

## 1 Einleitung

### 1.1 Malaria

Malaria ist eine durch Protozoen der Gattung *Plasmodium* hervorgerufene Infektionskrankheit (Kretschmer *et al.*, 1996). Sie ist eine der häufigsten parasitären Infektionskrankheiten des Menschen und in allen tropischen und subtropischen Regionen verbreitet. 100 Länder wurden 1997 von der WHO als Malaria-Risikogebiete eingestuft. Mehr als 40% der Weltbevölkerung lebt in Malaria-gefährdeten Gebieten (WHO, 1997). Die Anzahl der Neuinfektionen pro Jahr wird auf 200–500 Millionen, die der Todesfälle auf 1–2 Millionen geschätzt (WHO, 2000). 90% der Krankheits- und Todesfälle an Malaria treten in den tropischen Ländern Afrikas auf (WHO, 1997).

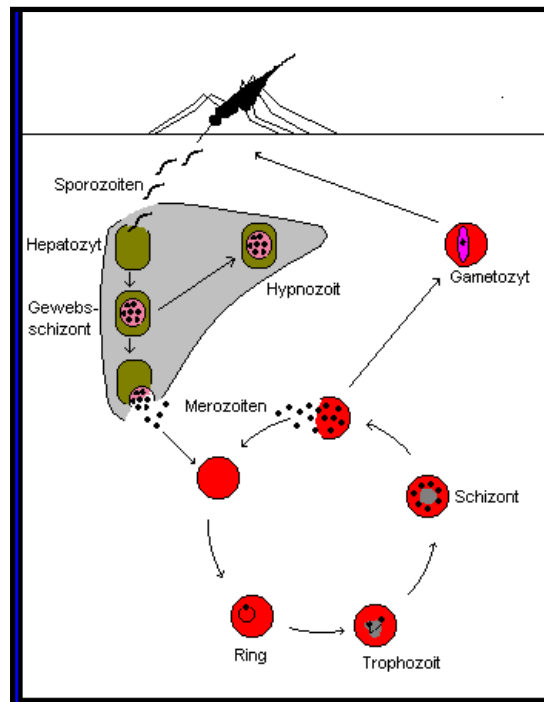
#### 1.1.1 Parasitologie und Pathologie der Malaria

##### Entwicklungszyklus von *Plasmodium falciparum*

Es existieren vier humanpathogene *Plasmodium*-Arten, die verschiedene Formen der Malaria verursachen:

- *Plasmodium falciparum* (Malaria tropica)
- *P. vivax* und *P. ovale* (Malaria tertiana)
- *P. malariae* (Malaria quartana)

*P. falciparum* führt zur gefährlichsten Form humaner Malaria und verursacht die meisten tödlichen Malariafälle. Plasmodien werden durch den Stich der weiblichen Anopheles-Mücke übertragen. Die ca. 7 mm langen Moskitos benötigen eine Blutmahlzeit zur Eireifung. Sie legen nach 3–4 Tagen dauernder Eireifung ca. 200–300 Eier auf der Oberfläche stehender Gewässer ab. Die Entwicklung vom Ei zur Larve dauert wenige Tage, die der vier zu durchlaufenden Larvenstadien und des Puppenstadiums bis zu drei Wochen. Die Dauer dieses Entwicklungszyklus ist abhängig von äußeren Faktoren, wie z.B. von der Umgebungstemperatur, dem Nahrungsmittelangebot und der Photoperiode. Mit Hilfe ihrer Geruchssinnesorgane finden sie den Wirt. Während des Stiches werden ein Antikoagulant injiziert und 1–3 µl Blut gesaugt. Der Entwicklungszyklus der Plasmodien besteht aus zwei getrennten Phasen: der asexuellen im Menschen stattfindenden und der sexuellen in der Anophelesmücke (Kretschmer *et al.*, 1996). In Abbildung 1 ist der im Menschen ablaufende Entwicklungszyklus des Parasiten vereinfacht wiedergegeben.

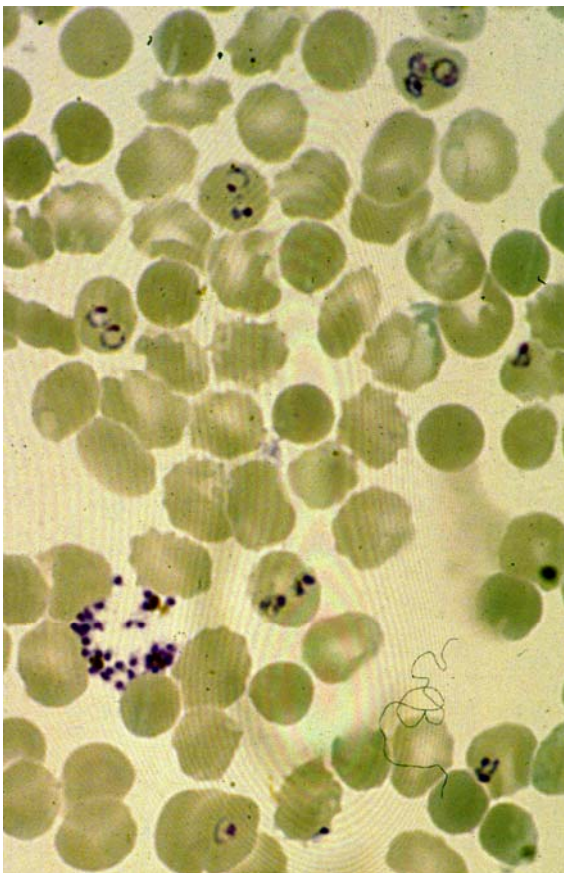


**Abb.: 1**

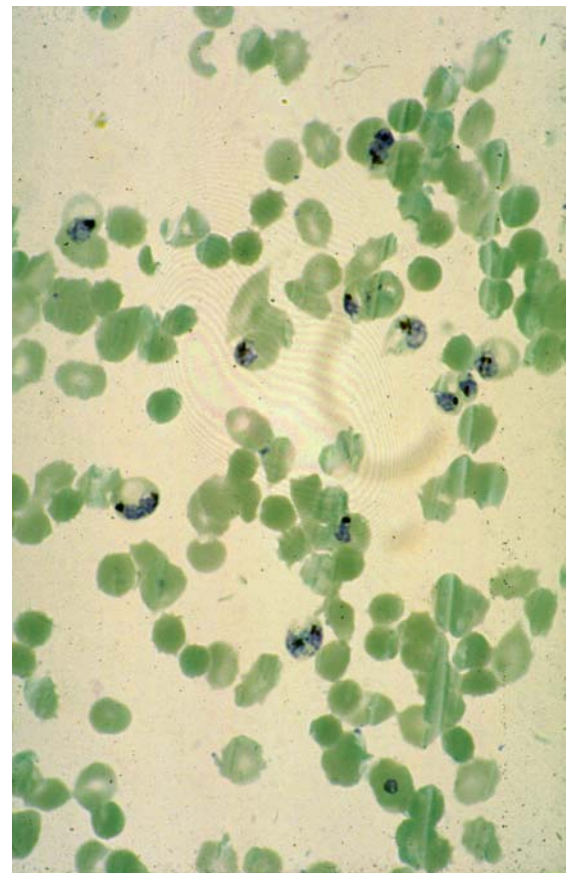
**Darstellung des asexuellen Entwicklungszyklus am Beispiel von *Plasmodium vivax***

Beim Stich einer weiblichen, infizierten Mücke werden mit dem Speichel 10 bis 15  $\mu\text{m}$  große langgestreckte Sporozoiten injiziert, die über die Blutbahn innerhalb einer halben Stunde Leberzellen befallen. In den Hepatozyten vermehren sie sich durch asexuelle Teilung und wachsen zu 30  $\mu\text{m}$  bis 70  $\mu\text{m}$  großen Leberschizonten heran (extraerythrozytäre- bzw. Gewebsschizogonie). Bei einer Infektion mit *P. vivax* bzw. *P. ovale* kann es in den Leberzellen zur Bildung von Hypnozoiten, einer ruhenden Parasitenform, kommen. Nach 6–16 Tagen werden von infizierten Hepatozyten durch Ruptur Merozoiten in die Blutbahn freigesetzt. Die ca. 1  $\mu\text{m}$  langen ovalen Merozoiten dringen in die Erythrozyten ein. Im Fall einer *P. falciparum*-Infektion kommt es in den Merozoiten zur Ausbildung von sogenannten Ringformen. Mit zunehmender Vergrößerung des Plasmas bilden sich die runden oder bandförmigen Trophozoiten, die das erythrozytäre Hämoglobin verstoffwechseln und sich durch Schizogonie teilen. Die Ruptur der Erythrozyten führt über die Freisetzung der Merozoiten, die ihrerseits wieder andere Erythrozyten infizieren können, zu den für die Malaria typischen Fieberschüben. Doppelbefälle von Erythrozyten treten bei Infektionen mit *P. falciparum* relativ häufig auf. Einige der freigesetzten Merozoiten entwickeln sich zu sexuell differenzierten

Gametozyten: den weiblichen Makrogametozyten (ca. 80  $\mu\text{m}$ ) und den männlichen Mikrogametozyten (ca. 20  $\mu\text{m}$ ). Die Gametozyten von *P. falciparum* sind halbmondförmig (wichtiges diagnostisches Merkmal). Bei einem erneuten Stich durch eine weibliche Anophelesmücke gelangen diese in deren Verdauungstrakt. Dort vollzieht sich der sexuelle Teil des Entwicklungsstadiums, der mit der Ausbildung von infektiösen Sporozoiten in den Speicheldrüsen der Mücke endet. Damit ist der Entwicklungszyklus geschlossen (Lucius, 1997). Die Abbildung 2 zeigt mikroskopische Aufnahmen einer *in-vitro*-Kultur von *P. falciparum* in unterschiedlichen Entwicklungsstadien.



