

## Malaria: Wenn der Wirkstoff nicht mehr passt

**Hohes Fieber, Schüttelfrost, Krämpfe und ernste Blutarmut sind Symptome selbst milder Fälle der Malaria. Dieser Infektionskrankheit fallen laut WHO jährlich weltweit geschätzte 660.000 Menschen zum Opfer. Die Krankheit wird von der weiblichen Stechmücke der Gattung Anopheles übertragen, die mit Plasmodien (einzellige Parasiten) infiziert ist. Die Bekämpfung des Erregers ist schwierig, da er ein Eukaryot ist und uns Menschen biochemisch ähnlicher als Bakterien. Dennoch ist Malaria vermeidbar und behandelbar. Atovaquon blockiert ein Protein der Atmungskette in den Mitochondrien der Plasmodien, wodurch die Parasiten absterben. Aufgrund von Mutationen sind jedoch Stämme der Erreger immer häufiger gegen den Wirkstoff resistent. Prof. Dr. Carola Hunte und Dominic Birth vom Institut für Biochemie konnten zeigen, wie der Wirkstoff bindet und was auf molekularer Ebene passiert, wenn Plasmodium resistent ist. Sie liefern mit dieser Arbeit den Anstoß für ein strukturbasiertes Wirkstoffdesign, um das Medikament gezielt zu verbessern.**



Malaria-Medikamente können verbessert werden, wenn mehr über die Wirkungsweise im Mitochondrium bekannt ist. Prof. Dr. Carola Hunte beleuchtet mitochondriale Membranproteine und Signalkomplexe.

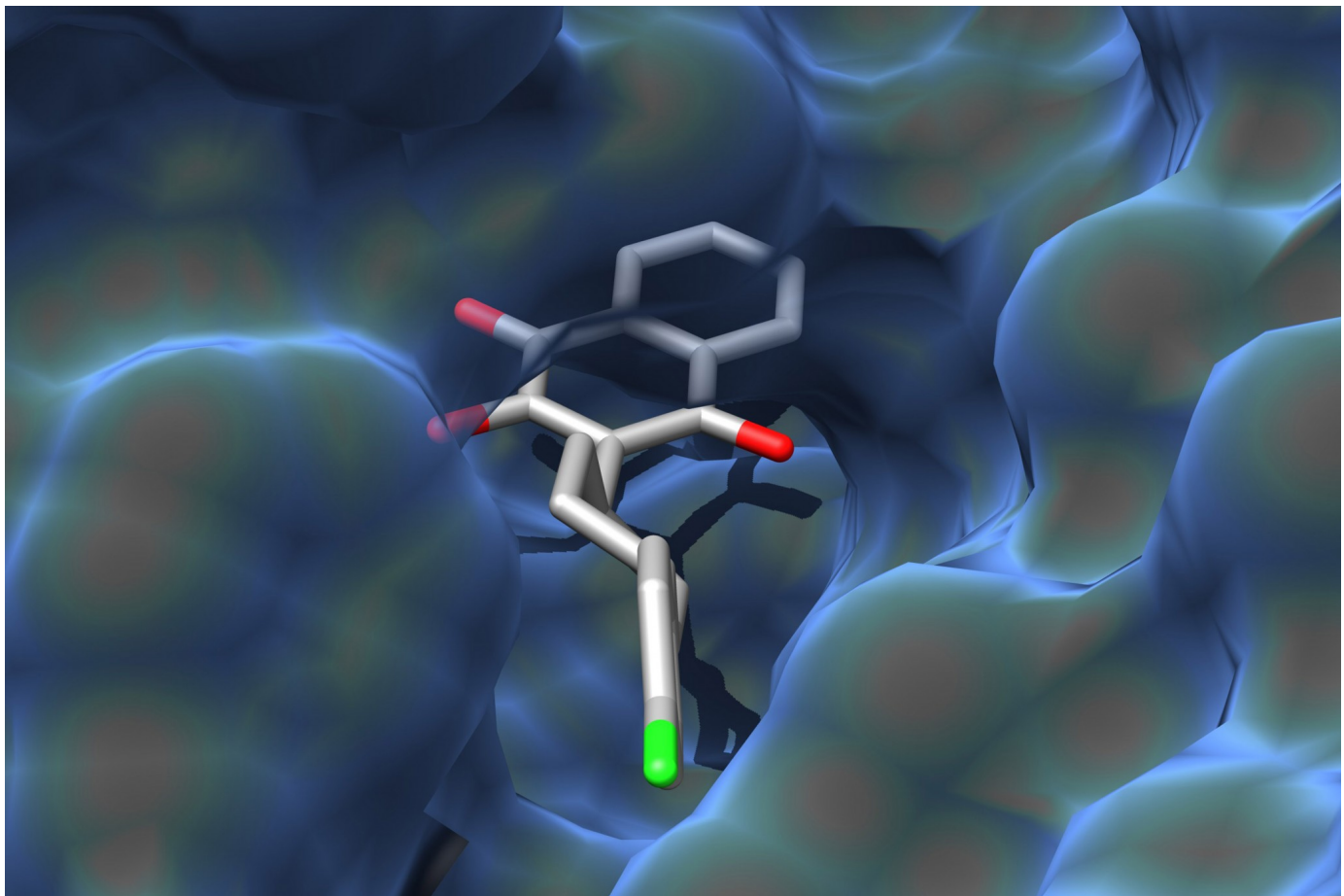
© Prof. Dr. Carola Hunte, Universität Freiburg

