

Medizinische Chemie

Neue Antimalaria-Wirkstoffe**

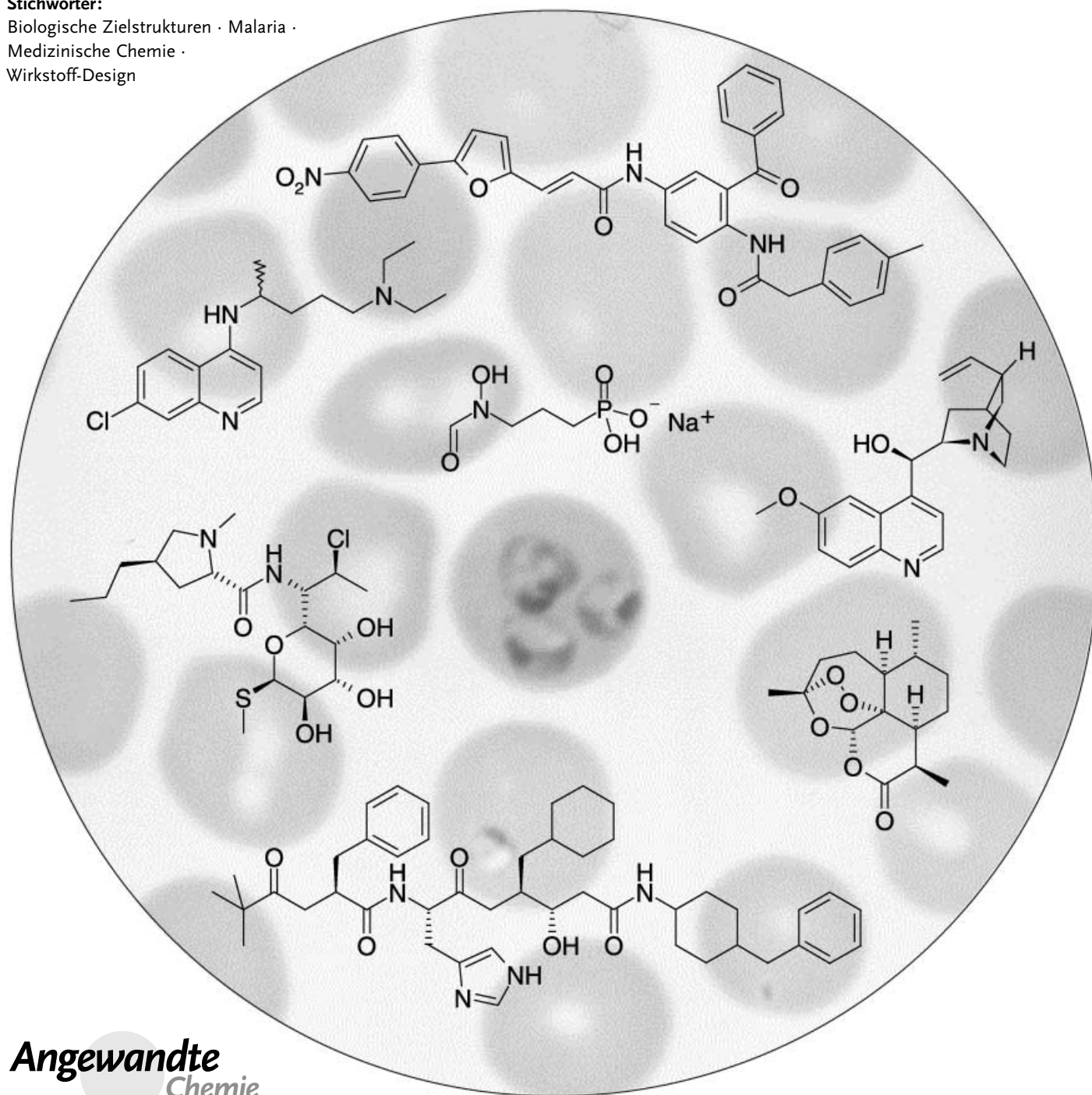
Jochen Wiesner,* Regina Ortmann, Hassan Jomaa und Martin Schlitzer*

Stichwörter:

Biologische Zielstrukturen · Malaria ·

Medizinische Chemie ·

Wirkstoff-Design



Angewandte Chemie

Etwa 40 % der Weltbevölkerung leben in Malariagebieten. Jährlich erkranken 300 bis 500 Millionen Menschen an Malaria, bis zu 2.5 Millionen sterben an den Krankheitsfolgen. Obwohl Malaria in vielen Teilen der Welt bereits als ausgerottet galt, nimmt die Zahl der Fälle auch in diesen Gebieten wieder zu. Der wichtigste Grund für diese bedrohliche Entwicklung ist die zunehmende Verbreitung von Resistenzen gegen Antimalaria-Wirkstoffe, insbesondere gegen das am häufigsten verwendete Chloroquin. Seit Mitte der siebziger Jahre wurde die Entwicklung neuer Wirkstoffe vernachlässigt. Dafür ist neben dem Wegfall kolonialer und militärischer Interessen auch das beschränkte Marktpotenzial verantwortlich. Unterstützt durch öffentliche Förderprogramme werden erst seit kurzem wieder intensivere Forschungsaktivitäten unternommen. Fortschritte verspricht man sich vor allem von der Sequenzierung des Genoms von *Plasmodium falciparum*, dem Malaria-Erreger, sowie von modernem Wirkstoff-Design.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5433
2. Etablierte Antimalaria-Wirkstoffe	5435
3. Neuere Antimalaria-Wirkstoffe in klinischem Gebrauch	5438
4. Antimalaria-Wirkstoffe in klinischer Entwicklung	5439
5. Antimalaria-Wirkstoffe in präklinischer Entwicklung	5441
6. Zusammenfassung und Ausblick	5448
7. Abkürzungsverzeichnis	5448

1. Einleitung

Malaria wird durch die Infektion mit Protozoen der Gattung *Plasmodium* verursacht. Vier humanpathogene *Plasmodium*-Arten sind bekannt, die zu jeweils spezifischen Krankheitsbildern führen: *P. falciparum* (Malaria tropica), *P. vivax* (Malaria tertiana), *P. ovale* (Malaria tertiana) und *P. malariae* (Malaria quartana); die letzten beiden Spezies treten nur relativ selten auf. Die Parasiten werden durch Stechmücken der Gattung *Anopheles* übertragen. Nach dem Stich einer infizierten Mücke kommt es zunächst zu einer symptomfreien Infektion der Leber (Abbildung 1). Nach einer Inkubationszeit von durchschnittlich einer Woche werden Blutstadien gebildet, die sich in den Erythrozyten vermehren. Ein Teil der Parasiten entwickelt sich zu geschlechtlichen Stadien, sog. Gametozyten, die zur erneuten Infektion einer Mücke führen, wenn sie bei einer Blutmahlzeit aufgenommen werden. Für die klinische Manifestation der Malaria sind ausschließlich die erythrozytären Stadien verantwortlich. Mit der Freisetzung der Parasiten aus den infizierten Erythrozyten gelangen Zellbestandteile in die Blutbahn, die für die Entstehung des Fiebers verantwortlich sind. Die meisten tödlichen Infektionen werden durch *P. falciparum* verursacht. Durch diesen Parasiten werden spezielle Proteine in die Erythrozytenmembran eingelagert, die die Anheftung der infizierten Erythrozyten an den Wänden prävenöser Kapillaren bewirken, sodass es zur Blockade der Blutgefäße kommt. Über diesen Mechanismus kann die Obstruktion von Gehirnmikrogefäßen zur cerebralen Malaria führen, die in komatösen Zuständen endet und ohne unverzügliche Behandlung tödlich verläuft. Bei den Spezies *P. vivax* und *P. ovale* können die Leberstadien als sog. Hypnozoiten jahrelang überdauern und regelmäßige Krankheitsausbrüche verursachen.

Bis in die Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts war Malaria eine der am intensivsten beforschten Krankheiten der west-

lichen Medizin. Zu dieser Zeit war Malaria auch noch in Teilen Europas und Nordamerikas endemisch. Erste Ansätze zur gezielten Therapie bedienten sich zu Beginn des achtzehnten Jahrhunderts der Rinde des in den Anden beheimateten Cinchona-Baums, die bereits seit Anfang des siebzehnten Jahrhunderts zur Behandlung von Fieber eingesetzt wurde.^[1] 1820 wurde Chinin (**1**, Abbildung 2) als aktiver Inhaltsstoff aus der Rinde isoliert und für die Behandlung von Malaria verwendet. Somit ist Malaria eine der ersten Krankheiten, die durch eine chemische Reinsubstanz behandelt wurden. Ausgehend von der Beobachtung, dass sich Methylenblau (**2**, Abbildung 2) in mikroskopischen Präparaten selektiv in den Parasiten anreichert, konnte Paul Ehrlich 1891 zwei Malariapatienten mit diesem Farbstoff heilen.^[2] Hier wurde erstmals ein synthetischer Wirkstoff beim Menschen eingesetzt. Nach heutigen Erkenntnissen wirkt Methylenblau (**2**) als Glutathion-Reduktase-Inhibitor und stört dadurch den Redoxhaushalt des Parasiten.^[3,4] Durch Derivatisierung der Methylenblau-Struktur wurde 1925 Pamaquin (**3**, Plasmoquin, Abbildung 2) synthetisiert, das erste 8-

[*] Dr. J. Wiesner, Dr. H. Jomaa
Biochemisches Institut
Justus-Liebig-Universität
Friedrichstraße 24, 35392 Gießen (Germany)
Fax: (+49) 641-9947529
E-mail: Jochen.Wiesner@biochemie.med.uni-giessen.de
Prof. Dr. M. Schlitzer, Dr. R. Ortman
Department für Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung
Ludwig-Maximilians-Universität München
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Germany)
Fax: (+49) 89-2180-79992
E-mail: Martin.Schlitzer@cup.uni-muenchen.de

[**] Geschützte Warennamen (Warenzeichen) sind nicht besonders gekennzeichnet. Aus dem Fehlen solcher Hinweise kann nicht geschlossen werden, dass es sich bei den Bezeichnungen um freie Warennamen handelt.

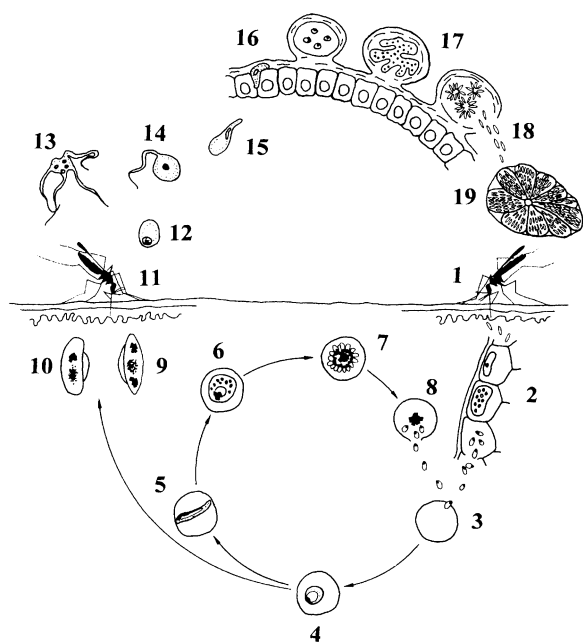


Abbildung 1. Entwicklungszyklus des Malariaerregers *P. falciparum*. Beim Stich einer infizierten Anopheles-Mücke werden Sporoziten injiziert (1). Die Sporoziten dringen in Leberzellen ein und vermehren sich dort 10 000- bis 30 000-fach (2). Die freigesetzten Merozoiten gelangen in die Blutbahn und infizieren Erythrozyten (3). In den Erythrozyten läuft die asexuelle Reproduktion in 48h-Zyklen ab. Dabei erfolgt eine Differenzierung vom Ringstadium (4) über das Trophozoitenstadium (5) zu Schizonten (6). Im Segmentier-Stadium (7) teilen sich die Schizonten in meist 16 Merozoiten, die durch Platzen der Erythrozyten freigesetzt werden und neue Erythrozyten infizieren (8). Unter dem Einfluss von Stressfaktoren differenzieren sich einige der erythrozytären Parasiten zu weiblichen (9) und männlichen Gametozyten (10). Diese Gametozyten werden bei einem erneuten Mückenstich mit der Blutmahlzeit aufgenommen (11). Im Mitteldarm der Mücke entwickeln sich die weiblichen Gametozyten zum Makrogameten (12), und die männlichen Gametozyten bilden jeweils vier bis acht bewegliche Mikrogameten (13). Verschmelzung der Gameten (14) ergibt eine bewegliche Zygote (Ookinete) (15), die das Darmepithel durchdringt (16) und an der Darmaußenwand zur Oocyste heranwächst (17). In der Oocyste entstehen Tausende von beweglichen Sporoziten, die nach Platzen der Oocyste frei werden (18) und sich in den Kanälen der Speicheldrüse sammeln (19).

Aminochinolin, welches die Rückfälle bei einer *P. vivax*-Infektion verhindern konnte.^[5] 1932 wurde Mepacrin entwickelt (4, Atebrin, Quinacrin, Abbildung 2), das gegen die Blutstadien von *P. falciparum* aktiv ist. Beide Substanzen

wurden in großem Umfang im Zweiten Weltkrieg eingesetzt, vor allem im Südwestpazifik.

Chloroquin (5), das bereits 1934 synthetisiert worden war, wurde wegen anfänglicher Bedenken hinsichtlich seiner Toxizität erst seit 1946 verwendet. Seitdem hat sich 5 als der wichtigste und effektivste Antimalaria-Wirkstoff erwiesen, der jemals eingesetzt wurde; es spielte deshalb eine zentrale Rolle in verschiedenen Programmen, die zur globalen Ausrottung der Malaria führen sollten. Mit dem Ziel einer möglichst flächendeckenden prophylaktischen Behandlung der Bevölkerung wurde 5 in Teilen Südamerikas, Afrikas und Asiens dem Speisesalz zugesetzt. Möglicherweise als Folge davon traten am Ende der fünfziger Jahre die ersten Fälle von Chloroquin-Resistenz auf. Heute kommen Chloroquin-resistente *P. falciparum*- und *P. vivax*-Stämme in allen Endemiegebieten vor. Britische Forschung während des Zweiten Weltkriegs führte zur Entwicklung von Proguanil (6, Abbildung 2), das wiederum als Prototyp für die Entwicklung von Pyrimethamin (7, Abbildung 2) im Jahr 1950 diente. Wegen der hohen Verluste durch Chloroquin-resistente Malaria während des Vietnam-Kriegs wurde die Entwicklung der Antimalaria-Wirkstoffe Mefloquin (8) und Halofantrin (9, Abbildung 2) durch amerikanische Militärwissenschaftler forciert.

Eine völlig andere Wirkstoffgruppe entstammt der traditionellen chinesischen Medizin. Der Einjährige Beifuß *Artemisia annua* wird seit mindestens 2000 Jahren in China als Heilpflanze verwendet, ursprünglich gegen Hämorrhoiden, seit 1596 auch für die Behandlung von Fieber. 1972 wurde das Sesquiterpen Artemisinin (10, Qinghaosu, Abbildung 2) als aktiver Inhaltsstoff mit potenter Antimalaria-Aktivität isoliert.^[6] Heute werden Artemisinin-Derivate vor allem in Südostasien routinemäßig für die Malariabehandlung eingesetzt.

Seit den zwanziger Jahren wurden für das Routinescreening nach Antimalaria-Wirkstoffen Kanarienvögel verwendet, die mit *P. relictum*, einer Vogel-spezifischen Plasmodium-Spezies, infiziert wurden.^[7] *P. relictum* wurde 1935 vollständig durch *P. gallinaceum* verdrängt, mit dem die Infektion frisch geschlüpfter Küken möglich ist. Seit der Entdeckung des Nager-spezifischen Parasiten *P. berghei* (1948) wurden zunehmend Malaria-Modelle in Mäusen eingesetzt, die noch heute die wichtigsten In-vivo-Testsysteme für neue Wirkstoffe darstellen.^[8] Echte Tiermodelle für die humanpathogenen Plasmodium-Spezies sind nur in Affen möglich und deshalb nur beschränkt verfügbar. 1976 gelang die Kultur von *P. falciparum* in vitro in einem Nährmedium, dem menschliche Erythrozyten zugesetzt wurden.^[9] Seitdem bereitet der Test

Prof. Dr. Martin Schlitzer studierte Pharmazie und Chemie an der Philipps-Universität Marburg, wo er 1993 in Pharmazeutischer Chemie promovierte. 1993–1994 war er als Postdoc bei Prof. C. R. Johnson in Detroit. Nach seiner Habilitation für Pharmazeutische Chemie 2000 (Philipps-Universität Marburg) ist er seit Oktober 2001 Professor für Pharmazeutische Chemie an der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Dr. Jochen Wiesner, geboren 1971 in Bad Neustadt, studierte Biologie an der Universität Würzburg, wo er 1998 bei Prof. M. Lanzer über die Interaktion des Malariaerregers *P. falciparum* mit dem Komplementsystem und den Natrium-Protonen-Austauscher von *P. falciparum* als potenzielle Zielstruktur für neue Antimalaria-Wirkstoffe promovierte. Anschließend arbeitete er bei der Jomaa Pharmaka GmbH in Gießen an der Entwicklung von Fosmidomycin und anderen Inhibitoren der Mevalonat-unabhängigen Isoprenoidsynthese zur Behandlung von Malaria. Seit 2002 setzt er seine Forschung am Biochemischen Institut der Universität Gießen in der Arbeitsgruppe von H. Jomaa fort.