Ringstadien und Merozoiten



Schizonten

**Abb.: 2****Mikroskopische Aufnahme einer *in-vitro*-Kultur von *Plasmodium falciparum***Krankheitsbild der Malaria tropica

Malaria tropica wird durch Infektion mit *P. falciparum* ausgelöst. Sie umfaßt etwa zwei Drittel aller Malariafälle und ist für die meisten Todesfälle verantwortlich. Von den Krankheitsverläufen mit tödlichem Ausgang sind hauptsächlich Kleinkinder und

Schwangere betroffen. Erste Anzeichen einer "unkomplizierten Malaria tropica" sind grippeartige Symptome, wie Kopf- und Gliederschmerzen, Abgeschlagenheit, allgemeine Schwäche sowie unregelmäßige Fieberschübe. Bei Malaria tropica ist eine Periodizität der Fieberattacken vor allem in dem diagnostisch entscheidenden Anfangsstadium selten. Wird nicht von Beginn an therapeutisch eingegriffen, kann sich das Krankheitsbild einer "schweren und komplizierten Malaria" entwickeln. Die WHO spricht von einer "komplizierten Malaria", wenn eines oder mehrere der nachfolgenden Symptome auftreten (Gilles, 1991):

- Bewusstseinsstörungen bis hin zum Koma (zerebrale Malaria)
- Anämie
- Hyperparasitämie (> 5% parasitenbefallener Erythrozyten mit Auftreten von Schizonten im peripheren Blut)
- Hyperpyrexie (> 40 °C)
- schwere gastrointestinale Störungen (z.B. Spontanblutungen im Gastrointestinaltrakt)
- akutes Nierenversagen
- Störungen des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes

#### Ausbildung von Immunität

In endemischen Gebieten stellt die Malaria tropica eine chronische Erkrankung dar. Verschiedene Feldstudien zeigten, dass Personen in Hochendemiegebieten keine vollständige Immunität ausbilden können (Bruce-Chwatt, 1963). Es besteht demnach kein Schutz vor einer Re-Infektion durch Plasmodien. Die Ausbildung einer Immunität wird vor allem durch eine hohe Mutationsrate während der ungeschlechtlichen Vermehrung der Plasmodien erschwert. Es gibt jedoch eine Reihe von genetischen Faktoren, die in endemischen Gebieten gehäuft auftreten und einen Schutz vor Malaria vermitteln:

- $\beta$ -Thalassämie (Nurse, 1979)
- Sichelzellanämie (Kretschmer *et al.*, 1996)
- Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (Ruwende *et al.*, 1995)
- bestimmte Ausprägungen des Humanen Leukozyten Antigen (HLA)-Systems (Hill *et al.*, 1991)

In den ersten Lebensmonaten gewähren dem Neugeborenen durch das Stillen übernommene Antikörper und das fetale Hämoglobin einen partiellen Schutz vor einer Malariaerkrankung. Dieser Schutz geht im ersten Lebensjahr verloren, was zu einem signifikanten Anstieg klinischer Malariafälle und einer erhöhten Parasitendichte bei

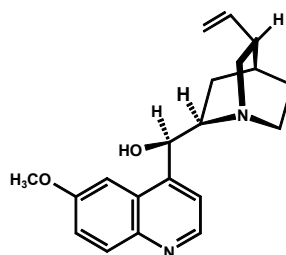
Kindern im Alter von 1 bis 6 Jahren führt (Mockenhaupt *et al.*, 1998). Mit zunehmendem Alter ist ein langsamer Rückgang der Anzahl klinischer Malariaerkrankungen und eine abnehmende Parasitenlast zu beobachten. Die Infektionsrate hingegen bleibt bis zum Erwachsenenalter hoch (Petersen *et al.*, 1991). Bei Erwachsenen in Hochendemiegebieten findet sich ein Zustand, der vor der Erkrankung, nicht aber vor der Infektion durch Plasmodien schützt. Dieser Zustand wird durch den Begriff "Semi-Immunität" beschrieben. Diese ist durch eine chronische Infektion, geringe Parasitämie und nur schwache bzw. fehlende Symptome einer klinischen Malaria gekennzeichnet (Ross, 1910).

### 1.1.2 Malariatherapie und Chemoprophylaxe

Bereits aus dem 17. Jahrhundert liegen erste Dokumentationen über die Behandlung von Malaria mit der Rinde des in den Anden beheimateten Cinchona-Baumes *Cinchona pubescens* VAHL (Rubiaceae) vor. Den beiden Pharmazeuten Pelletier und Caventou gelang 1820 die erstmalige Isolierung der Alkaloide **Chinin** und Cinchonin aus der Rinde von *C. pubescens* (Eiden, 1998). Um den zunehmenden Bedarf an Chinin zu decken, wurde der Cinchona-Baum seit Mitte des 19. Jahrhunderts auf Plantagen angebaut. Die erste Totalsynthese von Chinin wurde in den Jahren 1944/45 von Woodward und Doering veröffentlicht (Eiden, 1999). Da sich zu Beginn des 20. Jahrhunderts in Deutschland die Chininvorräte verringerten, wurde die Suche nach neuen synthetischen Anti-Malariamitteln notwendig. 1925 gelang die Synthese des Wirkstoffes 8-Aminochinolin, einem Vorläufer des **Primaquins**. 1934 synthetisierte Andersag **Chloroquin** (Resochin<sup>®</sup>) (Eiden, 1999). Der zweite Weltkrieg und die Besetzung vieler US-amerikanischer Cinchona-Plantagen durch die Japaner bewirkten eine rasche Etablierung von Chloroquin in der Malariatherapie. Die Wirksamkeit von **Proguanil** (Paludrine<sup>®</sup>) und Pyrimethamin wurde kurze Zeit später gezeigt. Das Kombinationspräparat **Pyrimethamin/Sulfadoxin** (Fansidar<sup>®</sup>) wird auch heute noch in Gebieten mit nachlassender Chloroquin-Wirkung eingesetzt. Die WHO und andere internationale Organisationen beschlossen 1950 ein Eradikationsprogramm für die Malaria. Mittels medikamentöser Therapie und dem Einsatz von Insektiziden konnte in Europa, Nordamerika und in Teilen der Karibik die Malaria eliminiert werden. Zum Schutz ihrer Soldaten in tropischen Regionen untersuchte die US-Armee zwischen 1963 und 1976 über 250.000 potentielle Anti-Malariamittel. Zwei effektive Pharmaka wurden dabei entdeckt: **Mefloquin** (Lariam<sup>®</sup>) und **Halofantrin** (Halfan<sup>®</sup>) (Peters, 1998). 1968 wurde über das Auftreten erster Chloroquin-Resistenzen in

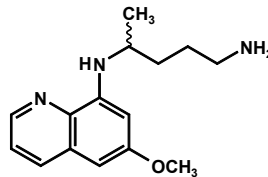
Südamerika und Asien berichtet. 10 Jahre später traten auch in Afrika die ersten Resistenzfälle auf. In jüngster Zeit kamen neue Anti-Malariamittel in der Malariatherapie zum Einsatz: das Kombinationspräparat aus Proguanil und dem Hydroxynaphthochinon-Derivat **Atovaquon** (Malarone<sup>®</sup>), sowie das aus der chinesischen Heilpflanze *Artemisia annua* L. (Asteraceae) isolierte **Artemisinin** bzw. dessen Derivate. Bisher wurden bei klinischen Studien mit Artemisinin-Präparaten keine signifikanten Anzeichen von Resistenzentwicklung beobachtet (de Vries *et al.*, 1996).

**Chinin** ist die älteste Substanz, die gegen Malaria eingesetzt wird. Es handelt sich hierbei um ein Chinolinalkaloid, das aus einem Chinolin- und einem Chinuclidin-Ringsystem aufgebaut ist, die durch eine Methylenbrücke miteinander verbunden sind. Chinin (z.B. Chininum sulfuricum "Buchler"<sup>®</sup>) kann oral, intravenös und intramuskulär appliziert werden. Nach oraler Verabreichung wird es rasch resorbiert und zu 90% im Blut an Proteine gebunden. Die Halbwertszeit beträgt 11 Stunden. Chinin ist das Mittel der Wahl in der Klinik für die Behandlung der komplizierten Malaria tropica (White, 1996). Zu den häufig auftretenden Nebenwirkungen zählen: gastrointestinale Störungen, Herzrhythmusstörungen und allergische Reaktionen. Zu vorübergehenden Beeinträchtigungen kann auch der sogenannte "Cinchonismus" führen, der durch die Abnahme des Hörvermögens, Tinnitus und Sehstörungen charakterisiert ist (Kretschmer *et al.*, 1996). Bereits am Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts wurde über Chininresistenzen berichtet. Heute wird Chinin meist in Kombination mit antibakteriell wirksamen Medikamenten, wie z.B. Doxycyclin, verwendet (Kretschmer *et al.*, 1996). Mittels dieses Kombinationspräparates können auch bei multiresistenten Parasitenstämmen vollständige Heilungsraten erreicht werden (Bunnang *et al.*, 1996). Aufgrund seiner Nebenwirkungen, wie z.B. Ca<sup>2+</sup>-Chelatisierung, ist Doxycyclin jedoch bei Kindern und Schwangeren nicht für die Malariatherapie geeignet.



