

บทนำ

Adenosine triphosphate (ATP) นอกจากจะเป็นที่รู้จักกันในนามแหล่งให้พลังงานสำหรับร่างกายแล้ว ปัจจุบันยังพบว่า ATP ยังทำหน้าที่เป็น neurotransmitter ได้ด้วย ซึ่งสมมุติฐานนี้เสนอโดย Burnstock ในปี 1972 ต่อมาการศึกษาพบว่าสารกลุ่ม purines ทั้ง adenosine, adenosine diphosphate (ADP) และ ATP รวมถึง กลุ่ม pyrimidine เช่น uridine diphosphate (UDP) และ uridine triphosphate (UTP) ในส่วนที่อยู่ภายนอกเซลล์พบว่ามีบทบาทสำคัญในการเป็นสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการทำงานในระบบต่างๆของร่างกายมากมาย เช่น ATP มีบทบาทในการควบคุม vascular tone และ platelet aggregation จึงเรียก รีเซปเตอร์ของสารกลุ่มนี้ว่า purine receptor ต่อมาในปี 1978 มีการแบ่งกลุ่ม receptor เหล่านี้เป็น 2 กลุ่มตามตัวกระตุ้น คือ P1 (adenosine) และ P2 (ATP) ⁽¹⁻⁴⁾

P1 receptors

P1 receptors ถูกกระตุ้นได้ด้วย adenosine ลักษณะเป็น G-protein coupled receptors ซึ่งแบ่งกลุ่มย่อยได้เป็น A₁, A_{2A}, A_{2B} และ A₃

P2 receptors

P2 receptors หรืออาจเรียกว่า purinergic receptors เป็น cell surface receptors ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยสารกลุ่มนิวคลีโอไทด์ในร่างกาย เช่น อะดีโนซีน-5'- ไตรฟอสเฟต (adenosine 5'-triphosphate, ATP) หรือ อะดีโนซีน-5'-ไดฟอสเฟต (adenosine 5'-diphosphate, ADP) ทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์⁽¹⁾ เมื่อปี 1985 มีการแบ่งกลุ่มของ P2 receptor ที่ค้นพบได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆตามลักษณะโครงสร้างและการส่งสัญญาณตอบสนองที่เกิดขึ้นเมื่อมีการกระตุ้น เรียกชื่อว่า P2X และ P2Y receptors ⁽⁴⁻⁶⁾

P2X receptors

ลักษณะโครงสร้างของรีเซปเตอร์กลุ่มนี้จะเป็น ligand-gated ion channels นั่นคือเมื่อมีการกระตุ้นจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง permeability ซึ่งมีผลในการควบคุมระดับของไอออนในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แคลเซียม โซเดียมและโพแทสเซียมไอออน เราสามารถแบ่งชนิดของ P2X receptors นี้เป็นกลุ่มย่อยได้อีก 7 ชนิดคือ P2X₁, P2X₂, P2X₃, P2X₄, P2X₅, P2X₆ และ P2X₇ ^(5,6) โดยโครงสร้างทั่วไปของรีเซปเตอร์กลุ่มนี้จะมีลักษณะเดียวกับ ion channel receptors อื่น เช่น nicotinic receptor เป็นต้น ลักษณะรีเซปเตอร์ประกอบไปด้วยโพลิโอมเมอริกโปรตีน มากกว่า 1 subunit ต่อรีเซปเตอร์จัดวางในลักษณะเป็น 2 transmembrane domains แยกกันโดยส่วนปลายนอกเซลล์จะมีปลายเป็น N-glycosylated loop segment และในส่วนภายในเซลล์จะเป็นปลาย N- และ C-termini ^(6,7)

P2X receptors พบกระจายทั่วไปในระบบประสาทส่วนกลาง และส่วนปลาย โดยรีเซปเตอร์นี้มีบทบาทสำคัญหลายอย่าง เช่น เกี่ยวข้องกับการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ, ควบคุมการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด รวมถึงระบบการหายใจ เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน การเกิดการอักเสบและการตายของเซลล์ นอกจากนี้รีเซปเตอร์ชนิดนี้ยังอาจเกี่ยวข้องกับการควบคุมการปลดปล่อยสารสื่อประสาทอื่นๆในร่างกายได้อีกด้วย ⁽⁷⁻⁹⁾

