

Antimetaboliten des Coenzym Q. Möglichkeiten ihrer Anwendung als Antimalaria-Mittel

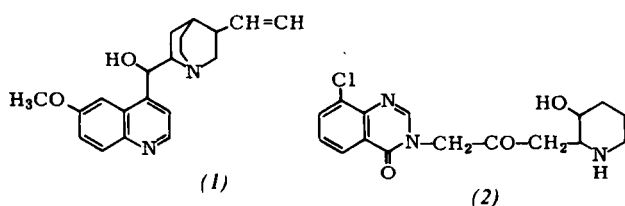
Von Thomas H. Porter und Karl Folkers^[*]

Die Malaria wird auf den Menschen durch den Stich der Anopheles-Mücke übertragen; der Mensch fungiert als Zwischenwirt und die Mücke als Endwirt für die Plasmodien. Gegen einige Chemotherapeutica sind die Plasmodien resistent geworden. Ein neues Konzept der Malaria-Therapie geht davon aus, daß der Elektronentransport im Stoffwechsel der Plasmodien durch Antimetaboliten des Coenzym Q gehemmt wird, das am Elektronentransport maßgeblich beteiligt ist. Als Coenzym Q bezeichnet man 2,3-Dimethoxy-5-methyl-1,4-benzochinone mit isoprenoiden Ketten wechselnder Länge an C-6. In diesem Fortschrittsbericht wird eine Reihe synthetischer Antimetaboliten vorgestellt und ihre Wirkung in vorläufigen pharmakologischen Tests diskutiert.

1. Heutige Bedeutung der Malaria

Die Malaria, eine durch Protozoen der Gattung *Plasmodium* verursachte Erkrankung des Blutes, ist wahrscheinlich heute die am weitesten verbreitete Krankheit des Menschen. Nach Angaben von Steck^[1] ist anzunehmen, daß trotz aller Bemühungen, die Malaria therapeutisch und prophylaktisch unter Kontrolle zu bekommen, in jedem Jahr mindestens ein Zehntel der Menschheit unter ihr leidet. Diese Seuche ist noch immer die verheerendste Infektionskrankheit des Menschen, und jährlich zeigen Millionen von Infektionen und viele hunderttausend Todesfälle, daß sie als weltweites Problem bisher nicht beseitigt werden konnte^[1].

Die Malaria wird auf den Menschen durch den Stich der weiblichen Anopheles-Mücke übertragen, wobei der Mensch als Zwischenwirt, die Mücke als Endwirt für die Plasmodien fungiert. Zur Bekämpfung der Malaria wurden durch die Gesundheitsbehörden Maßnahmen zur Ausrottung der Mücken durch Chemikalien und Zerstören der Brutstätten ausgearbeitet; daneben sind Chemotherapeutica zur Behandlung der Krankheit entwickelt worden.



Bei den Chemotherapeutica wurden zunächst zwei Naturstoffe, Chinin (1) und Febrifugin (2), bekannt, von denen Chinin

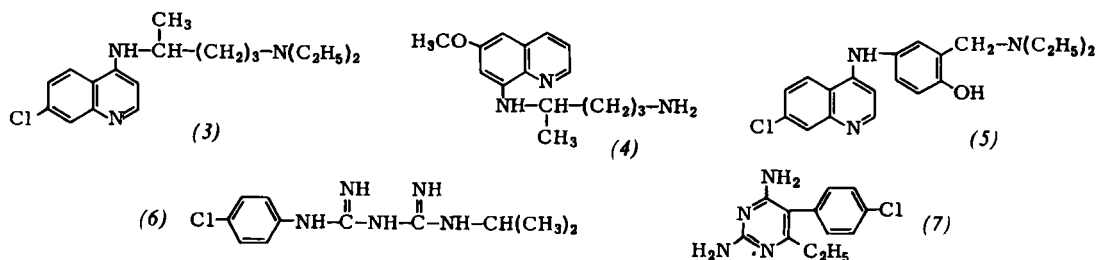
lange Zeit große Bedeutung hatte. Als während der Weltkriege der Nachschub aus den Chinin-Anbaugebieten nicht mehr gesichert war, wurden die Naturstoffe zum großen Teil durch synthetische Verbindungen wie Chlorochin (3), Prima-chin (4), Amodiachin (5), Proguanil (6) und Pyrimethamin (7) ersetzt.

Etwa zwischen 1948 und 1950 wurde die Resistenz der Plasmodien gegen einige Chemotherapeutica zu einem schwerwiegenden Problem. Zuerst hatte man in Malaya eine Resistenz von *Plasmodium falciparum* und *Plasmodium vivax* gegen Proguanil (6) beobachtet (vgl.^[12]). Kurz danach wurde auch über die Resistenz gegenüber anderen wichtigen Antimalaria-Mitteln aus vielen Teilen der Welt, einschließlich Afrika und Südamerika, berichtet.

Da einige Plasmodien-Arten gegen konventionelle Antimalaria-Mittel wie Chlorochin (3) und Primachin (4)^[13-51] resistent sind, wurden von zahlreichen Forschern Wege zu einer neuen Malaria-Chemotherapie gesucht. Ein grundsätzlich neuer Weg beruht auf dem biochemischen Grundprinzip einer Hemmung des Elektronentransports im Stoffwechsel der Plasmodien; dieser Weg ist das Hauptthema des vorliegenden Fortschrittsberichts.

2. Erste Untersuchungen an Naphthochinonen als Antimalaria-Mittel

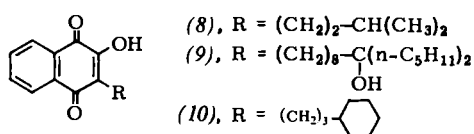
Schon 1942 wurde bei einem Screening-Programm zur Suche nach neuen Antimalaria-Mitteln gefunden, daß Hydrolapachol (8) und zwei strukturell ähnliche Chinone, (9) und (10),



[*] Prof. Dr. K. Folkers und Dr. T. H. Porter
Institute for Biomedical Research, The University of Texas at Austin
Austin, Texas 78712 (USA)

bei Enten eine Antimalaria-Wirkung gegen *P. lophurae* haben. Diese Ergebnisse entstammten zum großen Teil den ausge-

dehnten Untersuchungen der Arbeitsgruppen von Fieser und Leffler^{16, 71} über Chinone, besonders Naphthochinone.



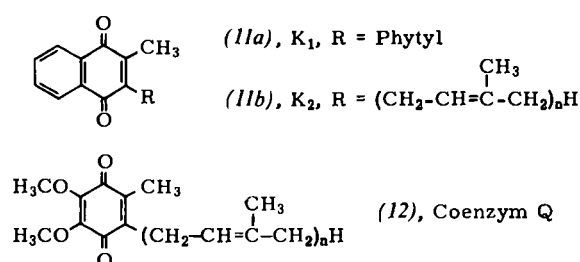
Ergebnisse dieser umfangreichen Arbeiten waren u. a. die klinischen Eigenschaften der beiden Naphthochinone (9) und (10), die auch beim Menschen Antimalaria-Wirkung zeigten¹⁶. Für (9) wurde festgestellt, daß „zwei Patienten das Krankenhaus in ausgezeichneter Verfassung ohne Parasiten im Blut ... oder ohne Rückfall verließen“¹⁶. Verbindung (10) brachte dagegen „keinen vollen Erfolg, zeigte jedoch immerhin ... eine merkliche Antimalaria-Wirkung beim Menschen“¹⁶.

1943 fand Bauer, daß einige dieser 2-Alkyl-3-hydroxy-1,4-naphthochinone gegen Malaria bei Küken auch prophylaktisch wirksam sind¹⁸⁻¹⁰. Die Verabreichung dieser Chinone in ausreichenden Mengen vor und ungefähr bis fünf Tage nach dem Impfen der Küken mit Sporozoiten von *P. gallinaceum* bewirkte einen vollständigen Schutz. In weiteren Arbeiten wurde festgestellt, daß diese Naphthochinone die exoerythrocytären Formen der Malaria-Parasiten zerstörten, die sich in den reticuloendothelialen Zellen der mit *P. gallinaceum* infizierten Küken befanden^{19, 10}.

Die Wirkungsweise dieser Chinon-Antimalaria-Mittel wurde in den vierziger Jahren nur wenig erforscht, obwohl es schon damals Anzeichen dafür gab, daß die Zellatmung beeinflusst wird. Ungefähr 1945 fand Wendell¹¹¹, daß die 2-Alkyl-3-hydroxy-1,4-naphthochinone tatsächlich wirksame Inhibitoren der Atmungssysteme sind. In Konzentrationen von ca. 1 · 10⁻⁶ mol/l verringerte 2-(3-Cyclohexylpropyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (10) die Atmung in den parasitenhaltigen Erythrocyten im Blut einer mit *P. lophurae* infizierten Ente um 50%. Die Ergebnisse der Untersuchungen deuteten auch darauf hin, daß die Verbindungen den Kohlenhydrat-Stoffwechsel beeinflussen und eine Ansammlung von Milchsäure im Organismus verursachen.

3. Entdeckung des Coenzym Q₈ in Plasmodien

Die strukturelle Ähnlichkeit zwischen den Verbindungen (8) bis (10) und Vitamin K (11) wurde zunächst dahingehend gedeutet, daß die Antimalaria-Wirkung dieser Naphthochinone auf einem Antagonismus gegen Vitamin K beruht. Diese



Vorstellung erschien berechtigt, denn es war bekannt, daß Vitamin K am Stoffwechsel zahlreicher Mikroorganismen beteiligt ist; allerdings war das Vitamin bisher in Plasmodien noch nicht nachgewiesen und offensichtlich auch gar nicht gesucht worden.