**Abb. 3: Molekülstruktur von Chinin**

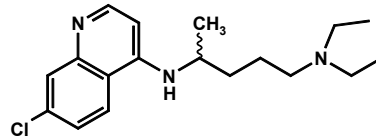
**Primaquin** ist ein 8-Aminochinolinderivat, das wirksam ist gegenüber den Leberschizonten von *P. ovale* und *P. vivax*. Nach oraler Gabe wird es in der Leber zum aktiven Chinonimin metabolisiert. Die Halbwertszeit beträgt 4 bis 10 Stunden (Fletcher *et al.*, 1981). Die Wirkung wird auf eine Interkalation der DNA oder eine Schädigung der Mitochondrien der Plasmodien zurückgeführt. Es ist derzeit das Medikament der ersten Wahl bei der Behandlung von Malaria tertiana (Kretschmer *et al.*, 1996).



**Abb. 4: Molekülstruktur von Primaquin**

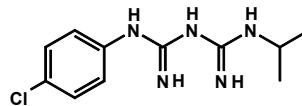
**Chloroquin** (Resochin<sup>®</sup>) ist ein 4-Aminochinolinderivat, das schnell und gut wirksam ist gegenüber den Blutschizonten von *P. falciparum* und *P. vivax*. Chloroquin (CQ) kann oral oder intravenös appliziert werden (Kretschmer *et al.*, 1996). Es besitzt eine hohe Proteinbindungsquote und reichert sich in zahlreichen Organen, wie z.B. Leber, Niere, Milz und Lunge an. Chloroquin besitzt eine Halbwertszeit von ein bis zwei Monaten. Sofern keine Resistenz vorliegt, ist Chloroquin das Mittel der ersten Wahl in der Behandlung der schweren Malaria. Auftretende Nebenwirkungen sind u.a. allergische Reaktionen und Magen-Darm-Beschwerden. Bei Farbigen in Hochendemiegebieten Afrikas wurde beobachtet, dass die Einnahme von Chloroquin zu einem allergischen Hautausschlag führen kann, der durch starken Juckreiz charakterisiert ist (Osifo, 1984). Als schwache Base kann Chloroquin in der sauren Nahrungsvakuole der erythrozytären Parasitenstadien akkumulieren und verhindert dort die Polymerisation von löslichem Häm [Ferriprotoporphyrin IX] zum unlöslichen Hämozoin [Malaria-Pigment] (Ginsburg *et al.*, 1999, Olliaro *et al.*, 1999). Häm wird beim parasitären Abbau erythrozytären Hämoglobins zur Gewinnung essentieller Aminosäuren freigesetzt. Es ist für den Parasiten toxisch und wird deshalb von ihm durch Polymerisation zum ungiftigen Makromolekül Hämozoin entgiftet. Wird dieser Vorgang massiv gestört, kann es neben einer Inhibierung der Parasitenproteasen zur Lyse des Parasiten kommen (Mockenhaupt, 1995). Die ersten Fälle von Chloroquinresistenz wurden Ende der sechziger Jahre aus Südostasien gemeldet. Kennzeichen für Resistenz ist eine verminderte Chloroquinkonzentration in der Nahrungsvakuole des Parasiten. Diese entsteht durch eine verringerte Aufnahme und vermehrte Sekretion von Chloroquin durch den Parasiten. CQ-resistente Parasiten pumpen

das Chloroquin bis zu 50 x schneller aus der Zelle als CQ-sensible Parasiten (Bray *et al.* 1994). Heute deckt sich das Verbreitungsgebiet der Chloroquinresistenz weitgehend mit dem der *P. falciparum*-Verbreitung (WHO, 1997).



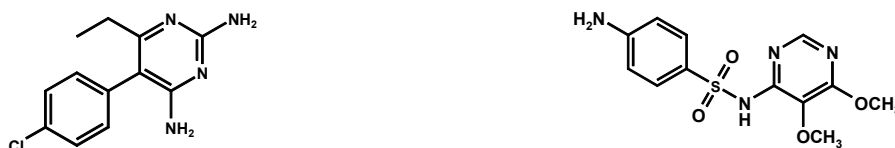
**Abb. 5: Molekülstruktur von Chloroquin**

**Proguanil** (Paludrine<sup>®</sup>) ist ein Biguanid-Derivat, das nach oraler Gabe in der Leber zu 30% biotransformiert wird. Aufgrund der geringen Halbwertszeit (16–20 Stunden) erfolgt die Einnahme täglich. Der aktive Metabolit Cycloguanil greift in die Nukleotid-Biosynthese der Parasiten ein. Proguanil wird vor allem in Gebieten mit Chloroquinresistenz zusätzlich zur Chloroquinprophylaxe eingesetzt. Mögliche Nebenwirkungen sind u.a. gastrointestinale Störungen und Haarausfall (Kretschmer *et al.*, 1996).



**Abb. 6: Molekülstruktur von Proguanil**

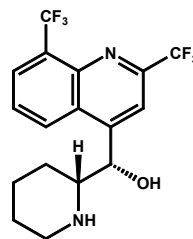
**Pyrimethamin/Sulfadoxin** (Fansidar<sup>®</sup>) wird zur Malariatherapie und Prophylaxe in CQ-resistenten Gebieten genutzt. Pyrimethamin wirkt als Hemmstoff der Dihydrofolsäurereduktase. Sulfonamide, wie Sulfadoxin, üben eine synergistische Hemmwirkung auf die Folsäuresynthese im Parasiten aus. Bei der Anwendung von Fansidar<sup>®</sup> als Chemoprophylaktikum traten jedoch als Nebenwirkungen schwerwiegende allergische Reaktionen auf, wie z.B. das Steven-Johnson-Syndrom (Luzzi *et al.*, 1993). Infolgedessen wurde das Präparat 1993 in Deutschland aus dem Handel gezogen.



**Abb. 7: Molekülstruktur von Pyrimethamin und Sulfadoxin**

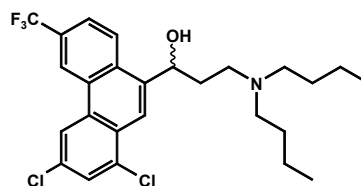


**Mefloquin** (Lariam<sup>®</sup>) ist ein dem Chinin verwandtes Chinolin-Derivat, das gegen die intraerythrozytären ungeschlechtlichen Formen (Trophozoiten und Schizonten) aller vier humanpathogenen Plasmodium-Arten wirkt. Es wird bei oraler Gabe gut resorbiert und besitzt eine hohe Proteinbindungsrate. Die Halbwertszeit beträgt ca. 21 Tage (Desjardins *et al.*, 1979). Mefloquin bildet mit Hämoglobin-Abbauprodukten Komplexe, die in den Parasiten angereichert werden. Die daraus resultierende hohe intraparasitäre Mefloquinkonzentration bewirkt vermutlich über eine Membranschädigung die Abtötung der Erreger (Brown *et al.*, 1979). Als Nebenwirkungen können gastrointestinale und zentralnervöse Störungen auftreten. Mefloquin eignet sich zur Therapie der unkomplizierten Malaria tropica und in der Prophylaxe bei Reisen in Malariagebiete mit multiresistenten *P. falciparum*-Stämmen.



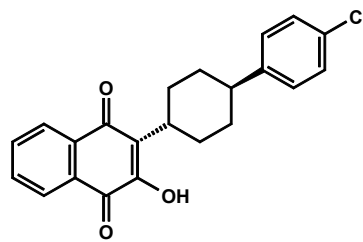
**Abb. 8: Molekülstruktur von Mefloquin**

**Halofantrin** (Halfan<sup>®</sup>) ist ein Phenanthrenderivat. Es wird nach oraler Applikation in den aktiven Metaboliten *N*-Desbutyl-halofantrin umgewandelt und wirkt gegen die intraerythrozytären ungeschlechtlichen Plasmodienstadien (Trophozoiten und Schizonten). Halfan<sup>®</sup> wird zur Therapie der akuten unkomplizierten Malaria tropica und der durch *P. vivax* hervorgerufenen Malaria tertiana eingesetzt (Kretschmer *et al.*, 1996). Aufgrund aufgetretener kardiotoxischer Nebenwirkungen ist der Einsatz des Präparates begrenzt. Desweiteren wurden in Asien und Afrika Halofantrin-Resistenzen beobachtet (Radloff *et al.*, 1996).



**Abb. 9: Molekülstruktur von Halofantrin**

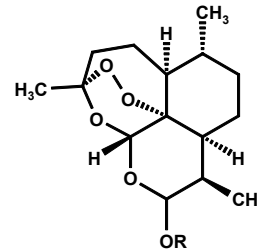
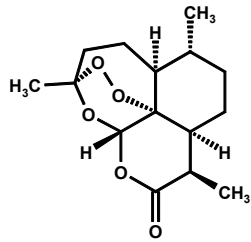
**Atovaquon** ist ein synthetisches Hydroxynaphthochinon-Derivat. Atovaquon wirkt als selektiver Inhibitor des parasitären mitochondrialen Elektronentransports. Durch Angriff an dem Cytochrom-bc<sub>1</sub>-Komplex bricht sowohl das Membranpotential der Mitochondrien als auch die Versorgung der Parasiten mit Pyrimidinen zusammen (Hudson, 1993). Als Monotherapeutikum unterlag Atovaquon einer sehr schnellen Resistenzentwicklung (Peters, 1998). Durch Kombination von Atovaquon mit Proguanil konnte das Auftreten von Resistenz verhindert werden. Diese Wirkstoffkombination ist als Malarone<sup>®</sup> seit 1997 in Deutschland zugelassen. Das Präparat wird zur Behandlung und zur Prophylaxe der akuten, unkomplizierten multiresistenten *Malaria tropica* eingesetzt.



