย dihydroartemisininpiperazine (DP) แท็บเล็ตและส่วนประกอบอาหารโดยใช้ Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) แบ่งที่ละลายน้ำได้ แลคโตส อัลบูมิน น้ำมันดอกทานตะวันและเครื่องตี้อัดลมจะถูกอัดเป็นก้อนด้วยเม็ด DP แบบผงพร้อมกันโดยใช้วิธีโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) และวิเคราะห์ด้วยซอฟต์แวร์ FTIR Dihydroartemisinin (DHA) และ piperazine (PQ) แสดงการสั่นสะเทือนของพันธะลักษณะที่สอดคล้องกับค่าอ้างอิงส่วนประกอบของอาหารคาร์โบไฮเดรตไม่มีผลต่อการสั่นสะเทือนของลักษณะ DHA และ PQ พงอัลบูมินเปลี่ยนการยืดตัวของอะโรมาติก (C-H) ของ PQ จาก 3009 เป็น 3387 cm^{-1} และ aliphatic (C-H) ยืดที่ 2874 ถึง 2935 cm^{-1} DHA (CH) ที่ยืดที่ 3419 cm^{-1} ถูกเลื่อนเป็น 3387 cm^{-1} เมื่อผสมกับ albumin โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญสำหรับลิงก์ endoperoxide (เช่น 875 ถึง 881 cm^{-1}) (C = O) ยืด (เช่น 1735 ถึง 1743 cm^{-1}) และ (OH) ยืด (2926 ถึง 2928 cm^{-1}) น้ำมันดอกทานตะวันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติ DHA spectra สำหรับ (C-H) ยืดที่ 3419 ถึง 3385 cm^{-1} น้ำมันดอกทานตะวันยังเปลี่ยนการโค้งแบบอะโรมาติก (C-H) สำหรับ PQ จาก 775 เป็น 721 cm^{-1} ส่วนผสมของเครื่องตี้อัดลมพร้อมแท็บเล็ต DP ทำให้คุณสมบัติสเปกตรัมทั้งหมดของ PQ และ DHA เปลี่ยนไปอย่างชัดเจน เครื่องตี้อัลบูมินและคาร์บอนเนตสร้างการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในคุณสมบัติสเปกตรัมของสารออกฤทธิ์ใน DP การกลืนกินโปรตีนหรือเครื่องตี้อัดลมที่มีแท็บเล็ต DP อาจส่งผลต่อการดูดซึมของสารออกฤทธิ์

ในปี ค.ศ. 2018 งานวิจัยของ Pengjuan Ni และคณะ^[31] ทำการศึกษา Hemin ที่พบส่วนมากจะอยู่ในรูปของเหล็กกับชีวภาพร่วมกัน ทำหน้าที่ทางชีวภาพมากมายอย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับการตรวจจับ hemin นั้นยังไม่เพียงพอ ในฐานะที่เป็นเปอร็อกไซด์ธรรมชาติที่ผิดปกติ อาร์ติมิซินินค่อนข้างเสถียรในการปรากฏตัวของสายพันธุ์ที่พบบ่อย ในขณะที่มันสามารถย่อยสลายเพื่อสร้างอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ใน hemin และอนุมูลอิสระที่ได้รับจากซูเปอร์ออกไซด์สามารถออกซิไดซ์ไทอามีนในรูปแบบไทโอโครมเรืองแสง แร่งบันดัลใจจากสิ่งนี้ การทดสอบฟลูออเรสเซนซ์ที่เรียบง่ายและแปลกใหม่สำหรับการตรวจจับ hemin ขึ้นอยู่กับ artemisin–thiamine (วิตามินบี1) ได้รับการพัฒนา จากความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มเรืองแสงและความเข้มข้นของ hemin การทดสอบ artemisinin–thiamine (วิตามินบี1) ที่พัฒนาขึ้น สามารถนำไปใช้สำหรับการตรวจสอบความไวของ hemin อยู่ในช่วงความเข้มข้นของ 2.0–300.0 นาโนเมตร และขีดจำกัดการตรวจสอบ 0.68 นาโนเมตร นอกจากนี้การทดสอบนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเลือกจับที่สูงกว่าไฮออนบวกและสารชีวโมเลกุล นอกจากนี้ hemin สามารถตรวจจับได้ในตัวอย่างเซรัม ได้ผลลัพธ์ที่น่าพอใจ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่ยอดเยี่ยมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง การทดสอบที่ออกแบบมานั้นปราศจากวัสดุนาโนที่เรืองแสงใดๆหรือตรวจโดยการผสมรีเอเจนต์เหล่านี้เข้าด้วยกันและกระบวนการตรวจจับทั้งหมดจะดำเนินการภายใน 20 นาที ดังนั้นจึงสามารถนำเสนอที่เรียบง่าย แพลตฟอร์มการตรวจจับที่มีความไวสูงและการเลือกจับสำหรับการตรวจจับการเรืองแสงของ hemin

บทที่ 3

การดำเนินงานและการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. Dimethyl Sulfoxide (DMSO)
2. Deionized Water (DI)
3. Ascorbic Acid (Vitamin C)
4. Hemin
5. Dihydroartemisinin (DHA), ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีนลิแกนส์และสารชีวโมเลกุล (BIOTEC)
6. Deoxy- Dihydroartemisinin (deoxy DHA), ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีนลิแกนส์และสารชีวโมเลกุล (BIOTEC)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FT-IR Spectrometer), รุ่น Nicolet 6700
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง, รุ่น AB 204-S, Mettler Tole, Thailand
3. Eppendorf Tubes

3.3 การเตรียมตัวทำละลาย

เตรียม DI Water ปริมาตร 50 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเติมแก๊สไนโตรเจนลงไปใน DI Water เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วทำการปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม จะได้ตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน ตัวทำละลายนี้สามารถเก็บไว้ใช้ได้ 24 ชั่วโมง

ตาราง 1 แสดงตัวอย่างฮีมินและยาต้านมาลาเรียที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการวิศวกรรมโปรตีนลิแกนด์และสารชีวโมเลกุล (BIOTEC)

ตัวอย่าง	รายละเอียด	ภาพตัวอย่าง
Hemin	ผงสีดำ	
DHA	ผงสีขาว	
Deoxy-DHA	ผงสีขาว	

3.4 การเตรียมตัวอย่างยาต้านเชื้อมาลาเรียสำหรับการวิเคราะห์

สำหรับการเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR จะประกอบไปด้วยการเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย 3 วิธี ได้แก่ การเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DI Water การเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DMSO และการเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DI Water (ทำการเตรียมยาต้านมาลาเรีย : ซีมีน ในอัตราส่วน 1 : 1)

- ชั่งตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย (DHA และ Deoxy-DHA) 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร
- ชั่งซีมีน 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร
- จากนั้นนำตัวอย่างยาต้านมาลาเรียและซีมีนมาผสมกันใน eppendorf tube แล้วเติม DI Water จำนวน 5 หยด แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที
- จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR

3.4.2 การเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DMSO

- ชั่งซีมีน 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร นำไปละลายด้วยใช้ตัวทำละลาย DMSO ลงใน eppendorf tube จำนวน 5 หยด
- ชั่งซีมีน 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร และชั่งวิตามินซี 0.0200 กรัม ลงในกระดาษ จากนั้นนำมาผสมกันใน eppendorf tube แล้วเติมตัวทำละลาย DMSO จำนวน 5 หยด (ทำการเตรียมซีมีน : วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 : 5)
- ชั่งซีมีน 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร ชั่งวิตามินซี 0.0200 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร และชั่งตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย (DHA และ Deoxy-DHA) 0.0040 กรัม ลงในกระดาษชั่งสาร จากนั้นนำตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย วิตามินซี และซีมีนมาผสมกันใน eppendorf tube แล้วเติมตัวทำละลาย DMSO จำนวน 5 หยด แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที (ทำการเตรียมซีมีน : วิตามินซี : ตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย ในอัตราส่วน 1 : 5 : 1)
- จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR