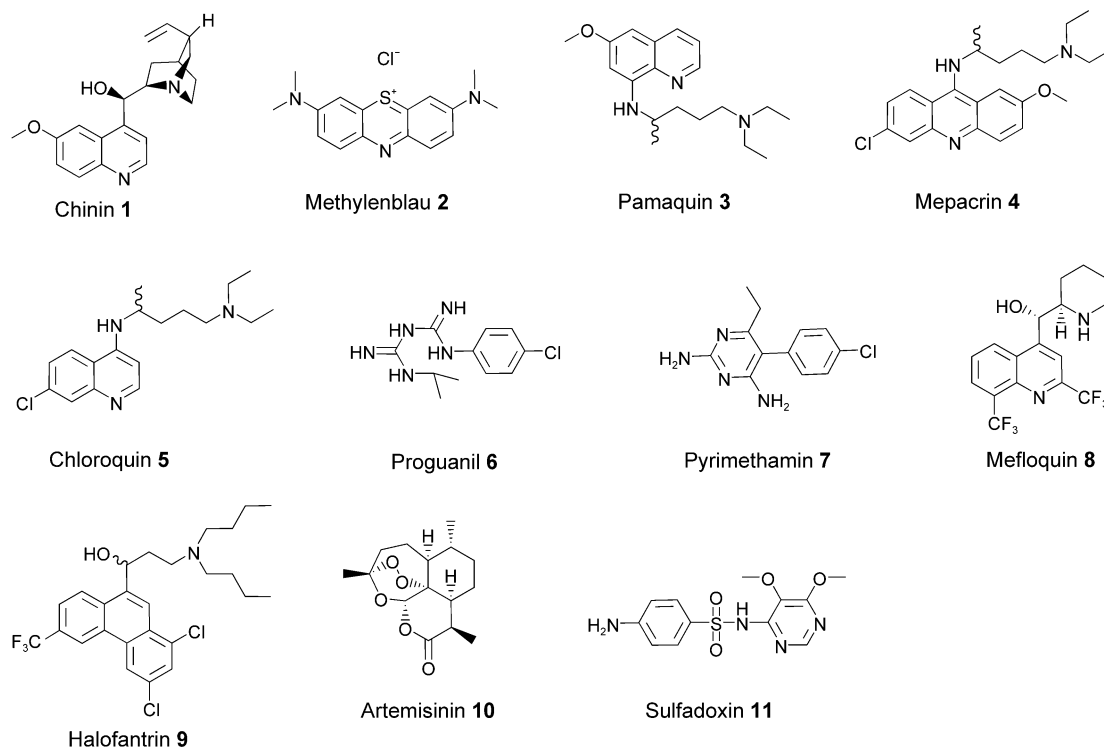


Abbildung 2. Historisch bedeutende und aktuelle Antimalaria-Wirkstoffe.

einer größeren Anzahl von Substanzen auf Antimalaria-Aktivität kaum noch Probleme. Die Anwendung molekularbiologischer Methoden auf Malaria-Parasiten ist möglich, aber wegen des extrem hohen Anteils von Adenin- und Thyminbasen an der *P. falciparum*-DNA oft mit Schwierigkeiten verbunden. Vor allem die rekombinante Expression von *P. falciparum*-Genen in *Escherichia coli* ist häufig problematisch. Inzwischen konnte das Genom von *P. falciparum* vollständig sequenziert werden.^[10] Diese Daten werden für die Identifizierung neuer Wirkstoff-Targets besonders nützlich sein.

Die inzwischen weit verbreiteten Resistenzen gegen Chloroquin (5) und die Antifolat-Kombination Pyrimethamin(7)-Sulfadoxin(11) (Abbildung 2) sind der wichtigste Grund für die zunehmende Ausbreitung der Malaria.^[11] Bereits vorhandene alternative Wirkstoffe kommen in den am schwersten betroffenen Ländern wegen ihrer hohen Kosten kaum in Betracht. Weitere Faktoren, die zur Verschlimmerung der Malariasituation beitragen, sind die Vernachlässigung von Kontrollprogrammen, Resistenzen der *Anopheles*-Mücken gegen DDT, kriegsbedingte Bevölkerungsbewegungen sowie Umwelt- und Klimaveränderungen.^[12] Dabei hat seit Mitte der siebziger Jahre das industrielle und militärische Interesse an der Entwicklung neuer Antimalaria-Wirkstoffe stark nachgelassen. Trotz intensiver Forschungsaktivitäten wird eine wirksame Schutzimpfung gegen Malaria in absehbarer Zeit nicht verfügbar sein. Deshalb besteht die dringende Notwendigkeit für die zügige Entwicklung von effektiven, sicheren und kostengünstigen Chemotherapeutika. In jüngster Zeit wurden verschiedene

Förderprogramme aufgelegt, um die Entwicklung neuer Malariamedikamente trotz des geringen wirtschaftlichen Interesses zu ermöglichen.^[12–14] Die biologischen Ziele der aktuellen Forschung sind sowohl Zellfunktionen wie der Häm- und der Folat-Stoffwechsel, die bereits die Angriffspunkte etablierter Substanzen darstellen, als auch bisher noch nicht genutzte biochemische Reaktionswege wie die Fettsäuresynthese, die Protein-Farnesylierung und die Mevalonat-unabhängige Isoprenoidsynthese. Abbildung 3 gibt einen Überblick über alte und neue Targets und ihre intrazelluläre Lokalisation.

2. Etablierte Antimalaria-Wirkstoffe

2.1. 4-Aminochinoline und Arylaminoalkohole

Die Strukturen von 4-Aminochinolin- und Arylaminoalkohol-Antimalaria-Wirkstoffen leiten sich vom Chinin (1) ab, dem pharmazeutisch wirksamen Inhaltsstoff der Cinchona-Rinde. 1 spielt trotz seiner relativ geringen Effizienz und schlechten Verträglichkeit nach wie vor eine wichtige Rolle bei der Behandlung von Infektionen mit multiresistenten *P. falciparum*-Stämmen. Wegen seiner guten Löslichkeit wird 1 vor allem als intravenöse Formulierung zur Behandlung komplizierter Malariafälle verwendet, wenn eine orale Medikation nicht möglich ist. Das synthetische 4-Aminochinolin-Derivat Chloroquin (5, Abbildung 2) ist wegen seiner hohen Wirksamkeit, relativ guten Verträglichkeit und kostengünstigen Produktion noch immer der wichtigste Antimalaria-

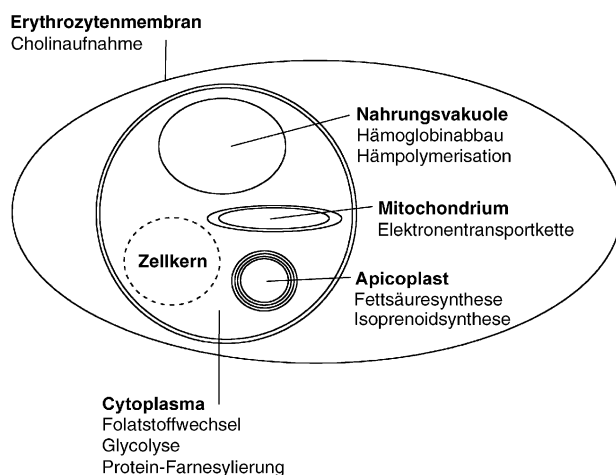


Abbildung 3. Schematische Darstellung eines *P. falciparum*-infizierten Erythrozyten mit der intrazellulären Lokalisation verschiedener Wirkstoff-Targets.

Wirkstoff. Die Verwendung des nahe mit **5** verwandten Amodiaquins (**12**, Abbildung 4) wurde wegen des gelegentlichen Auftretens einer Agranulozytose bei prophylaktischer Anwendung seit Mitte der achtziger Jahre eingeschränkt. In jüngerer Zeit wird **12** aber wieder vermehrt eingesetzt, da es

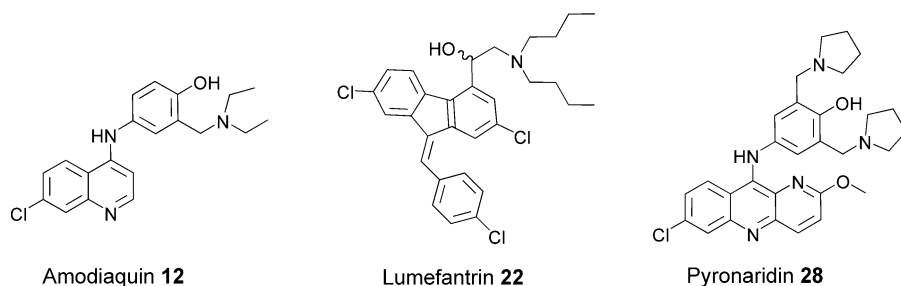


Abbildung 4. Arylaminoalkohol- und 4-Aminochinolin-Wirkstoffe.

in den meisten Fällen gute Aktivität gegen Chloroquin-resistente Parasiten zeigt.^[15] Mefloquin (**8**, Abbildung 2) und Halofantrin (**9**) sind Arylaminoalkohol-Derivate mit großer Ähnlichkeit zu **1**. Mefloquin (**8**) gilt als Standardmedikation bei Chloroquin-resistenter Malaria, seine Verwendung ist aber wegen neuropsychiatrischer Nebenwirkungen und des hohen Preises limitiert.^[16] Halofantrin (**9**) ist hochwirksam, wird aber wegen der Gefahr von Herzrhythmusstörungen nur noch beschränkt eingesetzt;^[17] außerdem treten Kreuzresistenzen mit **8** auf.

Man nimmt an, dass die 4-Aminochinoline die Entgiftung von freiem Häm stören, das beim Abbau von Hämoglobin entsteht.^[18,19] Vor allem während des Trophozoiten- und frühen Schizontenstadiums nehmen die Parasiten über einen Phagozytose-ähnlichen Vorgang das hämoglobinhaltige Cytoplasma des Wirtserthrozyten auf und transportieren es in die zentrale Nahrungsvakuole (Abbildung 3). Dort wird das Hämoglobin durch verschiedene Proteasen in kleine

Peptide zerlegt, die anschließend in das Cytoplasma der Parasiten transportiert werden. Das dabei freigesetzte Häm wirkt durch oxidative Schädigung potenziell toxisch und wird deshalb in Form von lichtmikroskopisch sichtbaren Kristallen, dem so genannten Hämozoin oder Malariapigment, in der Vakuole deponiert. Dieser Vorgang wird im Allgemeinen als Hämpolymerisation bezeichnet. Daneben wird Häm durch Reaktion mit Wasserstoffperoxid abgebaut, das durch die Oxidation des freigesetzten Häms von einem Fe^{II}- zu einem Fe^{III}-Zustand entsteht.^[20] Außerdem diffundiert ein Teil des Häms in das Cytoplasma und wird über einen Glutathion-abhängigen Mechanismus abgebaut.^[21] Es ist relativ gut belegt, dass sowohl die Hämpolymerisation als auch der oxidative und Glutathion-abhängige Abbau von Häm durch 4-Aminochinoline inhibiert werden. Inwieweit dieser Wirkmechanismus auch für die Arylaminoalkohole eine Rolle spielt ist nicht sicher.^[22] Mefloquin (**8**) und Chinin (**1**) inhibieren möglicherweise die Aufnahme von Hämoglobin aus der Wirtszelle.^[23]

2.2. Antifolat-Wirkstoffe

Neben Chloroquin (**5**) ist die Antifolat-Kombination Sulfadoxin-Pyrimethamin (Fansidar, S/P; Abbildung 2) die am häufigsten verwendete Medikation gegen Malaria.^[17] Pyrimethamin (**7**) inhibiert die Dihydrofolat-Reduktase (DHFR), das Sulfonamid Sulfadoxin (**11**) hemmt die Dihydropteroat-Synthase, ein weiteres Enzym des Folat-Stoffwechselweges. Allerdings wird bei übermäßiger Anwendung eine rasche Resistenzentwicklung beobachtet. Bei prophylaktischer Anwendung kann es zu Hypersensitivitätsreaktionen gegen den Sulfonamidanteil kommen, die zu einer toxischen epidermalen Nekrolyse führen (Steven-Johnson-Syndrom). Deshalb wurde die Zulassung für Sulfadoxin-Pyrimethamin in einigen Industrienationen zurückgezogen.

Häufig eingesetzt wird außerdem Proguanil (**6**), das über eine Cytochrom-P450-abhängige Reaktion in Cycloguanil (**13**), einen weiteren Inhibitor der Dihydrofolat-Reduktase, umgewandelt wird (Abbildung 5). **6** ist gut verträglich, besitzt als Monotherapie aber nur geringe Effizienz, sodass es meist in Kombination mit Chloroquin (**5**) eingesetzt wird.^[16]

2.3. Artemisinin-Derivate

Seit 20 Jahren werden neben Artemisinin (**10**) und Dihydroartemisinin (**14**) vermehrt die halbsynthetischen Artemisinin-Derivate Artemether (**15**), Arteether (**16**) und Artesunat (**17**) eingesetzt (Abbildung 6).^[24a] Die hauptsäch-

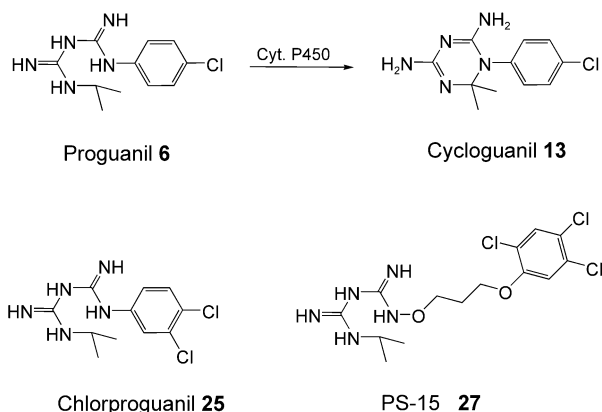


Abbildung 5. Antifolat-Wirkstoffe: Proguanil (**6**), Chlorproguanil (**25**) und PS-15 (**27**) werden durch eine Cytochrom-P450-abhängige Reaktion in die bioaktiven cyclischen Derivate (z. B. **13**) überführt.

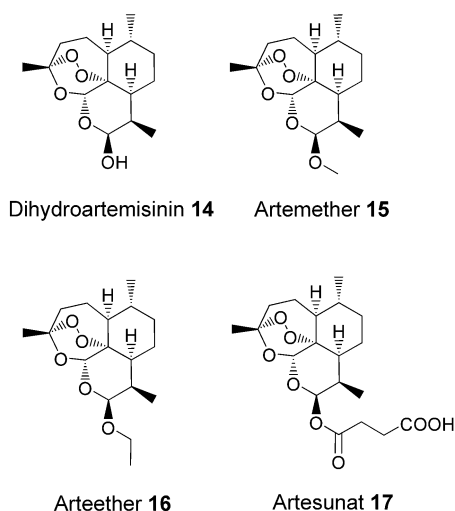


Abbildung 6. Artemisinin-Derivate in klinischer Verwendung. Zu den Konfigurationen am acetalischen Zentrum von **14** und **17** finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben.^[24b]

lich wirksame Substanz ist das durch Metabolisierung entstehende **14**. Die Artemisinin-Derivate wirken schneller als alle anderen Antimalaria-Wirkstoffe; die Patienten sind meist nach ca. 32 Stunden parasiten- und fieberfrei, während bei den übrigen Wirkstoffen zwei bis drei Tage benötigt

werden.^[25] Außerdem besitzen die Artemisinin-Derivate Aktivität gegen die sexuellen Parasitenstadien (Gametozyten), die für die Infektion der *Anopheles*-Mücken und damit die Übertragung der Krankheit verantwortlich sind. Wegen der kurzen Halbwertszeit ist eine Behandlungsdauer von fünf bis sieben Tagen für eine vollständige Eliminierung der Parasiten notwendig. Um die Therapiedauer zu verkürzen und der Entwicklung von Resistenzen vorzubeugen, werden Artemisinin-Derivate zunehmend mit anderen Antimalaria-Wirkstoffen mit längerer Halbwertszeit kombiniert. So wird in Teilen Thailands eine Kombination von Artesunat (**17**) mit Mefloquin (**8**) als Standardtherapie empfohlen.^[15] Von zunehmender Bedeutung ist außerdem die rektale Applikation von **17**, besonders bei Kleinkindern mit komplizierter Malaria, wenn die intravenöse Applikation von Chinin (**1**) wegen schlechter medizinischer Infrastruktur nicht möglich ist.^[26,27] Obwohl aus Tierversuchen neurotoxische und embryotoxische Aktivitäten bei höheren Dosen bekannt sind, scheint die Anwendung von Artemisinin-Derivaten beim Menschen ausgesprochen sicher zu sein: Über zwei Millionen Patienten sind bis heute behandelt worden, und erst zwei Fälle mit ernststen Nebenwirkungen (Hypersensibilitätsreaktionen) sind bekannt.^[28–30]

Der Wirkmechanismus der Artemisinin-Derivate beruht offenbar auf der Spaltung der Peroxofunktion durch Fe^{II}-Häm in der Nahrungsvakuole (Abbildung 3).^[31] Die entstehenden freien Radikale führen zur Alkylierung eines Teils des Häms und verhindern so möglicherweise seine Detoxifikation, ähnlich wie es für die 4-Aminochinoline angenommen wird (Abbildung 7).^[32] Außerdem gibt es Hinweise auf eine Schädigung der Parasiten durch die Alkylierung essentieller Proteine.^[33]

2.4. Antibiotika

Verschiedene Antibiotika, die auch in der antibakteriellen Therapie verwendet werden, sind gegen Malaria aktiv. Ihre Wirkung beruht darauf, dass Malariaparasiten sowie andere Vertreter des Stamms *Apicomplexa* über ein besonderes, Plastiden-ähnliches Organell verfügen.^[34,35] Dieser Apicoplast (Abbildung 3) ist wahrscheinlich im Laufe der Evolution durch Endosymbiose mit einer einzelligen Alge entstanden. Der Chloroplast der Alge hat seine Photosynthese-Aktivität verloren und erfüllt verschiedene metabolische Funktionen. Bekannt ist, dass die Synthese von Isoprenoiden, Fettsäuren und möglicherweise von Häm im Apicoplasten