**Abb. 10: Molekülstruktur von Atovaquon**

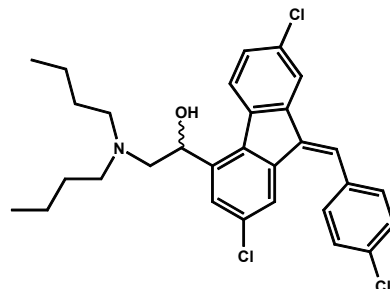
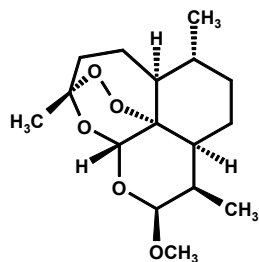
**Artemisinin** (Quinghaosu) ist ein Sesquiterpenlakton mit cyclischer Peroxidhalbketallstruktur, das 1972 aus der chinesischen Heilpflanze *Artemisia annua* L. (Asteraceae) isoliert wurde (Bharel *et al.*, 1996). In der traditionellen Medizin Chinas wird die Pflanze seit Jahrhunderten bei der Behandlung von fieberhaften Erkrankungen eingesetzt. Artemisinin besitzt sowohl in Wasser als auch in Öl nur eine geringe Löslichkeit. Deshalb wurden das hydrophile Derivat Artesunat (Dihydroartemisinin-Natrium-Hemisuccinat) und die lipophilen Derivate Artemether und Arteether (Dihydroartemisinin-methylether bzw. Dihydroartemisinin-ethylether) entwickelt. Artemisinin und dessen Derivate wirken äußerst schnell gegen die ungeschlechtlichen erythrozytären Stadien aller vier humanpathogenen Plasmodienarten. Klinische Studien zeigten, dass bereits nach 48 Stunden bei den meisten Patienten keine Parasiten mehr im Blut nachweisbar waren (Meshnick *et al.*, 1996). Für die antiparasitäre Wirkung sind sowohl die Endoperoxid-Struktur als auch das 1,2,4-Trioxanstrukturelement erforderlich (Bharel *et al.*, 1996). In der Nahrungsvakuole der befallenen Erythrozyten kommt es zu einer reduktiven Spaltung der Endoperoxid-Brücke, was durch Häm bzw. zellulär verfügbares Eisen katalysiert wird. Durch diese Reaktion entstehen freie Kohlenstoff-Radikale, elektrophile Epoxide und elektrophile alkylierende Zwischenprodukte. Anschließend reagieren diese aktivierten Zwischenstufen mit parasitenspezifischen

Membranproteinen, was zu einer Schädigung der Parasiten führt (Olliaro *et al.*, 2001). Zwar wurden bislang keine Resistenzentwicklungen beobachtet, jedoch wurden bei kurzer Therapiedauer hohe Rückfallraten verzeichnet. Durch Kombination von Artemisininderivaten mit einem weiteren Anti-Malariawirkstoff konnte dieses Problem behoben werden. Mit Riamet<sup>®</sup> ist seit Juni 2001 ein solches Kombinationspräparat in Deutschland zugelassen.



**Abb. 11: Molekülstruktur von Artemisinin**    **Abb. 12: Molekülstrukturen von**  
**Artemether: R = CH<sub>3</sub>**  
**Arteether: R = CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>**  
**Artesunat: R = OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Na**

Riamet<sup>®</sup> besteht aus Artemether und Lumefantrin (=Benflumentol). Das Präparat führt zu einer starken Verringerung der Parasitämie zu Beginn der Behandlung. Lumefantrin wirkt langsamer und eliminiert die verbleibenden Plasmodien. Für beide Komponenten wird außerdem eine Hemmung der Nukleinsäuren- und der Proteinbiosynthese angegeben. Als auftretende Nebenwirkungen wurden bisher gastrointestinale Beschwerden und Störungen des zentralen Nervensystems beobachtet (Hellwig, 2001). Mit den in jüngster Zeit entwickelten Artemisinin-Derivaten und Atovaquon stehen derzeit wirksame Malariamedikamente zur Verfügung. Jedoch ist auch hier innerhalb weniger Jahre mit einer Resistenzentwicklung der Plasmodien zu rechnen.



**Abb. 13: Molekülstrukturen von Artemether und Lumefantrin (Riamet<sup>®</sup>)**

### 1.1.3 Malariawirksame Naturstoffe aus Pflanzen

Aus einer Vielzahl verschiedener Pflanzenarten wurden bisher malariawirksame Naturstoffe isoliert. Jedoch ist der Kenntnisstand über die antiparasitäre Wirksamkeit der isolierten Verbindungen sehr unterschiedlich. Während bei einigen Verbindungen sowohl die *in-vitro*- als auch die *in-vivo*-Aktivität und allgemeine zelltoxische Effekte bekannt sind, liegen bei anderen Verbindungen nur Daten über eine *in-vitro*-Hemmung des Parasitenwachstums vor. Einige vielversprechende Arbeiten zu isolierten aktiven Verbindungen sollen im folgenden erwähnt werden. Über antiplasmodial wirksame **Triterpene** liegen mehrere publizierte Arbeiten vor: Almeida-Alves und Mitarbeiter isolierten Lupeol aus *Vernonia brasiliiana* (L.) DRUCE (Asteraceae), welches *in-vitro*-Aktivität gegenüber *P. falciparum* zeigte, jedoch *in-vivo* gegenüber *P. berghei* inaktiv war (Almeida-Alves *et al.*, 1997). Als vielversprechend galt in den 80iger Jahren die Naturstoffgruppe der Quassinoide. Diese degradierten Triterpene sind in vielen Arten der Simaroubaceen verbreitet. Viele der isolierten Verbindungen erwiesen sich sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* stark zytotoxisch, so dass von klinischen Studien Abstand genommen wurde (O'Neill *et al.*, 1989). Betulinsäure, ein Triterpen vom Lupan-Typ, u.a. isoliert aus *Triphyophyllum peltatum* (HUTCH. & DALZIEL) AIRY SHAW (Dioncophyllaceae), zeigte eine hohe *in-vitro*-Wirksamkeit. Diese konnte jedoch in *in-vivo*-Studien nicht bestätigt werden. Gründe hierfür werden in der raschen Metabolisierung von Betulinsäure vermutet (Bringmann *et al.*, 1997, Steele *et al.*, 1999). Aus dem in der traditionellen Malariatherapie bekannten Neem-Baum *Azadirachta indica* A. JUSS. (Meliaceae) wurden ebenfalls antiplasmodial aktive oxidierte Triterpene isoliert, die zur Gruppe der Limonoide zählen (Bray *et al.* 1990). Aus der südostasiatischen Heilpflanze *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) wurde ein antiplasmodial aktives **Sesquiterpen** mit einer Endoperoxidstruktur isoliert (Thebtaranonth *et al.*, 1995). Mehrere Arbeiten liegen über antiplasmodial aktive **Chinone** vor. So wurden z.B. aus der in Westafrika beheimateten Rubiaceae *Morinda lucida* BENTH. verschiedene *in vitro* aktive Anthrachinone isoliert (Sittie *et al.*, 1999). Aus einigen Asteraceen, wie z.B. *Artemisia abrotanum* L. gelang die Isolierung wirksamer **Cumarine** (Cubukchu *et al.*, 1990). Quadri-Spinelli und Mitarbeiter (2000) isolierten aus *Cyclosorus interruptus* (WILLD.) H. ITÔ (Pteridophytaceae), einem Farn der in Papua Neu Guinea gegen Malaria eingesetzt wird, verschiedene Phenylcumarinderivate. Diese wurden jedoch nur auf ihre antibakterielle Aktivität hin untersucht. Für einige Naturstoffe konnte neben einer eigenen moderaten antiplasmodialen

Aktivität, eine synergistische Wirkung gegenüber weiteren Pflanzeninhaltsstoffen beobachtet werden. Ein bekanntes Beispiel hierfür sind methoxylierte **Flavonoide**, welche aus einer Zellsuspension von *Artemisia annua* isoliert wurden. Diese Flavonoide verhindern den Einstrom von Glutamin und Inositol durch die Erythrozytenmembran und wirken synergistisch mit Artemisinin (Elford *et al.*, 1987). Aus den Blättern von *Azadirachta indica* wurden Quercetinglykoside isoliert und deren antioxidatives Potential untersucht (Iwu *et al.*, 1986). Viele antiplasmodial wirksame **Alkaloide** wurden bisher isoliert: Berberin, ein Alkaloid, das in mehreren Pflanzenfamilien vorkommt, ist gegen *P. falciparum* aktiv. Viele Alkaloide zeigen neben ihrer *in-vitro*-Aktivität nur eine moderate bzw. keine *in-vivo*-Wirksamkeit und besitzen zugleich eine hohe allgemeine Zelltoxizität. Beispiele hierfür sind u.a. Berberin, das Indolochinolinalkaloid Cryptolepin aus *Cryptolepis sanguinolenta* (LINDL.) SCHLTR. (Periplocaceae) (Kirby *et al.*, 1995, Paulo *et al.*, 1999) und das Bisbenzylisochinolinalkaloid Curin aus *Isolona ghesquiereina* CAVACO & KERANDR. (Annonaceae) (Mambu *et al.*, 2000). Eine verstärkende Wirkung gegenüber Chloroquin konnte für verschiedene Alkaloide, isoliert aus madagassischen Arzneipflanzen, gezeigt werden. Hierzu zählen die Indolalkaloide Strychnobrasilin und Malagashanin aus *Strychnos myrtoides* GILG & BUSSE (Loganiaceae) (Ratsimamanga-Urverg *et al.*, 1992, Rasoanaivo *et al.*, 1994). Dekokte dieser Arzneipflanze werden in Madagaskar unterstützend zu einer (unterdosierten) Chloroquin-Medikation eingesetzt. Vielversprechend als potentielle neue Malariamittel sind Naturstoffe bzw. deren semisynthetische Derivate, deren Zytotoxizität im Vergleich zur antiplasmodialen Aktivität gering ist. Hierzu zählt Manzamin A, ein  $\beta$ -Carbolinalkaloid, das aus verschiedenen maritimen Korallenschwämmen, wie z.B. *Haliclona sp.* isoliert wurde (Ang *et al.*, 2000), die Naphtylisochinoline Dioncophyllin C und Dioncopeltin A aus *Triphyophyllum peltatum* (François *et al.*, 1997) sowie das Bisbenzylisochinolin Pendulin aus *Isopyrum thalictroides* L. (Ranunculaceae) (Valentin *et al.*, 1997).

