

Klaus Blumenstiel
Dr. med.

Interaktion von Nitrofuranverbindungen mit Liponamiddehydrogenase und Trypanothionreduktase aus *Trypanosoma cruzi*, dem Erreger der Chagas-Krankheit

Geboren am 04.08.1972 in Landau i.d. Pfalz
Reifeprüfung am 24.06.1992 in Neustadt a.d. Weinstr.
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis SS 2001
Physikum am 21.03.1996 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg/Mannheim
Praktisches Jahr in Mannheim; Heidelberg (Ludolf-Krehl-Klinik); Hastings (England)
Staatsexamen am 31.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie
Doktorvater: Frau Prof. Dr. rer. nat. R. L. Krauth-Siegel

Trypanosoma cruzi Liponamiddehydrogenase (LipDH), *T. cruzi* Trypanothionreduktase (TR) und die humane Glutathionreduktase (GR) gehören zur Gruppe der FAD-abhängigen Cystin-Oxidoreduktasen, die den Elektronentransfer zwischen Pyridinnukleotiden und Disulfidsubstraten katalysieren. In dieser Arbeit wurde die Interaktion der Enzyme mit verschiedenen Inhibitoren untersucht. Diese Studien sollten Verbindungen aufdecken, die möglichst mit beiden Enzymen aus *T. cruzi*, dem Erreger der südamerikanischen Chagas-Krankheit, interagieren, die menschliche GR dagegen nicht beeinflussen.

T. cruzi LipDH wurde aus rekombinanten LipDH-defizienten *E. coli*-Zellen hergestellt. Das reine Parasitenenzym konnte unter Glycerinzusatz ad 50 % stabil gelagert werden. Die gemessenen K_m -Werte sind mit denen des authentischen Enzyms identisch.

Die oben genannten FAD-Oxidoreduktasen katalysieren als Nebenreaktion die unspezifische Oxidation von NAD(P)H, die zur Entstehung reaktiver Sauerstoffverbindungen führt. LipDH besitzt mit 0,9 % der physiologischen Dehydrogenaseaktivität die höchste Oxidaseaktivität. Bei der TR beträgt diese nur 0,3 % der Reduktaseaktivität, bei der GR ist sie mit 0,0055 % zu vernachlässigen. Nitrofuranverbindungen erhöhen die Oxidaseaktivitäten von LipDH und TR um ein Vielfaches, indem sie als Redoxpendler reduziert und anschließend re-oxidiert werden und so die Elektronen auf Sauerstoff übertragen. Die NADPH-Oxidation der humanen GR wird praktisch nicht beeinflusst. Somit zeigen Nitrofurane eine gewisse Spezifität gegenüber den Parasitenenzymen.

Die meisten der untersuchten Nitrofuranverbindungen hemmen zusätzlich die Reduktion von Trypanothiondisulfid durch die TR, dem Schlüsselenzym des Thiolstoffwechsels, und greifen damit in den wichtigsten Mechanismus des Parasiten zur Detoxifizierung von Radikalen ein. Allerdings wird die menschliche GR in ähnlichem Maße gehemmt.

Als effektivste Substanzen zeigten sich Nifuroxazid, Nifuroxim und Nifurprazin. Alle drei Verbindungen sind oder waren als antiprotozoische bzw. antibakterielle Medikamente in Gebrauch. Sie zeigen in Kulturen von *T. cruzi* Trypomastigoten trypanozide Wirkung, wobei Nifuroxim auch für die Wirtszellen toxisch ist. Nifuroxazid und Nifurprazin ergeben ED_{50} -Werte von $< 1 \mu\text{M}$ bzw. $2 \mu\text{M}$. Die ED_{50} -Dosis des Standardmedikaments Nifurtimox beträgt $3 \mu\text{M}$. Nifurprazin ist außerdem mit einem ED_{50} -Wert von $1,4 \mu\text{M}$ wirksam gegen *T. brucei brucei*, den Erreger der Nagana-Rinderseuche.

Nitrofurane induzieren also die Oxidaseaktivitäten von LipDH und TR, während die humane GR unbeeinflusst bleibt. Außerdem hemmen sie die physiologische Reduktaseaktivität der TR. Die vielfältigen Angriffspunkte machen diese Substanzklasse besonders mit Blick auf die rasche Resistenzentwicklung zu geeigneten Ausgangsverbindungen für die Entwicklung neuer Medikamente.

Die Wechselwirkungen im molekularen Detail zwischen Enzym und Hemmstoff bzw. Substrat werden mit der Röntgenstrukturanalyse untersucht. Hierzu sind geeignete Kristalle des Enzyms nötig. Die *T. cruzi* LipDH konnte erstmals kristallisiert werden, allerdings müssen die Bedingungen weiter verbessert werden, um für die kristallographische Analyse geeignete Kristalle zu erhalten.