Smith et al.^{112, 113} berichteten, daß das 2-(3-Cyclohexylpropyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (10) bei jungen Ratten ein hämorrhagisches Syndrom und eine Hypoprothrombinämie hervorrief und daß die Entstehung der Symptome durch gleichzeitige Gabe von Vitamin K unterdrückt wurde. Diese Angaben ließen indirekt ebenfalls auf das Vorhandensein einer Form des Vitamins K in den Plasmodien schließen.

Erst nach diesen Untersuchungen über Naphthochinon-Antimalaria-Mittel wurde das Coenzym Q (Ubichinon) (12) entdeckt, und man stellte fest, wie überaus weit es in lebenden Systemen verbreitet ist und welche Rolle ihm in der Zellatmung zukommt, z. B. in den Enzymsystemen Succinat-Dehydrogenase-Coenzym Q und NADH-Dehydrogenase-Coenzym Q¹¹⁴ (vgl.¹¹⁴).

Hendlin und Cook¹¹⁵ sowie Takemari und King¹¹⁶ zeigten, daß die Succinat-Dehydrogenase durch einige 2-Hydroxy-1,4-naphthochinone gehemmt wird und daß sich diese Hemmung durch Coenzym Q₁₀¹¹⁷ aufheben läßt. Ähnlich wies Howland¹¹⁷ die Hemmung von Mitochondrien-NADH-Dehydrogenase durch 2-Alkyl-3-hydroxy-1,4-naphthochinone nach.

Ab 1958 war bekannt, daß Mikroorganismen Vitamin K und/oder Coenzym Q (CoQ) synthetisieren und offensichtlich in ihrem oxidativen Stoffwechsel verwenden. Konsequenterweise konnte man daher auch annehmen, daß Vitamin K und/oder Coenzym Q in Plasmodien vorhanden sind, nachdem man Mitochondrien in Plasmodien, besonders in ihren späteren Entwicklungsstadien, nachgewiesen hatte^{118, 119}.

Dann wurde vorausgesagt, daß Coenzym Q eine wesentliche Komponente im Stoffwechsel der Plasmodien ist und daß die Antimalaria-Wirkung der Naphthochinone (8), (9) und (10) wenigstens zum Teil auf einer Hemmung des Coenzym Q in der Art von Antimetaboliten beruht.

Unter „Antimetaboliten“ versteht man Substanzen, die bei Stoffwechselvorgängen mit natürlichen Stoffwechselprodukten (Metaboliten) in Konkurrenz treten können, wodurch der Ablauf biologischer Reaktionen fehlgeleitet oder unterbunden wird.

Die Suche nach Coenzym Q in Plasmodien war erfolgreich; 1967 wiesen Rietz, Skelton und Folders^{120, 211} Coenzym Q₈ und Q₉ in *P. lophurae* nach. Massenspektrometrische und papierchromatographische Untersuchungen zeigten, daß CoQ₈ und wahrscheinlich auch CoQ₉ in parasitenhaltigem Blut von Enten vorhanden sind und von *P. lophurae* biosynthetisiert werden. Vitamin K wurde dagegen bei der papierchromatographischen Untersuchung der Lipid-Fractionen nicht gefunden.

Als nächstes zeigten Skelton, Lunan und Folders in Zusammenarbeit mit Schnell, Siddiqui und Geiman¹²², daß in parasitenhaltigem Blut aus [¹⁴C]-*p*-Hydroxybenzoesäure die [¹⁴C]-Coenzyme Q₈, Q₉ und vielleicht auch Q₇ biosynthetisiert werden; die Autoren isolierten diese Coenzyme aus den Blutzellen von Rhesus-Affen, die mit *P. knowlesi* infiziert waren.

[*] Diese Enzyme werden auch als „Succin-Oxidase“ bzw. „DPNH-Oxidase“ bezeichnet.

[**] Der Index bezieht sich auf die Anzahl n der Isopren-Einheiten.

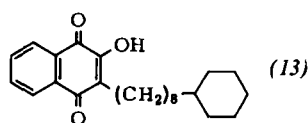
Danach wiesen Skelton et al.^[23] nach, daß CoQ₈ auch im Blut von *P. cynomolgi*-infizierten Rhesus-Affen und im Blut von *P. berghei*-infizierten Mäusen auftritt. Auch hier konnte kein Vitamin K in den Plasmodien gefunden werden, weder durch papierchromatographische oder massenspektrometrische Untersuchung noch durch eine Markierungsmethode, bei der man in-vitro-Kulturen von *P. knowlesi* verwendete, die mit [¹⁴C]-Shikimisäure, einem Vorläufer von Vitamin K, inkubiert worden waren.

Schnell et al.^[24] wiesen die Biosynthese der Coenzyme Q₈, Q₉ und Q₁₀ auch in Kulturen von *Aotus*-Blut nach, das mit *P. falciparum* infiziert war; typisch für Säugetier-Zellen ist jedoch nur CoQ₁₀.

Nachdem die Biosynthese des Coenzym Q₈ als des wichtigsten Coenzym Q (vgl. ^[25]) in Plasmodien gesichert war und man festgestellt hatte, daß kein Vitamin K auftritt, schien es naheliegend, daß die Antimalaria-Wirkung der Naphthochinone (8), (9) und (10) wenigstens zum Teil auf einer Beeinflussung der Biosynthese und/oder der Funktion von CoQ₈ im Stoffwechsel der Plasmodien beruht. Demnach sollte sich mit der Synthese neuer Analoga des Coenzym Q (nicht des Vitamins K!) ein biochemisch gangbarer und bisher unerforschter Weg zu neuen und wirksamen Antimalaria-Mitteln und anderen Chemotherapeutica eröffnen.

4. Synthese und Antimalaria-Wirkung von Menoction

1967 synthetisierten Fieser und Archer und ihre Mitarbeiter^[26] weitere Substanzen aus der Reihe der 2-(ω-Cyclohexylalkyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinone einschließlich des neuen Naphthochinon-Derivats Menoction, 2-(8-Cyclohexyloctyl)-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (13), das inzwischen als Antimalaria-Mittel hinsichtlich seiner kurativen und prophylaktischen Eigenschaften intensiv untersucht wurde.



Bei *P. berghei*-infizierten Mäusen zeigte Menoction eine Wirkung, die sich bei der routinemäßigen einmaligen subcutanen Gabe von 20 mg/kg in einer Verlängerung der Überlebenszeit^[*] (T–C) um 6,2 Tage äußerte und bei einer Dosis von 160 mg/kg zu 4/5 Heilungen führte^[23]. Bei Gaben von 640 mg/kg zeigte Menoction jedoch toxische Eigenschaften; dieser Versuch führte nur zu 2/5 Heilungen und zu 3/5 Todesfällen^[27].

Zum Vergleich: 5 mg/kg Chlorochin (3), das Gruppen von je fünf Mäusen einmal täglich an fünf Tagen oral verabfolgt wurde, befreite das Blut aller Tiere über die ganze Testzeit von 28 Tagen von den Parasiten^[28]. Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit Menoction erhalten, jedoch erst mit Gaben von 25 mg/kg^[28].

[*] Als (T–C) wird die Änderung der Überlebenszeit in Tagen bei behandelten (treated = T) und unbehandelten Tieren (control = C) definiert.

Auch prophylaktisch war Menoction (13) sehr wirksam. Berberian et al.^[29] berichteten 1968, daß Mäuse durch Menoction besser als durch Primachin (4) geschützt werden, wenn man die Medikamente oral zweimal täglich vor dem Eintritt der Merozoiten in die roten Blutkörperchen verabfolgt. Bei Primachin mußte die Dosis zweieinhalbmal so hoch wie bei Menoction sein, um einen vollständigen Schutz zu erreichen [(Zahl der parasitenfreien Tiere/Zahl der überlebenden Tiere am n-ten Tag nach der Infektion) = 1]. Darüber hinaus zeigten Toxizitätsuntersuchungen, daß Menoction (13) bei oraler Gabe nur 1/15 so toxisch wie Primachin (4) war.

5. Hemmung der Coenzym-Q-Enzyme durch Chlorochin (3) und Menoction (13)

Nach der Feststellung, daß CoQ₈ in Plasmodien vorkommt, schien es zweckmäßig, bereits bekannte Antimalaria-Mittel und auch die intensiv geprüfte Naphthochinon-Verbindung Menoction (13) in vitro daraufhin zu untersuchen, ob sie tatsächlich als Antimetaboliten des Coenzym Q wirken. Skelton et al.^[30] fanden, daß sowohl Chlorochin (3) als auch Menoction (13) das System NADH-Dehydrogenase-Coenzym Q hemmen. Chlorochin-diphosphat verringerte die Aktivität der NADH-Dehydrogenase auf 70, 60, 50 und 17%, wenn man dem intakten System, das mit 100 nmol exogenem CoQ₁₀ versetzt worden war, Mengen von 25, 50, 100 bzw. 1000 nmol Wirkstoff zugab. Menoction erwies sich in diesem in-vitro-System als ein bei weitem wirksamerer Inhibitor; wie Szarkowska^[31] fand, erniedrigte es bei einem intakten NADH-Dehydrogenase-System, dem 100 nmol CoQ₁₀ zugesetzt waren, in Mengen von 1, 10 und 25 nmol die Enzym-Aktivität auf 83, 12 bzw. 11% gegenüber einem mit CoQ₁₀ behandelten Kontrollsystem^[30].