P2Y receptors

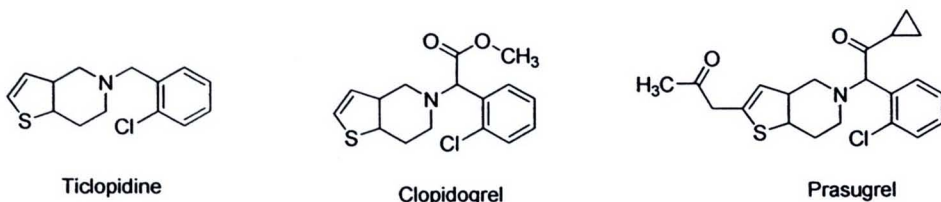
P2Y receptors นี้จะมีโครงสร้างแตกต่างจากกลุ่ม P2X receptors ที่กล่าวมาด้านบน นั่นคือ โครงสร้างของรีเซปเตอร์ กลุ่มนี้จะจัดอยู่ในกลุ่ม G protein-coupled receptors ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกับพวก muscarinic receptor โครงสร้างมีลักษณะ

เป็น hydrophobic 7 transmembrane receptor ซึ่งมี 3 extracellular loops และ 3 intracellular loops ปลายด้านนอก เซลล์จะเป็น N-terminus ส่วนด้านในเซลล์จะเป็น C-terminus ภายในเซลล์มีการเกาะกับ G-proteins ที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลให้เกิดผลที่ต่างกันเมื่อมีการกระตุ้นรีเซปเตอร์ เราสามารถแบ่งรีเซปเตอร์ชนิดนี้เป็นกลุ่มย่อยจากลักษณะ G-protein, ผลจากการกระตุ้น และ endogenous nucleotide ที่สามารถกระตุ้นรีเซปเตอร์ ได้เป็น 8 ชนิดได้แก่ P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ และ P2Y₁₄ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่ม P2Y receptors, G-protein couple และ การกระจายในร่างกาย ⁽¹¹⁻¹²⁾

Receptor Subtype	Tissue distribution	G protein coupling	Singnal tranduction
P2Y ₁	epithelial and endothelial cells, platelets, immune cells, osteoblasts	G _{q/11}	กระตุ้นการทำงานของ PLC, เพิ่มระดับ IP ₃ และ Ca ²⁺
P2Y ₂	immune cells, epithelial and endothelial cells, kidney tubules, osteoblasts	G _{q/11}	กระตุ้นการทำงานของ PLC, เพิ่มระดับ IP ₃ และ Ca ²⁺
P2Y ₄	endothelial cells	G _{q/11}	กระตุ้นการทำงานของ PLC, เพิ่มระดับ IP ₃ และ Ca ²⁺
P2Y ₆	some epithelial cells, placenta, T cells, thymus	G _{q/11}	กระตุ้นการทำงานของ PLC, เพิ่มระดับ IP ₃ และ Ca ²⁺
P2Y ₁₁	spleen, intestine, granulocytes, cardiomyocytes	G _{q/11} , G _s	กระตุ้นการทำงานของ PLC, เพิ่มระดับ IP ₃ และ Ca ²⁺ กระตุ้นการทำงานของ adenylate cyclase, เพิ่มระดับ cAMP
P2Y ₁₂	platelets, glial cells	G _{i/o}	ยับยั้งการทำงานของ adenylate cyclase
P2Y ₁₃	spleen, brain, lymphnodes, bone marrow	G _{i/o}	ยับยั้งการทำงานของ adenylate cyclase
P2Y ₁₄	placenta, adipose tissue, stomach, intestine	G _{i/o}	ยับยั้งการทำงานของ adenylate cyclase