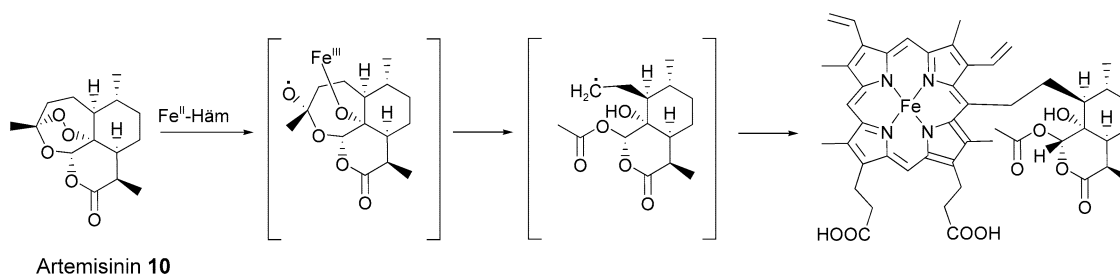


Abbildung 7. Mechanismus-Vorschlag für die radikalische Alkylierung von Häm durch Artemisinin.

erfolgt (siehe Abschnitte 4.4 und 5.4).^[36] Der Apicoplast verfügt noch über ein rudimentäres Genom, das für tRNAs, rRNAs, RNA-Polymerasen und ribosomale Proteine codiert, und damit ausschließlich für die Selbstreplikation des Organells verantwortlich ist. Sämtliche Enzyme, die an den metabolischen Funktionen des Apicoplasten beteiligt sind, werden durch das Genom im Zellkern codiert und über eine spezifische aminoterminaler Erkennungssequenz in den Apicoplasten transportiert. Entsprechende Antibiotika inhibieren die Prokaryonten-ähnliche RNA-Synthese (Rifampicin, **18**, Abbildung 8) und Protein-Synthese (Tetracycline, Makrolide, Lincosamide) im Apicoplasten.^[37] Die Wirkung der

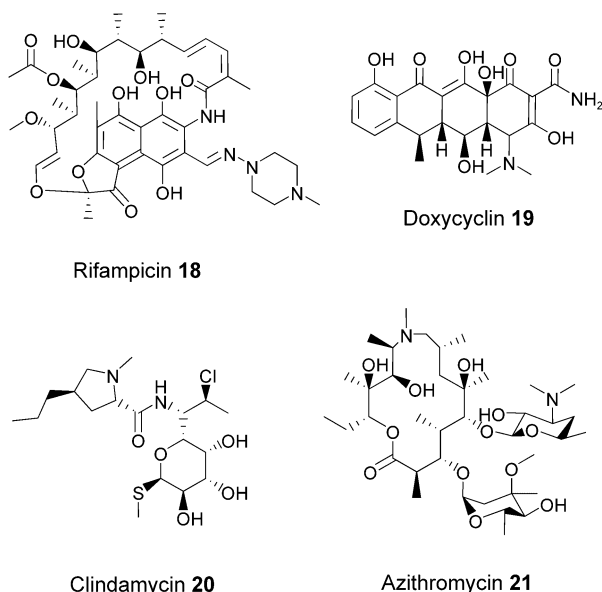


Abbildung 8. Antibiotika für die Malaria-therapie.

Tetracycline beruht auch auf der Inhibition der mitochondrialen Proteinsynthese.^[37] Die metabolische Funktion des Apicoplasten wird durch die Antibiotika zunächst nicht gestört, allerdings ist die Selbstreplikation des Organells nicht mehr möglich. Folglich sterben die Parasiten mit einer charakteristischen verzögerten Kinetik im zweiten Replikationszyklus nach Kontakt mit dem Antibiotikum. Deshalb dauert es nach der Behandlung eines Malariapatienten mit einem Antibiotikum ca. vier Tage bis eine Besserung der Symptome eintritt.^[38] Wegen ihrer langsamen Wirkung werden Antibiotika in der Regel nur prophylaktisch oder in Kombination mit anderen Antimalaria-Wirkstoffen verwendet. Von praktischer Bedeutung ist vor allem Doxycyclin (**19**, Abbildung 8) als Monosubstanz für die prophylaktische Behandlung und in Kombination, meist mit Chinin (**1**) oder Artesunat (**17**), für die therapeutische Anwendung bei komplizierter Resistenzlage.^[16] Da **19** bei Kleinkindern und Schwangeren kontraindiziert ist und außerdem photosensibilisierend wirken kann, stellt Clindamycin (**20**) eine effektive Alternative dar.^[39] Azithromycin (**21**) ist vor allem als Prophylaxe gegen *P. vivax*-Malaria geeignet.^[40]

3. Neuere Antimalaria-Wirkstoffe in klinischem Gebrauch

3.1. Lumefantrin-Artemether

Eine fixe Kombination von Lumefantrin (**22**, Benflumethol, Abbildung 4) mit Artemether (**15**, Abbildung 6) zur Behandlung unkomplizierter *P. falciparum*-Malaria wurde kürzlich unter der Bezeichnung Riamet oder Co-Artemether zugelassen.^[41] **22**, ein Arylaminoalkohol ähnlich dem Halofantrin (**9**), wurde bereits vor 20 Jahren durch das chinesische Militär entwickelt; frei zugängliche Studienergebnisse über die klinische Effizienz von **22** als Monosubstanz gibt es nicht. **22** verfügt zwar über geringere Antimalaria-Aktivität als **9**, hat dafür aber keine kardiotoxischen Nebenwirkungen.^[42] Auch wurden mit der Kombination keine neurologischen Nebenwirkungen beobachtet, wie sie aufgrund des Artemether-Anteils zu befürchten wären. Der synergistische Effekt der Kombination könnte darauf beruhen, dass beide Wirkstoffe mit der Hämpolymerisation in der Nahrungsvakuole interferieren.^[43] Die Effizienz von Lumefantrin-Artemether scheint durch Kreuzresistenzen mit Mefloquin (**8**) beeinträchtigt, sodass die geeignete Dosierung in Gebieten mit kritischer Resistenzlage noch unklar ist.^[44]

3.2. Atovaquon-Proguanil

Vor kurzem wurde eine fixe Kombination von Atovaquon (**23**, Abbildung 9) mit Proguanil (**6**, Abbildung 5) unter der Bezeichnung Malarone zur Prophylaxe und zur Behandlung unkomplizierter *P. falciparum*-Malaria zugelassen.^[45,46] Das Hydroxynaphthochinon **23** wirkt als Analogon von Ubichinon

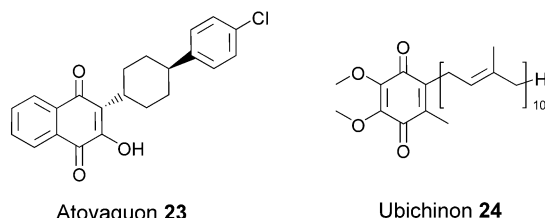


Abbildung 9. Atovaquon (**23**) und der natürliche Elektronenüberträger Ubichinon (**24**).

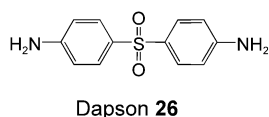
non (**24**) und inhibiert den mitochondrialen Elektronentransport (Abbildung 3) über den Cytochrom-c-Reduktase-Komplex.^[47] Als Monotherapie führt **23** zu einer sehr raschen Resistenzbildung durch Mutation des Cytochrom-*b*-Gens im mitochondrialen Genom.^[48] Dieses Problem konnte durch eine synergistische Kombination mit **6** gelöst werden.^[49] Dabei ist für die synergistische Wirkung nicht Cycloguanil (**13**), sondern **6** verantwortlich, obwohl nicht metabolisiertes **6** nur über sehr geringe Antimalaria-Aktivität verfügt.^[50] Der Grund für diese synergistische Wirkung ist weitgehend unbekannt. Es gibt Hinweise, dass **6** den durch **23** verursachten Zusammenbruch des mitochondrialen Membranpotentials unterstützt.^[51] Eine für die prophylaktische Anwen-

derung vorteilhafte Eigenschaft von Atovaquon-Proguanil besteht in der Aktivität gegen die Leberstadien der Parasiten. Dadurch können die Parasiten getötet werden, noch bevor es zur Infektion der Erythrozyten kommt.^[52] Das Anwendungspotenzial von Atovaquon-Proguanil scheint auf lange Sicht jedoch limitiert. Ein Fall von Therapieversagen bei nachgewiesener Mutation des Cytochrom-*b*-Gens wurde bereits dokumentiert.^[53]

4. Antimalaria-Wirkstoffe in klinischer Entwicklung

4.1. Chlorproguanil-Dapson

Als Ersatz für Sulfadoxin-Pyrimethamin wird unter der Bezeichnung Lap-Dap eine Kombination von Chlorproguanil (**25**, Abbildung 5) mit Dapson (**26**) entwickelt,^[54] das seit 1943 zur Therapie von Lepra verwendet wird. **25** wird analog zu



Proguanil (**6**) in den Dihydrofolat-Reduktase-Inhibitor Chlorcycloguanil umgewandelt; **26** wirkt wie Sulfadoxin (**11**, Abbildung 2) als Inhibitor der Dihydropteroat-Synthase, eines Enzyms der Folat-Biosynthese. Beide Verbindungen sind kostengünstig und relativ gut erforscht. Ein möglicher Vorteil dieser Kombination gegenüber Pyrimethamin-Sulfadoxin besteht in der kürzeren Plasma-Halbwertszeit der Wirkstoffe. Dadurch werden die Parasiten nur kurze Zeit subtherapeutischen Wirkstoffkonzentrationen ausgesetzt, sodass die Gefahr der Resistenzentwicklung geringer erscheint. Tatsächlich konnte in klinischen Versuchen gezeigt werden, dass gegen Chlorproguanil-Dapson deutlich langsamer Resistenzen gebildet werden als gegen Sulfadoxin-Pyrimethamin.^[55,56] Klinische Studien in Kenia haben gezeigt, dass eine Drei-Tage-Therapie mit Chlorproguanil-Dapson ähnlich wirksam ist wie die Sulfadoxin-Pyrimethamin-Standardtherapie mit einer Einzeldosis.^[57,58] Weitere klinische Studien in Tansania und Malawi haben ergeben, dass Chlorproguanil-Dapson in den meisten Fällen gegen Sulfadoxin-Pyrimethamin-resistente Parasitenstämme wirksam ist.^[59,60] Eine klinische Studie in Thailand zeigte dagegen nur eine geringe Effizienz von Chlorproguanil-Dapson.^[61] Dies ist darauf zurückzuführen, dass in Südostasien Parasiten verbreitet sind, die infolge von Dihydrofolat-Reduktase-Mutationen gegen **25** resistent sind. Derartige Mutationen sind in Ostafrika selten.^[62] Die Ergebnisse einer abgeschlossenen Phase-III-Studie, bei der 2000 Kinder in Nigeria, Kenia, Malawi, Tansania und Gabun mit Chlorproguanil-Dapson behandelt wurden, sind noch nicht publiziert.^[54] Zusätzlich zu einer baldigen Zulassung von Chlorproguanil-Dapson wird die Entwicklung einer fixen Kombination von **25**, **26** und Artesunat (**17**) angestrebt, um eine Resistenzentwicklung möglichst lange herauszuzögern.^[54] Das Proguanil-Derivat PS-15 (**27**, Abbildung 5) ist gegen Parasitenstämme mit

Resistenzen gegen etablierte Antifolat-Wirkstoffe aktiv, befindet sich aber noch in der präklinischen Entwicklung.^[63]

4.2. Pyronaridin

Das 9-Anilinoacridin Pyronaridin (**28**, Abbildung 4) ist dem Mepacrin (**4**), Chloroquin (**5**) und Amodiaquin (**12**) strukturell sehr ähnlich. **28** wurde in China entwickelt und dort in den achtziger Jahren zugelassen. Außerhalb Chinas ist der Wirkstoff nicht registriert, da die bestehenden Formulierungen nicht den internationalen Zulassungsstandards entsprechen.^[64] **28** ist das aktivste 4-Aminochinolin-Derivat und wirkt im Allgemeinen gegen Chloroquin-resistente Parasiten. Der Wirkmechanismus beruht wahrscheinlich, wie bei anderen 4-Aminochinolinen, auf der Inhibition der Hämpolymerisation. Die Effizienz von **28** ist durch klinische Studien in Kamerun und Thailand belegt. In Kamerun lag nach einer Drei-Tage-Therapie die Heilungsrate für Erwachsene und Kinder bei 100%.^[65,66] **5** war dagegen nur bei 44% der Erwachsenen und 40% der Kinder effektiv. In Thailand betrug die Heilungsrate 63% nach einer Therapiedauer von drei Tagen und 88% nach fünf Tagen.^[67] Die Unterschiede in den Heilungsraten zwischen Kamerun und Thailand beruhen möglicherweise auch darauf, dass die Patienten in Kamerun nur 14 Tage, in Thailand aber 28 Tage beobachtet wurden.^[68] Inzwischen wurden verbesserte Kapselformulierungen für **28** entwickelt.^[64] Neuere Arbeiten zielen auf die Etablierung einer Kombination von **28** mit Artesunat (**17**) ab.^[69] Eine synergistische Wirkung von Artemisinin (**10**) mit **28** konnte in vitro nachgewiesen werden.^[70]

4.3. Tafenoquin

Tafenoquin (**29**) stellt eine Weiterentwicklung der 8-Aminochinolone Primaquin (**30**) und Pamaquin (**3**) dar (Abbildung 10). **30** wird bereits seit Ende der vierziger Jahre zur Eliminierung der Leberstadien bei *P. vivax*-Infektionen eingesetzt.^[71] Aufgrund dieser Aktivität gegen Leberstadien eignet sich **30** auch zur Prophylaxe. Weiterhin verhindert **30** die Bildung fertiler Gametozyten, gegen Blut-

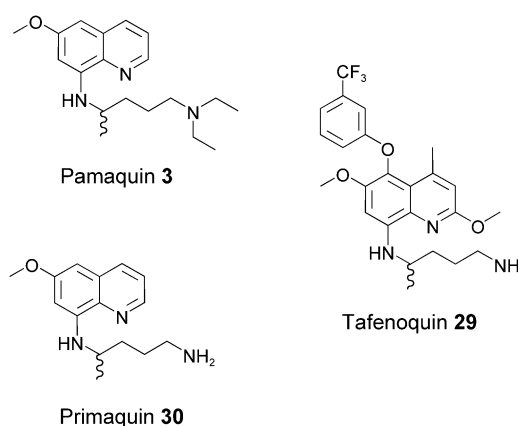


Abbildung 10. 8-Aminochinolin-Wirkstoffe.

stadien ist es bei pharmakologisch erreichbaren Konzentrationen jedoch unwirksam. Wegen toxikologischer Probleme wurde die Verwendung von **30** stark eingeschränkt. Die Optimierung der Primaquinstruktur führte zu **29** mit generell geringerer Toxizität und längerer Plasma-Halbwertszeit (zwei bis drei Wochen). Zusätzlich verfügt **29** über Aktivität gegen erythrozytäre Parasitenstadien. Bemerkenswerterweise ist **29** deutlich wirksamer gegen Chloroquin- und multiresistente Parasitenstämme als gegen Wildtypen.^[64] Der Wirkmechanismus der 8-Aminochinoline ist weitgehend unbekannt; die Aktivität von **29** gegen Blutstadien beruht möglicherweise ähnlich wie bei den 4-Aminochinolinen auf Inhibition der Hämpolymerisation. Für die Wirksamkeit gegen Leberstadien und Gametozyten ist offenbar ein anderer Mechanismus verantwortlich, möglicherweise die Schädigung von Mitochondrien nach der Biotransformation.^[72]

Inzwischen ist die Effizienz von **29** als Malariaphylaxe durch mehrere klinische Studien bewiesen. Drei von vier Versuchspersonen, die experimentell über den Stich einer Mücke mit *P. falciparum* infiziert wurden, waren durch eine einmalige Dosis von 600 mg **29** vor dem Ausbruch der Krankheit geschützt.^[73] Bei einer Feldstudie in Gabun waren alle 84 Versuchspersonen, die an drei Tagen je 250 mg **29** erhielten, in der Beobachtungszeit von 70 Tagen vollständig vor einer Malariainfektion geschützt.^[74] In einer ähnlichen Studie in Kenia führte eine Dosis von je 200 mg an drei aufeinander folgenden Tagen und anschließend in wöchentlichen Abständen während einer Untersuchungsdauer von 13 Wochen zu einem 86 %igen Schutz im Vergleich zu einem Placebo.^[75] Auch die Eliminierung der Hypnozoiten in der Leber nach einer *P. vivax*-Infektion konnte klinisch gezeigt werden. Dabei wurden Patienten mit einer akuten *P. vivax*-Malaria zunächst mit Chloroquin (**5**) behandelt, um die erythrozytären Parasitenstadien zu beseitigen. Durch anschließende Behandlung mit **29** konnte das Wiederauftreten der Krankheit verhindert werden, nicht aber mit **5**.^[76] Klinische Daten über die Behandlung akuter Malaria mit **29** sind nicht publiziert. In Aotus-Affen war **29** gegen die Blutstadien eines Chloroquin-resistenten *P. vivax*-Stamms wirksam.^[77]

Das größte toxikologische Problem von 8-Aminochinolinen besteht in der Induktion einer potenziell lebensbedrohlichen hämolytischen Anämie bei Patienten mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD)-Mangel. Diese genetische Anomalie ist aber gerade in Malariagebieten häufig, da sie offenbar mit einem gewissen Schutz gegen die Infektion verbunden ist. Das Risiko einer hämolytischen Anämie bei G6PD-Mangel nach Applikation von Primaquin (**30**) ist gut dokumentiert. Auch bei zwei Patientinnen mit G6PD-Mangel, die versehentlich mit Tafenoquin (**29**) behandelt wurden, kam es zu hämolytischen Reaktionen, die eine Bluttransfusion erforderten.^[72]

4.4. Fosmidomycin

Fosmidomycin (**31**, Abbildung 11) inhibiert die 1-Desoxy-D-Xylulose-5-Phosphat(DOXP)-Reduktoisomerase, ein Enzym des erst vor kurzem beschriebenen Mevalonat-unab-

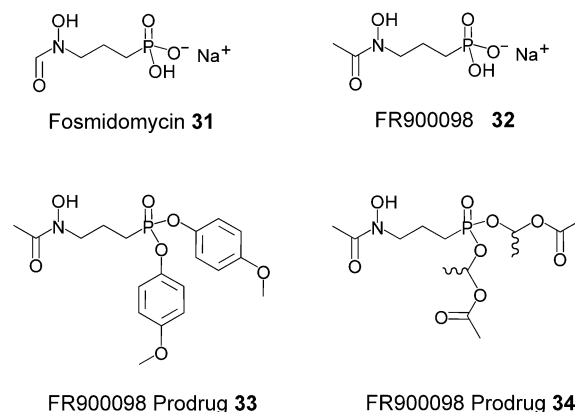


Abbildung 11. Fosmidomycin (**31**) und Fosmidomycin-Derivate.

hängigen Isoprenoid-Biosynthesewegs (Synonyme: DOXP-Weg, MEP-Weg, Rohmer-Weg). Die Enzyme dieses Stoffwechselwegs sind im Apicoplasten der Malariaparasiten lokalisiert (Abbildung 3).^[78] Der Mevalonat-unabhängige Isoprenoid-Biosyntheseweg kommt auch in verschiedenen Bakterien und in den Plastiden der Algen und höheren Pflanzen vor.^[79] Bei Tieren und beim Menschen erfolgt die Isoprenoidsynthese über den Mevalonat-Weg (Abbildung 12).