Noch nicht abgeschlossene Untersuchungen von Crane et al.^[32] über den Elektronentransport in den Mitochondrien deuten darauf hin, daß Chlorochin (3) die Oxidation des reduzierten Coenzym Q₁₀ dadurch hemmt, daß es dessen Bindung an ein nicht häm-artiges Eisen-Protein (Mol.-Gew. ≈ 16000) blockiert. Chlorochin hemmt dagegen nicht die Oxidation des Durohydrochinons; dieser Befund steht im Einklang mit der Konkurrenz von Chlorochin und CoQ₁₀ um die Bindungsstellen am Enzym.

Ein anderer wichtiger, wenn auch indirekter Beweis für die Hemmung des Coenzym-Q-Systems durch die als Antimalaria-Mittel wirkenden Naphthochinone sind die Veränderungen der Feinstruktur von *P. berghei*, die durch Menoction (13) und Primachin (4) verursacht werden^[33]. Die anfänglichen Schwellungen der Mitochondrien gehen später in allgemeine degenerative Veränderungen der Plasmodien über. Dieser Befund legte die Vermutung nahe, daß die Wirkstoffe zunächst die Mitochondrien der Parasiten angreifen, d. h. diejenigen Organellen, die CoQ₈ enthalten und in denen die oxidativen Prozesse ablaufen.

Nach einer Untersuchung von Fitch^[34] über die Chlorochin-Resistenz bei Malaria-Erregern besteht der Hauptunterschied zwischen chlorochin-empfindlichen und chlorochin-resistenten Parasiten im Vorhandensein bzw. Fehlen einer hochaffinen Bindungsstelle für den Wirkstoff. Durch das Fehlen dieser Bindungsstelle läßt sich die verminderte Fähigkeit der gegen

Chlorochin resistenten Parasiten, Chlorochin zu konzentrieren^[35, 36], erklären; damit liegt auch die Vermutung nahe, daß die Chlorochin-Resistenz auf einer Abnahme von Zahl,

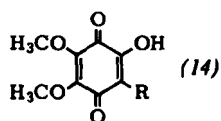


Tabelle 1. In-vitro-Untersuchung der Hemmwirkung einiger 2-Alkyl-3-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-benzochinone (14) [a] auf NADH-Dehydrogenase- und Succinat-Dehydrogenase-Enzymsysteme in intakten Mitochondrien-Systemen. Die spezifische Aktivität (S. A.) ist definiert als Sauerstoff-Aufnahme in $\mu\text{Atom O}_2/\text{min}$ bezogen auf 1 mg Mitochondrien-Protein.

Zusätze zu den Enzymsystemen	NADH-Dehydrogenase				Succinat-Dehydrogenase			
	abs.	S. A. [%]	abs.	S. A. [%]	abs.	S. A. [%]	abs.	S. A. [%]
Keine	0.396	65	0.406	50	0.452	85	0.366	80
CoQ ₁₀ + (14a), R = Farnesyl	0.596	100	0.794	100	0.533	100	0.445	100
CoQ ₁₀ + (14b), R = Solanesyl			0.608	75	0.309	60		
CoQ ₁₀ + (14c), R = Phetyl	0.364	60			0.164	30		
CoQ ₁₀ + (14d), R = Dihydrophytyl							0.129	30
CoQ ₁₀ + (14e), R = n-C ₁₄ H ₃₀	0.302	50					0.096	20
CoQ ₁₀	0.316	50			0.117	20		

[a] In jedem Fall wurden 100 nmol (14)/mg Mitochondrien-Protein zugegeben.

Affinität oder Zugänglichkeit der Chlorochin-Receptorstellen beim Malaria-Parasiten beruht.

6. Synthese weiterer Antimetaboliten des Coenzym Q

Auf dieser Stufe der Untersuchungen und mit den neu gewonnenen Kenntnissen über Vorkommen und Funktion des Coenzym Q₈ im Stoffwechsel der Plasmodien konnte man beginnen, weitere Chinone als potentielle Antimalaria-Mittel zu synthetisieren.

Neue Hydroxybenzochinone, denen die Struktur des Coenzym Q zugrunde liegt, die 2-Alkyl-3-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-benzochinone (14), wurden von Catlin et al.^[37, 38] auf Wegen synthetisiert, die beträchtliche Variationen der Struktur gestatteten; als Alkyl-Gruppen wurden aliphatische Reste (einschließlich isoprenoider Reste) eingeführt.

Catlin et al.^[37, 38] sowie Pardini et al.^[39] fanden, daß die Chinone (14) wirksame Inhibitoren der Coenzym-Q-Enzymsysteme sind. In-vitro-Untersuchungen zeigten, daß einige dieser Hydroxy-1,4-benzochinone die Succinat-Dehydrogenase und die NADH-Dehydrogenase in intakten Mitochondrien-Systemen aus Rinderherz (Tabelle 1)^[37] oder auch in einem System, das zur Entfernung des Coenzym Q₁₀ extrahiert worden war, stark hemmen^[37]. Verbindung (14c) war wirksamer als Derivate, die andere Reste statt der Hydroxy-Gruppe trugen^[39]. Im allgemeinen war das Succinat-Dehydrogenase-System gegenüber den Benzochinon-Derivaten empfindlicher als das NADH-Dehydrogenase-System; der Einfluß der Alkyl-Seitenketten auf die Wirkung war dabei sehr gering^[39].

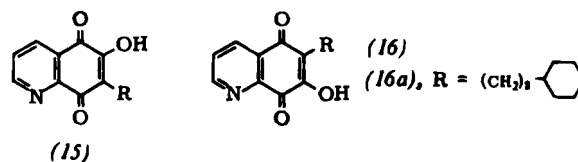
Die Chinone (14a) und (14c) sind nach Castelli et al.^[40] auch bei intakten Mitochondrien aus Hefe wirksame Inhibitoren der NADH-Dehydrogenase und der Succinat-Dehydroge-

nase. CoQ₂ hob die Hemmung bei der NADH-Dehydrogenase auf, hatte jedoch kaum eine oder keine signifikante Wirkung bei der Hemmung der Succinat-Dehydrogenase. Überraschenderweise zeigte eine NADH-Dehydrogenase, der CoQ₆ fehlte, bei Zusatz von 2-Hydroxy-5,6-dimethoxy-3-phytyl-1,4-benzochinon (14c) und CoQ₁₀ einen Anstieg der Enzymaktivität, der in diesem speziellen Fall auf eine Coenzym-Wirkung des Chinons schließen ließ^[40].

Es ist wichtig, darauf hinzuweisen, daß Coenzym Q₈ der Plasmodien eine lipide Substanz ist, in erster Linie wegen der vierzig Kohlenstoff-Atome in der isoprenoiden Seitenkette. Man darf daher annehmen, daß wirkungsvolle Inhibitoren des Coenzym Q₈ notwendigerweise ebenfalls lipiden Charakter haben müssen. Aus diesem Grund haben wir als Teil unserer Suche nach prophylaktisch und kurativ wirkenden neuen Antimalaria-Mitteln mehrere Gruppen lipoider Chinone synthetisiert. Diese Chinone wurden mit langen Seitenketten versehen; daneben variierten wir die Ring-Substituenten, damit sich die Redox-Potentiale, die Wasserstoff-Bindungen und die Alkylierungsstellen der Moleküle unterscheiden.

6.1. Alkyl-hydroxy-chinolinchinone

Zwei in diesem Zusammenhang überprüfte Reihen von lipoiden Chinonen waren die 7-Alkyl-6-hydroxy- und die 6-Alkyl-7-hydroxy-5,8-chinolinchinone (15) bzw. (16), die schon früher von Pratt und Drake^[41, 42] synthetisiert worden waren. Dane-



ben wurden von Porter et al.^[43] weitere alkylierte 5,8-Chinolinchinone mit längeren Seitenketten neu synthetisiert, und zwar durch Alkylieren der 6- und 7-Hydroxy-5,8-chinolinchinone mit Diacylperoxiden.

In der Reihe der 7-Alkyl-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (15) lag das Maximum der Antimalaria-Wirkung bei Verbindung (15a) mit einer Seitenkette von 15 C-Atomen, wenn man die Substanz an Mäusen testete, die nach der Methode von Osdene et al.^[44] durch Blutübertragung mit *P. berghei* infiziert worden waren. So erzielte man mit 6-Hydroxy-7-n-pentadecyl-5,8-chinolinchinon (15a)^[43] im Routine-Test bei einmaliger subcutaner Gabe von 640mg/kg 1/5 Heilungen und eine Verlängerung der Überlebenszeit (T-C) um 13.2 Tage. In der Reihe der 6-Alkyl-7-hydroxy-5,8-chinolinchinone (16) hatte 6-(8-Cyclohexyloctyl)-7-hydroxy-5,8-chinolinchinon (16a) die ausgeprägteste Antimalaria-Wirkung; es führte unter den gleichen Test-Bedingungen zu 5/5 Heilungen.