#### 1.1.4 Malariatherapie in der traditionellen Medizin in Ghana

##### Bedeutung der Phytotherapie in Ghana

Die westafrikanische Republik Ghana erstreckt sich vom Golf von Guinea ca. 680 km landeinwärts. In der Küstenregion und der im Landesinneren liegenden Feuchtwaldzone herrscht ein tropisches Klima. Im Norden des Landes, wo Savannenlandschaften verbreitet sind, liegt ein heißes und trockenes Klima vor. In Ghana leben ca. 15 Millionen Menschen (1990) aus annähernd 100 Stammesgruppen. Es werden etwa 70 verschiedene

Stammessprachen und Dialekte gesprochen. Die offizielle Landessprache in der ehemaligen britischen Kolonie ist Englisch. Die Ursprünge der Phytotherapie in Ghana sind verschieden. Viele Herbalisten (= Heilkräuterkundige) sind Anhänger christlicher Glaubensrichtungen und sehen Heilpflanzen als ein Geschenk Gottes an die Menschheit an (Köhler, 1999). Desweiteren wurden phytotherapeutische Kenntnisse über heimische Pflanzen durch Erkundungsreisen der Europäer erlangt. Auf deren Expeditionen ins Landesinnere reisten Einheimische als Übersetzer mit, die ebenfalls eine Dokumentation des erlangten Wissens (in ihrer Stammessprache) vornahmen. Diese Aufzeichnungen wurden innerhalb der Familie weitergegeben (Koranteng, 1998). Im Allgemeinen basiert phytotherapeutisches Wissen auf jahrelangen Beobachtungen der Natur und der Menschen, die diese natürlichen Ressourcen auf verschiedene Weise nutzten. Die Weitergabe des Wissens erfolgte ausschließlich innerhalb der Familie und zumeist nur mündlich. Somit ist davon auszugehen, dass im Laufe der Jahre ein Teil der Informationen verloren ging. Phytotherapeutische Behandlungen sind sowohl in der Stadt als auch auf dem Land in allen sozialen Schichten populär. Besonders in ländlichen Gebieten besitzen Herbalisten einen hohen Stellenwert, da die Behandlungen persönlicher und kostengünstiger sind als bei einem Schulmediziner. Oftmals werden Patienten, die von traditionellen Praktikern behandelt wurden, zu spät zu Schulmediziner bzw. in Krankenhäuser überwiesen. Fehldiagnosen oder falsche Dosierungen von pflanzlichen Zubereitungen können somit oftmals auch zu irreversiblen Schäden bzw. zu einem letalen Verlauf der Krankheit führen. Aus diesem Grund wurde die Forderung nach einer besseren Kommunikation zwischen beiden Gesundheitssystemen erhoben (Aboagye–Nyame, 1995).

### Malariatherapie

In der Phytotherapie Ghanas sind sehr viele Heilpflanzen bekannt, die bei der Behandlung von Malaria eingesetzt werden. Ein kompetenter Herbalist kennt zur Behandlung der Malaria mindestens 7–10 wirkende Pflanzenarten und somit auch verschiedene Pflanzenstandorte. Demzufolge treten, unabhängig von klimatischen Einflüssen bzw. Änderungen der Infrastruktur (z.B. Waldrodung, Straßenbau), keine Probleme bei der Beschaffung des Pflanzenmaterials auf (Koranteng, 1998). Fast alle diese Pflanzen besitzen einen bitteren Geschmack (Bruce, 2001). Dieses charakteristische Merkmal für Pflanzenarten mit einer Anti-Malariawirkung wurde bereits in der traditionellen Medizin Südamerikas beobachtet (Milliken, 1997). Laut Aussagen eines ghanaischen Phytotherapeuten verwendet man Mixturen, die nach folgendem Prinzip hergestellt wurden

(Bruce, 1998): Man wählt eine Pflanze mit der gewünschten therapeutischen Eigenschaft und addiere dazu:

- eine Pflanze mit laxierender Wirkung
- eine Pflanze mit diuretischen Eigenschaften
- eine Pflanze mit diaphoretischer Wirkung

Die meisten pflanzenlichen Präparate werden in Form von wässrigen Aufgüssen angewendet. Rinden und Wurzeln werden für einige Zeit gekocht. Blätter, Früchte und oberirdische Pflanzenteile werden mit kochendem Wasser übergossen (Sam, 1998). Nach Aussage eines lokalen Phytotherapeuten werden die für die Behandlung verwendeten Pflanzenarten wie folgt eingeteilt:

- gegen Malaria ("malaria plants"),
- gegen Fieber ("fever plants"),
- für die Behandlung von chronischer Malaria und
- für die Behandlung akuter Malaria, die mit einer Milzvergrößerung einhergeht

Eine phytotherapeutische Therapie dauert durchschnittlich 5–7 Tage (Bruce, 2001).

## 1.2 *Exostema mexicanum* GRAY (Rubiaceae)

### 1.2.1 Systematik und geographische Verbreitung

*Exostema mexicanum* GRAY wird taxonomisch wie folgt eingeordnet (Reinhard, 2001):

Klasse: Rosopsida

Unterklasse: Asteridae

Ordnung: Gentianales

Familie: Rubiaceae

Gattung: *Exostema*

Es ist folgendes Synonym bekannt: *Exostema indutum* STANDL. Die neotropische Gattung *Exostema* umfaßt 25 Arten von Bäumen und Sträuchern und ist von Bolivien über die Westindischen Inseln bis nach Mexiko verbreitet. Die meisten Arten sind im Gebiet der Großen Antillen endemisch (McDowell *et al.*, 1998). *E. mexicanum* ist ein 18 bis 23 m hoher Strauch oder Baum. Der Stamm kann einen maximalen Durchmesser von 45 cm erreichen. Die Zweige sind schmal und auffallend mit linsenförmigen Punkten befleckt. An 1 cm langen Stielen sind ovale Blätter gegenüberliegend angeordnet. Die Blätter sind 5–15 cm lang, 2–8 cm breit, zugespitzt an der Blattspitze und abgerundet an der Basis. Die

weißen Blüten sind duftend und besitzen eine 8–10 mm lange Röhre mit fünf 1 cm langen Läppchen. Die 1 cm lange dunkelbraune Samenkapsel ist weißbefleckt. Die Pflanze wächst bevorzugt entlang von Wasserläufen in feuchten Waldgebieten in Höhenlagen bis zu 1500 m über dem Meeresspiegel (Morton, 1981).

### **1.2.2 Anwendung von *Exostema mexicanum* und verwandten Arten in der traditionellen Medizin**

Die Gattung *Exostema* zählt zu den sogenannten Copalchi-Rinden, die in der lateinamerikanischen traditionellen Medizin vielfältig genutzt werden. Speziell die Rindendrogen der Rubiaceae-Arten *Hintonia latiflora* BULLOCK, *Coutarea hexandra* SCHUM., *Exostema caribaeum* ROEM. ET SCHULT., *E. mexicanum* GRAY und *E. sanctae-luciae* BRITTEN (syn.: *E. floribundum* SW.) werden in der lateinamerikanischen Volksheilkunde gegen Malaria eingesetzt. Für die gleiche Indikation werden u.a. auch Croton-Arten (*Copalchi blanco*) verwendet. (Wolters, 1996). *E. mexicanum* ist in Mexiko als "quina" bzw. "melena de león", und als "quino" oder "quina" in El Salvador bekannt (Morton, 1981). In Guatemala wird ein bitter schmeckender Rindendekokt gegen Malaria eingesetzt (Standley *et al.*, 1975). Die verwandte Art *E. caribaeum* ist u.a. als "quina de las antillas" bekannt und wird als Chinin-Ersatz an Stelle von Cinchona-Rinde verwendet (Standley, 1926). Auf den Westindischen Inseln wird ein Rindendekokt von *E. sanctae-luciae* gegen Fieber eingenommen (Beuze, 1973).

### **1.2.3 Bisherige phytochemische und biologisch-pharmakologische Untersuchungen von *Exostema mexicanum* und verwandten Arten**

Die Art *E. mexicanum* ist phytochemisch nur wenig untersucht. Aus dem methanolischen Rindenextrakt wurden die Triterpene Cucurbitacin F, Cucurbitacin F-25-acetat, 2-O-β-D-Glucopyranosylcucurbitacin F-25-acetat und das Phenylcumarin 5-O-β-D-Glucopyranosyl-3',4'-dihydroxy-7-methoxy-4-phenylcumarin isoliert. In verschiedenen *in-vitro*-Testsystemen erwiesen sich Cucurbitacin F und Cucurbitacin F-25-acetat als zytotoxisch gegenüber humanen Lungen-, Brust- und Kolonkarzinomen (Mata *et al.*, 1990). Aus *E. caribaeum* wurden verschiedene 4-Phenylcumarine (auch: Neoflavone) isoliert (Sánchez-Viesca, 1969, Mata *et al.*, 1987 und 1988).