เนื่องจากทั้ง P2X และ P2Y receptors มีบทบาทมากมายเกี่ยวกับการทำงานของร่างกาย ปัจจุบันจึงมีความสนใจศึกษาหาสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นและยับยั้งรีเซปเตอร์ดังกล่าวนี้เพื่อพัฒนาเป็นยาต่อไป ยาที่เกี่ยวข้องกับรีเซปเตอร์กลุ่มที่เป็นที่รู้จักกันทั่วไปได้แก่ ticlopidine แล clopidogrel (รูป 1)



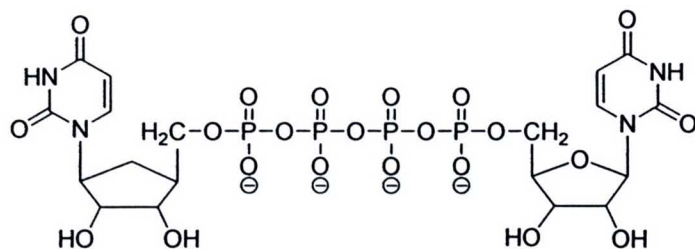
รูป 1 โครงสร้างทางเคมีของ ticlopidine clopidogrel และ prasugrel

Ticlopidine (Ticlid) และ clopidogrel (Plavix) เป็นที่รู้จักกันในการใช้เป็น platelet aggregation inhibitor ที่ออกฤทธิ์ได้โดยการเป็น irreversible antagonist ต่อ $P2Y_{12}$ receptor ยาทั้งสองจัดเป็นอนุพันธ์ของ thienopyridine ซึ่งตัวยายอยู่ในรูป prodrugs ต้องเกิดการเมตาโบลิซึมที่ตับผ่าน cytochrome P450 ก่อนจึงจะได้สารเป็น active form ยาทั้งสองตัวนี้จะใช้ในการลด myocardial infarction และ stroke, ใช้ในการรักษา peripheral arterial disease และใช้ร่วมกับแอสไพรินใน acute coronary syndromes อนุพันธ์ thienopyridine prodrug อีกตัวหนึ่งที่อยู่ในระหว่างการพัฒนาเป็นยาต้านการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดที่ได้โดยการรับประทาน คือ prasugrel⁽¹⁴⁻¹⁵⁾

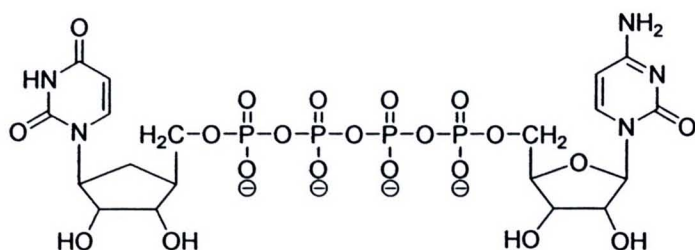
Cangrelor (AR-C69931MX) เป็น antithrombotic drug ที่ออกฤทธิ์ได้โดยการเป็น competitive $P2Y_{12}$ antagonist อีกตัวหนึ่งที่อยู่ในระหว่างการศึกษา phase II clinical trial

นอกจาก $P2Y_{12}$ receptor แล้วยังพบว่า $P2Y_1$ receptor ก็มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและการเกิด thrombus ด้วยเช่นกัน⁽¹⁵⁾

จากการศึกษาพบว่า $P2Y_2$ receptors เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการหลั่ง พวกเกล็ด น้ำและ สารคัดหลั่งด้วย agonist ของ $P2Y_2$ receptor เช่น diquafosol และ denufosol จึงอยู่ในระหว่างการพัฒนาเพื่อเป็นยารักษา cystic fibrosis และ dry eye syndrome ตามลำดับ



Diquafosol



Denufosol

รูป 2 โครงสร้างทางเคมีของ $P2Y_2$ receptor agonists; Diquafosol และ Denufosol.