Die meisten 7-Alkyl-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (15) wurden auch an der NADH-Dehydrogenase und der Succinat-Dehydrogenase aus Rinderherz-Mitochondrien auf die Hemmung des Coenzym Q^[45] geprüft (s. Tabelle 2). Die Ergebnisse

tyl-Seitenketten (15l) gefunden. Die NADH-Dehydrogenase war gegenüber diesen Verbindungen weniger empfindlich als die Succinat-Dehydrogenase; die stärksten Hemmwirkungen wurden bei (15f), (15g) und (15k) beobachtet. Bei beiden in-vitro-Enzymsystemen lag die optimale Länge der lipoiden Seitenkette für die maximale Hemmung bei 15 bis 16 Kohlenstoff-Atomen.

Skelton et al.^[46] fanden, daß Menocton (13) und ein Vertreter der 5,8-Chinolinchinone, 7-(8-Cyclohexyloctyl)-6-hydroxy-5,8-chinolinchinon (15l), die Succinat-Cytochrom-c-Reduktase und die Succinat-Coenzym-Q-Reduktase in Systemen aus Rinderherz-Mitochondrienfragmenten hemmen und daß Coenzym Q₆ die Hemmung aufhebt. Die gleichen Substanzen hemmen auch die Succinat-Coenzym-Q-Reduktase bei intakten Mitochondrien aus menschlichem Herz.

In einer anderen Untersuchung versuchten Skelton et al.^[47] die Wirkungsweise dieser Chinon-Antimalaria-Mittel aufzu-

Tabelle 2. Untersuchung der Hemmwirkung der 7-Alkyl-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (15) auf die Enzymsysteme NADH-Dehydrogenase-CoQ und Succinat-Dehydrogenase-CoQ. Die spezifische Aktivität (S. A.) ist definiert als Sauerstoff-Aufnahme in $\mu\text{Atom O}_2/\text{min}$ bezogen auf 1 mg Mitochondrien-Protein.

Verb.	R.	NADH-Dehydrogenase				Succinat-Dehydrogenase			
		Konz. [a]	S. A.	Hemmung [%]	AI ₅₀ [b]	Konz. [a]	S. A.	Hemmung [%]	AI ₅₀ [b]
(15a)	n-C ₅ H ₁₁	—	0.49	—	—	—	0.47	—	—
		190	0.50	—	> 100	230	0.39	15	> 100
(15b)	n-C ₈ H ₁₇	19	0.37	26		16	0.28	40	
		32	0.25	50	16	20	0.25	48	
						22	0.19	60	
						27	0.070	80	9.5
(15c)	n-C ₁₀ H ₂₁	2.5	0.41	17		2.2	0.31	34	
		4.2	0.28	44		2.7	0.22	53	
		5.1	0.17	66	2.2	5.5	0.047	90	1.3
(15d)	n-C ₁₃ H ₂₇	4.2	0.25	50		2.7	0.34	26	
		5.1	0.14	71	2.1	3.6	0.22	54	
						3.8	0.27	41	
						4.4	0.092	80	
						5.7	0.027	90	1.7
(15e)	n-C ₁₄ H ₂₉	3.2	0.24	51	1.6	2.2	0.24	40	1.1 [d]
(15f)	n-C ₁₅ H ₃₁	2.5	0.22	56	1.3 [c]	0.82	0.34	28	
						1.4	0.29	40	
						1.6	0.171	63	0.75
(15g)	n-C ₁₆ H ₃₃	1.9	0.31	38		1.1	0.29	40	
		3.2	0.19	58		1.4	0.20	58	
		6.4	0.085	83	1.4	1.6	0.17	64	0.65
(15h)	n-C ₁₉ H ₃₉	2.9	0.32	35					
		3.6	0.20	60	1.7	2.7	0.23	50	1.4
(15i)	CH ₂ -c-C ₆ H ₁₁	190	0.33	33	> 100	160	0.34	28	> 80
(15j)	(CH ₂) ₃ -c-C ₆ H ₁₁	38	0.31	38					
		45	0.28	43		22	0.25	47	
		64	0.20	60	27	27	0.091	80	1.1
(15k)	(CH ₂) ₅ -c-C ₆ H ₁₁	2.5	0.27	46	1.3	1.6	0.29	38	
						2.1	0.17	64	0.9
(15l)	(CH ₂) ₈ -c-C ₆ H ₁₁	3.8	0.24	51					
		4.5	0.22	56		2.2	0.25	46	
		5.1	0.16	77	1.9	4.4	0.012	97	1.2

[a] nmol Inhibitor/mg Mitochondrien-Protein.

[b] Antimetabolit-CoQ₁₀-Index, Definition s. Abschnitt 7. Die durchschnittliche Konzentration von CoQ₁₀ in Mitochondrien wurde in mehreren Präparaten bestimmt; sie beträgt ungefähr 2mmol/mg Mitochondrien-Protein. Dieser Wert wurde der Berechnung von AI₅₀ zugrunde gelegt.

[c] Bei 56% Hemmung.

[d] Bei 40% Hemmung.

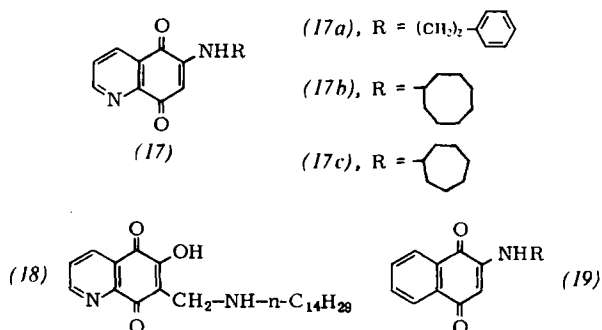
zeigten, daß in dieser Chinon-Reihe eine recht gute Beziehung zwischen der Konzentration des Inhibitors im in-vitro-System und der in vivo beobachteten Antimalaria-Wirkung bei Mäusen gegen *P. berghei* vorliegt. Bei der Succinat-Dehydrogenase wurden die stärksten Hemmwirkungen bei den Analoga mit 7-n-Tetradecyl- (15e), 7-n-Pentadecyl- (15f), 7-n-Hexadecyl- (15g), 7-(5-Cyclohexylpentyl)- (15k) und 7-(8-Cyclohexyloc-

klären. Menocton (13) und das Chinolinchinon (15l) hemmen das System NADH-Cytochrom-c-Reduktase in Mitochondrien-Fragmenten aus Hefe sowie das System Succinat-Cytochrom-c-Reduktase in Mitochondrienfragmenten aus Hefe und aus Rinderherz^[47]. Die Hemmung konnte durch Zufügen von exogenem Coenzym Q₆ zu den Systemen, die kein zusätzliches Phospholipid enthielten, aufgehoben werden^[47]. Aus

Lineweaver-Burk-Diagrammen ergibt sich, daß die beiden Chinone durch kompetitive Hemmung der Coenzym-Q-Enzymsysteme wirken^[47].

6.2. Alkylamino-chinolinchinone und -naphthochinone

Weitere Chinon-Typen, die neuerdings als potentielle Antimalaria-Mittel synthetisiert wurden, sind die 6-Alkylamino-5,8-chinolinchinone (17), 6-Hydroxy-7-n-tetradecylaminomethyl-



5,8-chinolinchinon (18) und die 2-Alkylamino-1,4-naphthochinone (19). Zahlreiche Chinone dieser Art sind bereits bekannt^[41, 42, 48 - 50].

Wichtig war auch hier, die neuen Chinon-Verbindungen mit längeren Alkyl-Seitenketten auszurüsten, um den Molekülen einen stärker lipoiden Charakter zu verleihen, sowie mit Alkyl-Seitenketten, die wechselnde Arten und Mengen von Heteroatomen enthielten. Man hoffte, daß solche Analoga wirksamere Antimetaboliten für das stark lipophile Coenzym Q₈ der Plasmodien sein könnten.

Tabelle 3. In-vitro-Untersuchung der Hemmung von Coenzym-Q-Enzymsystemen durch 6-Alkylamino-5,8-chinolinchinone (17) [a] (nach [31]). Die spezifische Aktivität (S. A.) ist definiert als Sauerstoff-Aufnahme in $\mu\text{Atom O}_2/\text{min}$ bezogen auf 1 mg Mitochondrien-Protein.

Verb.	R	S. A.	NADH-Dehydrogenase		Succinat-Dehydrogenase	
			Konz.	Aufhebung	S. A.	Konz.
			[b]	[%] [c]		[b]
CoQ ₁₀		0.582			0.562	
(17d)	n-C ₄ H ₉	0.302	41	90	0.292	15
(17e)	n-C ₁₀ H ₂₁	0.321	17	97	0.288	10
(17f)	n-C ₁₄ H ₂₉	0.320	17	98	0.286	11
(17g)	n-C ₁₈ H ₃₇	0.328	20	95	0.290	10
(17h)	n-C ₁₆ H ₃₃	0.326	20	95	0.288	10
(17i)	(CH ₂) ₃ N(n-C ₄ H ₉) ₂	0.318	14	98	0.290	9
(17j)	(CH ₂) ₄ -c-C ₆ H ₁₁	0.320	17	98	0.291	10

[a] In jedem Fall wurden 100 nmol CoQ₁₀ zugesetzt.

[b] Bei 50% Hemmung. Die Konzentration des Inhibitors ist angegeben in nmol/mg Mitochondrien-Protein.

[c] Nach Zugabe von weiteren 200 nmol CoQ₁₀.