3.4.3 การเตรียมตัวอย่างยาต้านมาลาเรียในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

- เตรียมสารละลายที่ไม่มีส่วนผสมของยาต้านมาลาเรีย (ทำการเตรียม : วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 : 5)

ชั่งฮีมิน 0.040 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร และชั่งวิตามินซี 0.0200 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร จากนั้นนำวิตามินซีมาละลายด้วยตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน ลงใน eppendorf tube แล้วเติมฮีมินลงในสารละลายวิตามินซี แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเติมตัวทำละลาย DMSO จำนวน 5 หยด แล้วนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR

- เตรียมสารละลายที่มีส่วนผสมของยาต้านมาลาเรีย DHA (ทำการเตรียม : วิตามินซี : ตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย ในอัตราส่วน 1 : 5 : 1)

ชั่งฮีมิน 0.0040 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร และชั่งวิตามินซี 0.0200 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร นำวิตามินซีมาละลายในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน ลงใน eppendorf tube แล้วเติมฮีมินลงในสารละลายวิตามินซี แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

จากนั้นทำการชั่งตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย DHA 0.0040 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร แล้วนำไปละลายด้วยตัวทำละลาย DMSO จำนวน 5 หยด จะได้สารละลายที่มียาต้านมาลาเรีย จากนั้นนำไปเติมลงในสารละลายวิตามินซีที่มีฮีมิน แล้วนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR

- เตรียมสารละลายที่มีส่วนผสมของยาต้านมาลาเรีย Deoxy-DHA (ทำการเตรียม : วิตามินซี : ตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย ในอัตราส่วน 1 : 5 : 1)

ชั่งฮีมิน 0.0040 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร และชั่งวิตามินซี 0.0200 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร นำวิตามินซีมาละลายในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน ลงใน eppendorf tube แล้วเติมฮีมินลงในสารละลายวิตามินซี แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

จากนั้นทำการชั่งตัวอย่างยาต้านมาลาเรีย Deoxy-DHA 0.0040 กรัม ลงในกระดาดชั่งสาร แล้วนำไปละลายด้วยตัวทำละลาย DMSO จำนวน 5 หยด จะได้สารละลายที่มียาต้านมาลาเรีย จากนั้นนำไปเติมลงในสารละลายวิตามินซีที่มีฮีมิน แล้วนำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR

3.5 การวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR)

ทำการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันในช่วงความยาวคลื่น 400 ถึง 4000 นาโนเมตร

- ทำการวิเคราะห์ด้วยตัวอย่างทานมาลาเรียชนิด DHA ในรูปของผง
- ทำการวิเคราะห์ด้วยตัวอย่างทานมาลาเรียชนิด Deoxy-DHA ในรูปของผง
- ทำการวิเคราะห์ฮีมีน ในรูปของผง
- ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยาทานมาลาเรียที่เตรียมในตัวทำละลาย DMSO ในรูป

ของสารละลาย

- ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยาทานมาลาเรียที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำ DI ในรูป

ของสารละลาย

- ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างยาทานมาลาเรียที่เตรียมในตัวทำละลายน้ำ DI ที่

ปราศจากออกซิเจน ในรูปของสารละลาย

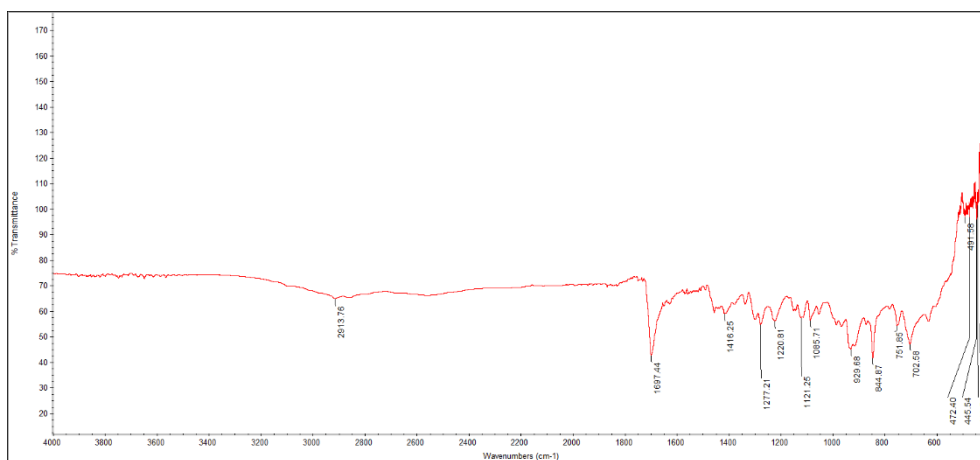
บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin, DHA และ Deoxy-DHA ในรูปแบบผง โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR)

4.1.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin

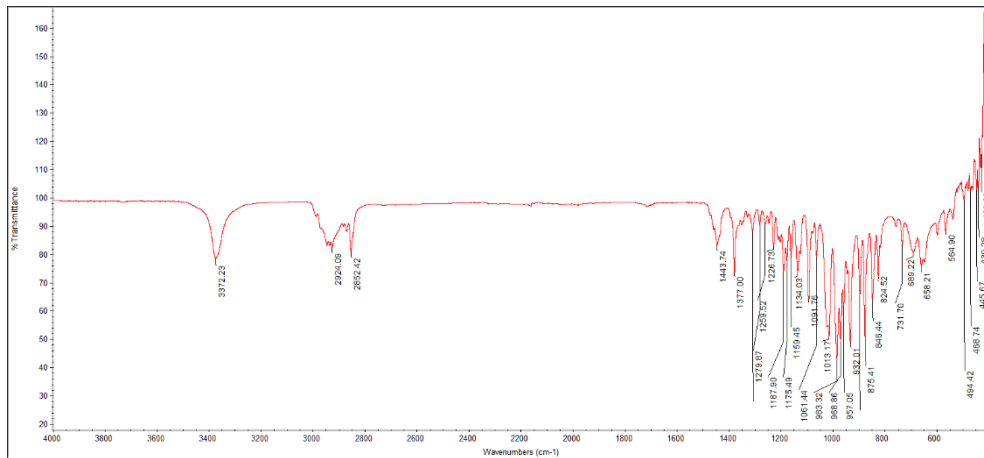
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin จะทำการวิเคราะห์ในรูปแบบของผง โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่แสดงถึงความเป็นเอกลักษณ์สาร คือ $-\text{CH}_3$ stretching (2913.76 cm^{-1}) C=C stretching (1697.44 cm^{-1}) C-N stretching (1277.21 cm^{-1}) และ $-\text{CH}=\text{CH}_2$ stretching (929.68 cm^{-1})