Fosmidomycin (**31**) wurde bereits in den siebziger Jahren als natürliches Antibiotikum aus *Streptomyces lavendulae* isoliert. Die Entwicklung als antibakterieller Wirkstoff wurde nach Abschluss einer frühen Phase-II-Studie nicht weiter verfolgt.^[80] Das molekulare Target und die Antimalaria-Aktivität von **31** sind erst seit 1998 bekannt.^[78,81–83] Man vermutet, dass **31** als Substratanalogon im aktiven Zentrum

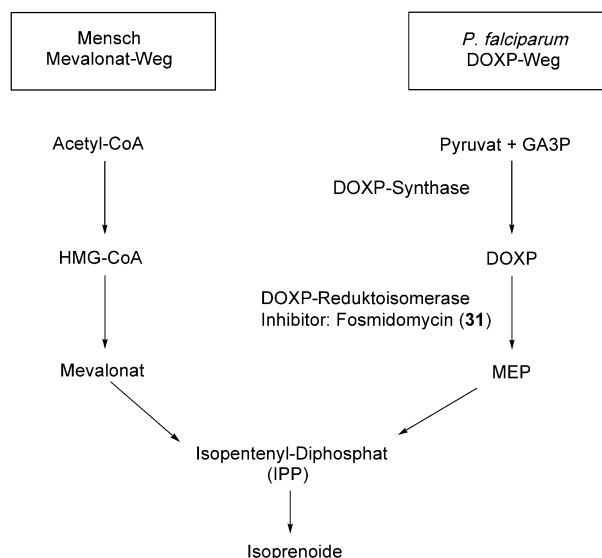


Abbildung 12. Isoprenoid-Biosynthese über den Mevalonat- und den DOXP-Weg. In allen Organismen werden Isoprenoide aus C₅-Einheiten aufgebaut, die sich von Isopentenyl-Diphosphat (IPP) ableiten. IPP wird im Menschen und in anderen Organismen, die den Mevalonat-Weg benutzen, aus Acetyl-CoA synthetisiert. Bei anderen Organismen, darunter *P. falciparum*, wird IPP über den DOXP-Weg ausgehend von Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GA3P) gewonnen.

des Enzyms bindet (Abbildung 13). Kinetische Analysen mit der *E.-coli*-DOXP-Reduktoisomerase haben ergeben, dass **31** zunächst mit relativ geringer Affinität an das Enzym bindet.^[84] Dadurch wird eine Konformationsänderung des

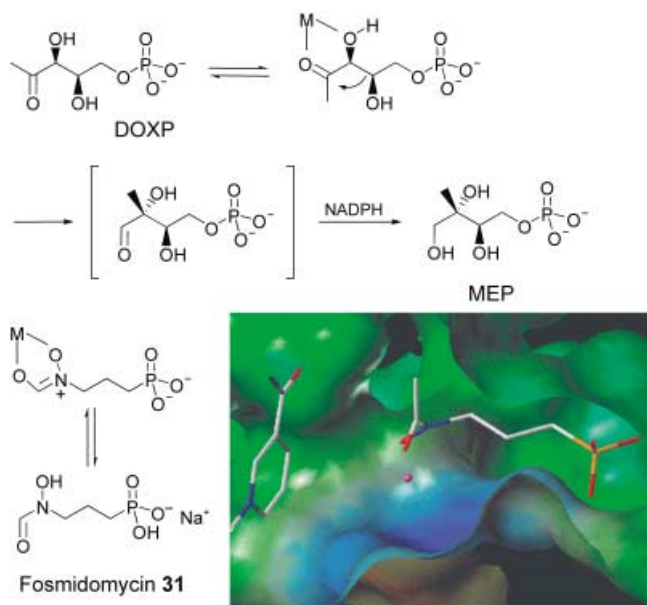


Abbildung 13. Wahrscheinlicher Mechanismus der DOXP-Reduktoisomerase-katalysierten Umwandlung von 1-Desoxy-D-Xylulose-5-Phosphat (DOXP) in 2-C-Methyl-D-Erythritol-4-Phosphat (MEP) und hypothetischer Bindungsmodus des Inhibitors Fosmidomycin (**31**). Die Carbonyl- und die vicinale Hydroxyfunktion von DOXP komplexieren ein Metallion M (Magnesium oder Mangan) im aktiven Zentrum. Anschließend kommt es zu einer intramolekularen Umlagerung und zur Reduktion durch NADPH. Unten rechts ist das Ergebnis des Dockings^[87] von FR900098 (**32**) in die Kristallstruktur^[86] der DOXP-Reduktoisomerase abgebildet. Hydrophile (blau bis grün) und lipophile (braun) Eigenschaften des aktiven Zentrums sind durch Farben auf der Connolly-Oberfläche angedeutet. FR900098 komplexiert das Metallion (magenta) über die Hydroxamoyl-Funktion, während die Phosphonatgruppe die Phosphat-Bindungsstelle besetzt. Links vom FR900098 ist der Pyridinring von NADPH sichtbar.

Enzyms induziert, die zu einer deutlichen Affinitätssteigerung führt, sodass **31** schließlich eine quasi-irreversible Bindung mit dem Enzym eingeht. Hinweise auf die hohe Flexibilität des Enzyms wurden auch aus der Kristallstruktur der *E.-coli*-DOXP-Reduktoisomerase abgeleitet.^[85,86]

In einer „Proof-of-Concept“-Studie in Gabun und Thailand wurden je zehn Patienten mit akuter unkomplizierter *P. falciparum*-Malaria mit einer oralen Dosis von 1200 mg dreimal täglich sieben Tage behandelt.^[88] Die Medikation wurde gut vertragen; in wenigen Fällen traten weicher Stuhl und Diarrhö als Nebenwirkungen auf, wahrscheinlich als Folge der antibakteriellen Aktivität von **31**. In beiden Studien waren die Patienten nach ca. 48 Stunden parasiten- und fieberfrei. Im Laufe der Nachbeobachtung traten innerhalb von 28 Tagen bei zwei von zehn Patienten in Gabun und bei acht von zehn Patienten in Thailand wieder Parasiten auf. Die Heilungsraten spiegeln den unterschiedlichen Immunstatus der beiden Populationen in einem hyperendemischen Gebiet

(Zentralafrika) und einem hypoendemischen Gebiet (Südostasien) wider. Bei einer weiteren Studie in Gabun wurde mit einer auf 4 Tage verkürzten Behandlungsdauer eine Heilungsrate von über 80 % an Tag 14 erreicht.^[89]

Da die hohe Rekrudeszenzrate die Verwendung von Fosmidomycin (**31**) als Monotherapie ausschließt, wurden Interaktionsstudien von **31** mit anderen Antimalaria-Wirkstoffen durchgeführt, um einen möglichen Partner für ein Kombinationspräparat zu finden. Dabei wurde die synergistische Wirkung von **31** mit dem Antibiotikum Clindamycin (**20**, Abbildung 8) beobachtet.^[90] Eine mögliche Erklärung besteht darin, dass **20** die Replikation des Apicoplasten verhindert, des Organells also, in dem die DOXP-Reduktoisomerase lokalisiert ist. Inzwischen wird die Kombination Fosmidomycin(**31**)-Clindamycin(**20**) in ersten klinischen Studien in Gabun und Thailand getestet. Da vorläufige Ergebnisse auf eine deutlich höhere Heilungsrate bei kürzerer Therapiedauer hindeuten, wird die Entwicklung einer fixen Kombination Fosmidomycin-Clindamycin angestrebt.^[91]

Fosmidomycin (**31**) zeichnet sich durch seine äußerst geringe Toxizität (LD₅₀ Ratte (oral) ca. 12 g kg⁻¹) und seine Aktivität gegen multiresistente Parasitenstämme aus.^[78] Einschränkungen ergeben sich aus der kurzen Plasmahalbwertszeit (ca. 2,5 Stunden) und der mäßigen Resorptionsrate (ca. 30 %) infolge seiner geringen Lipophilie.^[80,92] Das Fosmidomycin-Derivat FR900098 (**32**) zeigte in vitro und in *P. vinckei*-infizierten Mäusen etwa zweifach höhere Antimalaria-Aktivität.^[78] Eine Erhöhung der oralen Bioverfügbarkeit wurde durch die Synthese von Prodrug-Derivaten von **32** erreicht, bei denen die Phosphonatgruppe als biolabiler Arylester (**33**) bzw. Doppelester (**34**, Abbildung 11) maskiert ist.^[93,94]

5. Antimalaria-Wirkstoffe in präklinischer Entwicklung

5.1. Neue Inhibitoren der Hämpolymerisation

Obwohl Chloroquin-resistente Parasiten inzwischen weit verbreitet sind, entwickeln sich nur sehr selten Resistenzen gegen 4-Aminochinoline und verwandte Substanzen. Möglicherweise haben sich nur wenige Chloroquin-resistente Stämme gebildet, die sich aber als Folge des exzessiven Einsatzes von Chloroquin (**5**) weltweit ausgebreitet haben.^[95] Der Grund könnte darin liegen, dass an der Hämpolymerisation, die durch **5** gestört wird, wahrscheinlich keine Enzyme beteiligt sind.^[18] Deshalb ist die Entstehung von Resistenzen durch eine einfache Mutation nicht möglich. Obwohl der genaue Mechanismus der Entstehung von Chloroquin-Resistenz noch immer nicht bekannt ist, deuten verschiedene Daten darauf hin, dass multifaktoriale Ereignisse beteiligt sind – darunter auch Veränderungen von Transportproteinen.^[95] So erklärt sich das nach wie vor große Interesse an diesen Substanzklassen für die Entwicklung neuer Wirkstoffe.

Aktuelle Arbeiten konzentrieren sich auf die Entwicklung von Chloroquin-Derivaten mit modifizierter Seitenkette und Bischinolinen, bei denen zwei Chinolin-Einheiten über

verschiedene Strukturelemente verknüpft sind.^[96–98] Viele dieser Verbindungen sind auch gegen Chloroquin-resistente Parasiten wirksam. Eine Voraussetzung für die Aktivität der 4-Aminochinoline ist das Vorhandensein basischer Aminofunktionen, die zur Anreicherung in der sauren Nahrungsvakuole (Abbildung 3) der Parasiten führen, da die protonierten Wirkstoffe die Membran nicht mehr passieren können („Schwache-Basen-Effekt“^[99]). Das *N*-Desbutyl-Derivat von Halofantrin (**9**, Abbildung 2), das auch als Metabolit auftritt, verfügt über unveränderte Wirksamkeit, ist jedoch nicht kardiotoxisch.^[100,101] Auch *N*-Desbutyl-Lumefantrin (*N*-Desbutyl-Benflumetol) ist in vitro vierfach aktiver als Lumefantrin (**22**).^[102]

Das Dihydroacridindion WR 243251 (**35**, Abbildung 14) ist ein Derivat von Floxacrin (**36**, Abbildung 14), das ausgehend vom Mepacrin (**4**, Abbildung 2) entwickelt wurde. Die Substanz zeigte in Aotus-Affen hohe Aktivität gegen einen Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm.^[103] Außerdem hemmt **35** die Entwicklung von *P. vivax*-Sporozoit in der Mücke.^[104] Die Inhibition der Hämpolymerisation durch **35** konnte nachgewiesen werden, scheint jedoch nicht allein ausschlaggebend für den Wirkmechanismus zu sein.^[105] So inhibiert **35** ähnlich wie Atovaquon (**23**, Abbildung 9) die Zellatmung der Parasiten, der Angriff scheint jedoch an unterschiedlichen Targets zu erfolgen.^[106] Dies ist offenbar der Grund dafür, dass eine partielle Kreuzresistenz von **35** mit **23** beobachtet wird.

Cryptolepin ist ein Indolochinolin-Alkaloid der westafrikanischen Schlingpflanze *Cryptolepis sanguinolenta*, die in der traditionellen Medizin u. a. zur Behandlung von Malaria

verwendet wird. In vitro und in *P. berghei*-infizierten Mäusen konnte eine mäßige Antimalaria-Aktivität der Substanz gezeigt werden; diese beruht wahrscheinlich auf der Inhibition der Hämpolymerisation.^[107] Aufgrund seiner DNA-intercalierenden Wirkung ist Cryptolepin jedoch zytotoxisch.^[108] 2,7-Dibromcryptolepin (**37**, Abbildung 14) ist das wirksamste synthetische Derivat mit ca. 10fach höherer Antimalaria-Aktivität und nur unwesentlich höherer Zytotoxizität für Krebszellen und geringerer Toxizität für Mäuse; der ED₉₀-Wert für *P. berghei*-infizierten Mäusen liegt bei 12.5 mg kg⁻¹ bei intraperitonealer Verabreichung an 4 Tagen.

Völlig neue Inhibitoren der Hämpolymerisation sollten durch ein In-vitro-Testsystem identifiziert werden, das die Inkorporation von ¹⁴C-Hämatin in unlösliches β-Hämatin misst; β-Hämatin ist chemisch nicht von Hämozin zu unterscheiden.^[109] Dieses Testsystem wurde beim Hochdurchsatz-Screening von über 100 000 Substanzen eingesetzt. Dabei wurden das Triarylmethanol Ro 06-9075 (**38**, Abbildung 14) und das Benzophenon Ro 22-8014 (**39**, Abbildung 14) mit oraler In-vivo-Antimalaria-Aktivität in *P. berghei*-infizierten Mäusen gefunden (ED₉₀-Werte: ca. 100 mg kg⁻¹).

Auch Substanzen wie **40**, die ursprünglich als Protease-Inhibitoren entwickelt wurden, erwiesen sich als potente Inhibitoren der Hämpolymerisation.^[110,111] In einer Serie derartiger Verbindungen wurde eine eindeutige Korrelation der In-vitro-Antimalaria-Aktivität mit der In-vitro-Hemmung der Hämpolymerisation beobachtet. Das Anwendungspotenzial dieser Substanzklasse wird allerdings durch eine Kreuzresistenz mit Chloroquin (**5**) infrage gestellt. So hat **40** eine IC₅₀ von 7–11 nM gegen einen Chloroquin-sensitiven und

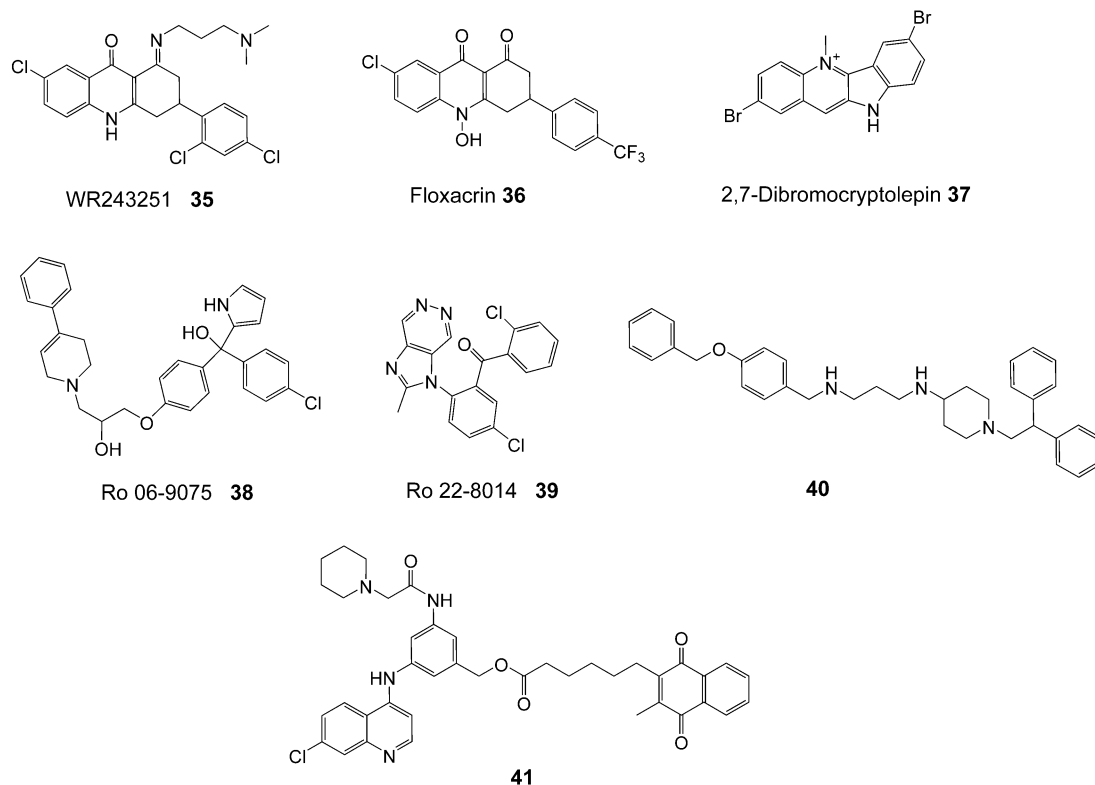


Abbildung 14. Neue Inhibitoren der Hämpolymerisation.