Porter et al.^[51] synthetisierten fünfzehn neue Verbindungen aus der Reihe der 6-Alkylamino-5,8-chinolinchinone (17) sowie 6-Hydroxy-7-n-tetradecylaminomethyl-5,8-chinolinchinon (18); von diesen wurden mehrere Verbindungen auf ihre Antimalaria-Wirkung gegen *P. berghei* bei Mäusen^[44] geprüft. Drei Chinone – 6-Phenäthylamino-5,8-chinolinchinon (17a) (T-C = 7.3 bei 640 mg/kg), 6-Cyclooctylamino-5,8-chinolinchinon (17b) (T-C = 6.9 bei 640 mg/kg) und 6-Cycloheptylamino-5,8-chinolinchinon (17c) (T-C = 6.5 bei 320 mg/kg) – wurden nach dem Standard-Kriterium, daß die Überlebenszeit um 100% oder mehr erhöht werden soll, als wirksam gegen

P. berghei eingestuft; alle drei Derivate waren in den angewendeten Mengen nicht toxisch.

Einige Verbindungen wurden an den Systemen NADH-Dehydrogenase und Succinat-Dehydrogenase von Mitochondrien auf eine Hemmung des Coenzym Q untersucht. Die 6-Alkylamino-5,8-chinolinchinone (17), bei denen sieben der fünfzehn Verbindungen geprüft wurden, erwiesen sich als wirksame Inhibitoren der NADH-Dehydrogenase- und Succinat-Dehydrogenase-Systeme; die Hemmung konnte durch CoQ₁₀ vollständig aufgehoben werden (s. Tabelle 3)^[51].

Ebenfalls von Porter et al.^[52] wurden acht neue 2-Alkylamino-1,4-naphthochinone (19) synthetisiert und an Mäusen auf eine Antimalaria-Wirkung gegen *P. berghei* geprüft. Keine der Verbindungen war in diesem Test jedoch signifikant aktiv. Dagegen wurde bei sieben der acht neuen Verbindungen und bei drei früher hergestellten Derivaten dieser Reihe in der in-vitro-Prüfung eine deutliche Hemmung entweder des NADH-Dehydrogenase- oder des Succinat-Dehydrogenase-Enzymsystems festgestellt^[52].

6.3. Alkylthio-hydroxy-chinolinchinone

Eine unserer neuesten Reihen von Chinonen sind die von Porter et al.^[53] beschriebenen 7-Alkylthio-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (20). Diese strukturell neuartigen Antimalaria-Chinone zeigen in den Prüfungen auf prophylaktische Wirkung wenig oder gar keine toxischen Eigenschaften und wirken sehr wahrscheinlich als Antimetaboliten des für die Plasmodien unerläßlichen Coenzym Q₈. Innerhalb unserer Versuchsreihen zur Auffindung neuer Mittel zur prophylaktischen und

kurativen Behandlung der Malaria scheinen diese Antimetaboliten des Coenzym Q besonders vielversprechend zu sein. Zwölf neue 7-Alkylthio-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (20) wurden von Porter et al.^[53] sowie Wan et al.^[54] durch 1,4-Addition von Alkanthiolen an 6-Hydroxy-5,8-chinolinchinon und anschließende Oxidation der Chinolinhydrochinone hergestellt. Sieben der Verbindungen wurden bisher an Mäusen getestet, die mit *P. berghei* infiziert waren^[44]; dabei zeigten fünf Verbindungen in vivo eine ausgeprägte Antimalaria-Wirkung, ohne daß toxische Eigenschaften beobachtet wurden (Tabelle 4).

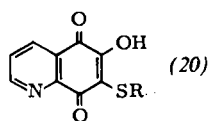


Tabelle 4. In-vivo-Prüfung der 7-Alkylthio-5,8-chinolinchinone (20) [a] auf Antimalaria-Wirkung an Mäusen, die mit *P. berghei* infiziert worden waren [44]. In Klammern ist die jeweilige Dosis in mg/kg angegeben.

Verb.	R	(T - C) [b]	Heilungen	Todesfälle
(20a)	n-C ₁₂ H ₂₅	13.9 (320)	0/5 (320)	0/5 (320)
(20b)	n-C ₁₄ H ₂₉	3.7 (160)	0/5 (160)	0/5 (160)
(20c)	n-C ₁₆ H ₃₃	5.9 (20)	2/5 (80)	0/5 (80)
		17.9 (160)	3/5 (160)	0/5 (160)
(20d)	n-C ₁₈ H ₃₇	7.9 (80)	5/5 (320)	0/5 (320)
		9.5 (160)	5/5 (640)	0/5 (640)
(20e)	n-C ₂₂ H ₄₅	0.1 (160)	0/5 (160)	0/5 (160)
(20f)	(CH ₂) ₆ -c-C ₆ H ₁₁	2.7 (160)	0/5 (160)	0/5 (160)
(20g)	C ₁₇ -H ₃₅	10.9 (80)	0/5 (80)	0/5 (80)

[a] Alle Substanzen wurden subcutan in abgestuften Dosen an Gruppen von je fünf Mäusen verabfolgt.

[b] (T - C): Änderung der Überlebenszeit in Tagen bei behandelten (treated = T) und unbehandelten Tieren (control = C).

6-Hydroxy-7-n-octadecylthio-5,8-chinolinchinon (20d) wirkte bereits bei einer Dosis von 80 mg/kg; 5/5 Heilungen wurden sowohl mit 320 mg/kg als auch mit 640 mg/kg erzielt, wobei sich im Routine-Test an Mäusen bei einmaliger subcutaner Gabe keine toxischen Wirkungen zeigten.

Bei prophylaktischer Verabreichung heilte diese Verbindung in Dosen von 160 mg/kg 3/5 der Küken, die nach *Rane* und

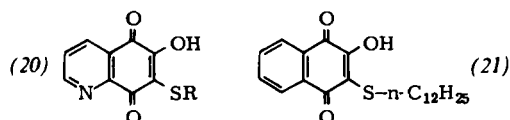


Tabelle 5. In-vivo-Prüfung der 7-Alkylthio-5,8-chinolinchinone (20) [a] auf Antimalaria-Wirkung an Küken, die mit Sporozoiten von *P. gallinaceum* infiziert worden waren [55]. In Klammern ist die jeweilige Dosis in mg/kg angegeben.

Verb.	R	(T - C) [b]	Heilungen	Todesfälle
(20d)	n-C ₁₈ H ₃₇	3.5 (40)	1/5 (40)	0/5 (40)
		1.7 (80)	2/5 (80)	0/5 (80)
		1.7 (160)	3/5 (160)	1/5 (160)
(20h)	n-C ₁₄ H ₂₉	7.6 (20)	3/5 (320)	2/5 (320)
			4/5 (20)	0/5 (20)
			5/5 (80)	0/5 (80)
(20g)	n-C ₁₇ H ₃₅		5/5 (320)	0/5 (320)
			5/5 (10)	0/5 (10)
			5/5 (40)	0/5 (40)
(20c)	n-C ₁₆ H ₃₃		5/5 (320)	0/5 (320)
			5/5 (120)	0/5 (120)
			5/5 (240)	0/5 (240)
(20h)	(CH ₂) ₈ CH=CH(CH ₂) ₇ CH ₃ [c]	9.9 (15) 9.9 (30)	5/5 (480)	0/5 (480)
			4/5 (15)	0/5 (15)
			4/5 (30)	0/5 (30)
(20e)	n-C ₁₉ H ₃₉	0.3 (15) 1.8 (120)	5/5 (60)	0/5 (60)
			5/5 (120)	0/5 (120)
			5/5 (480)	0/5 (480)
(20e)	n-C ₁₉ H ₃₉		5/5 (120)	0/5 (120)
			5/5 (240)	0/5 (240)
			5/5 (480)	0/5 (480)

[a] Alle Substanzen wurden subcutan an Gruppen von je fünf Küken verabfolgt.

[b] (T - C): Änderung der Überlebenszeit in Tagen bei behandelten (treated = T) und unbehandelten Tieren (control = C).

[c] Diese Verbindung war bei den genannten Dosen nach dem Standard-Kriterium, daß die Überlebenszeit um 100% oder mehr erhöht werden soll, als „wirksam“ eingestuft worden.

Rane^[55] mit Sporozoiten von *P. gallinaceum* infiziert worden waren (Tabelle 5). 6-Hydroxy-7-oleylthio-5,8-chinolinchinon (20h), also das entsprechende C₁₈-Derivat mit einer Doppelbindung in der Seitenkette, zeigte mit 4/5 Heilungen bei 15 mg/kg in vivo eine weit stärkere prophylaktische Wirkung. Demgegenüber führte Verbindung (20d) nur zu 1/5 Heilungen bei 40 mg/kg. Eine Doppelbindung in der Seitenkette scheint demnach die prophylaktische Wirkung in vivo zu verstärken. 6-Hydroxy-7-n-tetradecylthio-5,8-chinolinchinon (20b), ein niedriges Homologes von (20d), führte bei einer Dosis von 80 mg/kg zu vollständiger (5/5) Heilung^[2,3]. Am besten schnitt 7-n-Heptadecylthio-6-hydroxy-5,8-chinolinchinon (20g) ab; es führte beim gleichen Test bei einer Dosis von 10 mg/kg zur Heilung bei 5/5 der Küken. Die Wirkung von (20g) bei noch geringeren Dosen ist bisher nicht bekannt. Bei Gaben zwischen 10 und 320 mg/kg zeigte dieses Chinon keine toxischen Eigenschaften.