รูปที่ 17 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน

4.1.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA

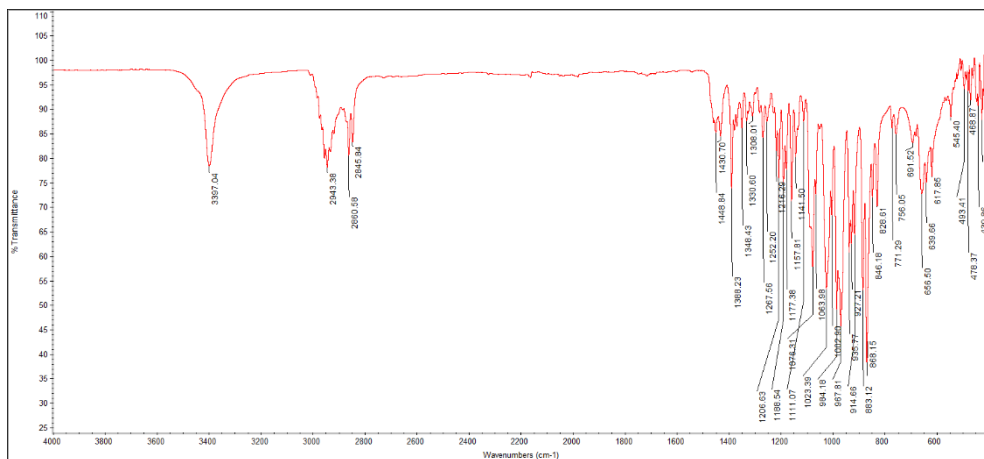
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA จะทำการวิเคราะห์ในรูปแบบของผง โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่แสดงถึงความเป็นเอกลักษณ์สาร คือ $-\text{OH}$ stretching (3372.23 cm^{-1}) C-O stretching (1091.76 cm^{-1}) และ พันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์ (O-O stretching ที่ความถี่ 824.52, 846.44 และ 875.41 cm^{-1})



รูปที่ 18 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน

4.1.3 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA

จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA จะทำการวิเคราะห์ในรูปแบบของผง โดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่ามีหมู่ฟังก์ชันที่แสดงถึงความเป็นเอกลักษณ์สาร คือ -OH stretching (3397.04 cm^{-1}) -CH_3 stretching (2845.84, 2860.58 และ 2943.38 cm^{-1}) และ -O- stretching (1063.98 ถึง 1206.63 cm^{-1})

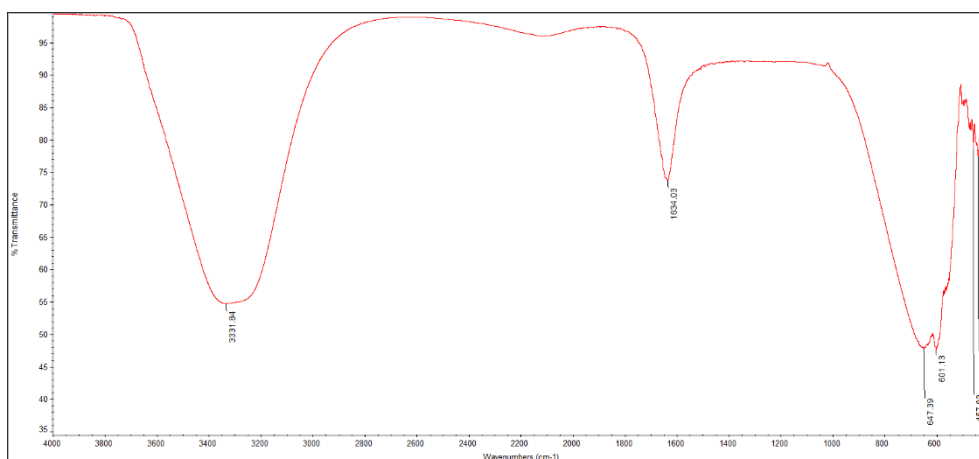


รูปที่ 19 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA แสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน

4.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA และ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme ในตัวทำละลาย DI water โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR)

4.2.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme ในตัวทำละลาย DI water

จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DI โดยทำการเตรียมตัวอย่างของยาต้านมาลาเรีย DHA กับ Hemin ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของยาต้านมาลาเรีย DHA คือ เกิดการแตกแยกของพันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์ (O-O stretching)

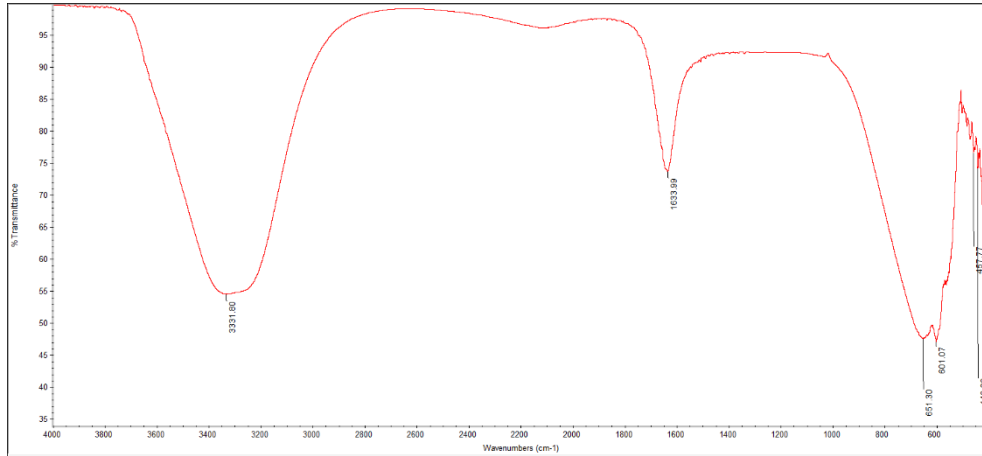


รูปที่ 20 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Heme (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI water

4.2.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme ในตัวทำละลาย DI water

จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DI โดยทำการเตรียมตัวอย่างของยาต้านมาลาเรีย Deoxy-DHA กับ Hemin ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลง

ของหมู่ฟังก์ชันของยาต้านมาลาเรีย Deoxy-DHA คือ เกิดการแตกแยกของหมู่ฟังก์ชันอีเทอร์ (-O- stretching)

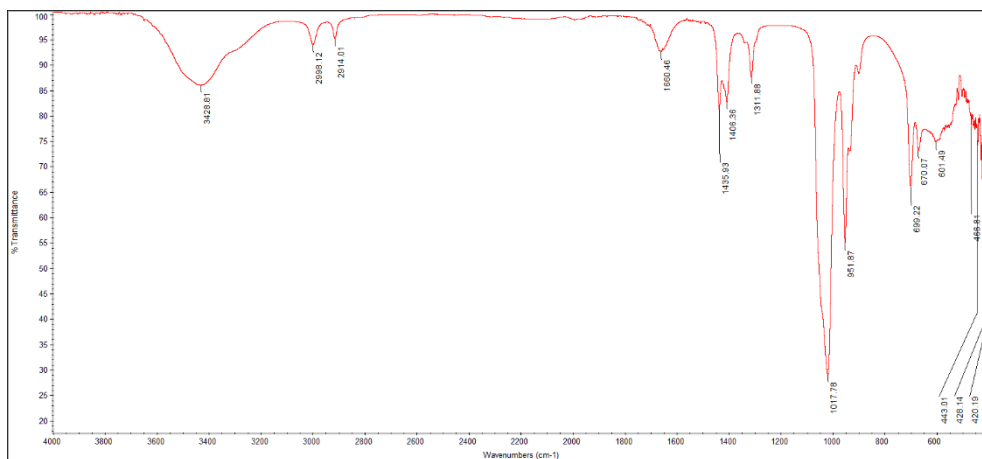


รูปที่ 21 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Heme (อัตราส่วน 1 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI water

4.3 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme, DHA และ Deoxy-DHA ในตัวทำละลาย DMSO โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานسفอรั่มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR)