ปัจจุบันมี agonist และ antagonist ที่จำเพาะเจาะจงต่อ receptor ชนิดต่างๆ แสดงได้ดังตาราง 2 ซึ่งส่วนมากยังใช้เป็นสารต้นแบบในการพัฒนายาหรือใช้เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบฤทธิ์

ตารางที่ 2 Agonists and antagonists of P2Y receptors. ^(16,20)

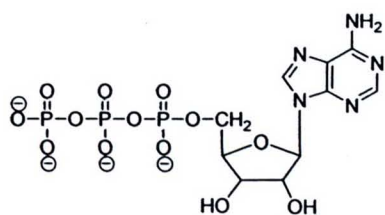
Receptor Subtype	Agonist	Antagonist
P2Y ₁	MRS2365, 2-MeSADP, ADP, ADPβS	MRS2179, MRS2279, MRS2500
P2Y ₂	UTP, ATP, Diquafosol, Denufosol, Ap4A	suramin
P2Y ₄	UTP, UTPγS	RB2
P2Y ₆	UDP, 5-Br-UDP	MRS2567
P2Y ₁₁	AR-C67085, ATPγS, BzATP, ATP	NF157 , suramin , RB2
P2Y ₁₂	2-MeSADP, ADP	Metabolite of Ticlopidine, Clopidogrel, and Prasugrel; Cangrelor, AZD6140
P2Y ₁₃	2-MeSADP, ADP	MRS2211
P2Y ₁₄	UDP-glucose, UDP-galactose	UDP

P2Y₁₁ receptors

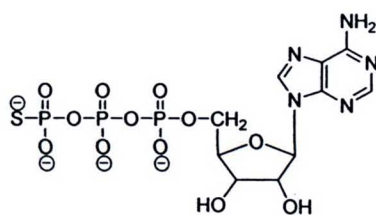
P2Y₁₁ receptors พบกระจายมากในม้าม ลำไส้เล็ก และเซลล์ HL-60 ซึ่งเป็น human promyelocytic leukemia cell line นอกจากนี้ยังพบใน human monocyte-derived dendritic cells, macrophages, Jurkat T cells และ LB23 melanoma cells ด้วย การศึกษาทางเภสัชวิทยาของ P2Y₁₁ receptors ทำให้มีการตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับการนำยาในกลุ่มนี้ไปใช้ประโยชน์มากมาย เช่น เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน และระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยจากการศึกษาพบว่า ATP สามารถทำให้เกิด down-regulate ของ pro-inflammatory cytokine TNF-α ผ่านการกระตุ้น P2Y₁₁ receptors ได้ทำให้ คาดว่า agonist ของกลุ่มนี้น่าจะนำไปใช้ในการรักษาโรคอักเสบเรื้อรัง ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสมดุลระหว่าง pro- และ anti-inflammatory cytokines ได้ จากผลการศึกษาของ พบว่า ATP และอนุพันธ์เช่น ATPγS สามารถเหนี่ยวนำให้เกิด maturation ของ human monocyte-derived dendritic cell ผ่านการเพิ่ม cAMP และได้สรุปว่า P2Y₁₁ receptors อาจมี บทบาทเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันโดยการกระตุ้น dendritic cells ได้⁽¹⁸⁾ นอกจากนี้ยังพบว่า P2Y₁₁ receptor agonists ยัง อาจช่วยเพิ่ม cardiac output ได้ในผู้ป่วยที่มีภาวะ circulatory shock ในขณะที่ P2Y₁₁ receptor antagonists อาจจะใช้ ในผู้ป่วย congestive heart failure (CHF) ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า P2Y₁₁ receptors อาจเกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis ของ neutrophils จึงอาจมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการอักเสบได้⁽¹⁹⁾