Die Alkylthio-5,8-chinolinchinone (20a), (20c) und (20d) sowie das Alkylthio-1,4-naphthochinon (21) hemmten deutlich die NADH-Dehydrogenase und die Succinat-Dehydrogenase in den CoQ-Enzymsystemen von Mitochondrien (Tabelle 6).

6-Hydroxy-7-n-octadecylthio-5,8-chinolinchinon (20d), das in vivo bei Mäusen gegen *P. berghei* am wirksamsten war, zeigte eine stärkere Hemmwirkung gegen das NADH-Dehydrogenase-System als die beiden anderen geprüften Alkylthio-2-hydroxy-5,8-chinolinchinone (20a) und (20c). Überraschenderweise erwies sich 2-n-Dodecylthio-3-hydroxy-1,4-naphthochinon (21), das im Mäuse-Test nur eine minimale Antimalaria-Wirkung zeigte, als ein starker Hemmstoff der NADH-Dehydrogenase- und der Succinat-Dehydrogenase-Enzymsysteme der Mitochondrien.

Die Wirksamkeit dieser Alkylthio-5,8-chinolinchinone in vitro und in vivo beruht möglicherweise darauf, daß in ihnen mehrere inhibierend wirkende Moleküleigenschaften kombiniert

sind, die den Elektronentransport, die relativen Affinitäten für die Bindung an funktionell und/oder biosynthetisch wichtige Stellen des CoQ₈ in den Plasmodien sowie den lipoiden Charakter betreffen.

wurde gewählt, um mit einer einfachen Routineprüfung eine möglichst große Anzahl an Verbindungen testen zu können. Nach den traditionellen pharmakologischen Methoden wurden die Verbindungen noch nicht überprüft.

Tabelle 6. In-vitro-Untersuchung der Hemmwirkung mehrerer 7-Alkylthio-5,8-chinolinchinone (20) sowie einer 1,4-Naphthochinon-Verbindung (21) an den CoQ-Enzymsystemen NADH-Dehydrogenase und Succinat-Dehydrogenase. Die spezifische Aktivität (S. A.) ist definiert als Sauerstoff-Aufnahme in $\mu\text{Atom O}_2/\text{min}$ bezogen auf 1 mg Mitochondrien-Protein. Den Reaktionsgemischen wurde kein exogenes Coenzym Q zugesetzt.

Verb.	R	S. A.	NADH-Dehydrogenase		S. A.	Succinat-Dehydrogenase	
			Konz. [a]	Hemmung [%]		Konz. [a]	Hemmung [%]
(20a)	n-C ₁₂ H ₂₅	0.31	0	0	0.30	0	0
		0.26	26	16	0.20	17	35
		0.12	51	63	0.14	26	88
		0.074	64	76	0.13	34	57
(20c)	n-C ₁₆ H ₃₃	0.31	0	0	0.30	0	0
		0.27	13	15	0.19	13	36
		0.21	19	33	0.15	17	52
		0.079	26	75	0.17	19	45
		0	32	100	0.12	20	59
(20d)	n-C ₁₈ H ₃₇				0.10	20	66
		0.31	0	0	0.30	0	0
		0.22	13	30	0.23	8.5	24
		0.18	16	41	0.21	13	30
		0.12	19	61	0.13	17	56
(21)					0.15	17	52
		0.31	0	0	0.32	0	0
		0.21	13	33	0.24	8.5	20
		0.16	13	48	0.14	13	53
		0.054	20	83	0.19	13	37

[a] nmol Inhibitor/mg Mitochondrien-Protein.

Die hier beschriebenen, durch Screening an Mäusen^[44] und Küken^[55] erhaltenen Ergebnisse^[27] beruhen allgemein auf den Befunden, die bei der Behandlung der Versuchstiere mit nur einer einzigen Dosis erhalten wurden; diese Methode

6.4. Benzodioxinchinone (Äthylendioxychinone)

Eine weitere Reihe von Analoga des Coenzym Q sind die 6-Alkyl-7-hydroxy-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-5,8-chinone

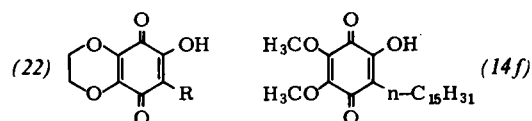
Tabelle 7. In-vitro-Untersuchung der Hemmwirkung der NADH-Dehydrogenase und der Succinat-Dehydrogenase bei intakten Mitochondrien-Systemen durch Benzodioxinchinone (22) sowie durch das Dimethoxy-benzochinon (14f).

Verb.	R	NADH-Dehydrogenase		Succinat-Dehydrogenase	
		Konz. [a]	Hemmung [%] [b]	Konz. [a]	Hemmung [%] [b]
(22a)	n-C ₈ H ₁₇	120	22	67	10
		180	24	130	24
				200	24
(22b)	n-C ₁₀ H ₂₁	100	26	125	21
		150	35	170	30
				250	34
(22c)	(CH ₂) ₅ -c-C ₆ H ₁₁	100	26	50	22
		150	45	115	40
				150	60
(22d)	n-C ₁₅ H ₃₁	100	34	100	30
		205	35	140	37
				205	37
(22e)	n-C ₁₇ H ₃₅	60	25	60	29
		100	37	120	45
		130	33	180	50
(22f)	Phytyl	64	22	64	34
		130	43	190	45
		190	59		
(22g)	Farnesyl	130	0	130	23
		190	10	190	24
(14f)		32	61	32	72
		65	72	65	86
		130	74	97	91
		190	79	205	90

[a] nmol Inhibitor/mg Mitochondrien-Protein.

[b] Die Aktivität des Enzymsystems wurde durch die Sauerstoffaufnahme in $\mu\text{Atom O}_2/\text{min}$ bezogen auf 1 mg Mitochondrien-Protein bestimmt. Die prozentuale Hemmung ergibt sich wie folgt: $100 - (\text{Spezifische Aktivität des Testsystems/spezifische Aktivität des Kontrollsystems}) \times 100$. Allgemeines zur Methode s. [31].

(Äthylendioxybenzochinone) (22). Sie wurden von *Bowman et al.*^[56] wegen der geringfügigen Unterschiede in der Elektronenverteilung und den Rotationseigenschaften zwischen der Äthylendioxy-Gruppe und den beiden Methoxy-Gruppen synthetisiert. Diese Unterschiede könnten das Redox-Potential des 1,4-Benzochinons und dadurch auch die Inhibitor-Wirkung wesentlich beeinflussen. Durch Alkylieren wurden geeignete Alkyl- oder Isoprenyl-Gruppen an C-6 eingeführt.



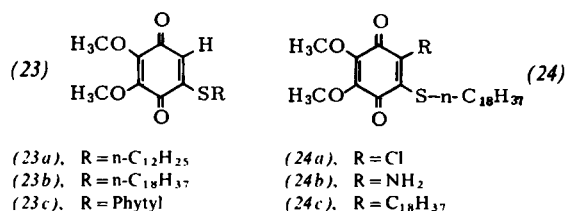
Die Hemmwirkung dieser Chinone wurde in vitro an Succinat-Dehydrogenase und NADH-Dehydrogenase von intakten Mitochondrien aus Rinderherz geprüft (Tabelle 7). Die n-Nonyl- (22a), n-Decyl- (22b), n-Pentadecyl- (22d) und Farnesyl-Derivate (22g) zeigten bei der Succinat-Dehydrogenase Hemmwirkungen von weniger als 40%, die Phityl- (22f), n-Heptadecyl- (22e) und 5-Cyclohexylpentyl-Analoga (22c) von etwa 50%. Die NADH-Dehydrogenase wurde durch alle Verbindungen weniger gehemmt.

2-Hydroxy-5,6-dimethoxy-3-n-pentadecyl-1,4-benzochinon (14f) und die analoge Verbindung (22d) hemmten die Succinat-Dehydrogenase in dieser Versuchsreihe am stärksten (ca. 90 bzw. 35 %).

Offensichtlich sind die Methoxy-Gruppen für die Hemmung der Enzyme vorteilhafter als die Äthylendioxy-Gruppe.

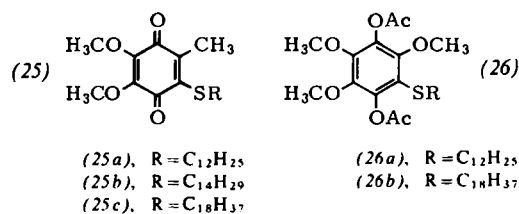
6.5. Alkylthio-2,3-dimethoxy-1,4-benzochinone

Eine weitere neue Gruppe von 2-Alkylthio-5,6-dimethoxy-1,4-benzochinonen, (23) und (24), wurde vor kurzem von *Wikholm et al.*^[57] als potentielle Antimetaboliten des Coenzym Q synthetisiert.



Bei den Alkylthio-1,4-benzochinonen dieser Gruppe wurde die Länge der Alkyl-Seitenkette variiert; außerdem wurde auch eine Verbindung mit einem verzweigten Alkenylthio-Substituenten [(23c)] hergestellt. Innerhalb der Reihe der 2,3-Dimethoxy-5-n-octadecylthio-1,4-benzochinone (24) führten einige 6-Substituenten wahrscheinlich zu wesentlich veränderten Redox-Potentialen der neuen Chinone.

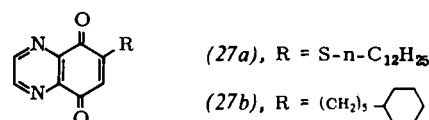
Bei den 6-substituierten 2,3-Dimethoxy-5-methyl-1,4-benzochinonen (25) wurden durch Verlängerung der Alkylthio-Seitenkette – von der n-Dodecylthio- bis zur n-Octadecylthio-Gruppe – Analoga des Coenzym Q mit zunehmend lipoidem Charakter erhalten.