4.3.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme ในตัวทำละลาย DMSO

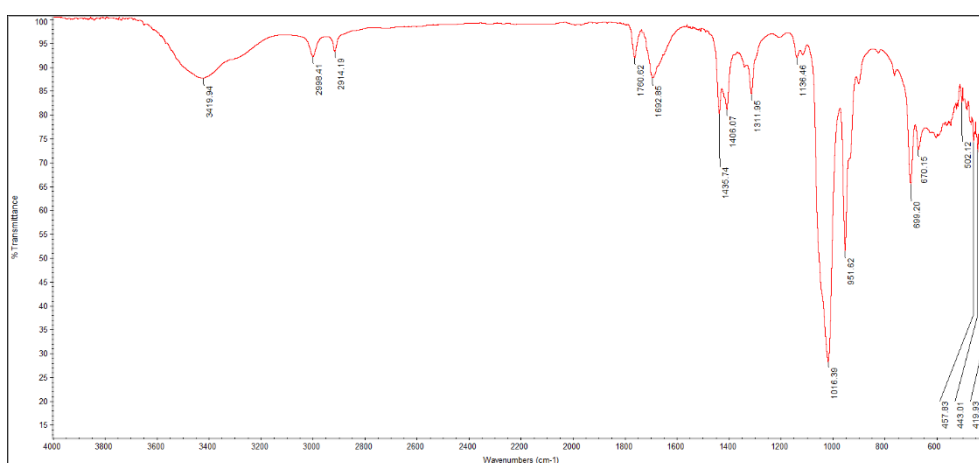
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DMSO นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานسفอรั่มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันเพิ่มเติม คือ -OH stretching (3428.81 cm^{-1}) และ C-O (sp^3) stretching (1017.78 cm^{-1})



รูปที่ 22 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin ในตัวทำละลาย DMSO

4.3.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme ที่มีส่วนผสมของวิตามินซีในตัวทำละลาย DMSO

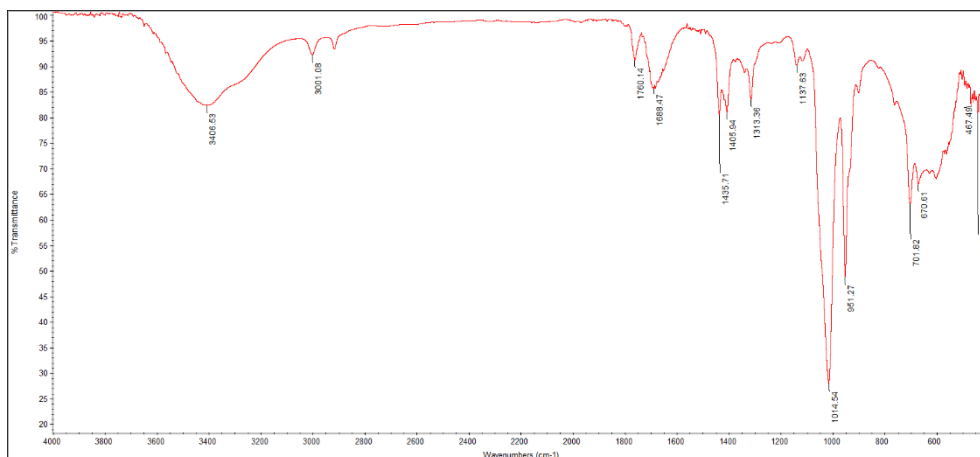
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DMSO โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันเพิ่มเติม คือ C=O stretching (1760.62 cm^{-1})



รูปที่ 23 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5) ในตัวทำละลาย DMSO

4.3.3 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme และวิตามินซี ในตัวทำละลาย DMSO

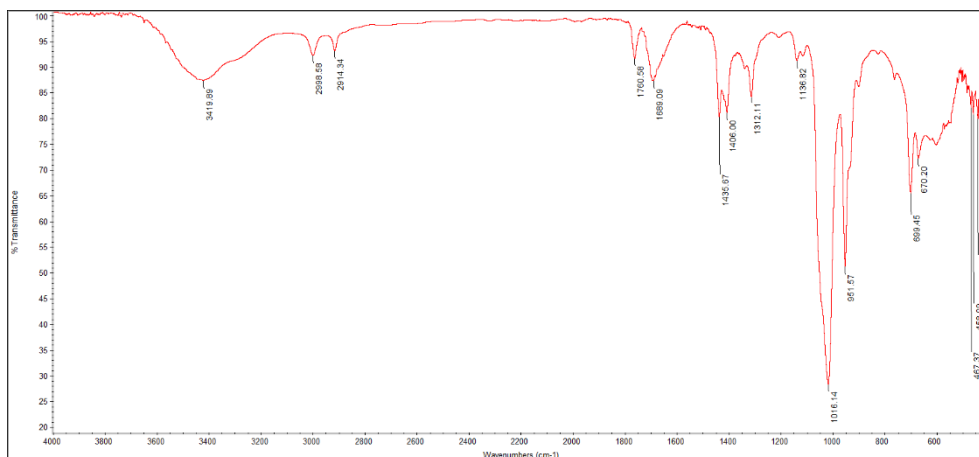
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DMSO โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ DHA, Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบหมู่ฟังก์ชัน คือ C=O stretching (1760.14 cm^{-1}) C=C stretching (1688.47 cm^{-1}) C-N stretching (1313.36 cm^{-1}) C-O (sp^3) stretching (1014.54 cm^{-1}) และ $-\text{CH}=\text{CH}_2$ stretching (951.27 cm^{-1})



รูปที่ 24 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DMSO

4.3.4 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme และ วิตามินซี ในตัวทำละลาย DMSO

จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DMSO โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ Deoxy-DHA, Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบหมู่ฟังก์ชัน คือ C=O stretching (1760.58 cm^{-1}) C=C stretching (1688.09 cm^{-1}) C-N stretching (1312.11 cm^{-1}) C-O (sp^3) stretching (1016.14 cm^{-1}) และ $-\text{CH}=\text{CH}_2$ stretching (951.57 cm^{-1})

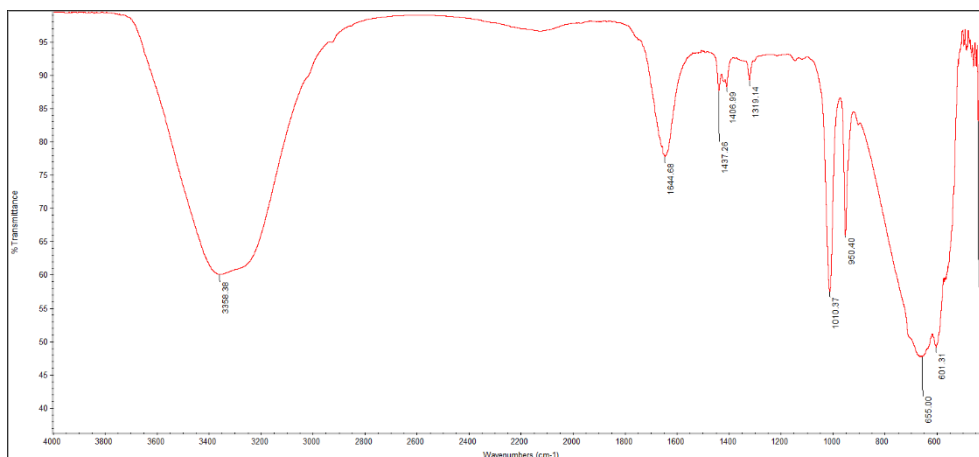


รูปที่ 25 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DMSO

4.4 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme, DHA และ Deoxy-DHA ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน โดยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (FTIR)

4.4.1 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme ที่มีส่วนผสมของวิตามินซีในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