**Abb. 14:**

**Herbarbeleg *Exostema mexicanum* GRAY (Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin–Dahlem, Freie Universität Berlin)**

Eines dieser isolierten 4-Phenylcumarine (4',5'-Dihydroxy-7-methoxy-4-phenyl-5,2'-oxidocumarin) zeigte eine moderate antiplasmodiale Aktivität (Noster *et al.*, 1990). Weiterhin konnten mehrere 4-Phenylcumarine aus *Coutarea hexandra* (Delle Monache *et al.*, 1983, Delle Monache *et al.*, 1984, Aquino *et al.*, 1988, D'Agostino *et al.*, 1989, Delle Monache *et al.*, 1990) und *C. latiflora* (Reher *et al.*, 1984) isoliert werden. In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass 4-Phenylcumarine antimikrobielle (Mata *et al.*, 1988) und molluscizide (Ravelonjato *et al.*, 1992) Wirkungen besitzen. Um Aufschluß über die biologische Aufgabe von 4-Phenylcumarinen aus *E. caribaeum* und *Hintonia latiflora* zu erhalten, wurde deren Einfluß auf die

photosynthetische Aktivität untersucht (Calera *et al.*, 1996). Desweiteren konnten aus *E. caribaeum* zwei 4-Phenylcumarine isoliert werden, die eine inhibierende Wirkung gegenüber der cyclo-Adenosinmonophosphat (cAMP) Phosphodiesterase aufwiesen (Kusano *et al.*, 1991). Aus den Wurzeln von *E. acuminatum* URB. wurden Diterpene und 4-Phenylcumarine isoliert, die sich als zytotoxisch gegenüber Zelllinien verschiedener Humankarzinome erwiesen (Ito *et al.*, 2000).

### 1.3 *Calea tenuifolia* KUNTH (Asteraceae)

#### 1.3.1 Systematik und geographische Verbreitung

*Calea tenuifolia* KUNTH wird taxonomisch wie folgt eingeordnet (Reinhard, 2001):

Klasse: Rosopsida

Unterklasse: Asteridae

Ordnung: Asterales

Familie: Asteraceae

Gattung: *Calea*

Es sind folgende Synonyme beschrieben worden (The International Plant Names Index, 2001):

*Aschenbornia heteropoda* SCHAUER,

*Calea rugosa* HEMSLEY,

*Calea zacatechichi* SCHLECHT. und

*Cahydermos rugosus* DC.

*Calea tenuifolia* KUNTH ist die korrekte Bezeichnung für die in der Ethnobotanik oftmals beschriebene Art *Calea zacatechichi* SCHLECHT. (Berendsohn, 2001). Die Gattung *C. tenuifolia* umfaßt 10 Taxa, welche 8 Arten und 2 Varietäten beinhaltet (Wussow *et al.*, 1985).

Die krautige, stark verzweigte Pflanze ist 1–1,5 m hoch. Die 2–7 cm langen Blätter sind gegenüberliegend an 5 mm langen Stielen angeordnet. Die ovalen Blätter sind meist behaart und am Blattrand gezähnt. Die Blüten sind klein und gelb bzw. selten weißlich gefärbt und sitzen in mehreren kurzstieligen, 1 cm langen Blütenköpfen. Die 2–3,5 mm langen Samen sind schwarz und glänzend (Morton, 1981). Die Pflanze wächst hauptsächlich im zentralamerikanischen Hochland in einer Höhe von 1500 bis 1800 m über dem Meeresspiegel, bevorzugt in reinen Pinienwäldern (Rätsch, 1998).



**Abb. 15:**

**Graphische Darstellung von *Calea zacatechichi* SCHLECHT. (©Greenman, 1907)**

### **1.3.2 Anwendung von *Calea tenuifolia* in der traditionellen Medizin**

In der traditionellen Heilkunde Mexikos ist *Calea tenuifolia* unter vielen volkstümlichen Namen bekannt. Der aztekische Name "zacatechichi" bedeutet "bitteres Gras". Die Pflanze wird auch als "Aztekisches Traumgras", "zacate de perro" (Spanisch für "Hundegras"), "hoja de dios" (Spanisch für "Blatt Gottes") und thle-pela-kano (Chontal für "Blatt Gottes") bezeichnet (Rätsch, 1998). Zur Behandlung von Malaria wird ein Infus aus 10 g des getrockneten Krautes dreimal täglich verabreicht (Martinez, 1959). Mixe-Indianer verwenden eine wässrige Zubereitung in der Behandlung von Malaria und Hämorrhagien (Heinrich, 1989). Neben der Verwendung als Fiebermittel bei Malaria wird *C. tenuifolia* auch als Mittel bei Durchfall und Bilharziose eingesetzt (Baytelman, 1979). Bei den

Chontal-Indianern wird ein Sud aus frischen Blättern getrunken, um Visionen und traumähnliche Zustände zu erzeugen (Rätsch 1998).

### **1.3.3 Bisherige phytochemische und biologisch-pharmakologische Untersuchungen von *Calea tenuifolia***

Im Rahmen verschiedener phytochemischer Untersuchungen wurden aus *C. tenuifolia* (syn.: *C. zacatechichi*) zahlreiche Sesquiterpenlaktone isoliert: die Germacranolide 1 $\beta$ -Acetoxy-Zacatechinolid, 1-Oxo-Zacatechinolid (Bohlmann *et al.*, 1977), Caleocromen A und B (Quijano *et al.*, 1977), Zexbrevin (Ortega *et al.*, 1970), Calein A, B (Quijano *et al.*, 1978 und 1979, Herz *et al.*, 1980) und Budlein A (Herz *et al.*, 1980). Desweiteren wurde die Isolierung der Flavone Acacetin und 7-Methylacacetin beschrieben (Herz *et al.*, 1980). In einer Studie verschiedener mexikanischer Pflanzen konnte bei *C. tenuifolia* eine hypoglycämische Aktivität in Kaninchen nachgewiesen werden (Quijano *et al.*, 1978). Ein ethanolischer Blattextrakt der Pflanzenart zeigte eine inhibierende Wirkung auf den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B und einen anti-inflammatorischen Effekt im HET-CAM-Test (Bork *et al.*, 1997). In einer psychopharmakologischen Studie wurde eine trauminduzierende Wirkung von *C. tenuifolia* nachgewiesen (Mayagoitia *et al.*, 1986).

## **1.4 *Microglossa pyrifolia* (LAM.) KUNTZE (Asteraceae)**

### **1.4.1 Systematik und geographische Verbreitung**

*Microglossa pyrifolia* (LAM.) KUNTZE wird taxonomisch wie folgt eingeordnet (Reinhard, 2001):

Klasse: Rosopsida

Unterklasse: Asteridae

Ordnung: Asterales

Familie: Asteraceae

Gattung: *Microglossa*

Es ist folgendes Synonym bekannt: *Conyza pyrifolia* LAM. (Asteraceae). Die Gattung *Microglossa* umfaßt 31 Arten (The International Plant Names Index, 2001).



**Abb. 16:**

***Microglossa pyrifolia* (LAM.) KUNTZE**

*M. pyrifolia* ist ein 2–3 m hoher Strauch, dessen Stamm und Zweige fein behaart sind. Die 6–10 cm langen und 3–5 cm breiten Blätter sind gegenständig und kurz gestielt. Die Form der Blätter ist eiförmig mit einer gerundeten Basis und zugespitzter Blattspitze, welche leicht gezähnt ist. Die obere Blattseite ist glatt, die untere leicht behaart. Die weißlich bis blassgelben Blüten besitzen einen ausgeprägten Duft. Sie sind in mehreren kleinen Köpfchen angeordnet, die einen Durchmesser von ca. 2 cm besitzen. Die Blütenköpfchen befinden sich in endständigen, wenig verzweigten Doldentrauben. Der Blütenkelch ist zu bleibenden Borsten umgebildet. Die Früchte sind gerippte und behaarte Nussfrüchte (Neuwinger, 1998). *M. pyrifolia* ist im tropischen Afrika, speziell zwischen Senegal und Kamerun, weitverbreitet (Dokosi, 1998). Die Pflanze wächst bevorzugt in trockenen Sekundär- und Savannenwäldern und ist oft in näherer Umgebung von Hütten zu finden (Neuwinger, 1998).

### 1.4.2 Anwendung von *Microglossa pyrifolia* in der traditionellen Medizin

In der traditionellen Medizin Westafrikas ist *M. pyrifolia* unter vielen einheimischen Namen bekannt. In Ghana wird sie in der landestypischen Sprache Twi als "Osomerewa" oder "esono–mbabe" bezeichnet (Dokosi, 1998, Neuwinger, 1998). Die Verwendung von *M. pyrifolia* in der traditionellen Medizin Afrikas ist sehr vielseitig, wobei der Einsatz als Schmerzmittel im Vordergrund steht (Neuwinger, 1998). Aus Ghana liegen ethnobotanische Informationen über die Anwendung der Heilpflanze in der Malariatherapie vor. So wird z.B. ein wässriger Dekokt der Blätter gegen Fieber und Malaria eingesetzt (Abbiw, 1990, Bruce, 1998, 2000). Nach Aussagen eines ghanaischen Phytotherapeuten wird ein wässriger Infus der Blätter allgemein als fiebersenkendes Mittel (z.B. bei Gelbfieber) eingesetzt. Weiterhin werden die Blätter der Pflanze bei der Behandlung von Gonorrhöe, lepramatöser Lepra und Wurmerkrankungen verwendet. Ein Dekokt der Wurzeln wird gegen starke Kopfschmerzen eingesetzt (Bruce, 2000). Der Saft junger Wurzeln gilt als wirksames Mittel in der Augenmedizin, z.B. bei der Behandlung von grauem Star (Bruce, 2000, Neuwinger, 1998). In Burundi werden die Blätter und Zweige bei Fieber eingesetzt. Die Blätter von *M. pyrifolia* werden u.a. auch bei der Behandlung von Unterleibsbeschwerden, Rheuma, Durchfall und Schlangenbissen verwendet (Neuwinger, 1998).