Schließlich wurden aus (ungereinigten) 2-Alkylthio-3,5,6-trimethoxy-1,4-benzochinonen durch Acetylieren unter gleichzeitiger Reduktion die kristallinen Diacetoxy-Derivate (26) der entsprechenden Hydrochinone hergestellt.

6.6. Alkyl-chinoxalinchinone

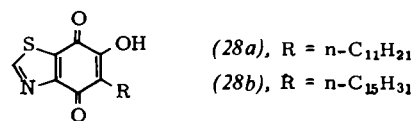
Vor kurzem haben *Porter et al.*^[58] Verbindungen aus der Reihe der 6-Alkyl-5,8-chinoxalinchinone (27) synthetisiert und sie als mögliche Inhibitoren des Coenzym Q und Antimalaria-Mittel untersucht. Als Seitenketten wurden die n-Dodecylthio- (27a) und die 5-Cyclohexylpentyl-Gruppe (27b) ein-



geführt. (27a) war jedoch bei Mäusen, die durch Blutübertragung mit *P. berghei* infiziert waren, in Dosen von 640 mg/kg nicht wirksam; ebenso zeigte es in Dosen von 80 mg/kg keinen Effekt bei Küken, die durch Sporoziten mit *P. gallinaceum* infiziert waren.

6.7. Benzothiazolchinone

Eine neue Reihe von 5-Alkyl-6-hydroxy-benzothiazol-4,7-chinonen (28) synthetisierten *Friedman et al.*^[59] innerhalb des laufenden Programms zur Untersuchung neuer bicyclischer heteroatom-haltiger Chinon-Systeme auf pharmakologische Wirkungen. Die Synthese der beiden Chinone (28a) und (28b), die eine n-Undecyl- bzw. n-Pentadecyl-Seitenkette enthalten, gelang nach einem mehrstufigen Verfahren.



(28a) wurde auf seine prophylaktische Wirkung an Küken getestet, die durch Sporoziten mit *P. gallinaceum* infiziert waren; es führte bei Gaben von 30 mg/kg zu 1/5 Heilungen, bei 120 mg/kg zu 4/5 Heilungen und zeigte bei diesen Dosen keine toxischen Eigenschaften.

7. Wirkstoff-Vergleich durch den Antimetabolit-CoQ₁₀-Index (AI₅₀)

Um den Vergleich der Hemmwirkungen der beschriebenen Verbindungen bei den in-vitro-Untersuchungen zu erleichtern, haben *Bowman et al.*^[45] einen „Antimetabolit-CoQ₁₀-Index“

(AI_{50}) definiert; dieser entspricht dem Verhältnis nmol Wirkstoff zu nmol CoQ_{10} , bei dem die Enzym-Wirkung in einem gegebenen Mitochondrien-Präparat zu ungefähr 50% gehemmt wird. Die Hemmwirkungen der Verbindungen werden durch ihren Einfluß auf die Sauerstoff-Aufnahme der CoQ -Enzyme gemessen (entweder nach der manometrischen Methode nach Warburg oder durch polarographische Bestimmung des Sauerstoffs). Bei den meisten Verbindungen wurde die Hemmung der CoQ -Enzyme bei mehreren Konzentrationen ermittelt, so daß diejenige Konzentration, die die 50proz. Hemmung bewirkte, geschätzt werden konnte.

Die Antimetabolit- CoQ_{10} -Indices für einige 7-Alkyl-6-hydroxy-5,8-chinolinchinone (15) bei der NADH-Dehydrogenase und der Succinat-Dehydrogenase sind in Tabelle 2 aufgeführt^[45]. Die wirksamsten Antimetaboliten in dieser Reihe waren bei beiden Enzymen 7-n-Pentadecyl- (15f) und 7-(5-Cyclohexylpentyl)-6-hydroxy-5,8-chinolinchinon (15k).

Bogentoft, von Klaudy und Folkers^[60] bestimmten die Antimetabolit- CoQ_{10} -Indices von acht 2-Alkyl-3-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-benzochinonen (14) (Tabelle 8). Am CoQ -NADH-Dehydrogenase-System wurden für diese Inhibitoren Antimetabolit- CoQ_{10} -Indices zwischen 5 und 32 erhalten. Die 2-(5-Cyclohexylpentyl)-Verbindung (14h) war mit einem Index von 5 am wirksamsten. Die Farnesyl- und Phytlyl-Analoga (14b) bzw. (14c) hatten Indices von 17 bzw. 26.

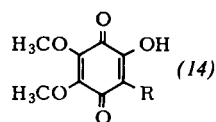


Tabelle 8. Antimetabolit- CoQ_{10} -Indices von 2-Alkyl-3-hydroxy-5,6-dimethoxy-1,4-benzochinonen (14).

Verb.	R	AI_{50}	NADH-Dehydrogenase	AI_{50}	Succinat-Dehydrogenase
			Hemmung [%] [a]		Hemmung [%] [a]
(14g)	n-C ₁₀ H ₂₁	9	50	7.7	50
(14h)	(CH ₂) ₅ -c-C ₆ H ₁₁	5	57	5.5	50
(14i)	n-C ₁₄ H ₂₉	10	48	8	50
(14f)	n-C ₁₅ H ₃₁	10	50	7	50
(14e)	n-C ₁₆ H ₃₃	32	50	8	50
(14j)	n-C ₂₁ H ₄₃	11	48	14	50
(14b)	Farnesyl	17	50	10	50
(14c)	Phytlyl	26	50	10	50

[a] Die Werte für die Hemmung werden entweder durch genaue Messung der 50%-Hemmung oder durch Extrapolation mehrerer experimenteller Werte bestimmt [45].

Die beim CoQ -Succinat-Dehydrogenase-System erhaltenen Antimetabolit- CoQ_{10} -Indices variierten bei den acht Verbindungen von 5.5 bis 14; bei den Farnesyl- und Phytlyl-Derivaten ergab sich kein Unterschied.

Allgemein waren die acht Analoga bei der Succinat-Dehydrogenase stärker wirksame Antimetaboliten des CoQ als bei der NADH-Dehydrogenase, doch unterschieden sich die beiden Enzymsysteme in ihrer Empfindlichkeit nur wenig.

8. Anwendung der Coenzym-Q-Antimetaboliten bei anderen Krankheiten

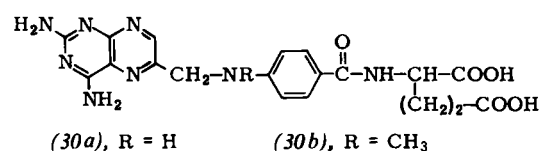
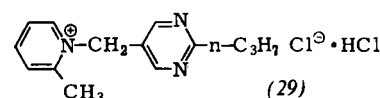
Die Wirksamkeit der Antimetaboliten des Coenzym Q als kurative und prophylaktische Antimalaria-Mittel und die ge-

ringen oder fehlenden toxischen Eigenschaften der Verbindungen legen den Gedanken nahe, diese Substanzen auch zur Behandlung anderer Krankheiten zu verwenden. Die Angaben in diesem Fortschrittsbericht gestatten den Schluß, daß für die Antimetaboliten des Coenzym Q bereits eine gewisse selektive Toxizität erzielt worden ist, und daß sich für die Chemotherapie weitere, noch selektiver wirkende Analoga synthetisieren lassen sollten. Eine derartige selektive Toxizität kann auf der unterschiedlichen Hemmung von Reaktionsketten beruhen. Da Coenzym Q in der Natur weit verbreitet ist, kann man annehmen, daß es in zahlreichen wichtigen Krankheitserregern wie Bakterien, Pilzen, anderen Protozoen und Würmern vorkommt und daß die Antimetaboliten des Coenzym Q diese Organismen zerstören oder ihr Wachstum hemmen können.

Gegen ein solches Vorgehen wird häufig eingewandt, daß ein Antimetabolit eines Vitamins nicht nur auf die Krankheitserreger, sondern auch auf den Wirtsorganismus (Mensch oder Haustier) toxisch einwirken muß, wodurch der an sich günstige therapeutische Effekt beeinträchtigt wird. Die bisherigen Befunde zeigen aber, daß toxische Wirkungen auf den Wirt nicht unbedingt auftreten müssen. Auch die hier beschriebene Entwicklung weist darauf hin, daß es möglich ist, in einer Verbindung therapeutisch wertvolle und toxische Eigenschaften zu vereinigen.

Antimetaboliten von anderen Vitaminen werden bereits zur Behandlung von Krankheiten verwendet. Amprolium (29)^[61], ein Antagonist des Thiamins, eignet sich als Coccidiostaticum in der Veterinärmedizin; es wirkt selektiv gegen Coccidien des Verdauungstraktes und ermöglicht einen ausreichenden Schutz der Küken gegen die Coccidiose ohne negativen Effekt auf das Wachstum.

In ähnlicher Weise haben Antimetaboliten der Folsäure wegen ihrer selektiven Toxizität in der Chemotherapie des Krebses Bedeutung erlangt. Die Folsäure-Antagonisten Aminopterin (30a) und Methotrexat (30b) werden zur Behandlung von akuter Leukämie bei Kindern verwendet^[62].



