การศึกษาการต้านยาไพริเมธามีน ของ พลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม

นายสุรสิทธิ์ พลอยตนัย

007597

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2525

ISBN 974-561-399-1

i 18062131

A Study of *Plasmodium falciparum* Resistance to Pyrimethamine

Mr. Surasit Ploydanai

A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Sciences

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการต้านยาไพริเมธามีน ของพลาส์โมเดียม ฟาลซีปารัม
โดย	นายสุรสิทธิ์ พลอยดนัย
ภาควิชา	ชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดี บัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สรรเสริญ ทรัพย์โตษก)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สุดศรี ไทยทอง)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงธาดา ลีบหลินวงศ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ทิพยทัศน์)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการต้านยาไพริเมธามีนของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม

ชื่อนิสิต นายสุรสิทธิ์ พลอยดนัย

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัณห์ พณิชยกุล

ภาควิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2524

ห้องสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษากลไกของการต้านไพริเมธามีนของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม โดยใช้พลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท K_1 ต้านยาสูงสุด 10^{-5} โมลาร์ ไอโซเลท CC ต้านยาสูงสุด 10^{-8} โมลาร์ และไอโซเลท G_{112} ต้านยาสูงสุด 10^{-10} โมลาร์ พบว่าความเข้มข้นของไพริเมธามีนจะมีผลกระทบต่อระยะการเจริญของพลาส์โมเดียมต่างกันคือ ระยะวงแหวนและระยะโทรโฟซอยท์ของไอโซเลท K_1 จะมีความไวต่อไพริเมธามีนมากกว่าระยะไซซอนท์ เมื่อใช้ยาที่มีความเข้มข้นซึ่งมีผลกระทบต่อการเจริญ (10^{-4} โมลาร์) ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (จำนวนพาราไซต์ในเลือด 5 เปอร์เซ็นต์) การนำเข้าของ ^{14}C-pyrimethamine ของเม็ดเลือดแดงติดเชื้อพลาส์โมเดียมในระยะการเจริญซึ่งเป็นโทรโฟซอยท์ระยะปลายจะมีค่าสูงสุด เมื่ออินคิวเบตพลาส์โมเดียม (จำนวนพาราไซต์ในเลือด 50 เปอร์เซ็นต์ และระยะการเจริญโทรโฟซอยท์ต่อไซซอนท์ 3 : 1) กับ ^{14}C-pyrimethamine (10^{-5} โมลาร์) เป็นเวลา 30 นาที พบว่าไอโซเลท G_{112} ให้ค่าการนำเข้าของ ^{14}C-pyrimethamine สูงกว่าไอโซเลท K_1 ประมาณ 3 เท่า

แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ในพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 เท่ากับ 0.22 ไมโครโมล/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน (0.07 - 0.43) ไอโซเลท CC เท่ากับ 0.027 ไมโครโมล/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน (0.02 - 0.032) ไอโซเลท G_{112} เท่ากับ 0.008 ไมโครโมล/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน (0.006 - 0.009) แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเมื่อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 เจริญจากระยะวงแหวนไปจน

ถึงระยะไซซ่อนท้ และการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์แอคติวิตีนี้ไม่ขึ้นกับปริมาณโปรตีนในแต่ละระยะการเจริญ แอฟฟินิตีต่อไดไฮโดรโฟเลตจะใกล้เคียงกันทุกระยะการเจริญ (K_m ประมาณ 7.2 - 8.0 ไมโครโมลาร์) แอฟฟินิตีต่อไพริเมธามีน (K_i เท่ากับ 22.5 นาโนโมลาร์) จะต่ำกว่าแอฟฟินิตีต่อเมโธเทรเซท (K_i เท่ากับ 4.4 นาโนโมลาร์) น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสในพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 เท่ากับ 205,000 ดาลตัน แต่น้ำหนักเอนไซม์นี้ในตับหนูเท่ากับ 21,500 ดาลตัน