### 1.4.3 Bisherige phytochemische und biologisch–pharmakologische Untersuchungen von *Microglossa pyrifolia*

Aus der Gattung *Microglossa* (syn.: *Conyza*) wurden mehrere Acetylene, Furanoditerpene und Geranylgeraniol–Derivate isoliert. Rücker und Mitarbeiter (1992 und 1994) isolierten aus einem Petrolether–Diethylether–Extrakt der Blätter von *M. pyrifolia* verschiedene Acetylglykoside und aus einem Ethylacetat–Extrakt acetylierte Auronglykoside. Die isolierten Acetylglykoside zeigten eine mittlere Aktivität gegen die Eiter induzierenden Bakterien *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*. Eine GC–MS–Untersuchung der Blätter von *M. pyrifolia* ergab folgende Zusammensetzung des ätherischen Öls: *E*– $\beta$ –Farnesen (73 %) und  $\beta$ –Caryophyllen (14 %) (Kuiate *et al.*, 1999). Aus den Wurzeln wurden fünf Dihydrobenzofurane und zwei Triterpene vom Damarantyp isoliert (Hildebrandt *et al.*, 2000). Weiterhin konnten Zdero und Mitarbeiter (1990) aus den oberirdischen Teilen von *M. pyrifolia* verschiedene Furanoditerpene vom Furoclerodan–

Typ und seco-Furoclerodan-Typ, sowie von Geranylgeraniol abgeleitete alicyclische Diterpene isolieren. Ein Methanolextrakt der Wurzeln und Stammrinde von *M. pyrifolia* erwies sich *in vitro* als aktiv gegenüber dem Parasiten *Giardia lamblia* (*G. duodenalis*, *Lamblia intestinalis*) (Johns *et al.*, 1995). *G. lamblia* ist ein verbreiteter Verursacher von akuter Diarrhöe bei Menschen.

## 1.5 Natürliche und semi-synthetische Ergolinderivate

Indolalkaloide vom Ergolin-Typ besitzen eine Vielzahl biologisch-pharmakologischer Wirkungen. Ihre antiplasmodiale Aktivität ist bislang nicht untersucht worden.

### 1.5.1 Charakterisierung von Ergolinalkaloiden

Zu den Ergolinalkaloiden gehören Clavine, einfache Lysergs ureamide und Ergopeptine. Der Grundkörper der Ergolin-Alkaloide ist das tetracyclische Ergolin, ein partiell hydriertes Indolo[4,3-f,g]-chinolin. Der Grundkörper trägt an Position C-8 einen variablen Substituenten R, ein  $\beta$ -st ndiges H-Atom befindet sich an C-5, das N-Atom in Position 6 ist meist methyliert. Bei den im Ring D gesättigten Clavinen gibt es drei Asymmetriezentren (C-5, C-8 und C-10).

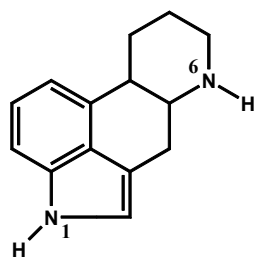


Abb. 17: Molekülstruktur von Ergolin

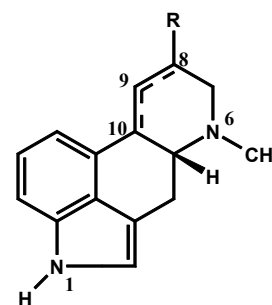


Abb. 18: Molekülstruktur von Mutterkornalkaloiden

Zu dieser Gruppe von Clavinalkaloiden gehört u.a. Festuclavin. Zu der Gruppe von Clavinen, die an  $8\alpha$ -Position eine Aminofunktion tragen, zählt u.a. das semisynthetische Derivat Tergurid. Beim partialsynthetischen Pergolid handelt es sich um ein Clavin, das an  $8\alpha$ -Position eine Methylsulfidgruppe besitzt und dessen N-6-Atom mit einem Propylrest alkyliert ist. Ergolinalkaloide können aus dem Mutterkorn (*Secale cornutum*) gewonnen

werden und werden aus diesem Grund auch als Mutterkornalkaloide bezeichnet. Mutterkorn ist das Dauermycel (Sklerotium) des auf Roggen (*Secale cereale* L.) vorkommenden Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea* TULASNE (Clavicipitaceae). Die Vertreter der Gattung *Claviceps* sind Schlauchpilze (Ascomycetes), die in den Blüten von über 400 Grasarten parasitieren können. Neben der wohl bedeutendsten Art *C. purpurea* gibt es zahlreiche andere *Claviceps*-Arten. Beispielsweise kann Festuclavin aus einer *Claviceps*-Art gewonnen werden, die auf *Festuca rubra* L. (Poaceae) parasitiert. Mutterkornalkaloide werden vorwiegend durch saprophytische Submerskultur von Hochleistungsstämmen von *C. purpurea* oder speziellen Stämmen von *C. paspali* gewonnen. Weiterhin können Mutterkornalkaloide von einer Reihe von Convolvulaceen, z.B. von Vertretern der Gattungen *Argyreia* und *Ipomoea* gebildet werden (Stauffacher *et al.*, 1965).



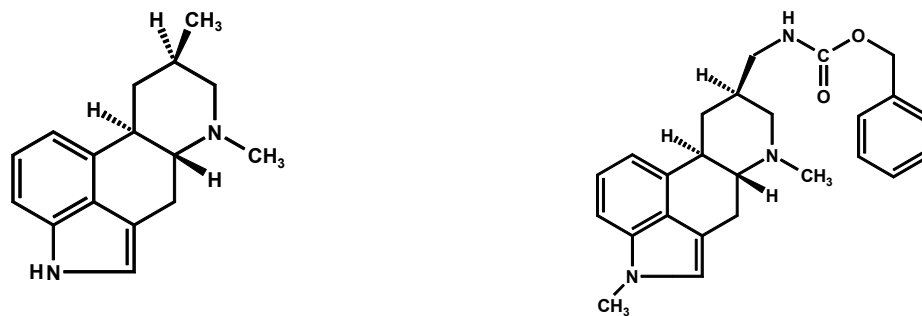
**Abb. 19:**



**Auf Roggen (*Secale cereale* L.) parasitierender Mutterkornpilz *Claviceps purpurea* TULASNE (© RÄTSCH, 1998)**

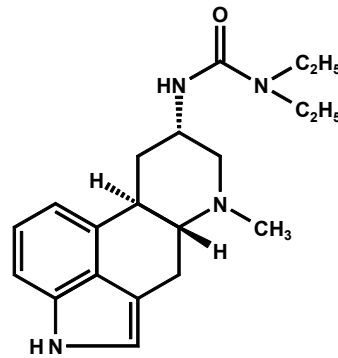
**1.5.2 Biologisch–pharmakologische Wirkungen von Ergolinderivaten am Beispiel von Festuclavin, Pergolid und Tergurid**

Mutterkornalkaloide und ihre Derivate besitzen eine Vielzahl biologischer Effekte und können deshalb nicht als eine einzige pharmakologische Einheit betrachtet werden. Aus diesem Grunde werden sie auch als "dirty drugs" bezeichnet. Ergolinderivate werden auf Grund gemeinsamer Strukturmerkmale des Ergolinanteils mit Noradrenalin, Serotonin und Dopamin mit unterschiedlicher Affinität an  $\alpha_1$ -adrenerge,  $\alpha_2$ -adrenerge, 5-HT<sub>1</sub>-serotoninerge, 5-HT<sub>2</sub>-serotoninerge, D<sub>1</sub>- und D<sub>2</sub>-dopaminerge Rezeptoren gebunden. Je nach ihrer Struktur, dem betroffenen Organ und dessen Funktionszustand üben sie partielle agonistische oder antagonistische Reaktionen aus.



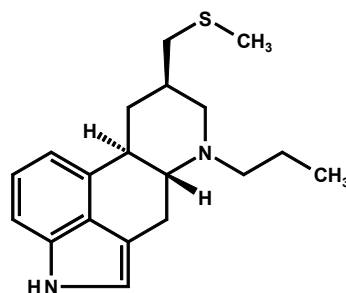
**Abb. 20: Molekülstruktur von Festuclavin    Abb. 21: Molekülstruktur von Metergolin (Liserdol<sup>®</sup>)**

Eich und Mitarbeiter konnten feststellen, dass **Festuclavin** sowohl eine antimikrobielle als auch eine zytostatische Wirkung besitzt (Eich *et al.*, 1984 und 1986). In weiteren Studien wurde gezeigt, dass speziell eine Alkylierung am N-1-Atom die antimikrobielle (Eich *et al.*, 1982) und zytostatische Aktivität von Festuclavin erhöht (Kasper, 1991). Wird die Methylgruppe am N-6-Atom von Festuclavin gegen einen Allylrest ausgetauscht, hat dies ebenfalls einen potenzierenden Effekt auf die zytostatische Wirkung der Verbindung (Eich *et al.*, 1984). Metergolin ist eine dem Festuclavin strukturverwandte Verbindung, die als Prolaktin-Hemmer eingesetzt wird. Vermutlich trägt der sehr ausgeprägte 5-HT<sub>2</sub>-Antagonismus zur Antiprolaktin-Aktivität bei (Eich, 1992).