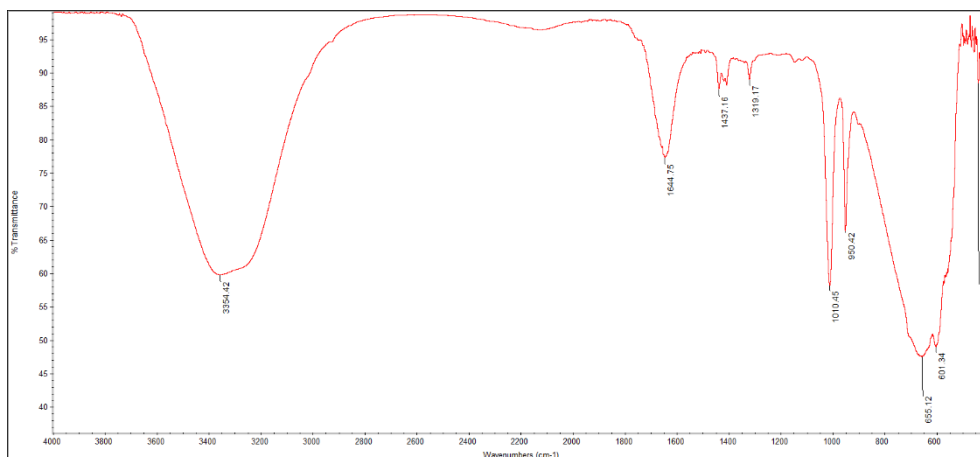
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบหมู่ฟังก์ชัน คือ -OH stretching (3358.38 cm^{-1}) C=C stretching (1644.68 cm^{-1}) C-N stretching (1319.14 cm^{-1}) C-O (sp^3) stretching (1010.37 cm^{-1}) และ -CH=CH₂ stretching (950.40 cm^{-1})



รูปที่ 26 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Hemin มีส่วนผสมของวิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

4.4.2 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme และ วิตามินซี ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

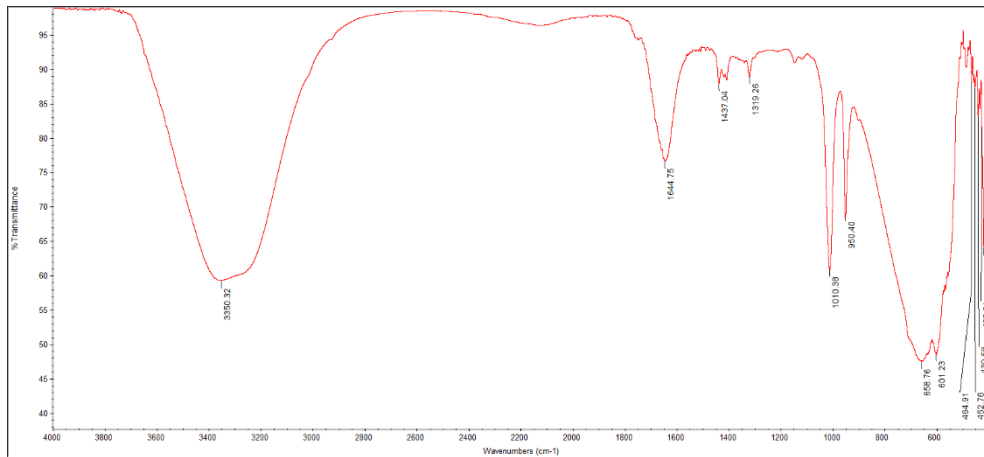
จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ DHA, Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบหมู่ฟังก์ชัน คือ -OH stretching (3354.42 cm^{-1}) $\text{C}=\text{C}$ stretching (1644.75 cm^{-1}) $\text{C}-\text{N}$ stretching (1319.17 cm^{-1}) $\text{C}-\text{O}$ (sp^3) stretching (1010.45 cm^{-1}) และ $\text{-CH}=\text{CH}_2$ stretching (950.42 cm^{-1})



รูปที่ 27 FTIR Spectra ของตัวอย่าง DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

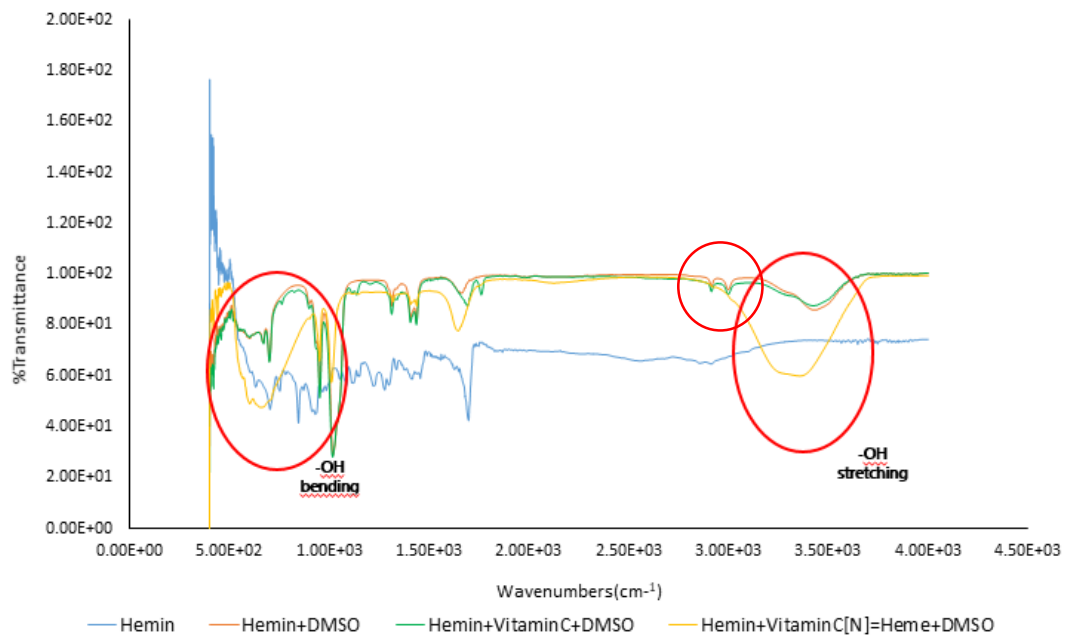
4.4.3 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Heme และ วิตามินซี ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

จากการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี จะทำการวิเคราะห์ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน โดยทำการเตรียมตัวอย่างของ Deoxy-DHA, Hemin กับ วิตามินซี ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1 นำไปวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} พบหมู่ฟังก์ชัน คือ -OH stretching (3350.32 cm^{-1}) C=C stretching (1644.75 cm^{-1}) C-N stretching (1319.26 cm^{-1}) $\text{C-O (sp}^3\text{) stretching}$ (1010.38 cm^{-1}) และ $\text{-CH=CH}_2\text{ stretching}$ (950.40 cm^{-1})



รูปที่ 28 FTIR Spectra ของตัวอย่าง Deoxy-DHA มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี (อัตราส่วน 1 ต่อ 5 ต่อ 1) ในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน

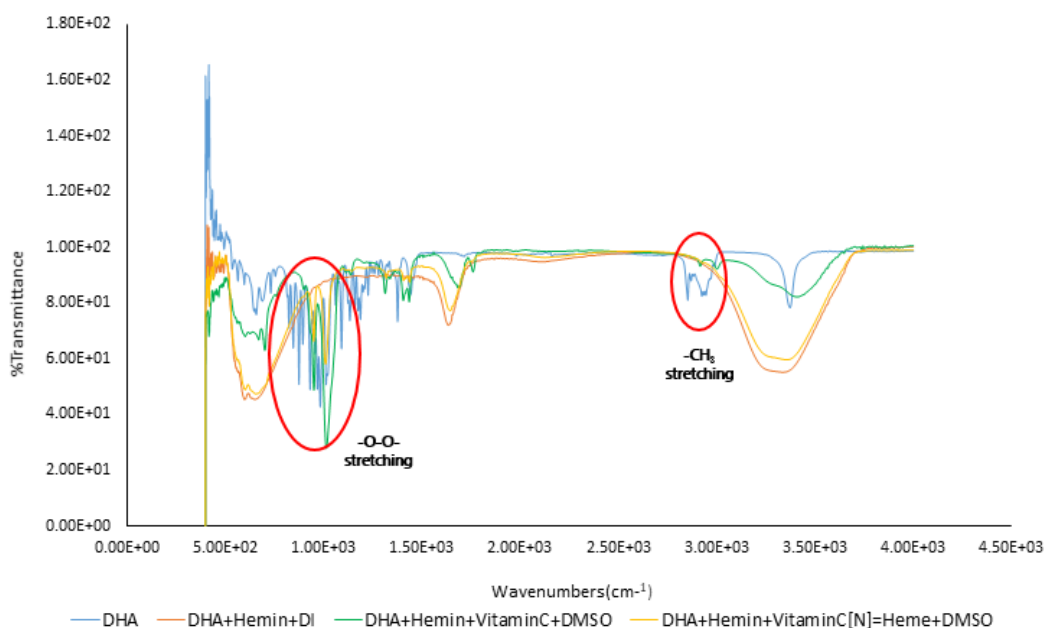
4.5 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Heme



รูปที่ 29 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง Hemin

การศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin โดยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปคโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} รายงานในรูปที่ 29 จะแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของ Hemin ได้อย่างชัดเจน ที่ความถี่ประมาณ 3400 cm^{-1} จะเกิด หมู่ฟังก์ชัน -OH stretching และที่ความถี่ประมาณ 3000 cm^{-1} เกิดการแตกแยกของหมู่เมทิล

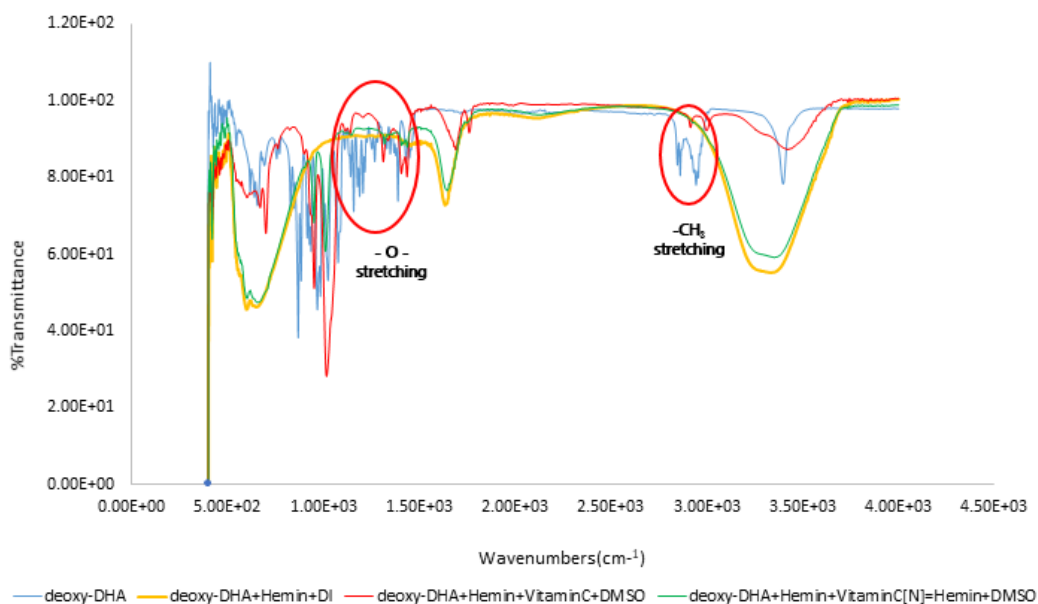
4.6 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA



รูปที่ 30 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง DHA

การศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ DHA โดยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm⁻¹ รายงานในรูปที่ 30 จะแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของ DHA ได้อย่างชัดเจน ที่ความถี่ประมาณ 3000 cm⁻¹ เกิดการแตกแยกของหมู่เมทิล และที่ความถี่ประมาณ 1000 cm⁻¹ จะเกิดการแตกแยกของพันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์

4.7 ผลการศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA



รูปที่ 31 FTIR Spectra รวมทั้งหมดของตัวอย่าง Deoxy-DHA

การศึกษาหาหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA โดยเครื่องเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ในช่วงความถี่ 600 ถึง 4000 cm^{-1} รายงานในรูปที่ 31 จะแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันของ Deoxy-DHA ได้อย่างชัดเจน ที่ความถี่ประมาณ 3000 cm^{-1} เกิดการแตกแยกของหมู่เมทิล และที่ความถี่ประมาณ 1500 cm^{-1} จะเกิดการแตกแยกของหมู่อีเทอร์

บทที่ 5

บทสรุป

5.1 สรุปผลการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของ Hemin, DHA และ Deoxy-DHA

การศึกษาจากทฤษฎีของยาต้านมาลาเรียกลุ่มอาร์ทิมีซินิน พบว่าโครงสร้างที่สำคัญของยาในกลุ่มอาร์ทิมีซินินในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย คือ พันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์ (endoperoxide bridge, $-O-O-$) เมื่อมี ferrous (Fe^{2+}) ไปเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของพันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์ ในโครงสร้างของอาร์ทิมีซินิน ทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่อะตอมของออกซิเจน ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรีย

จากการสังเกตในสเปกตรัม FTIR ของ DHA พบว่าเกิดการแตกแยกของพันธะเอ็นโดเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการสลายตัวของ DHA กับ Hemin ในตัวทำละลาย DI water, DMSO และ DI water ที่ปราศจากออกซิเจน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับทฤษฎีการสลายตัวของยาในกลุ่มอาร์ทิมีซินิน

จากสเปกตรัม FTIR ของ Deoxy-DHA พบว่าเกิดการแตกแยกของหมู่ฟังก์ชันอีเทอร์ ($-O-$) ในกระบวนการสลายตัวของ Deoxy-DHA กับ Hemin ในตัวทำละลาย DI water จากทฤษฎีการสลายตัวของยาในกลุ่มอาร์ทิมีซินิน จะเห็นได้ว่าภายในโครงสร้างของ Deoxy-DHA ไม่มีโครงสร้างที่สำคัญในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย จึงทำให้ไม่มีฤทธิ์ในการต้านมาลาเรียเท่ากับ DHA

และจากสเปกตรัมของ Hemin, DHA และ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี ทำให้เกิดหมู่ฟังก์ชันเพิ่มขึ้น คือ หมู่คาร์บอนิล ($C=O$)

ซึ่งผลการทดลองทั้งหมดนี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาของกลไกการทำงานของยาอาร์ทิมีซินินและอนุพันธ์

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาตัวทำละลายอื่นๆเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง
2. ศึกษาตัวเร่งปฏิกิริยาในการสลายตัวของยาในกลุ่มอาร์ทิมีซินิน เช่น วิตามินบี1
3. ศึกษาโดยใช้เทคนิคอื่นๆเพื่อช่วยยืนยันผลการทดลอง
4. ศึกษาต้านมาลาเรียกลุ่มอื่นๆเพื่อศึกษากระบวนการสลายตัวของยาต้านมาลาเรียกับฮีม