P2Y₁₁ receptor agonists

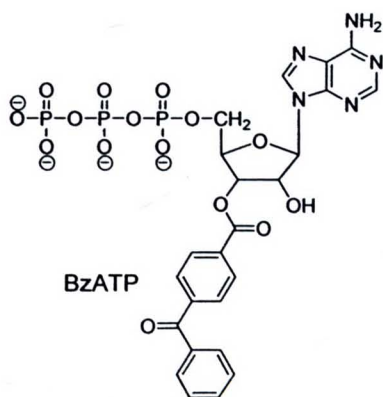
Agonists ของ P2Y₁₁ receptors สามารถแบ่งตามโครงสร้างได้เป็น 2 กลุ่ม
กลุ่ม 1 Nucleotide ได้แก่ ATP และอนุาลอก เช่น ATPγS , BzATP, 2-MeSATP และ AR-C67085MX โครงสร้างแสดงได้ ดังรูป 3 ⁽¹⁵⁾



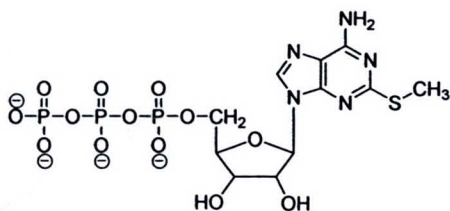
ATP



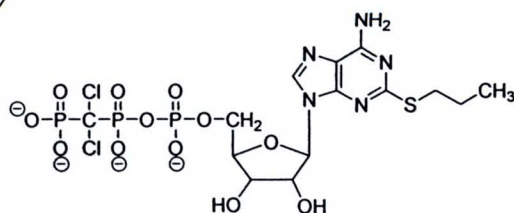
ATPγS



BzATP



2-MeSATP



AR-C67085MX

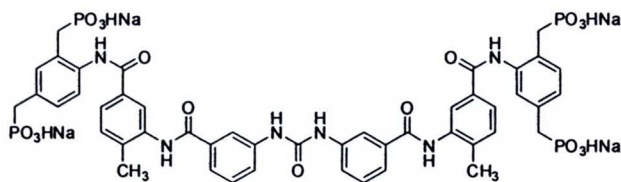
รูป 3 โครงสร้างของ P2Y₁₁ receptor agonists ที่เป็นนิวคลีโอไทด์และอนุพันธ์

กลุ่ม 2 Non-nucleotide ได้แก่ iso-iantheran A และอนุพันธ์คาร์บอกซิล สารกลุ่มนี้สกัดได้จากฟองน้ำทะเล *Ianthella quadrangulata* และมีรายงานว่ามียฤทธิ์กระตุ้น P2Y₁₁ receptors recombinantly expressed in 1321N1 cells โดย iso-iantheran A มีค่า EC₅₀ 1.92 μM ในขณะที่อนุพันธ์คาร์บอกซิลของมันมีค่า EC₅₀ 0.48 μM⁽²⁰⁾

NF546 เป็น non-nucleotide อีกตัวหนึ่งที่มีรายงานว่ามียฤทธิ์กระตุ้น P2Y₁₁ receptor ได้ โดยอนุพันธ์นี้เป็น phosphonate analog ที่มีโครงสร้างเป็นสมมาตรรูปเรือ⁽²¹⁾



R = H; Iso-iantheran A
R = COOH; 8-Carboxy iso-iantheran A

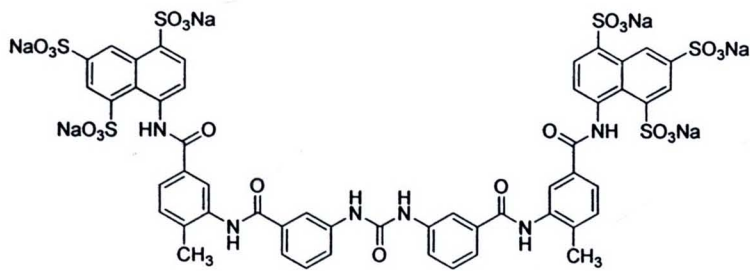


NF546

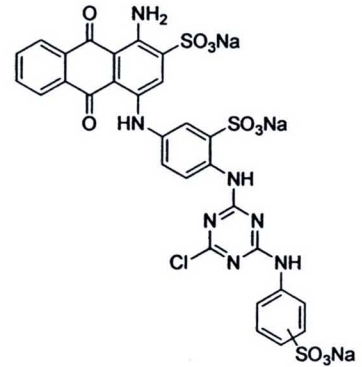
รูป 4 โครงสร้างของ non-nucleotide P2Y₁₁ receptor agonists: Iso-iantheran A และ NF546