70 nm gegen einen Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm.

Zur Überwindung von Resistenzen gegen 4-Aminochinoline wurden hybride Wirkstoffvorstufen aus einem 4-Aminochinolin mit bekannter Antimalaria-Aktivität und einem Glutathion-Reduktase-Inhibitor synthetisiert.^[112] Beide Wirkstoffe sind durch eine biolabile Esterbrücke verknüpft. **41** (Abbildung 14) war in vitro auch gegen solche *P. falciparum*-Isolate aktiv, die resistent gegen den 4-Aminochinolin-Anteil waren. Außerdem wurde nach oraler Applikation von 40 mg kg⁻¹ der Verbindung eine signifikante Aktivität in *P. berghei*-infizierten Mäusen beobachtet.

Bei der Häm-Detoxifikation scheint neben der Polymerisation zu Hämozoïn auch ein Glutathion-abhängiger Abbau von Häm eine Rolle zu spielen. Daher könnte ein erhöhter intrazellulärer Gehalt an reduziertem Glutathion infolge erhöhter Glutathion-Reduktase-Aktivität an der Chloroquin-Resistenz beteiligt sein.^[113] Deshalb kann die Empfindlichkeit gegen Chloroquin (**5**) durch Glutathion-Reduktase-Inhibitoren wiederhergestellt werden.^[114] Darüber hinaus verfügen verschiedene Glutathion-Reduktase-Inhibitoren über intrinsische Antimalaria-Aktivität.^[4]

5.2. Neue Artemisinin-Derivate und Peroxide

Hinsichtlich ihrer raschen Wirkung sind die Artemisinin-Derivate allen übrigen Antimalaria-Wirkstoffen überlegen. Außerdem wurde noch keine natürliche Resistenzentwicklung gegen diese Substanzen beschrieben. Der Grund dafür liegt wahrscheinlich ähnlich wie bei den 4-Aminochinolin

darin, dass der Wirkmechanismus nicht von einem spezifischen Enzym-Target abhängt. Ein Nachteil der heute eingesetzten halbsynthetischen Artemisinin-Derivate besteht in ihrer hohen Hydrolyseempfindlichkeit und daher kurzen biologischen Halbwertszeit sowie der Freisetzung von potenziell toxischem Dihydroartemisinin (**14**). Deshalb zielen Arbeiten auf die Synthese hydrolysestabiler Derivate mit hoher Bioverfügbarkeit ab. Besonders in Hinblick auf die intravenöse Behandlung komplizierter Malaria wurde Artemisinsäure (**42**, Abbildung 15) entwickelt, die gut wasserlöslich und wesentlich stabiler als Artesunat (**17**) ist.^[115] Bei anderen Derivaten wie **43** wird die Wasserlöslichkeit durch eine Seitenkette mit einer Aminofunktion bewirkt.^[116] Das *p*-Trifluormethylphenoxy-Derivat **44** (Abbildung 15) erwies sich in einem Malaria-Mausmodell nach oraler Applikation als wirksamer als **17**.^[117] Weitere oral aktive, chemisch robuste Derivate sind bekannt, in denen wie in **45** die Seitenkette nicht über eine acetalische Verknüpfung mit der Artemisinin-Einheit verbunden ist.^[118] Um eine Anreicherung in der Nahrungsvakuole mithilfe des „Schwache-Basen-Effekts“ zu erreichen, wurden Derivate mit einem Piperazin-Ring in der Seitenkette synthetisiert. In *P. berghei*-infizierten Mäusen war **46** (Abbildung 15) zweimal aktiver als Artemether (**15**).^[119] Ausgehend von Artemisinin (**10**) wurden auch Trioxan-Dimere synthetisiert, die durch verschiedene Linker verbunden sind.^[120,121] Die dimere Verbindung **47** (Abbildung 15) zeigte in vitro gegen das Wachstum von *P. falciparum* eine IC₅₀ von 1.3 nM (**10**: 9.7 nM).^[120] Durch Vereinfachung des Artemisinin-Grundgerüsts wurden synthetische 3-Aryltrioxane wie **48** erhalten.^[122,123] In einem Malaria-Mausmodell zeigte **48** nach oraler Applikation etwa zweimal höhere Wirksamkeit als **10**.^[123]

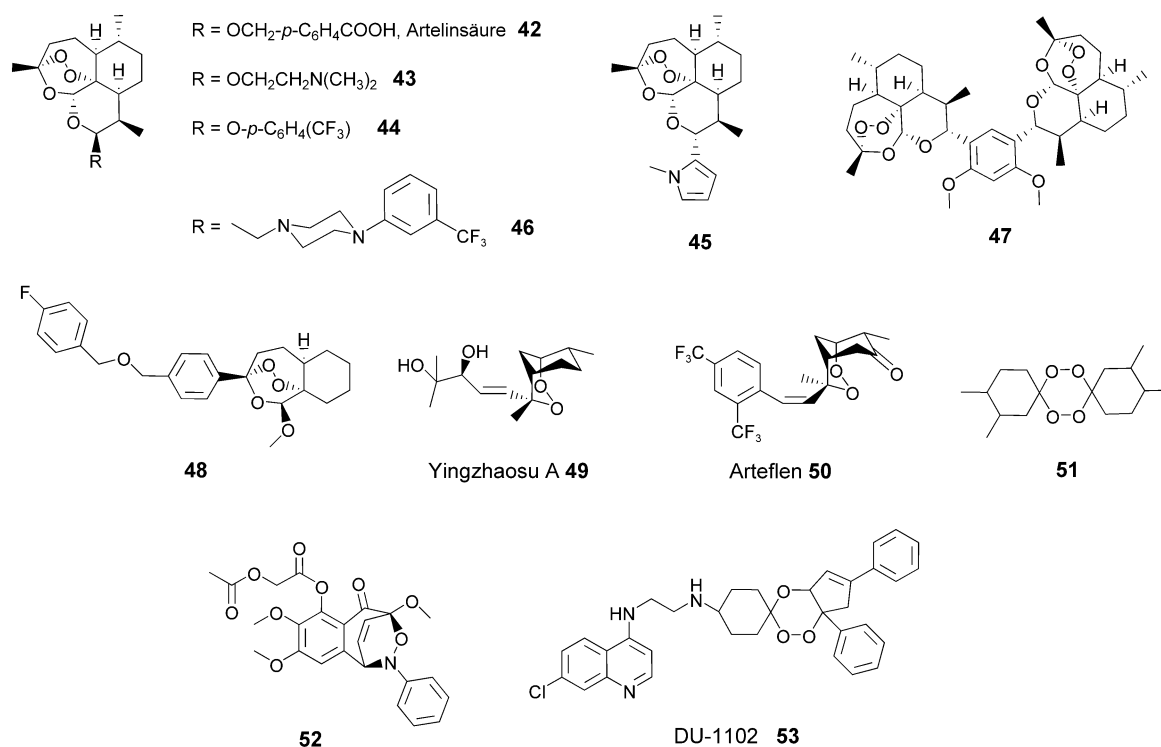


Abbildung 15. Neue Artemisinin-Derivate und Peroxide.

Wenn der Mechanismus der Artemisinin-Derivate auf Radikalbildung durch Spaltung der Peroxofunktion beruht, könnten auch Endoperoxide gegen Malaria wirksam sein, die sich nicht von Artemisinin ableiten. So verfügen auch Yingzhaosu A (**49**, Abbildung 15), das wie Artemisinin aus einer traditionellen chinesischen Heilpflanze (*Artemisia uncinatus*) isoliert wurde, und das synthetische Derivat Artefen (**50**) über signifikante Antimalaria-Aktivität.^[124] Nach vielversprechenden präklinischen Studien wurde Artefen bereits in Nigeria, Burkina Faso, Kamerun und Gabun an Patienten mit unkomplizierter Malaria getestet.^[125–128] Dabei erwies sich die klinische Effizienz allerdings als unzureichend, sodass die Weiterentwicklung eingestellt wurde – auch in Anbetracht der komplizierten Synthese.^[129]

Leichter zugänglich sind 1,2,4,5-Tetroxane wie **51** (Abbildung 15), die sich strukturell grundlegend von Artemisinin (**10**) unterscheiden.^[130] **51** zeigte nach oraler Applikation in *P. berghei*-infizierten Mäusen eine etwas höhere Aktivität als **10**, war aber weniger wirksam als Arteether (**16**). Auch verschiedene Oxazine wurden als potenzielle Antimalaria-Wirkstoffe synthetisiert; für die N-O-Bindung ist ebenfalls eine homolytische Spaltung möglich, da sie eine ähnliche Bindungsenergie hat wie die O-O-Bindung. Tatsächlich zeigten diese Verbindungen deutliche In-vitro-Aktivität gegen *P. falciparum*. Die Zytotoxizität konnte durch geeignete Substituenten verringert werden.^[131] **52** (Abbildung 15) inhibiert das Wachstum von *P. falciparum* mit $IC_{50} = 3.2 \mu M$, das Wachstum von Säugerzellen (KB-Zellen) dagegen nur mit $IC_{50} = 128 \mu M$.

Die Entwicklung so genannter Trioxaquine zielt darauf ab, die pharmakologischen Vorteile Artemisinin-ähnlicher Peroxide mit denen von 4-Aminochinolinen zu vereinigen. Diese Verbindungen sind kovalente Konjugate aus einer 4-Aminochinolin-Einheit und einem Trioxan. Die 4-Aminochinolin-Einheit soll zu einer Anreicherung in der Nahrungsvakuole führen, in der durch Hämoglobinabbau freigesetztes Fe^{II} -Häm zur Aktivierung des Trioxans führt. DU-1102 (**53**, Abbildung 15) ist das aktivste beschriebene Derivat; es ist hoch wirksam gegen Cloroquin-resistente *P. falciparum*-Stämme.^[132]

Viele Peroxide haben verschiedene weitere pharmakologische Wirkungen, wahrscheinlich wegen des relativ unspezifischen Wirkmechanismus. Häufig beschrieben wird eine antiproliferative und Antitumor-Aktivität, weshalb auch der Einsatz in der Krebsterapie diskutiert wird. Die pleiotropische Wirkung bedeutet aber eine mögliche Einschränkung für die Malariatherapie.

5.3. Protease-Inhibitoren

Die Parasiten verdauen während ihres Wachstums den größten Teil des Hämoglobins der Wirtserthrozyten. Dieser Hämoglobinabbau findet in der Nahrungsvakuole (Abbildung 3) statt und wird in halbgeordneter Weise durch verschiedene Proteasen katalysiert, die zum Teil gut charakterisiert und als rekombinante Proteine verfügbar sind. Die erste Spaltung des Hämoglobins erfolgt durch die Aspartat-Proteasen Plasmeypsin I, II, und IV.^[133,134] Weitere Proteasen

wie die Cystein-Protease Falcipain II, die Metalloprotease Falcilysin und eine ungewöhnliche Histidin-Aspartat-Protease (HAP) katalysieren den Abbau zu kleinen Peptiden, die schließlich ins Cytoplasma transportiert und zu einzelnen Aminosäuren gespalten werden.^[135,136] Die Histidin-Aspartat-Protease weist eine enge Verwandtschaft zu den Plasmeypsinen auf, jedoch ist eine der beiden katalytischen Asparaginsäure-Einheiten durch Histidin ersetzt.

Proteaseinhibitoren, die den Hämoglobinabbau inhibieren, stellen somit eine weitere Gruppe potenzieller Antimalaria-Wirkstoffe dar. Durch die Derivatisierung bekannter Inhibitoren von Cathepsin D, einer lysosomalen Aspartat-Protease der Säugerzelle, wurden spezifische Plasmeypsin-II-Inhibitoren erhalten.^[137] Die iterative Synthese kleiner gerichteter Substanzbibliotheken führte zu **54** (Abbildung 16) mit $IC_{50} = 4.3 \text{ nM}$ gegen Plasmeypsin II und 63 nM gegen Cathepsin D. Eine möglichst hohe Selektivität der Inhibitoren zugunsten von Plasmeypsin gegenüber Cathepsin D ist besonders wichtig, da Cathepsin D im Säuger praktisch ubiquitär ist und daher bei der Hemmung dieses Enzyms mit Nebenwirkungen zu rechnen ist. Die relativ hohe Potenz von Plasmeypsin-II-Inhibitoren wie **54** am isolierten Enzym lässt sich jedoch nur unvollständig auf eine Wirkung gegen das Wachstum von *P. falciparum* in vitro übertragen. Hier werden IC_{50} -Werte von nur $1\text{--}2 \mu M$ gemessen.

Mithilfe der Kristallstruktur von Plasmeypsin II unter Berücksichtigung einer hypothetischen Induced-fit-Anpassung, wie sie für das homologe Renin bekannt ist, wurden durch De-novo-Design Inhibitoren vom Typ **55** (Abbildung 16) entwickelt.^[138] **55** zeigt keine Aktivität gegen Renin, ist jedoch hoch aktiv gegen Plasmeypsin II ($IC_{50} = 2 \text{ nM}$). Die Selektivität bezüglich Cathepsin D und E ist allerdings wenig ausgeprägt (IC_{50} -Werte: 7 bzw. 4 nM).

Einige zunächst als Plasmeypsin-II-Inhibitoren beschriebene Substanzen wie Ro 42-1118 (**56**, Abbildung 16),^[139] haben eine $16\text{--}80$ -fach höhere Potenz gegenüber Plasmeypsin IV.^[134] Als besonders aktive Falcipain-II-Inhibitoren erwiesen sich verschiedene Peptidyl-Fluormethylketone und Peptidyl-Vinylsulfone. Diese Inhibitoren führen zum Absterben der Parasiten durch eine mikroskopisch erkennbare Anreicherung von unverdaulichem Hämoglobin in der Nahrungsvakuole.^[140] Die In-vitro- IC_{50} -Werte von **57** und **58** (Abbildung 16) betragen 4 nM bzw. 0.4 nM . Das Leben von *P. vinckei*-infizierten Mäusen konnte durch die orale Applikation beider Substanzen ($100\text{--}200 \text{ mg kg}^{-1}$ zweimal täglich) deutlich verlängert werden. Mögliche Einschränkungen für diese peptidischen Inhibitoren bestehen in ihrer Empfindlichkeit gegen Hydrolyse durch Wirtsproteasen, ihrer relativ geringen Selektivität und der irreversiblen Modifizierung der Target-Enzyme. Trotzdem scheint die Synthese derartiger Inhibitoren mit anwendungstauglichem toxikologischem und pharmakokinetischem Profil möglich.^[141]

Die Entwicklung nicht-peptidischer Inhibitoren führte zur Identifizierung von Chalconen und Phenothiazinen mit In-vitro-Aktivität gegen *P. falciparum*. Das aktivste beschriebene Chalcon, **59** (Abbildung 16), hat eine In-vitro- IC_{50} von 230 nM .^[142] Die Inhibition von Falcipain II durch das Phenothiazin **60** (Abbildung 16) konnte gezeigt werden (In-vitro- $IC_{50} = 4 \text{ nM}$), die Antimalaria-Aktivität wird aber offenbar

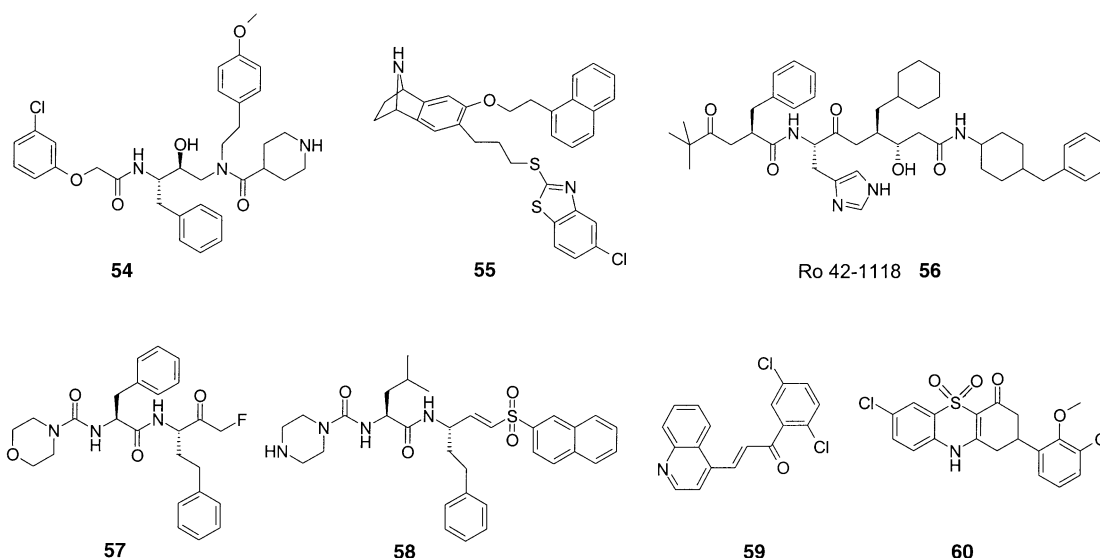


Abbildung 16. Protease-Inhibitoren.

von einem zweiten, nicht genau verstandenen, Floxacrin(36)-artigen Wirkmechanismus dominiert.^[143]

Eine Potenzierung der Antimalaria-Aktivität ist zu erwarten, wenn gleichzeitig verschiedene Proteasen inhibiert werden, die am Hämoglobin-Abbau beteiligt sind. Tatsächlich wurde für die Kombination eines Peptidyl-Vinylsulfons mit Pepstatin, einem unspezifischen Inhibitor für Aspartat-Proteasen, ein synergistischer Effekt beobachtet.^[144] Die Effektivität dieser Kombination konnte in *P. vinckei*-infizierten Mäusen gezeigt werden.