Thesis Title A Study of Plasmodium falciparum Resistance to Pyrimethamine

Name Mr. Surasit Ploydanai

Department Biochemistry

Thesis advisor Assistance professor Sanha Panichajakul

Academic Year 1981

Abstract

In our research, we have studied the maximum resistance to pyrimethamine of Plasmodium falciparum isolate K_1 resists to 10^{-5} molar, isolate CC and G_{112} resists to 10^{-8} and 10^{-10} molar respectively.. It is found that the effect of growth by the pyrimethamine will depend on stage of growth, ring form and trophozoite of isolate K_1 is more sensitive than schizont to pyrimethamine (10^{-4} molar). Incorporation level of ^{14}C-pyrimethamine (10^{-4} molar) in growth stage of late trophozoite is highest in condition of continuous culture (5% parasitaemia). The uptake of ^{14}C-pyrimethamine (10^{-5} molar) in isolate K_1 when incubate with Plasmodium (50% parasitaemia) for 30 minutes is about three time lower than isolate G_{112} at the same stage condition (The ratio of trophozoite and schizont is 3 : 1).

Specific activity of dihydrofolate reductase in Plasmodium falciparum isolate K_1 is 0.22 umol min^{-1}/mg protein (0.007 - 0.43), siolate CC is 0.027 umol min^{-1}/mg protein (0.02 - 0.032) and isolate G_{112} is 0.008 umol min^{-1}/mg protein (0.006 - 0.009). The specific

activity of this enzyme in Plasmodium falciparum isolate K_1 will be increased from ring from and trophozoite to schizont stage and does not depend on protein concentration in each stage of growth. Affinity to dihydrofolate in various stage of life cycle is almost the same with K_m of 7.2 - 8.0 micromolar. The affinity to pyrimethamine (K_i = 42.5 nanomolar) is less than the affinity to methotrexate (K_i = 4.4 nanomolar). The molecular weight of dihydrofolate reductase in Plasmodium falciparum isolate K_1 is 205,000 dalton, but in rat liver is found only 21,500 dalton.

activity of this enzyme in Plasmodium falciparum isolate K_1 will be increased from ring from and trophozoite to schizont stage and does not depend on protein concentration in each stage of growth. Affinity to dihydrofolate in various stage of life cycle is almost the same with K_m of 7.2 - 8.0 micromolar. The affinity to pyrimethamine (K_i = 42.5 nanomolar) is less than the affinity to methotrexate (K_i = 4.4 nanomolar). The molecular weight of dihydrofolate reductase in Plasmodium falciparum isolate K_1 is 205,000 dalton, but in rat liver is found only 21,500 dalton.

คำย่อ

ACD	=	acid citrate dextrose
DHF, FH_2	=	dihydrofolate
DNA	=	deoxyribonucleic acid
dTMP	=	deoxyribosylthymine monophosphase
dUMT	=	deoxyuridine monophosphate
FTHFS	=	formyltetrahydrofolate synthetase
GPI	=	glucose phosphate isomerase
HEPES	=	N-2-Hydroxyethyl piperazine-N'-2-ethane-sulfonic acid
MTHED	=	methylene tetrahydrofolate dehydrogenase
NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form
nm	=	nanometre
RNA	=	ribonucleic acid
SHMT	=	serine hydroxymethyl transferase
THF, FH_4	=	tetrahydrofolate

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ฌ

รายการตารางประกอบ ..... ฐ

รายการรูปประกอบ ..... ฑ

คำย่อ ..... ด

บทที่

1 บทนำ 1

2 วัสดุเคมีภัณฑ์และวิธีทดลอง

2.1 วัสดุเคมีภัณฑ์และเครื่องมือ 13

2.2 เชื้อพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม 17

2.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม 18

2.4 การเตรียมเม็ดเลือดแดงสำหรับเลี้ยงพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม 18

2.5 การเตรียมซีรัม 19

2.6 การเตรียมและย้อมสีเจียมซ่า 19

2.7 การเพาะเลี้ยง พลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม แบบต่อเนื่อง 21

2.8 การเปลี่ยนชนิดเม็ดเลือดแดง เพื่อการเพาะเลี้ยงพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมแบบต่อเนื่อง 22

2.9 การยืนโครไนเซชันของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม 22

บทที่ หน้า

2.10 การทดลอบความไวของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมต่อไพริเมธามีนและเมโธเทรเซท 23