Die Geschichte zeigt, dass Malaria eliminiert werden kann. Vor einem Jahrhundert war das sogenannte Wechselfieber noch über die ganze Erde verbreitet. Heute sind die Zentren vor allem in Afrika und Südostasien. Laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind 3,3 Milliarden Menschen dem

Malaria-Risiko ausgesetzt, fast die halbe Weltpopulation. Im Jahr 2012 wurden 207 Millionen Erkrankungsfälle gemeldet, davon über 600.000 mit tödlichem Ausgang. Neun von zehn Malariatoten gab es in Afrika, 77 Prozent waren Kinder unter 5 Jahren. Seit 2010 werden in Griechenland wieder jedes Jahr Neuinfektionen gemeldet. Die Krankheit ist ein anhaltendes, vor allem aber ein globales Problem. Die Notwendigkeit, die medizinischen Erkenntnisse zu verbessern, liegt auf der Hand. Bei vielen gegen Malaria eingesetzten Medikamenten ist die Wirkungsweise noch immer nicht ausreichend bekannt. Im Fall von Atovaquon ist die Wissenschaft nun einen Schritt weiter.

### Atovaquon blockiert Atmungskettenprotein

Das Anti-Protozoenmittel Atovaquon findet hauptsächlich Verwendung als Reiseprophylaxe, aber auch in der Therapie von Malaria, Toxoplasmose und durch Pneumocystis hervorgerufene Lungenentzündung. „Atovaquon hat ein breites Wirkungsspektrum gegen diese einzelligen Erreger“, weiß Prof. Dr. Carola Hunte vom Institut für Biochemie und Molekularbiologie der Universität Freiburg. Sie untersucht mit ihrer Arbeitsgruppe Mechanismus und Funktion medizinisch relevanter Proteine mit Schwerpunkt auf Membranproteinen und Signalkomplexen. Mit einem solchen Enzymkomplex geht der Wirkstoff im Plasmodium eine molekulare Wechselwirkung ein. Das synthetische Atovaquon passt genau in die dreidimensionale Tasche des Cytochrom-bc1-Komplexes im Mitochondrium und inhibiert diesen. „Weil es dem natürlichen Substrat von Cytochrom-bc1 ähnlich ist, bindet Atovaquon in der gleichen Bindungstasche und verhindert, dass das Substrat andocken kann“, erklärt Hunte die kompetitive Hemmung.