5.4. Inhibitoren der Fettsäuresynthese

Bei Tieren, Pilzen und einigen Mycobakterien sind die verschiedenen enzymatischen Funktionen der Fettsäuresynthese in einem einzigen großen Polypeptid, der Typ-I-Fettsäuresynthase (FAS-I), integriert. Im Unterschied dazu erfolgt bei Pflanzen und den meisten Bakterien die Fettsäuresynthese durch eine Reihe einzelner Enzyme;^[145] dieses System wird als Typ-II-Fettsäuresynthase (FAS-II) bezeichnet. Ein Typ-II-Fettsäuresynthase-System konnte auch für Malaria Parasiten nachgewiesen werden:^[146] Die Enzyme sind im Apicoplasten lokalisiert, ähnlich wie diejenigen der Isoprenoidsynthese (Abbildung 3). Das natürliche Antibiotikum Thiolactomycin (**61**, Abbildung 17) inhibiert die Enzyme FabB, FabF und FabH, die verschiedene Kondensationsschritte der Typ-II-Fettsäuresynthese katalysieren. **61** war in vitro gegen das Wachstum von *P. falciparum* mit $IC_{50} = 50 \mu M$ aktiv.^[146] Triclosan (**62**, Abbildung 17), ein Inhibitor der *trans*-2-Enoyl-ACP-Reduktase (FabI), ist deutlich aktiver ($IC_{50} \approx 1 \mu M$). Die Wirksamkeit von **62** konnte auch in *P. berghei*-infizierten Mäusen gezeigt werden: ED_{50} und ED_{90} bei subkutaner Injektion betrugen ca. 3 bzw. 30 $mg\ kg^{-1}$.^[147] **62** wirkt gegen ein breites Spektrum von Bakterien; es wird als Konservierungsmittel in Haushaltsprodukten wie Seifen und Zahnpasten verwendet, eignet sich jedoch nicht für die orale Applikation. Verschiedene Triclosan-Derivate wurden auf

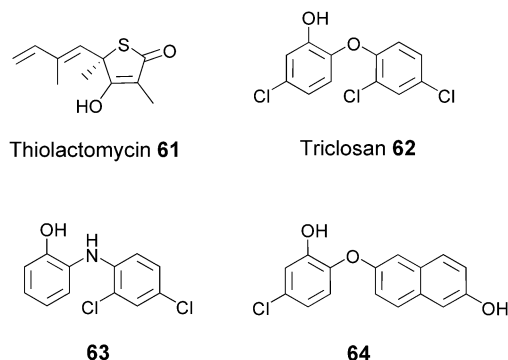


Abbildung 17. Inhibitoren der Fettsäuresynthese.

ihre Antimalaria-Aktivität getestet. Dabei zeigten **63** und **64** Aktivität gegen das rekombinante Enzym und das Wachstum von *P. falciparum* in vitro, waren aber weniger wirksam als **62**.^[148] Das rekombinante FabI-Protein von *P. falciparum* konnte kristallisiert und die Strukturen seines binären Komplexes mit dem Cosubstrat NADH und seiner ternären Komplexe mit NAD^+ und **62** bzw. den Derivaten **63** und **64** aufgeklärt werden.^[148]

5.5. Inhibitoren der Cholinaufnahme

Während der intraerythrozytären Entwicklung der Parasiten werden größere Mengen biologischer Membranen neu synthetisiert; als Membranlipid wird in erster Linie Phosphatidylcholin verwendet. Für die Synthese von Phosphatidylcholin nehmen die Parasiten Cholin aus dem Blutplasma auf. Verschiedene Cholinanaloga zeigen signifikante Antimalaria-Aktivität. Daher nimmt man an, dass sie die Aufnahme von Cholin über einen Transporter in der Membran der infizierten Erythrozyten (Abbildung 3) oder in der Plasmamembran der Parasiten inhibieren. Hohe Aktivitäten wurden mit quartären Ammoniumsalzen mit einem langen

Alkylrest erzielt (z. B. E10 (**65**), Abbildung 18, In-vitro-IC₅₀ = 64 nM).^[149]

Eine wesentliche Steigerung der Aktivität wurde durch die Synthese von Verbindungen erreicht, in denen zwei Ammoniumgruppen durch eine lange Alkylbrücke verknüpft sind. G25 (**66**, Abbildung 18, In-vitro-IC₅₀ = 0.64 nM) wirkt

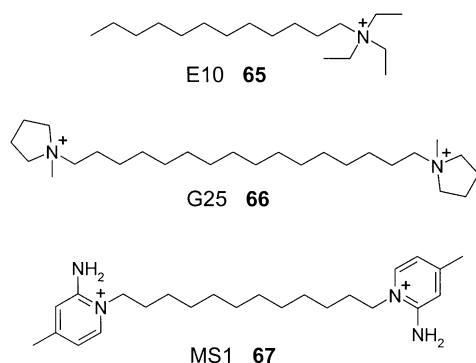


Abbildung 18. Inhibitoren der Cholinaufnahme.

nach intramuskulärer Applikation in Aotus-Affen gegen *P. falciparum* und in Rhesus-Affen gegen *P. cynomolgi*, eine *P. vivax*-ähnliche Parasitenspezies.^[150] Trotz der sehr schlechten Resorbierbarkeit dieser Verbindungen ist **66** bei einer höheren Dosis auch nach oraler Applikation im Affen gegen *P. falciparum* aktiv. Eine Verbesserung der oralen Bioverfügbarkeit wurde mit MS1 (**67**, Abbildung 18) erreicht, in dem die quartäre Ammoniofunktion durch eine aromatische Amidinium-Struktur ersetzt wurde.^[151] Die Resorbierbarkeit konnte in Disulfid- und Thioester-Wirkstoffvorstufen weiter verbessert werden. Durch Glutathion bzw. Esterasen oder Thioesterasen werden Thiazolium-Ringe gebildet, die die Funktion der quartären Ammoniofunktionen wahrnehmen (weder Strukturen noch Aktivitätsdaten dieser Verbindungen wurden berichtet).^[151] Eine mögliche Einschränkung dieser Substanzklasse besteht in der relativ hohen Toxizität aufgrund von Wechselwirkungen mit dem cholinergen System. Die Verträglichkeit der neuen Wirkstoffvorstufen soll wesentlich besser sein als die der quartären Ammoniumsalze.^[151]

5.6. Inhibitoren der Farnesyl-Transferase

Die Farnesyl-Transferase ist ein heterodimeres Zinkprotein, das die Übertragung einer Farnesylgruppe von Farnesylpyrophosphat auf eine Cysteinseitenkette in der Nähe des Carboxyterminus verschiedener Proteine katalysiert (Abbildung 19). In letzter Zeit wurden Inhibitoren der Farnesyl-Transferase vor allem als potenzielle Wirkstoffe für die Krebstherapie untersucht, da bestimmte Proteine der intrazellulären Signaltransduktion (kleine G-Proteine) nur aktiv sind, wenn sie über eine Farnesylgruppe in der Membran verankert sind.^[152–154] Bei den meisten Farnesyl-Transferase-Inhibitoren handelt es sich um Peptidmimetika, die die carboxyterminale CaaX-Erkennungssequenz (C: Cystein; a: Aminosäure mit aliphatischer Seitenkette; X: Serin oder

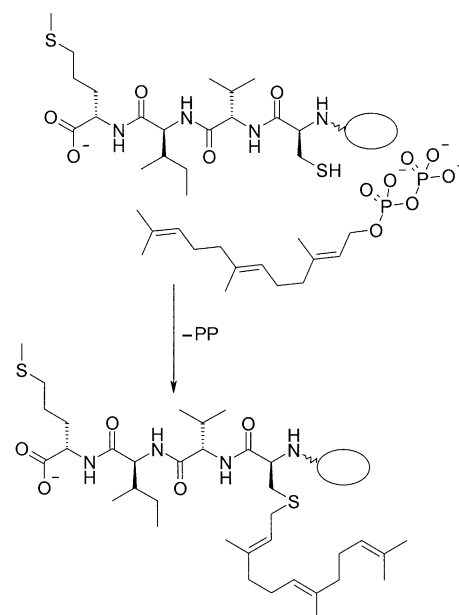


Abbildung 19. Die Reaktion der Farnesyl-Transferase. Das Substratprotein hat die Erkennungssequenz Cystein-Valin-Isoleucin-Methionin. (PP = Pyrophosphat).

Methionin) farnesylierter Proteine nachahmen. Den momentanen Entwicklungsstand für diese Wirkstoffklasse repräsentieren thiofreie Farnesyl-Transferase-Inhibitoren, bei denen die pharmakologisch ungünstige freie Thiofunktion früherer CaaX-Peptidmimetika durch andere Partialstrukturen ersetzt ist.^[155]

Eine Protein-Farnesylierung wurde auch bei parasitischen Protozoen der Gattungen *Trypanosoma*, *Leishmania* und *Plasmodium* nachgewiesen.^[156,157] Im Genom von *P. falciparum* konnten Sequenzen identifiziert werden, die für die beiden Untereinheiten der Farnesyl-Transferase codieren, ihre heterologe Expression ist aber noch nicht gelungen.^[158] Das Wachstum von *P. falciparum* wurde in vitro durch verschiedene Farnesyl-Transferase-Inhibitoren gehemmt.^[153,157] Aus einer Reihe von Farnesyl-Transferase-Inhibitoren, die von Sebti und Hamilton et al. entwickelt wurden, erwies sich das Biphenyl-Derivat FTI-2153 (**68**, Abbildung 20, IC₅₀ = 4.4 μM) als die Verbindung mit der besten In-vitro-Antimalaria-Aktivität.^[159] Ausgehend von der Kristallstruktur der Ratten-Farnesyl-Transferase wurden durch De-novo-Design hochaktive Benzophenon-basierte Farnesyl-Transferase-Inhibitoren entwickelt.^[160,161] In dieser Serie zeigte Schl-4116 (**69**, Abbildung 20) eine In-vitro-IC₅₀ von 75 nM gegen *P. falciparum*.^[162] Inzwischen wurden weitere Benzophenone mit verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften entwickelt. Mit diesen Wirkstoffen konnten *P. vinckei*-infizierte Mäuse geheilt werden.^[163]

Trotz der weitgehenden Sequenz-Homologie im Bereich des aktiven Zentrums von Farnesyl-Transferasen verschiedener Spezies scheint die Entwicklung selektiver Inhibitoren möglich. So konnte gezeigt werden, dass die Antimalaria-Aktivität einer Serie von Benzophenon-Derivaten nicht zwangsläufig mit einer Aktivität gegen die Hefe-Farnesyl-Transferase einhergeht.^[164]

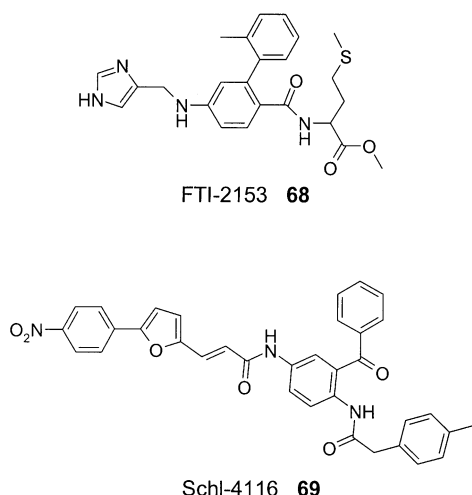


Abbildung 20. Inhibitoren der Farnesyl-Transferase.

5.7. Inhibitoren der Glycolyse

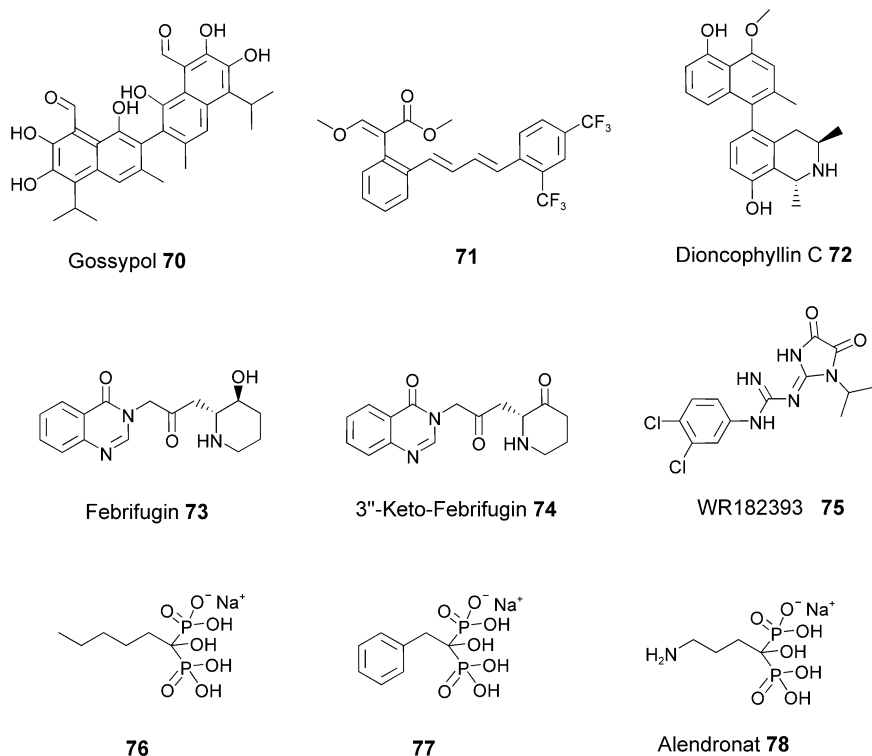
Da die Malariaparasiten nicht über einen funktionalen Citronensäurezyklus verfügen, hängt ihr Energiestoffwechsel in erster Linie von anaerober Glycolyse ab (Abbildung 3).^[165] Dabei muss NAD^+ durch Reduktion von Pyruvat zu Lactat regeneriert werden. Die Lactat-Dehydrogenase von *P. falciparum* ist als rekombinantes Protein verfügbar, eine hochauflösende Kristallstruktur ist bekannt. Hochdurchsatz-Screening sowie verschiedene strukturgestützte Entwicklungsansätze sollen bei der Suche nach spezifischen Inhibitoren helfen, die nicht gegen die humane Lactat-Dehydrogenase wirken.^[69] Die Identifizierung solcher Wirkstoffe scheint möglich, da sich die Strukturen von Säuger- und Parasiten-Enzym deutlich unterscheiden.^[166] Das aus Baumwollsaamen isolierte Disesquiterpen Gossypol (**70**, Abbildung 21) inhibiert die Lactat-Dehydrogenase und zeigt mäßige In-vitro-Antimalaria-Aktivität ($\text{IC}_{50} = 15\text{--}29\ \mu\text{M}$).^[167] Für die weitere Entwicklung müssen jedoch weniger toxische Derivate gefunden werden.

Auch die Kristallstrukturen zweier weiterer glycolytischer Enzyme aus *P. falciparum*, Fructose-1,6-diphosphat-Aldolase und Triosephosphat-Isomerase, konnten bestimmt werden.^[168,169] In beiden Fällen bestehen strukturelle Unterschiede zu den entsprechenden Säuger-Enzymen; dadurch sollte die Entwicklung spezifischer Inhibitoren möglich werden. Durch virtuelles Screening mit der Kristallstruktur von *P. falciparum*-Triosephosphat-Isomerase wurden einige anionische Farbstoffe mit Sulfonsäuregruppen identifiziert, die das Enzym mit IC_{50} -Werten zwischen $30.4\ \mu\text{M}$ (Kongorot) und $49.7\ \mu\text{M}$ (Direktrot 23) inhibieren.^[170]

5.8. Weitere neue Leitstrukturen

β -Methoxyacrylate werden als Fungizide in der Landwirtschaft eingesetzt. Diese Verbindungen inhibieren den mitochondrialen Elektronentransport über den Cytochrom-*c*-Reduktase-Komplex ähnlich wie Atovaquon (**23**, Abbildung 9). Deshalb wurde die Antimalaria-Aktivität einiger Derivate getestet.^[171] Die wirksamste Verbindung, **71** (Abbildung 21), zeigte eine In-vitro- IC_{50} von $0.06\ \text{nM}$ gegen einen Chloroquin-sensitiven und $0.13\ \text{nM}$ gegen einen Chloroquin-resistenten *P. falciparum*-Stamm. Dies sind die niedrigsten IC_{50} -Werte, die bisher für Antimalaria-Wirkstoffe berichtet wurden. In *P. berghei*-infizierten Mäusen war die Verbindung ca. 5-mal wirksamer als Chloroquin (**5**), aber 10-mal weniger wirksam als **23**. Allerdings wurde eine rasche Resistenzentwicklung gegen diese Substanzklasse beobachtet.^[15]

Tropische Lianen der *Dioncophyllaceae*- und *Ancistrocladaceae*-Familien werden in Afrika und Asien als traditionelle Heilpflanzen gegen Malaria verwendet. Aus diesen Pflanzen wurden Naphthylisochinolin-Alkaloide (Dioncophylline) mit potenter Antimalaria-Aktivität isoliert.^[172] Durch orale Applikation von $50\ \text{mg kg}^{-1}$ Dioncophyllin C (**72**, Abbildung 21) konnten *P. berghei*-infizierte Mäuse vollständig geheilt werden. Febrifugin (**73**) ist der aktive Bestandteil der chinesischen Heilpflanze *Dichora febrifuga*. Die Antimalaria-Aktivität von **73** konnte in vitro ($\text{IC}_{50} = 0.7\ \text{nM}$) und in vivo gezeigt werden, eine klinische Anwendung ist aber wegen starker Nebenwirkungen nicht möglich. 3''-Keto-Febrifugin (**74**, Abbildung 21), das wahrscheinlich auch als Metabolit von **73** auftritt, ist weniger toxisch und in

Abbildung 21. Weitere Leitstrukturen für neue Antimalariawirkstoffe (Für In-vivo-Tests wurde das Racemat von 3''-Ketofebrifugin (**74**) verwendet).