P2Y₁₁ receptor antagonists

antagonists ของ human P2Y₁₁ receptors ที่เป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ suramin และ reactive blue 2⁽¹⁵⁾ แต่สารทั้งสองตัวนี้มีความแรงต่ำ และไม่มีความจำเพาะต่อรีเซปเตอร์ มีการศึกษาอนุพันธ์ของ reactive blue 2 พบว่าได้อนุพันธ์ที่มีความจำเพาะต่อ P2Y₁ receptor เพิ่มขึ้น (แต่ไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ต่อ P2Y₁₁ receptors)



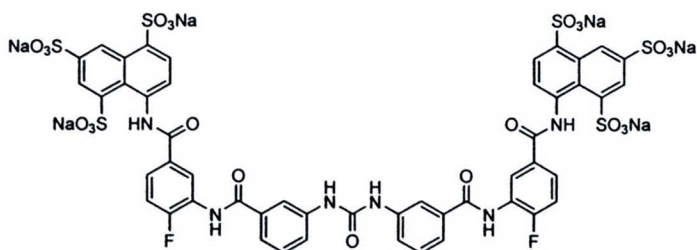
Suramin



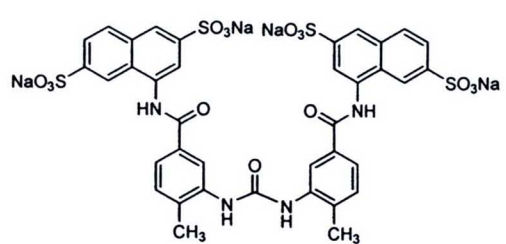
Reactive blue 2

รูป 5 โครงสร้างของ suramin และ reactive blue 2- P2Y₁₁ receptor antagonists

การพัฒนาอนุพันธ์ suramin เพื่อให้ได้สารที่มีฤทธิ์และความจำเพาะต่อ P2Y₁₁ receptor ศึกษาโดยกลุ่มของ Prof. Kassack ทำให้ได้อนุพันธ์ที่ดัดแปลงเช่น NF157 และ NF340



NF157



NF340

รูป 6 โครงสร้างของ NF157 และ NF340

ในปี 2005 Ullmann และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของ suramin และ analogues ต่อ P2Y receptors⁽²²⁾ พบว่า NF157 ซึ่งมีการแทนที่หมู่ methyl group ในโครงสร้าง suramine ด้วย fluorine moiety มีฤทธิ์เป็น antagonist ต่อ P2Y₁₁ receptors ดีที่สุด โดยมีค่า pKi เท่ากับ 7.35 ± 0.06 นอกจากนี้ยังแสดงความจำเพาะต่อ P2Y₁₁ receptors เมื่อเปรียบเทียบกับ P2Y₁ และ P2Y₂ receptors ด้วย แต่อย่างไรก็ตามสารนี้สามารถเป็น inhibitor ที่ P2X₁ receptors ได้ด้วย

อีกหนึ่งปีต่อมา Meis ได้รายงานถึงฤทธิ์ของ NF340 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ขนาดเล็กกว่าว่ามีความแรงในการเป็น antagonist สูงกว่า NF157 เล็กน้อย⁽²³⁾

อย่างไรก็ตามจนถึงปัจจุบันยังไม่มี agonist หรือ antagonist ตัวใดของ P2Y₁₁ receptors ที่ได้รับการพัฒนาจนเป็นยาได้เลย การพัฒนาสารกลุ่มนี้ยังขาดข้อมูลและความหลากหลายของโครงสร้างเนื่องจากสารที่มีการรายงานในปัจจุบันล้วนเป็นอนุพันธ์สมมาตรยูเรียทั้งสิ้น ดังนั้นการพัฒนาโครงสร้างเพื่อให้ได้สารที่มีฤทธิ์ดีขึ้นจึงยังคงมีความจำเป็น