**Abb. 22: Molekülstruktur von Tergurid**

**Tergurid** besitzt partielle dopaminerge Wirkungen ( $D_2$ -Agonist/ Antagonist) und wird u.a. als Prolaktin-Inhibitor eingesetzt. Gegenüber anderen Mutterkornalkaloiden, die zur Unterdrückung der Laktation nach der Geburt eingesetzt werden, zeichnet sich Tergurid durch eine bessere Verträglichkeit aus (Mizokawa *et al.*, 1993). Aufgrund seiner Wirkung als  $D_2$ -Agonist wird es auch in der Therapie der Parkinsonschen Krankheit eingesetzt. Hierbei hat sich die Kombination mit dem bekannten Antiparkinsonmittel Levodopa<sup>®</sup> als besonders vorteilhaft erwiesen (Rinne, 1986). Tergurid ist auch wirksam bei durch Stress bedingter Immunschwäche (Rašková *et al.*, 1987). Aufgrund seiner immunmodulatorischen Eigenschaften beeinflusst Tergurid die Aktivität natürlicher Killerzellen und spezifischer cytotoxischer T-Lymphozyten (Křen *et al.*, 2001).



**Abb. 23: Molekülstruktur von Pergolid**

**Pergolid** wirkt als dopaminerge Agonist und wird als Parkotil<sup>®</sup> bei fortgeschrittenem Parkinson-Syndrom eingesetzt. In der Langzeittherapie von Parkinsonpatienten zeichnete sich die Kombination von Levodopa<sup>®</sup> und Pergolid neben einer hohen Wirksamkeit durch besonders gute Verträglichkeit aus (Rinne, 1986). Das Handelspräparat Parkotil<sup>®</sup> stimuliert  $D_1$ - und  $D_2$ -Rezeptoren (Mutschler, 1996).

### 1.5.3 Semisynthetische *N, N*-verknüpfte Ergolinoligomere mit Festuclavin, Pergolid und Tergurid als Monomer

Es ist bekannt, dass durch den sogenannten Cluster-Effekt die pharmakologischen Eigenschaften von Substanzen stark beeinflusst werden können. Clustermoleküle können u.a. die Pharmakodynamik, wie z.B. die Ligandenbindungsaffinität, verändern. Ein pharmakologisches Modell, das zum Auffinden hochselektiver und spezifischer Verbindungen führen soll, ist das "bivalente Ligandenmodell" (Portoghese, 1992). Hierbei werden durch Dimerisierung/ Oligomerisierung von Liganden deren Bindungseigenschaften zu Rezeptoren beeinflusst. Durch ausgewählte Linkermoleküle werden die Liganden miteinander verbrückt, woraus folgende Effekte resultieren können:

- die Affinität zu einer Bindungsstelle an einem Rezeptor wird erhöht,
- die Affinität zu den Bindungsstellen mehrerer (z.B. benachbarter) Rezeptoren erhöht sich und
- die Liganden binden auch an die Bindungsstelle von Untereinheiten eines Rezeptors

Der gesuchte Effekt ist hierbei in erster Linie abhängig von:

- der Struktur des Liganden und des Linkermoleküls sowie
- der Art der Verknüpfung.

In früheren Untersuchungen führte die Anwendung des "bivalenten Ligandenmodells" bei Opiatliganden zu einer signifikanten Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften (Portoghese, 1992). In einer weiteren Studie konnten mittels des "bivalenten Ligandenmodells" die gesuchten pharmakologischen Wirkungen für Serotonin-Dimere potenziert werden (Halazy *et al.*, 1996). Für Ergolinderivate wurden die durch Dimerisierung/Oligomerisierung hervorgerufenen Effekte bisher nicht eingehend untersucht.

Křen und Mitarbeiter synthetisierten verschiedene *N-1, N-1'*-verknüpfte oligomere Verbindungen mit Festuclavin, Pergolid und Tergurid als Monomer, um den Einfluß der Clusterbildung auf die pharmakologische Wirkung der Ergoline untersuchen zu können. Hierzu wurden als Linkermoleküle bifunktionale Alkylbromide, wie z.B. 1,6-Dibromohexan, *ortho*-, *para*- und *meta*- Bis(bromomethyl)benzen und 1,3,5-Trimethyl-2,4,6-tris(bromomethyl)benzen eingesetzt. Erste Untersuchungen zeigten, dass *N-1, N-1'*-verknüpfte Ergolinoligomere mit aromatischen Linkermolekülen stärker zytotoxisch waren als *N-1, N-1'*-verknüpfte Verbindungen mit aliphatischen Linkern (Křen *et al.*, 2002).

## 1.6 Zielsetzung

Infolge fortschreitender Resistenzentwicklung gegenüber gängigen Medikamenten wird die Therapie und Kontrolle der Malariaerkrankung zunehmend schwieriger. Hinzu kommt, dass in vielen Endemiegebieten für Betroffene eine Chemoprophylaxe der Malaria bzw. die Therapie mit synthetischen Anti-Malariamitteln zu kostenaufwendig ist. Infolgedessen werden in diesen Regionen traditionell pflanzliche Drogen zur Behandlung der Malaria eingesetzt. Da die phytotherapeutische Malariabehandlung einen hohen Stellenwert in endemischen Gebieten einnimmt, ist die Evaluierung von Pflanzenarten mit einer Hemmwirkung gegenüber *P. falciparum* von großem Interesse. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass zahlreiche aktive Substanzen, darunter einige der heute gebräuchlichen Malaria-Medikamente, aus indigenen Heilpflanzen isoliert bzw. von Naturstoffen abgeleitet wurden. Ausgehend von diesem ethnobotanischen Ansatz ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, die antiparasitäre Wirkung von zentralamerikanischen und westafrikanischen Heilpflanzen zu evaluieren, die traditionell zur Behandlung der parasitären Infektionskrankheit eingesetzt werden. Hierbei steht die Isolierung antiplasmodial wirkender Inhaltsstoffe mit Hilfe einer aktivitätsgeleiteten Fraktionierung im Vordergrund. Mittels eines *in-vitro*-Testsystems wird von Rohextrakten, Fraktionen sowie isolierten Verbindungen die Hemmwirkung gegenüber *P. falciparum* bestimmt. Die Fraktionierung der Pflanzenrohextrakte und die phytochemische Aufarbeitung aktiver Fraktionen soll durch Anwendung unterschiedlichster chromatographischer Methoden, wie z. B. offene Säulenchromatographie und HPLC erfolgen. Potentiell aktive Verbindungen, die eine *in-vitro*-Hemmwirkung gegenüber dem Parasiten zeigen, sollen isoliert und in ihrer Molekülstruktur aufgeklärt werden. Zur Strukturaufklärung der Inhaltsstoffe werden spektroskopische Methoden, wie ein- und zweidimensionale NMR-Spektren als auch MS-Spektren herangezogen. Zusätzlich soll bei den antiplasmodial wirkenden Verbindungen geklärt werden, inwiefern der beobachtete Effekt auf eine spezifische Inhibition der Plasmodien oder auf eine allgemeine Zelltoxizität zurückzuführen ist.

Die folgenden Arten sollen dem antiplasmodialen *in-vitro*-Testsystem zugeführt werden: die zentralamerikanischen Heilpflanzen

*Iresine calea* (IBÁÑEZ) STANDL. (Amaranthaceae),

*Calea tenuifolia* KUNTH [syn.: *C. zacatechichi* SCHLECHT.] (Asteraceae),

*Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae),

*Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae),

*Samanea saman* (JACQ.) MERR. [syn.: *Albizia saman* (JACQ.) F.V. MUELL.] (Fabaceae),

*Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae),  
*Moringa oleifera* LAM. (Moringaceae) und  
*Exostema mexicanum* GRAY (Rubiaceae).

Weiterhin sollen im Rahmen dieser Arbeit die folgenden westafrikanischen Heilpflanzen untersucht werden:

*Gomphrena celosioides* MART. (Amaranthaceae),  
*Picralima nitida* (STAPF) TH. & H. DURAND (Apocynaceae),  
*Pergularia daemia* (FORSSK) CHIOV. (Asclepiadaceae),  
*Emilia sonchifolia* (L.) DC. (Asteraceae),  
*Microglossa pyrifolia* (LAM.) KUNTZE [syn.: *Conyza pyrifolia* LAM], (Asteraceae),  
*Adansonia digitata* L. (Bombacaceae),  
*Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae),  
*Phyllanthus niruroides* MÜLL. ARG. (Euphorbiaceae),  
*Tetrapleura tetraptera* (SCHUHM. & THONN.) TAUB. (Mimosaceae),  
*Mitragyna inermis* (WILLD.) KUNTZE (Rubiaceae) und  
*Mitragyna stipulosa* (DC.) (Rubiaceae).

Mit dem Ziel, neue potentielle Leitstrukturen für eine rationale Arzneitherapie gegen Malaria zu evaluieren, werden verschiedene Ergolinderivate und ihre semi-synthetischen *N,N'*-verknüpften Oligomere auf eine *in-vitro*-Aktivität gegenüber *P. falciparum* getestet. Ob der zu beobachtende antiparasitäre Effekt der getesteten Verbindungen einer spezifischen antiplasmodialen Eigenschaft oder einer allgemeinen zelltoxischen Wirkung entspricht, soll ebenfalls im Laufe dieser Studie festgestellt werden.