P.-berghei-infizierten Mäusen nach intraperitonealer Injektion etwas wirksamer als Chloroquin (5).^[173] Weder der Wirkmechanismus der Dioncophylline noch derjenige von 73 ist bekannt.

WR182393 (75, Abbildung 21) ist formal ein Chlorproguanil-Derivat, das nicht zu einem Dihydrofolat-Reduktase-Inhibitor cyclisiert werden kann. 75 ist ähnlich wie die 8-Aminochinoline Primaquin (30) und Pamaquin (3) gegen die Leberstadien der Parasiten wirksam, nicht aber gegen die Blutstadien.^[174] Sowohl die prophylaktische Aktivität als auch die Verhinderung von Rückfällen wurden in *P.-cynomolgi*-infizierten Affen nach intramuskulärer Injektion von je 31 mg kg⁻¹ an drei Tagen nachgewiesen.^[175]

Bisphosphonate dienen als Standardmedikation für die Behandlung und Prophylaxe der Osteoporose. Auch diese Verbindungen könnten Bedeutung als neue Antimalaria-Wirkstoffe erlangen. Bisphosphonate mit verschiedenen Seitenketten zeigten deutliche Aktivitäten gegen parasitische Protozoen der Gattungen *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Toxoplasma* und *Plasmodium*.^[176] Aus Struktur-Wirkungs-Beziehungen ergibt sich, dass Antimalaria-Aktivität nur beobachtet wird, wenn keine Stickstoffatome in der Seitenkette enthalten sind. Die In-vitro-IC₅₀-Werte von 76 und 77 liegen bei 5.1 µM bzw. 7.7 µM, dagegen wirkte Alendronat (78, Abbildung 21), das derzeit am häufigsten verwendete Bisphosphonat, bis zur höchsten Testkonzentration (200 µM) nicht gegen *P. falciparum*. Man geht davon aus, dass die antiparasitäre Wirkung der Bisphosphonate auf Inhibition der Farnesylpyrophosphat-Synthase beruht.

Die Übersichtsartikel von Oliaro und Yuthavong,^[177] Gutteridge,^[178] Chauhan und Srivastava^[179] sowie Gelb und Hol^[180] beschreiben weitere Targets und Leitstrukturen.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Die zunehmende Ausbreitung der Malaria sowie die Entwicklung von Resistenzen gegen herkömmliche Antimalaria-Wirkstoffe zwingt zur raschen Einführung neuer Wirkstoffe. Deshalb werden verschiedene seit langem bekannte Antimalaria-Wirkstoffe wie Chlorproguanil (25), Pyronaridin (28) und Tafenoquin (29) erstmals systematisch klinisch erprobt. Daneben werden Kombinationspräparate mit dem Artemisinin-Derivat Artesunat (17) entwickelt. Dabei ist der Wirkmechanismus von 28 und 17 nicht vollständig verstanden, derjenige von 29 liegt praktisch völlig im Dunkeln. Fosmidomycin (31) ist der einzige Wirkstoff in klinischer Erprobung, der einer neuen Substanzklasse angehört und dessen Wirkmechanismus bekannt ist. Auch in der präklinischen Forschung ist die Untersuchung lange bekannter Substanzklassen und Targets weiterhin erfolversprechend. Dies gilt besonders für die 4-Aminochinoline und Inhibitoren der Hämpolymerisation sowie für Artemisinin-Derivate und Peroxide. Aber gerade bei Peroxiden besteht die Gefahr von Nebenwirkungen wegen des wenig spezifischen radikalischen Wirkmechanismus. Verschiedene Proteaseinhibitoren, Inhibitoren der Cholinaufnahme und der Farnesyl-Transferase zeigen vielversprechende Aktivitäten in vitro und in Tiermodellen. Da jedoch ähnliche Zielstrukturen beim Menschen

existieren, muss bei der zukünftigen Entwicklung eine hohe Selektivität für die Enzyme der Malaria-Parasiten gewährleistet sein. Dieselbe Problematik besteht auch bei der Entwicklung von Inhibitoren der Glycolyse. Die klinische Anwendung eines vollständig durch rationales Design entwickelten Wirkstoffs ist in naher Zukunft noch nicht in Sicht. Die Entdeckung des Typ-II-Fettsäuresynthese-Systems sowie des Mevalonat-unabhängigen Isoprenoid-Synthesewegs haben aber gezeigt, wie in der Grundlagenforschung mithilfe von Genomsequenzdaten neue Targets identifiziert und zur raschen Entwicklung neuer Wirkstoffe genutzt werden können.

7. Abkürzungsverzeichnis

ED₅₀ Dosis, bei der 50 % der Prüforganismen eine erkennbare Wirkung zeigen.

ED₉₀ Dosis, bei der 90 % der Prüforganismen eine erkennbare Wirkung zeigen.

IC₅₀ Konzentration, die 50 % Inhibierung bewirkt.

LD₅₀ Letale Dosis für 50 % der Versuchstiere.

Eingegangen am 27. Dezember 2002 [A569]

- [1] S. R. Meshnick, M. J. Dobson in *Antimalarial Chemotherapy* (Hrsg.: P. J. Rosenthal), Humana Press, Totowa, NJ, **2001**, S. 15–25.
- [2] P. Guttman, P. Ehrlich, *Berl. Klin. Wochenschr.* **1891**, 28, 953–956.
- [3] J. L. Vennerstrom, M. T. Makler, C. K. Angerhofer, J. A. Williams, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, 39, 2671–2677.
- [4] P. M. Farber, L. D. Arscott, C. H. Williams, Jr., K. Becker, R. H. Schirmer, *FEBS Lett.* **1998**, 422, 311–314.
- [5] D. Greenwood, *J. Antimicrob. Chemother.* **1995**, 36, 857–872.
- [6] D. L. Klayman, *Science* **1985**, 228, 1049–1055.
- [7] A. Bishop, *Parasitology* **1942**, 34, 1–54.
- [8] W. Peters, *Chemotherapy and Drug Resistance in Malaria*, Academic Press, New York, **1970**, S. 64–136.
- [9] W. Trager, J. B. Jensen, *Science* **1976**, 193, 673–675.
- [10] A. Bahl, B. Brunk, R. L. Coppel, J. Crabtree, S. J. Diskin, M. J. Fraunholz, G. R. Grant, D. Gupta, R. L. Huestis, J. C. Kissinger, P. Labo, L. Li, S. K. McWeeney, A. J. Milgram, D. S. Roos, J. Schug, C. J. Stoeckert, Jr., *Nucleic Acids Res.* **2002**, 30, 87–90.
- [11] P. B. Bloland, *Drug Resistance in Malaria*, World Health Organization, Geneva, **2001**, Report No. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.4.
- [12] B. Greenwood, T. Mutabingwa, *Nature* **2002**, 415, 670–672.
- [13] R. G. Ridley, *Lancet Infect. Dis.* **2002**, 2, 54–59.
- [14] W. E. Gutteridge, *Parassitologia* **1999**, 41, 449–452.
- [15] R. G. Ridley, *Nature* **2002**, 415, 686–693.
- [16] K. C. Kain, G. D. Shanks, J. S. Keystone, *Clin. Infect. Dis.* **2001**, 33, 226–234.
- [17] P. Newton, N. White, *Annu. Rev. Med.* **1999**, 50, 179–192.
- [18] C. P. Sanchez, M. Lanzer, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2000**, 13, 653–658.
- [19] H. Ginsburg, S. A. Ward, P. G. Bray, *Parasitol. Today* **1999**, 15, 357–360.
- [20] P. Loria, S. Miller, M. Foley, L. Tilley, *Biochem. J.* **1999**, 339, 363–370.
- [21] O. Famin, M. Krugliak, H. Ginsburg, *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 58, 59–68.
- [22] M. Foley, L. Tilley, *Pharmacol. Ther.* **1998**, 79, 55–87.

- [23] O. Famin, H. Ginsburg, *Biochem. Pharmacol.* **2002**, *63*, 393–398.
- [24] a) G. A. Balint, *Pharmacol. Ther.* **2001**, *90*, 261–265; b) zur Konfiguration von **14** und **17**: T. Klopp, C. Schroer, K. Bathe, M. Frieß, Pharmazeutische Stoffliste, 13. Aufl., ABDATA Pharma-Daten-Service, Eschborn/Taunus, **2002**; *The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals* (Hrsg.: M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, J. R. Obenchain, J. A. R. Gallipeau, M. A. D'Arecca), 13th ed., Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, **2001**; *Index Nominum, International Drug Directory* (Hrsg.: Schweizerischer Apothekerverein), Medpharm Scientific, Stuttgart, **2000**; X. D. Luo, H. J. C. Yeh, A. Brossi, J. L. Flippen-Anderson, R. Gilardi, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 1515–1522; A. Brossi, B. Venugopalan, L. D. Gerpe, H. J. C. Yeh, J. L. Flippen-Anderson, P. Buchs, X. D. Luo, W. Milhous, W. Peters, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 645–650; P. M. O'Neill, F. Scheinmann, A. V. Stachulski, J. L. Maggs, B. K. Park, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1467–1470; A. J. Lin, A. B. Zikry, D. E. Kyle, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1396–1400.
- [25] R. N. Price, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2000**, *9*, 1815–1827.
- [26] D. A. Warrell, *Parassitologia* **1999**, *41*, 287–294.
- [27] Artemether-Quinine Meta-Analysis Study Group, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *95*, 637–650.
- [28] I. R. Ribeiro, P. Oliario, *Med. Trop.* **1998**, *58*, 50–53.
- [29] R. McGready, T. Cho, N. K. Keo, K. L. Thwai, L. Villegas, S. Looareesuwan, N. J. White, F. Nosten, *Clin. Infect. Dis.* **2001**, *33*, 2009–2016.
- [30] E. Leonardi, G. Gilvary, N. J. White, F. Nosten, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *95*, 182–183.
- [31] P. L. Oliario, R. K. Haynes, B. Meunier, Y. Yuthavong, *Trends Parasitol.* **2001**, *17*, 122–126.
- [32] J. Cazelles, A. Robert, B. Meunier, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 609–619.
- [33] J. Bisutthibhan, X. Q. Pan, P. A. Hossler, D. J. Walker, C. A. Yowell, J. Carlton, J. B. Dame, S. R. Meshnick, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 16192–16198.
- [34] M. E. Fichera, D. S. Roos, *Nature* **1997**, *390*, 407–409.
- [35] S. Kohler, C. F. Delwiche, P. W. Denny, L. G. Tilney, P. Webster, R. J. Wilson, J. D. Palmer, D. S. Roos, *Science* **1997**, *275*, 1485–1489.
- [36] R. J. Wilson, *J. Mol. Biol.* **2002**, *319*, 257–274.
- [37] S. A. Ralph, M. C. D'Ombain, G. I. McFadden, *Drug Resist. Updates* **2001**, *4*, 145–151.
- [38] S. Pukrittayakamee, R. Clemens, A. Chantira, A. Nontprasert, T. Luknam, S. Looareesuwan, N. J. White, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *95*, 524–528.
- [39] B. Lell, P. G. Kremsner, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 2315–2320.
- [40] W. R. Taylor, T. L. Richie, D. J. Fryauff, H. Picarima, C. Ohrt, D. Tang, D. Braitman, G. S. Murphy, H. Widjaja, E. Tjitra, A. Ganjar, T. R. Jones, H. Basri, J. Berman, *Clin. Infect. Dis.* **1999**, *28*, 74–81.
- [41] A. A. Omari, C. Preston, P. Garner, *Cochrane Database Syst. Rev.* **2002**, *3*, CD003125.
- [42] M. van Agtmael, O. Bouchaud, D. Malvy, J. Delmont, M. Danis, S. Barette, C. Gras, J. Bernard, J. E. Touze, I. Gathmann, R. Mull, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1999**, *12*, 159–169.
- [43] M. Hassan Alin, A. Bjorkman, W. H. Wernsdorfer, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1999**, *61*, 439–445.
- [44] G. Lefevre, S. Looareesuwan, S. Treeprasertsuk, S. Krudsood, U. Silachamroon, I. Gathmann, R. Mull, R. Bakshi, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *64*, 247–256.
- [45] S. Looareesuwan, J. D. Chulay, C. J. Canfield, D. B. Hutchinson, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1999**, *60*, 533–541.
- [46] Atovaquone + Proguanil for Malaria Prophylaxis, *Drug Ther. Bull.* **2001**, *39*, 73–75.
- [47] M. Fry, M. Pudney, *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *43*, 1545–1553.
- [48] I. K. Srivastava, J. M. Morrissey, E. Darrouzet, F. Daldal, A. B. Vaidya, *Mol. Microbiol.* **1999**, *33*, 704–711.
- [49] C. J. Canfield, M. Pudney, W. E. Gutteridge, *Exp. Parasitol.* **1995**, *80*, 373–381.
- [50] D. A. Fidock, T. Nomura, T. E. Wellems, *Mol. Pharmacol.* **1998**, *54*, 1140–1147.
- [51] I. K. Srivastava, A. B. Vaidya, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*, 1334–1339.
- [52] J. D. Berman, R. Nielsen, J. D. Chulay, M. Dowler, K. C. Kain, K. E. Kester, J. Williams, A. C. Whelen, M. J. Shmuklarsky, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2001**, *95*, 429–432.
- [53] Q. L. Fivelman, G. A. Butcher, I. S. Adagu, D. C. Warhurst, G. Pasvol, *Malar. J.* **2002**, *1*, 1.
- [54] P. Winstanley, *Trop. Med. Int. Health* **2001**, *6*, 952–954.
- [55] J. Curtis, M. T. Duraisingh, D. C. Warhurst, *J. Infect. Dis.* **1998**, *177*, 1429–1433.
- [56] A. M. Nzila, E. Nduati, E. K. Mberu, C. Hopkins Sibley, S. A. Monks, P. A. Winstanley, W. M. Watkins, *J. Infect. Dis.* **2000**, *181*, 2023–2028.
- [57] W. M. Watkins, A. D. Brandling-Bennett, C. G. Nevill, J. Y. Carter, D. A. Boriga, R. E. Howells, D. K. Koech, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1988**, *82*, 398–403.
- [58] E. Amukoye, P. A. Winstanley, W. M. Watkins, R. W. Snow, J. Hatcher, M. Mosobo, E. Ngumbao, B. Lowe, M. Ton, G. Minyiri, K. Marsh, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2261–2264.
- [59] T. Mutabingwa, A. Nzila, E. Mberu, E. Nduati, P. Winstanley, E. Hills, W. Watkins, *Lancet* **2001**, *358*, 1218–1223.
- [60] J. G. Kublin, F. K. Dzinjalimala, D. D. Kamwendo, E. M. Malkin, J. F. Cortese, L. M. Martino, R. A. Mukadam, S. J. Rogerson, A. G. Lescano, M. E. Molyneux, P. A. Winstanley, P. Chimpeni, T. E. Taylor, C. V. Plowe, *J. Infect. Dis.* **2002**, *185*, 380–388.
- [61] P. Wilairatana, D. E. Kyle, S. Looareesuwan, K. Chinwongprom, S. Amradee, N. J. White, W. M. Watkins, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1997**, *91*, 125–132.
- [62] B. Khan, S. Omar, J. N. Kanyara, M. Warren-Perry, J. Nyalwidhe, D. S. Peterson, T. Wellems, S. Kaniaru, J. Gitonga, F. J. Mulaa, D. K. Koech, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1997**, *91*, 456–460.
- [63] M. D. Edstein, S. Bahr, B. Kotecka, G. D. Shanks, K. H. Rieckmann, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2300–2301.
- [64] P. L. Oliario, W. K. Milhous in *Antimalarial Chemotherapy* (Hrsg.: P. J. Rosenthal), Humana Press, Totowa, NJ, **2001**, S. 219–232.
- [65] P. Ringwald, J. Bickii, L. Basco, *Lancet* **1996**, *347*, 24–28.
- [66] P. Ringwald, J. Bickii, L. K. Basco, *Clin. Infect. Dis.* **1998**, *26*, 946–953.
- [67] S. Looareesuwan, D. E. Kyle, C. Viravan, S. Vanijanonta, P. Wilairatana, W. H. Wernsdorfer, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1996**, *54*, 205–209.
- [68] S. Looareesuwan, P. Oliario, D. Kyle, W. Wernsdorfer, *Lancet* **1996**, *347*, 1189–1190.
- [69] MMV – Medicines for Malaria Venture, Annual report **2000**.
- [70] S. Gupta, M. M. Thapar, S. T. Mariga, W. H. Wernsdorfer, A. Bjorkman, *Exp. Parasitol.* **2002**, *100*, 28–35.
- [71] G. D. Shanks, K. C. Kain, J. S. Keystone, *Clin. Infect. Dis.* **2001**, *33*, 381–385.
- [72] R. P. Brueckner, C. Ohrt, J. K. Braid, W. Milhous in *Antimalarial Chemotherapy* (Hrsg.: P. J. Rosenthal), Humana Press, Totowa, NJ, **2001**, S. 123–125.
- [73] R. P. Brueckner, T. Coster, D. L. Wesche, M. Shmuklarsky, B. G. Schuster, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 1293–1294.