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- [1] สถานการณ์โรคมาลาเรียทั่วโลก สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<https://mgronline.com/around/detail>.
- [2] วารสารพบแพทย์ (POB PAD) สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.
- [3] มาลาเรียศรีเมืองใหม่ สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<https://mlrsmm.wordpress.com/ประวัติความเป็นมา>.
- [4] ผลงานวิจัยสู่สังคม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.มาลาเรีย โรคที่คนไทยควรทำความรู้จักให้ดี สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<http://www.sc.mahidol.ac.th/usr/?p=51>
- [5] สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร.วารสารเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 40 ฉบับที่ 3 ธันวาคม 2555. นันทวดี เนียมมัญญ์.โรคมาลาเรีย (Malaria).สาเหตุของโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <http://www.jmt-amtt.com/122.pdf>
- [6] พบแพทย์ (POB PAD).การแพร่กระจายเชื้อของโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.
- [7] โรคมาลาเรีย.อาการของโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<http://ssopadee.net/sso/document/malaria.html>
- [8] ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.การวินิจฉัยโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<http://www.med.cmu.ac.th/dept/parasite/public/malaria.html>
- [9] พบแพทย์ (POB PAD).การรักษาโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.
- [10] พบแพทย์ (POB PAD).ภาวะแทรกซ้อนของโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.
- [11] พบแพทย์ (POB PAD).การป้องกันโรคมาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก:
<https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- [12] สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร.วารสารเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 40 ฉบับที่ 3 ธันวาคม 2555. นันทวดี เนียมนุ้ย.โรคมาลาเรีย (Malaria).สถานการณ์ทั่วโลก สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <http://www.jmt-amtt.com/=122.pdf>
- [13] เทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล. Plasmodium Species สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: http://www.mt.mahidol.ac.th/e-learning/Parasite_underconstruction/malaria.html
- [14] พบแพทย์ (POBPAD).สีโมโกลบินสำคัญต่อสุขภาพ สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <https://www.pobpad.com/มาลาเรีย>.
- [15] เม็ดเลือดแดง (red blood cells) สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <http://fat.surin.rmuti.ac.th/teacher/songchai/bloodweb/red%20blood%20cell>.
- [16] กลไกการออกฤทธิ์ของยารักษามาลาเรีย สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <http://mutualselfcare.org/medicine/medicative/antimalarials>.
- [17] การศึกษาผลของการดีออกซาของกลูมาอาร์ที่มีซิโนนของจีน สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: http://digi.library.tu.ac.th/research_paper/122/O3chapter2.pdf
- [18] วารสารไทยโภชนศาสตร์ ปีที่ 3 ฉบับเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2549 (หน้า 1-13). ยากลุ่มอาร์ที่มีซิโนน สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: [http:// Thai Phaisawat/.pdf](http://ThaiPhaisawat/.pdf)
- [19] Organic Spectroscopy International. Artemisinin สืบค้นเมื่อวันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2562 ได้จาก: <https://orgspectroscopyint.blogspot.com/2015/09/artemisinin.html>
- [20] ที่ 3 อินฟารเรตสเปกโทรสโกปี สืบค้นเมื่อวันที่ 28 มกราคม 2562 ได้จาก: <http://pws.npru.ac.th/aranrat/data/files/ch3%20IR.pdf>
- [21] Moreau, S.: Perly, B.: Chachaty, C.: Deleuze, C.: A nuclear magnetic resonance study of the interactions of antimalarial drugs with Porphyrins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **1985**.107-116
- [22] Yang, Y.: Little, B.: Meshnick, S.: Alkylation of proteins by artemisinin: Effects of heme, pH, and drug structure. *Biochemical Pharmacology*. **1994**.569-573

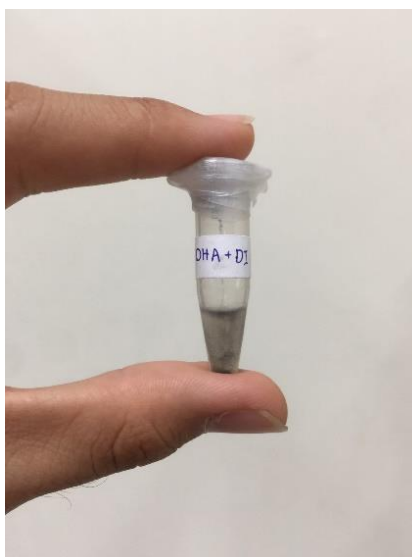
บรรณานุกรม (ต่อ)

- [23] Chen, Y.: Zheng, J.: Zhu, S.: Chen, H.: Evidence for hemin inducing the cleavage of peroxide bond of artemisinin (Qinghaosu): cyclic voltammetry and in situ FT IR spectroelectrochemical studies on the reduction mechanism of artemisinin in the presence of hemin. *Electrochimica Acta*. **1999**.2345–2350
- [24] Kapetanaki, S.: Varotsis, C.: Ferryl–oxo heme intermediate in the antimalarial mode of action of artemisinin. *FEBS Letters*. **2000**.238–241
- [25] Chen, H.: Chen, Y.: Zhu, S.: Bian, N.: Shan, F.: Li, Y.: Decomposition mechanism of an artemisinin–type compound via hemin–electrocatalysis. *Talanta*. **1999**.143–150
- [26] Messori, L.: Piccioli, F.: Eitler, B.: Bergonzi, M.: Bilia, A.: Vincieri, F.: Spectrophotometric and ESI–MS/HPLC studies reveal a common mechanism for the reaction of various artemisinin analogues with hemin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2003**.4055–4057
- [27] Bharati, A.: Sabat, S.: A spectrophotometric assay for quantification of artemisinin. *Talanta*. **2010**.1033–1037
- [28] Lawal, A.: Umar, R.: Wali, U.: Abubakar, M.: Faruk, U.: FTIR and UV–Visible spectrophotometric analyses of artemisinin and its derivatives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. **2012**.6–14
- [29] Asano, M.: Iwahashi, H.: Determination of the structures of radicals formed in the reaction of antimalarial drug artemisinin with ferrous ions. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2017**.740–747
- [30] Awofisayo, S.: Igwe, C.: Jonathan, N.: Francis, A.: Ojobor, P.: In–vitro Studies of Food Interaction with Dihydroartemisinin – Piperaquine Antimalarial Tablet. *Journal of Pharmaceutical Research International*. **2017**.1–13
- [31] Ni, Y.: Chen, C.: Jiang, Y.: Lu, Y.: Chen, W.: A simple and sensitive fluorescent assay for hemin detection based on artemisinin–thiamine. *Sensor and Actuators B: Chemical*. **2018**.198–203

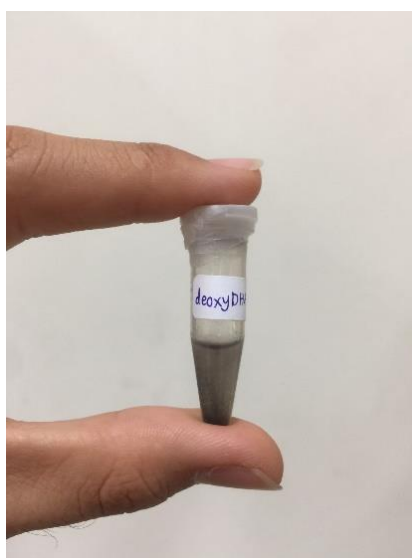
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

รูปภาพของตัวอย่างที่เตรียมในตัวทำละลาย DI Water



ภาพที่ 32 ตัวอย่างของ DHA



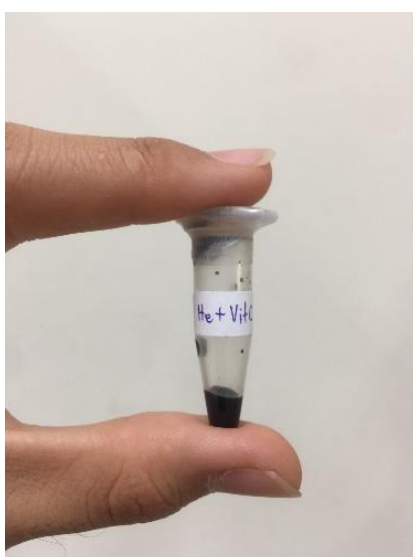
ภาพที่ 33 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA

ภาคผนวก ข

รูปภาพของตัวอย่างที่เตรียมในตัวทำละลาย DMSO

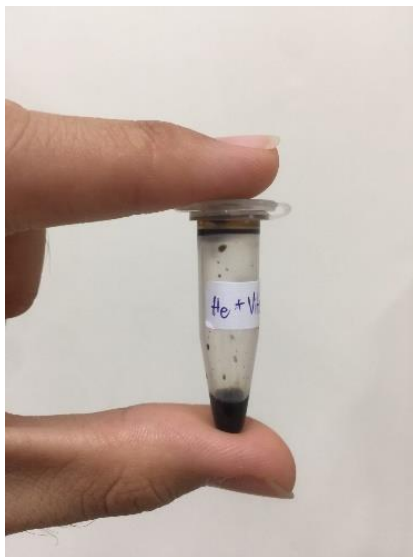


ภาพที่ 34 ตัวอย่างของ Hemin



ภาพที่ 35 ตัวอย่างของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี

(อัตราส่วน 1 : 5)



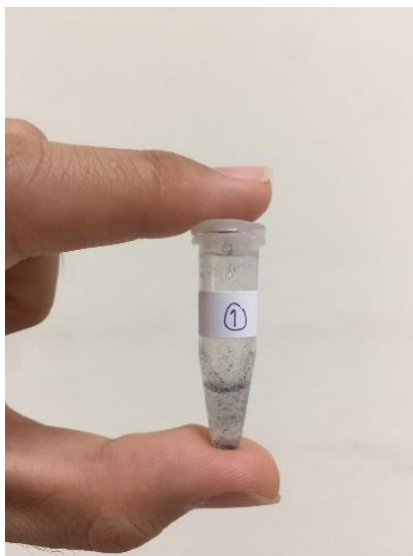
ภาพที่ 36 ตัวอย่างของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินบี
(อัตราส่วน 1 : 5 : 1)



ภาพที่ 37 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินบี
(อัตราส่วน 1 : 5 : 1)

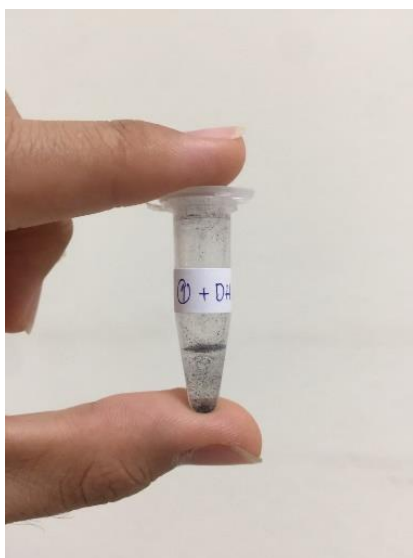
ภาคผนวก ค

รูปภาพของตัวอย่างที่เตรียมในตัวทำละลาย DI Water ที่ปราศจากออกซิเจน



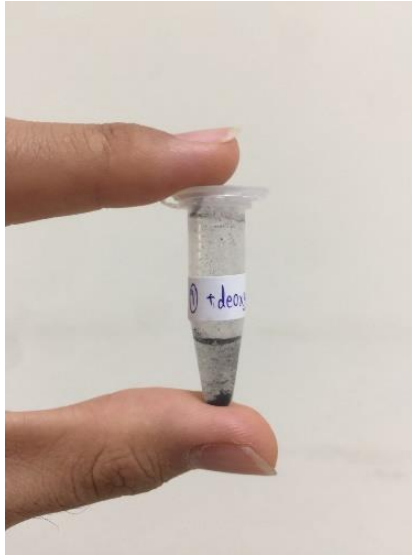
ภาพที่ 38 ตัวอย่างของ Hemin ที่มีส่วนผสมของวิตามินซี

(อัตราส่วน 1 : 5)



ภาพที่ 39 ตัวอย่างของ DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี

(อัตราส่วน 1 : 5 : 1)

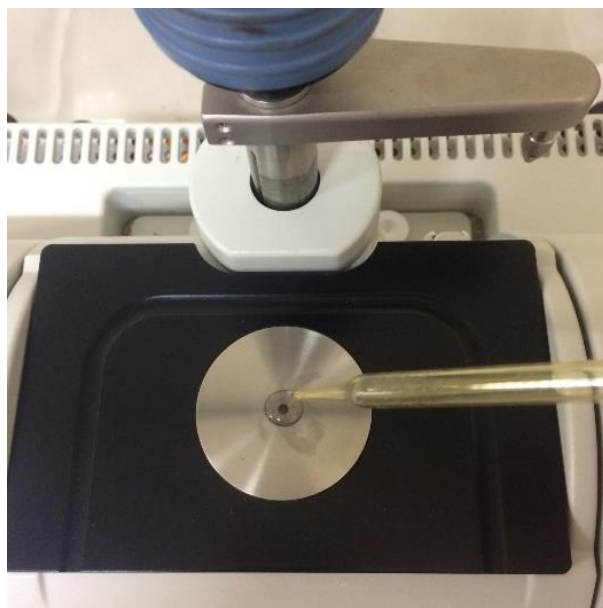


ภาพที่ 40 ตัวอย่างของ Deoxy-DHA ที่มีส่วนผสมของ Hemin และ วิตามินซี

(อัตราส่วน 1 : 5 : 1)

ภาคผนวก ง

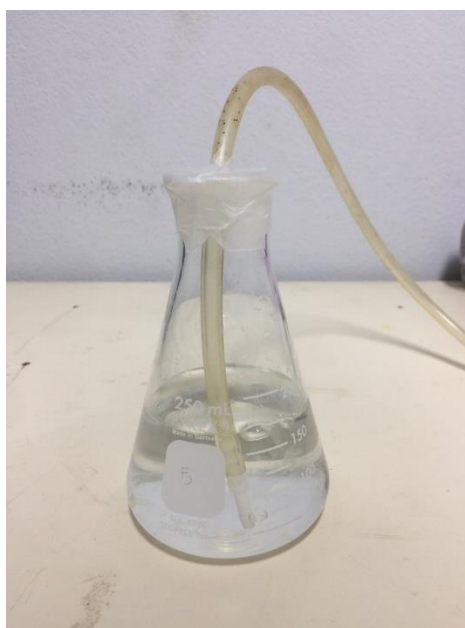
รูปภาพของเครื่องมือวิเคราะห์และวิธีการวิเคราะห์



ภาพที่ 41 การวิเคราะห์ตัวอย่างในรูปแบบของละลาย



ภาพที่ 42 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี
(FT-IR Spectrometer), รุ่น Nicolet 6700



ภาพที่ 43 การ Flow Nitrogen gas เป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที

ประวัติผู้ศึกษาริจัย



ชื่อ – นามสกุล	นางสาวชมพูนุท กลีชีวิน
วันเดือนปีที่เกิด	31 กรกฎาคม 2539
ประวัติการศึกษา	ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนบ้านขอวิทยา อำเภอมืองปาน จังหวัดลำปาง ปีที่จบ 2555 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวชิรวิทย์ เชียงใหม่อำเภอมือง จังหวัดเชียงใหม่ ปีที่จบ 2558
ที่อยู่ปัจจุบัน	161 หมู่ที่ 9 บ้านขอเหนือ ตำบลบ้านขอ อำเภอมืองปาน จังหวัดลำปาง 52240
เบอร์ติดต่อ	094-7036853
อีเมลล์	Chompunoot2010@hotmail.com