

Daniela Gmehling  
Dr. med.

**Identifizierung von Mikrotubuli-Inhibitoren mit Spezifität für den  
Malariaerreger *Plasmodium falciparum*  
Bestimmung ihrer Effekte auf Spindelmikrotubuli und Kernteilungszyklen**

Geboren am 09. Oktober 1976 in Backnang  
Staatsexamen am 24. November 2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Heiner Schirmer

Durch die besorgniserregende weltweite Zunahme der Malaria tropica sowie durch zunehmende Resistenzen gegen nahezu alle derzeit verfügbaren Chemotherapeutika in einigen endemischen Gebieten wird die Suche nach neuen Wirkstoffen immer dringlicher. Mit der Forschung nach neuen Substanzen mit bisher bei *Plasmodium* nicht genutzten Wirkmechanismen wird neben anderen Ansatzpunkten versucht, diesen Problemen zu begegnen. Die Besonderheiten des parasitären Zellzyklus, die vor allem in der Kernteilungsphase offensichtlich werden, sowie Unterschiede zwischen parasitären und vertebralen Mikrotubuli in Aufbau und dynamischem Verhalten könnten in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse sein.

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe von  $IC_{50}$ -Bestimmungen und von Immunfluoreszenzenuntersuchungen am konfokalen Mikroskop der Effekt von Substanzen untersucht, die als potentielle Mikrotubuli-Inhibitoren die Auftrennung der Chromosomen von *Plasmodium falciparum* in der Kernteilungsphase verhindern und somit das Parasitenwachstum hemmen.

Neben den klassischen, in der antineoplastischen Therapie verwendeten Mikrotubuli-Inhibitoren wie Vinblastin und Taxol wurden auch Substanzen getestet, die als Inhibitoren mikrotubulärer Strukturen bei anderen Parasiten wirken oder eine strukturelle Verwandtschaft zu solchen Wirkstoffen aufweisen. Dazu gehören die bei Helminthen eingesetzten Benzimidazole und auch die bei anderen Apicomplexa als wirksame Inhibitoren beschriebenen Dinitroaniline. Immunfluoreszenzmikroskopisch konnte durch Vergleich mit Substanzen wie Vinblastin und Taxol mit bekannten Effekten auf mikrotubuläre Strukturen Hinweise auf Angriffspunkt und Wirkungsweise erlangt werden.

Die Ergebnisse von IC<sub>50</sub>-Bestimmungen und Immunfluoreszenzmikroskopie wurden graphisch dargestellt. Als wirksamste Substanz konnte ein Dinitrobenzoesäurederivat, das rechtsgängige Enantiomer des 1-Phenylethyl-3,5-dinitrobenzats, identifiziert werden, das mit einem IC<sub>50</sub>-Unterschied von 315 zwischen Säugetierzellen und *Plasmodium falciparum* weit über dem therapeutischen Fenster liegt.

Die immunfluoreszenzmikroskopische Darstellung der Effekte auf die parasitären Mikrotubuli zeigte eine deutliche Ähnlichkeit zu der Mikrotubuli stabilisierenden Substanz Taxol. Es ist damit sehr wahrscheinlich, dass R-1-Phenylethyl-3,5-dinitrobenzats über eine Stabilisierung mikrotubulärer Strukturen die Zellteilung und damit das Parasitenwachstum hemmt.

Gegenstand der Diskussion ist die Frage nach dem genauen Wirkmechanismus und der Bindungsstelle. Der Unterschied in der Inhibition mikrotubulärer Strukturen von *Plasmodium* und Säugetierzellen lässt sich durch minimale Abweichungen der Tubulin-Gensequenzen erklären.

In dieser Arbeit wurde eine Substanz beschrieben, die eine Störung der mikrotubulären Spindelfunktion während der Kernteilungen des Malariaparasiten *Plasmodium falciparum* verursacht. Sie könnte der erste Schritt in Richtung eines neuen Konzeptes zur Behandlung der Malaria sein.