- [74] B. Lell, J. F. Faucher, M. A. Missinou, S. Borrmann, O. Dangelmaier, J. Horton, P. G. Kremsner, *Lancet* **2000**, 355, 2041–2045.
- [75] G. D. Shanks, A. J. Oloo, G. M. Aleman, C. Ohrt, F. W. Klotz, D. Braitman, J. Horton, R. P. Brueckner, *Clin. Infect. Dis.* **2001**, 33, 1968–1974.
- [76] D. S. Walsh, S. Looareesuwan, P. Wilairatana, D. G. Heppner, Jr., D. B. Tang, T. G. Brewer, W. Chokejindachai, P. Viriyavejakul, D. E. Kyle, W. K. Milhous, B. G. Schuster, J. Horton, D. J. Braitman, R. P. Brueckner, *J. Infect. Dis.* **1999**, 180, 1282–1287.
- [77] N. Obaldia III, R. N. Rossan, R. D. Cooper, D. E. Kyle, E. O. Nuzum, K. H. Rieckmann, G. D. Shanks, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1997**, 56, 508–510.
- [78] H. Jomaa, J. Wiesner, S. Sanderbrand, B. Altincicek, C. Weidemeyer, M. Hintz, I. Turbachova, M. Eberl, J. Zeidler, H. K. Lichtenthaler, D. Soldati, E. Beck, *Science* **1999**, 285, 1573–1576.
- [79] M. Rohmer, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 565–574.
- [80] H. P. Kummerle, T. Murakawa, H. Sakamoto, N. Sato, T. Konishi, F. De Santis, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **1985**, 23, 521–528.
- [81] J. Zeidler, J. Schwender, C. Müller, J. Wiesner, C. Weidemeyer, E. Beck, H. Jomaa, H. K. Lichtenthaler, *Z. Naturforsch. C* **1998**, 53, 980–986.
- [82] T. Kuzuyama, T. Shizimu, S. Takahashi, H. Seto, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7913–7916.
- [83] J. Wiesner, M. Hintz, B. Altincicek, S. Sanderbrand, C. Weidemeyer, E. Beck, H. Jomaa, *Exp. Parasitol.* **2000**, 96, 182–186.
- [84] A. T. Koppisch, D. T. Fox, B. S. Blagg, C. D. Poulter, *Biochemistry* **2002**, 41, 236–243.
- [85] K. Reuter, S. Sanderbrand, H. Jomaa, J. Wiesner, I. Steinbrecher, E. Beck, M. Hintz, G. Klebe, M. T. Stubbs, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 5378–5384.
- [86] S. Yajima, T. Nonaka, T. Kuzuyama, H. Seto, K. Ohsawa, *J. Biochem. (Tokyo)* **2002**, 131, 313–317.
- [87] K. Silber, G. Klebe, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [88] B. Lell, R. Ruangweerayut, J. Wiesner, M. A. Missinou, A. Schindler, T. Baranek, M. Hintz, D. Hutchinson, H. Jomaa, P. G. Kremsner, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, 47, 735–738.
- [89] M. A. Missinou, S. Borrmann, A. Schindler, S. Issifou, A. Adegnik, P. B. Matsiegui, R. Binder, B. Lell, J. Wiesner, T. Baranek, H. Jomaa, P. G. Kremsner, *Lancet* **2002**, 360, 1941–1942.
- [90] J. Wiesner, D. Henschker, D. B. Hutchinson, E. Beck, H. Jomaa, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, 46, 2889–2894.
- [91] H. Jomaa, P. G. Kremsner, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [92] T. Tsuchiya, K. Ishibashi, M. Terakawa, M. Nishiyama, N. Itoh, H. Noguchi, *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **1982**, 7, 59–64.
- [93] A. Reichenberg, J. Wiesner, C. Weidemeyer, E. Dreiseidler, S. Sanderbrand, B. Altincicek, E. Beck, M. Schlitzer, H. Jomaa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 833–835.
- [94] R. Ortmann, J. Wiesner, A. Reichenberg, D. Henschker, E. Beck, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 2163–2166.
- [95] T. E. Wellems, C. V. Plowe, *J. Infect. Dis.* **2001**, 184, 770–776.
- [96] S. Delarue, S. Girault, L. Maes, M. A. Debreu-Fontaine, M. Labaied, P. Grellier, C. Sergheraert, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2827–2833.
- [97] S. Girault, P. Grellier, A. Berecibar, L. Maes, P. Lemiere, E. Mouray, E. Davioud-Charvet, C. Sergheraert, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 1658–1665.
- [98] Übersichtsartikel: P. M. O'Neill, P. G. Bray, S. R. Hawley, S. A. Ward, B. K. Park, *Pharmacol. Ther.* **1998**, 77, 29–58.
- [99] H. Ginsburg, E. Nissani, M. Krugliak, *Biochem. Pharmacol.* **1989**, 38, 2645–2654.
- [100] L. K. Basco, G. Peytavin, F. Gimenez, B. Genissel, R. Farinotti, J. Le Bras, *Trop. Med. Parasitol.* **1994**, 45, 45–46.
- [101] D. L. Wesche, B. G. Schuster, W. X. Wang, R. L. Woosley, *Clin. Pharmacol. Ther.* **2000**, 67, 521–529.
- [102] H. Noedl, T. Allmendinger, S. Prajakwong, G. Wernsdorfer, W. H. Wernsdorfer, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, 45, 2106–2109.
- [103] J. Berman, L. Brown, R. Miller, S. L. Andersen, P. McGreevy, B. G. Schuster, W. Ellis, A. Ager, R. Rossan, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38, 1753–1756.
- [104] R. E. Coleman, N. Polska, N. Eikarat, T. M. Kollars, Jr., J. Sattabongkot, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2001**, 65, 214–218.
- [105] A. Dorn, J. P. Scovill, W. Y. Ellis, H. Matile, R. G. Ridley, J. L. Vennerstrom, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2001**, 65, 19–20.
- [106] E. Suswam, D. Kyle, N. Lang-Unnasch, *Exp. Parasitol.* **2001**, 98, 180–187.
- [107] C. W. Wright, J. Addae-Kyereme, A. G. Breen, J. E. Brown, M. F. Cox, S. L. Croft, Y. Gokcek, H. Kendrick, R. M. Phillips, P. L. Pollet, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3187–3194.
- [108] J. N. Lisgarten, M. Coll, J. Portugal, C. W. Wright, J. Aymami, *Nat. Struct. Biol.* **2002**, 9, 57–60.
- [109] Y. Kurosawa, A. Dorn, M. Kitsuji-Shirane, H. Shimada, T. Satoh, H. Matile, W. Hofheinz, R. Masciadri, M. Kansy, R. G. Ridley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 2638–2644.
- [110] K. M. Brinner, J. M. Kim, H. Habashita, I. Y. Gluzman, D. E. Goldberg, J. A. Ellman, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 3649–3661.
- [111] C. Y. H. Choi, E. L. Schneider, J. M. Kim, I. Y. Gluzman, D. E. Goldberg, J. A. Ellman, M. A. Marletta, *Chem. Biol.* **2002**, 9, 881–889.
- [112] E. Davioud-Charvet, S. Delarue, C. Biot, B. Schwobel, C. C. Boehme, A. Mussigbrodt, L. Maes, C. Sergheraert, P. Grellier, R. H. Schirmer, K. Becker, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 4268–4276.
- [113] H. Atamna, H. Ginsburg, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 24876–24883.
- [114] H. Ginsburg, O. Famin, J. Zhang, M. Krugliak, *Biochem. Pharmacol.* **1998**, 56, 1305–1313.
- [115] Q. G. Li, J. O. Peggins, A. J. Lin, K. J. Masonic, K. M. Trotman, T. G. Brewer, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1998**, 92, 332–340.
- [116] Y. Li, Y. M. Zhu, H. J. Jiang, J. P. Pan, G. S. Wu, J. M. Wu, Y. L. Shi, J. D. Yang, B. A. Wu, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 1635–1640.
- [117] P. M. O'Neill, A. Miller, L. P. Bishop, S. Hindley, J. L. Maggs, S. A. Ward, S. M. Roberts, F. Scheinmann, A. V. Stachulski, G. H. Posner, B. K. Park, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 58–68.
- [118] G. H. Posner, M. H. Parker, J. Northrop, J. S. Elias, P. Ploypradith, S. Xie, T. A. Shapiro, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 300–304.
- [119] S. Hindley, S. A. Ward, R. C. Storr, N. L. Searle, P. G. Bray, B. K. Park, J. Davies, P. M. O'Neill, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1052–1063.
- [120] G. H. Posner, P. Ploypradith, M. H. Parker, H. O'Dowd, S. H. Woo, J. Northrop, M. Krasavin, P. Dolan, T. W. Kensler, S. Xie, T. A. Shapiro, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4275–4280.
- [121] G. H. Posner, J. Northrop, I. H. Paik, K. Borstnik, P. Dolan, T. W. Kensler, S. Xie, T. A. Shapiro, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 227–232.
- [122] G. H. Posner, H. B. Jeon, M. H. Parker, M. Krasavin, I. H. Paik, T. A. Shapiro, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3054–3058.
- [123] G. H. Posner, J. N. Cumming, S. H. Woo, P. Ploypradith, S. Xie, T. A. Shapiro, *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 940–951.
- [124] A. M. Szpilman, E. E. Korshin, R. Hoos, G. H. Posner, M. D. Bachi, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 6531–6540.
- [125] E. Weidekamm, E. Dumont, C. Jaquet, *Trop. Med. Parasitol.* **1994**, 45, 278–283.

- [126] L. A. Salako, R. Guiguemde, M. L. Mittelholzer, L. Haller, F. Sorenson, D. Sturchler, *Trop. Med. Parasitol.* **1994**, *45*, 284–287.
- [127] R. Somo-Moyou, M. L. Mittelholzer, F. Sorenson, L. Haller, D. Sturchler, *Trop. Med. Parasitol.* **1994**, *45*, 288–291.
- [128] P. D. Radloff, J. Philipps, M. Nkeyi, D. Sturchler, M. L. Mittelholzer, P. G. Kremsner, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1996**, *55*, 259–262.
- [129] G. H. Posner, M. Kravasin, M. McCutchen, P. Ploypradith, J. P. Maxwell, J. S. Elias, M. H. Parker in *Antimalarial Chemotherapy* (Hrsg.: P. J. Rosenthal), Humana Press, Totowa, NJ, **2001**, S. 255–263.
- [130] J. L. Vennerstrom, Y. Dong, S. L. Andersen, A. L. Ager, Jr., H. Fu, R. E. Miller, D. L. Wesche, D. E. Kyle, L. Gerena, S. M. Walters, J. K. Wood, G. Edwards, A. D. Holme, W. G. McLean, W. K. Milhous, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2753–2758.
- [131] H. Ren, S. Grady, D. Gamenara, H. Heinzen, P. Moyna, S. L. Croft, H. Kendrick, V. Yardley, G. Moyna, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1851–1854.
- [132] L. K. Basco, O. Dechy-Cabaret, M. Ndounga, F. S. Meche, A. Robert, B. Meunier, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1886–1888.
- [133] G. H. Coombs, D. E. Goldberg, M. Klemba, C. Berry, J. Kay, J. C. Mottram, *Trends Parasitol.* **2001**, *17*, 532–537.
- [134] D. M. Wyatt, C. Berry, *FEBS Lett.* **2002**, *513*, 159–162.
- [135] K. K. Eggleston, K. L. Duffin, D. E. Goldberg, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 32411–32417.
- [136] R. Banerjee, J. Liu, W. Beatty, L. Pelosof, M. Klemba, D. E. Goldberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 990–995.
- [137] T. S. Haque, A. G. Skillman, C. E. Lee, H. Habashita, I. Y. Gluzman, T. J. Ewing, D. E. Goldberg, I. D. Kuntz, J. A. Ellman, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1428–1440.
- [138] D. A. Carcache, S. R. Hörtner, A. Bertogg, C. Binkert, D. Bur, H. P. Märki, A. Dorn, F. Diederich, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 1137–1141.
- [139] R. P. Moon, L. Tyas, U. Certa, K. Rupp, D. Bur, C. Jaquet, H. Matile, H.-R. Loetscher, F. Grueninger-Leitch, J. Kay, B. M. Dunn, C. Berry, R. G. Ridley, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *244*, 552–560.
- [140] J. E. Olson, G. K. Lee, A. Semenov, P. J. Rosenthal, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 633–638.
- [141] J. H. McKerrow, *Int. J. Parasitol.* **1999**, *29*, 833–837.
- [142] R. Li, G. L. Kenyon, F. E. Cohen, X. Chen, B. Gong, J. N. Dominguez, E. Davidson, G. Kurzban, R. E. Miller, E. O. Nuzum, P. J. Rosenthal, J. H. McKerrow, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 5031–5037.
- [143] J. N. Dominguez, S. Lopez, J. Charris, L. Iarruso, G. Lobo, A. Semenov, J. E. Olson, P. J. Rosenthal, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2726–2732.
- [144] A. Semenov, J. E. Olson, P. J. Rosenthal, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 2254–2258.
- [145] R. J. Heath, S. W. White, C. O. Rock, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *58*, 695–703.
- [146] R. F. Waller, P. J. Keeling, R. G. Donald, B. Striepen, E. Handman, N. Lang-Unnasch, A. F. Cowman, G. S. Besra, D. S. Roos, G. I. McFadden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 12352–12357.
- [147] N. Suroli, A. Suroli, *Nat. Med.* **2001**, *7*, 167–173.
- [148] R. Perozzo, M. Kuo, A. S. Sidhu, J. T. Valiyaveetil, R. Bittman, W. R. Jacobs, Jr., D. A. Fidock, J. C. Sacchettini, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 13106–13114.
- [149] M. Calas, M. L. Ancelin, G. Cordina, P. Portefaix, G. Piquet, V. Vidal-Sailhan, H. Vial, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 505–516.
- [150] K. Wengelnik, V. Vidal, M. L. Ancelin, A. M. Cathiard, J. L. Morgat, C. H. Kocken, M. Calas, S. Herrera, A. W. Thomas, H. J. Vial, *Science* **2002**, *295*, 1311–1314.
- [151] J. H. Vial, M. Calas in *Antimalarial Chemotherapy* (Hrsg.: P. J. Rosenthal), Humana Press, Totowa, NJ, **2001**, S. 347–365.
- [152] A. Wittinghofer, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4360–4383; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4192–4214.
- [153] J. Ohkanda, D. B. Knowles, M. A. Blaskovich, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 303–323.
- [154] P. Haluska, G. Dy, A. Adjei, *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 1685.
- [155] M. Schlitzer, *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 1713–1721.
- [156] F. S. Buckner, K. Yokoyama, L. Nguyen, A. Grewal, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, C. L. Strickland, L. Xiao, W. C. Van Voorhis, M. H. Gelb, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21870–21876.
- [157] D. Chakrabarti, T. Azam, C. DelVecchio, L. Qiu, Y. L. Park, C. M. Allen, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1998**, *94*, 175–184.
- [158] D. Chakrabarti, T. Da Silva, J. Barger, S. Paquette, H. Patel, S. Patterson, C. M. Allen, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 42066–42073.
- [159] J. Okhanda, J. W. Lockman, K. Yokoyama, M. H. Gelb, S. L. Croft, H. Kendrick, M. I. Harrell, J. E. Feagin, M. A. Blaskovich, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 761–764.
- [160] A. Mitsch, M. Böhm, P. Wißner, I. Sattler, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2657–2662.
- [161] M. Böhm, A. Mitsch, P. Wißner, I. Sattler, M. Schlitzer, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3117–3124.
- [162] J. Wiesner, A. Mitsch, P. Wißner, O. Krämer, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2681–2683.
- [163] M. Schlitzer, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [164] J. Wiesner, R. Ortmann, A. Mitsch, P. Wißner, I. Sattler, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Pharmazie* **2003**, *58*, 289–290.
- [165] I. W. Sherman, *Microbiol. Rev.* **1979**, *43*, 453–495.
- [166] C. R. Dunn, M. J. Banfield, J. J. Barker, C. W. Higham, K. M. Moreton, D. Turgut-Balik, R. L. Brady, J. J. Holbrook, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 912–915.
- [167] V. Razakantoanina, N. K. P. Phung, G. Jaureguiberry, *Parasitol. Res.* **2000**, *86*, 665–668.
- [168] S. S. Velanker, S. S. Ray, R. S. Gokhale, S. Suma, H. Balaram, P. Balaram, M. R. Murthy, *Structure* **1997**, *5*, 751–761.
- [169] H. Kim, U. Certa, H. Dobeli, P. Jakob, W. G. Hol, *Biochemistry* **1998**, *37*, 4388–4396.
- [170] F. Joubert, A. W. Neitz, A. I. Louw, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **2001**, *45*, 136–143.
- [171] J. Alzeer, J. Chollet, I. Heinze-Krauss, C. Hubschwerlen, H. Matile, R. G. Ridley, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 560–568.
- [172] G. Francois, G. Timperman, W. Eling, L. A. Assi, J. Holenz, G. Bringmann, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 2533–2539.
- [173] H. Kikuchi, H. Tasaka, S. Hirai, Y. Takaya, Y. Iwabuchi, H. Ooi, S. Hatakeyama, H. S. Kim, Y. Wataya, Y. Oshima, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2563–2570.
- [174] W. K. Milhous, *Med. Trop.* **2001**, *61*, 48–50.
- [175] K. D. Corcoran, P. Hansukjariya, J. Sattabongkot, M. Ngampochjana, M. D. Edstein, C. D. Smith, G. D. Shanks, W. K. Milhous, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1993**, *49*, 473–477.
- [176] M. B. Martin, J. S. Grimley, J. C. Lewis, H. T. Heath III, B. N. Bailey, H. Kendrick, V. Yardley, A. Caldera, R. Lira, J. A. Urbina, S. N. Moreno, R. Docampo, S. L. Croft, E. Oldfield, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 909–916.
- [177] P. L. Olliaro, Y. Yuthavong, *Pharmacol. Ther.* **1999**, *81*, 91–110.
- [178] W. E. Gutteridge, *Parassitologia* **1999**, *41*, 449–452.
- [179] P. M. Chauhan, S. K. Srivastava, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1535–1542.
- [180] M. H. Gelb, W. G. Hol, *Science* **2002**, *297*, 343–344.