2.11 วิธีนับเม็ดเลือดแดงและจำนวนพลาส์โมเดียม 24

2.12 การนำ ^{14}C-pyrimethamine เข้าสู่เม็ดเลือดแดงซึ่งติดเชื้อและไม่ติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง 25

2.13 วิธีศึกษาการนำไพริเมธามีนเข้าสู่พลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 25

2.14 การสกัดเอนไซม์จากพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 27

2.15 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส 28

2.16 การเตรียมเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสจากตับหนู 29

2.17 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry 30

2.18 การหาน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสในพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 31

2.19 การหาค่า K_m ต่อสับเสตรทไดไฮโดรโฟเลต และค่า K_i ของไพริเมธามีนและเมโธเทรเซทต่อเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส 33

2.20 การหาค่า 50% Inhibition ของไพริเมธามีนต่อเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส 33

3 ผลการทดลอง

3.1 การเพาะเลี้ยงพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมในเม็ดเลือดแดงกรุปบี 34

3.2 การยืนโครไนเซชัน พลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 36

3.3 ความไวของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมต่อไพริเมธามีน 36

3.4 ความไวต่อไพริเมธามีนของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมที่ระยะการเจริญต่าง ๆ กัน 38

บทที่ หน้า

3.5 ความไวของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมต่อไพริเมธามีนและเมโธเทรเซท 42

3.6 การนำ ^{14}C-pyrimethamine เข้าสู่เม็ดเลือดแดงซึ่งติดเชื้อและไม่ติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง 48

3.7 การนำ ^{14}C-pyrimethamine เข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อพลาส์โมเดียม ที่ระยะการเจริญต่าง ๆ 50

3.8 การส่ง ^{14}C-pyrimethamine ออกจากเม็ดเลือดแดงซึ่งติดเชื้อและไม่ติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 50

3.9 การนำ ^{14}C-pyrimethamine เข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมหลังจากการทำ Ficoll fractionation 52

3.10 กราฟมาตรฐานของอัลบูมินที่ละลายในสารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์และในสารละลาย 1% ไตรตอนเอกซ์ - 100 52

3.11 คุณสมบัติของไดไฮโดรโฟเลต 55

3.12 แอคติวิตีของเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสในพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 55

3.13 แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสในระยะการเจริญต่าง ๆ ของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 61

3.14 ปริมาณของโปรตีนในแต่ละระยะการเจริญของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 61

3.15 K_m ต่อสับสเตรทไดไฮโดรโฟเลต ในแต่ละระยะการเจริญของพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 67

3.16 น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส 67

บทที่ หน้า

3.17 K_i ต่อไพริเมธามีนและเมโธเทรเซทของเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสไอโซเลท K_I และในตับหนู 71

3.18 ค่า 50% Inhibition ของไพริเมธามีนต่อเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส 71

4 วิจารณ์ผลการทดลองและสรุปผลการวิจัย 76

เอกสารอ้างอิง 90

ประวัติผู้เขียน 97

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

ตารางที่ หน้า

1 แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ใน P.falciparum ไอโซเลท K_1, CC และ G_{112} ซึ่งมีความไวต่อยาไพริเมธามีนต่างกัน 60

2 แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ ที่ระยะการเจริญต่าง ๆ ของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 62

3 แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ ที่ระยะการเจริญต่าง ๆ ของ P.falciparum ไอโซเลท CC 63

4 แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ที่ระยะการเจริญต่าง ๆ ของ P.falciparum ไอโซเลท G_{112} 64

5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนและแอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ ที่แตกต่างกันในแต่ละระยะการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 66

6 แสดงค่า Specific activity และ K_m ของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ ซึ่งแยกจาก P.falciparum ไอโซเลท K_1 ที่ระยะการเจริญต่าง ๆ 68

7 เปรียบเทียบค่าคงที่ทางจลศาสตร์และคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส์ใน P.falciparum ไอโซเลท K_1 และตับหนู 75