Unser Dank gilt vor allem Herrn Dr. David P. Jacobus für die verständnisvolle Haltung, die er dem Start der grundlegenden Untersuchungen entgegenbrachte, durch die sich die überragende Bedeutung des Coenzym Q_8 im Stoffwechsel der Plasmodien erwies. Für die anschließende Zusammenarbeit danken wir den Herren Dr. Thomas R. Sweeney und Dr. Edgar A. Steck vom U.S. Army Medical Research and Development Command (Kontrakt Nr. DADA 17-69-C-9067); Beitrag Nr. 1202 im Army Research Program über Malaria). Ferner sind wir der Robert A. Welch Foundation sowie Herrn Dr. Lewis H. Sarett von den Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, New Jersey, für anderweitige Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Eingegangen am 25. September 1973 [A 12]
Übersetzt von Dipl.-Chem. Johanna Förster, Ludwigshafen

- [1] E. A. Steck: The Chemotherapy of Protozoan Disease. Division of Medicinal Chemistry, Walter Reed Army Institute of Research, 1971. Band 3, S. 23.
- [2] K. Folkers: Chemistry of Natural Products. Division of Organic Chemistry, International Symposium, Stockholm 1966. Band 4, S. 7.
- [3] R. D. Powell, G. J. Brewer, A. S. Alving u. J. W. Millar. Bull. WHO 30, 29 (1964).
- [4] R. D. Powell, G. J. Brewer, A. S. Alving u. J. W. Millar. Bull. WHO 31, 379 (1964).
- [5] A. Bishop. Parasitology 57, 755 (1967).
- [6] L. F. Fieser, E. Berlinger, F. J. Bondhus, F. C. Chang, W. G. Dauher, M. G. Ertlanger, G. Fawaz, M. Fields, M. Fieser, C. Heidelberger, H. Heymann, A. M. Seligman, W. R. Vaughan, A. G. Wilson, E. Wilson, M. Wu, M. T. Leffler, K. E. Hamlin, R. J. Hathaway, E. J. Matson, E. E. Moore, M. B. Moore, R. T. Rupald u. H. E. Zaugg. J. Amer. Chem. Soc. 70, 3151 (1948).
- [7] L. F. Fieser u. H. Heymann. J. Biol. Chem. 176, 1363 (1948).
- [8] F. Y. Wiselogle: Survey of Antimalarial Drug (1946).
- [9] D. H. Clarke u. M. Theiler. J. Infect. Dis. 82, 138 (1948).
- [10] L. Whitman. J. Infect. Dis. 82, 251 (1948).
- [11] W. B. Wendell. Fed. Proc. 5, 406 (1946).
- [12] C. C. Smith, R. Fradkin u. M. D. Luckey. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 61, 398 (1946).
- [13] C. C. Smith, R. Fradkin u. M. D. Luckey. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 64, 45 (1947).
- [14] K. Folkers, C. H. Shunk u. B. O. Linn, N. R. Trenner, D. E. Wolf, C. H. Hoffman, A. C. Page, Jr., u. F. R. Koniuszy: Quinones in Electron Transport. Ciba Foundation Symposium, Little, Brown and Co., Boston, 1961, S. 100.
- [15] D. Hendlin u. T. M. Cook. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2, 71 (1960).
- [16] S. Takenuri u. T. E. King. J. Biol. Chem. 239, 3546 (1964).
- [17] J. L. Howland. Biochim. Biophys. Acta 105, 205 (1965).
- [18] M. A. Rudzinski u. W. Trager. J. Protozool. 4, 190 (1957).
- [19] P. K. Hepler, C. G. Huff u. H. Spring. J. Cell. Biol. 30, 333 (1966).
- [20] P. J. Rietz, F. S. Skelton u. K. Folkers, 153rd National Meeting of the American Chemical Society, Miami Beach, Fla., M 23 (1967).
- [21] P. J. Rietz, F. S. Skelton u. K. Folkers. Int. J. Vitamin Res. 37, 405 (1967).
- [22] F. S. Skelton, K. D. Lunan, K. Folkers, J. V. Schnell, W. A. Siddiqui u. Q. M. Geiman. Biochemistry 8, 1284 (1969).
- [23] F. S. Skelton, P. J. Rietz u. K. Folkers. J. Med. Chem. 13, 602 (1970).
- [24] J. V. Schnell, W. A. Siddiqui, Q. M. Geiman, F. S. Skelton, K. D. Lunan u. K. Folkers. J. Med. Chem. 14, 1026 (1971).
- [25] K. Folkers. Int. J. Vitamin Res. 39, 337 (1969).
- [26] L. F. Fieser, J. P. Schirmer, S. Archer, R. R. Lorenz u. P. I. Pfaffenbach. J. Med. Chem. 10, 513 (1967).
- [27] Diese Information verdanken wir dem Walter Reed Army Institute of Research, Washington, D.C.
- [28] L. F. Fieser, M. Z. Nazer, S. Archer, D. A. Berberian u. R. G. Slighter. J. Med. Chem. 10, 517 (1967).
- [29] D. A. Berberian, R. G. Slighter u. H. W. Freese. J. Parasitology 54, 1181 (1968).
- [30] F. S. Skelton, R. S. Pardini, J. C. Heidker u. K. Folkers. J. Amer. Chem. Soc. 90, 5334 (1968).
- [31] L. Szarkowska. Arch. Biochem. Biophys. 123, 539 (1968).
- [32] F. L. Crane et al., persönliche Mitteilung.
- [33] R. E. Howells, W. Peters u. J. Fullard. Ann. Trop. Med. Parasitol. 64, 203 (1970).
- [34] C. D. Fitch. Proc. Nat. Acad. Sci. 64, 1181 (1969).
- [35] P. B. Macomber, R. L. O'Brien u. F. E. Hahn. Science 152, 1374 (1966).
- [36] R. Caddu u. H. Sprinz. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130, 524 (1969).
- [37] J. C. Catlin, R. S. Pardini, G. D. Daves, Jr., J. C. Heidker u. K. Folkers. J. Amer. Chem. Soc. 90, 3572 (1968).
- [38] J. C. Catlin, G. D. Daves, Jr., u. K. Folkers. J. Med. Chem. 14, 45 (1971).
- [39] R. S. Pardini, J. C. Catlin, J. C. Heidker u. K. Folkers. J. Med. Chem. 15, 195 (1972).
- [40] A. Castelli, E. Bertoli, G. P. Littarru, G. Lenaz u. K. Folkers. Biochem. Biophys. Res. Commun. 42, 801 (1971).
- [41] Y. T. Pratt u. N. L. Drake. J. Amer. Chem. Soc. 77, 4664 (1955).
- [42] Y. T. Pratt u. N. L. Drake. J. Amer. Chem. Soc. 79, 5024 (1957).
- [43] T. H. Porter, F. S. Skelton u. K. Folkers. J. Med. Chem. 14, 1029 (1971).
- [44] T. S. Osdone, P. B. Russell u. L. Rane. J. Med. Chem. 10, 431 (1967).
- [45] C. M. Bowman, F. S. Skelton, T. H. Porter u. K. Folkers. J. Med. Chem. 16, 206 (1973).
- [46] F. S. Skelton, C. M. Bowman, T. H. Porter u. K. Folkers. Biochem. Biophys. Res. Commun. 43, 102 (1971).
- [47] F. S. Skelton, T. H. Porter, G. P. Littarru u. K. Folkers. Int. J. Vitamin Res. im Druck.
- [48] Y. T. Pratt u. N. L. Drake. J. Amer. Chem. Soc. 77, 37 (1955).
- [49] C. E. Dalgleish. J. Amer. Chem. Soc. 71, 1697 (1949).
- [50] Niederl. Pat.-Anm. 65-05, 524. Farbenfabriken Bayer AG; Chem. Abstr. 64, 11215h (1965).
- [51] T. H. Porter, F. S. Skelton u. K. Folkers. J. Med. Chem. 15, 34 (1972).
- [52] T. H. Porter, F. S. Skelton, C. M. Bowman u. K. Folkers. J. Med. Chem. 15, 504 (1972).
- [53] T. H. Porter, C. M. Bowman u. K. Folkers. J. Med. Chem. 16, 115 (1973).
- [54] Y. P. Wan, T. H. Porter u. K. Folkers, noch unveröffentlicht.
- [55] L. Rane u. D. S. Rane. Proc. Helminth. Soc. Washington 39, spec. issue, 283 (1972).
- [56] C. M. Bowman, R. J. Wikholm, J. Boler, C. B. Bogtoft u. K. Folkers, im Druck.
- [57] R. J. Wikholm, C. B. Bogtoft, T. H. Porter u. K. Folkers, im Druck.
- [58] T. H. Porter, A. von Klaudy u. K. Folkers. J. Med. Chem., im Druck.
- [59] M. D. Friedman, P. L. Statter, T. H. Porter u. K. Folkers. J. Med. Chem., im Druck.
- [60] C. Bogtoft, A. von Klaudy u. K. Folkers. J. Med. Chem. 15, 1135 (1972).
- [61] E. F. Rogers, R. L. Clark, A. A. Pessolano, H. J. Becker, W. J. Leanza, L. H. Sarett, A. C. Cuckler, E. McManus, M. Garzillo, C. Malanga, W. H. Ott, A. M. Dickinson u. A. Van Iderstine. J. Amer. Chem. Soc. 82, 2974 (1960).
- [62] A. Goth: Medical Pharmacology. C. V. Mosby Co., St. Louis 1961, S. 497.