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของเชื้อพลาสโมเดียม (มาลาเรียของคน)	2
2	การสังเคราะห์โคเอนไซม์โฟเลตของ เซลพลาสโมเดียมและเซลเจ้าบ้าน	7
3	เมตาบอลิสมของโฟเลตในพลาสโมเดียม	9
4	ปฏิกิริยาของเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสและโครงสร้างของไพริเมธามีน	11
5	รูปแบบการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640ที่มีซีรัมและมีเม็ดเลือดแดงกรุป AB และ B	35
6	รูปแบบการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์	37
7	ผลกระทบของไพริเมธามีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์	39
8	ผลกระทบของไพริเมธามีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท CC เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์	40
9	ผลกระทบของ ไพริเมธามีน ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท G_{112} เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์	41
10	รูปแบบและระยะการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 ในช่วงเวลาต่าง ๆ เมื่อทำซินโครไนเซชัน 2 ครั้ง แล้วนำมาทดสอบความไวต่อไพริเมธามีนที่ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์	43
11	รูปแบบและระยะการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 ในช่วงเวลาต่าง ๆ หลังจากทำซินโครไนเซชัน 2 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 24 ชั่วโมง นำมาทดสอบความไวต่อไพริเมธามีนที่ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์	44

รูปที่		หน้า
12	รูปแบบและระยะการเจริญของ P.falciparum ไอโซเลท K_1 ในช่วงเวลาต่าง ๆ หลังจากทำซินโครไนเซชัน 2 ครั้ง แล้วเพาะเลี้ยงต่อไปอีก 36 ชั่วโมง นำมาทดสอบความไวต่อไพริเมธามีนที่ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์	45
13	รูปแบบการเจริญของ P.falciparum เมื่อทดสอบกับไพริเมธามีนและเมโธเทรเซท ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	46
14	รูปร่างผิดปกติของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 เมื่อทดสอบกับไพริเมธามีนและเมโธเทรเซทที่ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ และ 10^{-9} โมลาร์ ตามลำดับ	47
15	เปรียบเทียบการนำเข้าของ ^{14}C-pyrimethamine ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ ในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ (5% parasitaemia) และไม่ติดเชื้อ P.falciparum ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ	49
16	กราฟรูปแท่งแสดงความแตกต่างของการนำ ^{14}C-pyrimethamine ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ เข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ P.falciparum ไอโซเลท K_1 และ G_{112} ตามลำดับเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์	51
17	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ ^{14}C-pyrimethamine ในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ P.falciparum เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์ที่มี ^{14}C-pyrimethamine ความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ แล้วล้าง 3 ครั้ง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์ แล้วนับปริมาณกัมมันตรังสีที่เหลืออยู่ในเซล หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 12 และ 24 ชั่วโมง	53
18	เปรียบเทียบการนำเข้าของ ^{14}C-pyrimethamine ความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ ในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ P.falciparum	54

รูปที่		หน้า
19	เปรียบเทียบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ ของอัลบูมินที่ความเข้มข้น 6 mg. ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร	56
20	เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของอัลบูมิน โดยวิธีของ Lowry	57
21	Absorbance spectra ของสารละลายไดไฮโดรโฟเลต ในสารละลาย 0.01 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ 0.1 โมลาร์ โปรแตสเซียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ pH 7.0	58
22	ภาพ แสดงระยะต่าง ๆ ของการเจริญของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 เมื่อย้อมด้วยสีเจียมซา	59
23	ภาพแสดงพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท K_1 หลังจากทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.15% แซโปนิน	59
24	แอคติวิตีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ต่อความเข้มข้นของโปรตีนในระยะการเจริญต่าง ๆ ของ P.falciparum ไอโซเลท K_1	65
25	รูปแบบของโปรตีนมาตรฐานและเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ที่เก็บได้จากคอลัมน์เซฟาเดกซ์ G-200	69
26	ความสัมพันธ์ระหว่าง K_{av} ของโปรตีนมาตรฐานและ log ของน้ำหนักโมเลกุล	70
27	กราฟแสดงการหาค่า K_i ของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ใน P.falciparum ไอโซเลท K_1 ต่อไพริเมธามีนและเมโธเทรเซท	72
28	กราฟแสดงการหาค่า K_i ของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ในตับหนู ต่อไพริเมธามีนและเมโธเทรเซท	73
29	กราฟแสดงการหาค่า 50% Inhibition ของไพริเมธามีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส	74