Der Anti-Malaria-Wirkstoff Atovaquon ist in der Tasche des Cytochrom-bc1-Komplexes gebunden.  
© Prof. Dr. Carola Hunte, Universität Freiburg

Der Cytochrom-bc1-Komplex (auch Komplex III genannt) ist ein zentrales Enzym in der Atmungskette aller eukaryotischen Organismen, die der Energiegewinnung dient. Er ist der dritte von vier

Proteinkomplexen, die in der mitochondrialen Membran sitzen und die angelieferten Elektronen stufenweise auf Sauerstoff übertragen. Ubichinol als beweglicher Elektronen-Überträger bindet ans Zentrum von Komplex III und gibt zwei Elektronen an ihn ab. Dabei wird es selbst zu Ubichinon oxidiert und geht in den Ubichinonpool ein. Ist Atovaquon im Zentrum gebunden, ist der Platz belegt und Ubichinol kann nicht binden und Elektronen übertragen. Was als nächstes passiert, ist noch nicht im Detail geklärt. Fest steht aber, dass die Blockade des Cytochrom-bc1-Komplexes zum Tod des Erregers führt.

## Ubichinol in einer Schlüsselposition

Es kann sein, dass sich die antiparasitäre Wirkung von Atovaquon allein aus der Hemmung des mitochondrialen Elektronentransports ergibt, da die ATP-Synthese und so die Energieversorgung der Zelle zum Erliegen kommt. Es gibt aber noch einen weiteren Aspekt, bei dem das Ubichinol das Schlüsselement darstellt. Dieses Molekül geht nach getaner Arbeit in der Atmungskette als Ubichinon in die Nukleinsäuresynthese ein. Hier wartet ein wichtiges Enzym in der Pyrimidinsynthese auf Ubichinon, das normalerweise frisch oxidiert aus der Atmungskette eintrifft. „Möglicherweise fehlt das regenerierte Ubichinon jetzt für die Nukleinsäuresynthese“, so Hunte. Dies ist derzeit die Annahme der Forscher.

Auch bei Krebserkrankungen hemmt man oft die Nukleotid-Biosynthese, da die Zellen Nukleotide für die Teilung brauchen. So ließe sich auch die selektive Wirkung des Atovaquons auf Protozoen erklären, denn Säuger besitzen einen weiteren Weg zur Pyrimidinsynthese.

Es gibt häufig Fälle, bei denen das Medikament nicht mehr wirkt, weil es nicht mehr in die Bindungstasche des Zielproteins passt. Bei den von Hunte durchgeführten Struktur- und Sequenzanalysen wurde deutlich, dass Mutationen den Aufbau des Cytochrom-bc1 an wichtigen Stellen verändern können. Die häufigste Mutation ist der Austausch von nur einer Aminosäure, wodurch eine aromatische Seitenkette im katalytischen Zentrum wegfällt, die die Position des Wirkstoffs stabilisiert. „Daher verliert es eine seiner wichtigsten Andockstellen und hat eine geringere Affinität“, sagt die Strukturbiologin, „die Erreger mit dieser Mutation sind resistent.“

## Die Röntgenkristallographie bringt es ans Licht



Entschlüsselten Struktur und Sequenzen des Cytochrom-bc1: Dominic Birth (vorn) und Dr. Wei-Chun Kao (hinten).  
© Prof. Dr. Carola Hunte, Universität Freiburg

Die dreidimensionale Struktur eines Protein-Wirkstoff-Komplexes darzustellen, ist nicht trivial. Die Kristallisation von Membranproteinen ist schwierig, da sie an Lipide gebunden sind und sich schlecht in Lösung bringen lassen. Viele Arbeitsgruppen haben bisher versucht, die Struktur des Atovaquon-inhibierten Cytochrom-bc1-Komplexes zu lösen, auch Hunte ist schon eine Weile damit beschäftigt. Jetzt ist es ihrem Doktoranden Dominic Birth und ihr gelungen. „Wir verwenden einen speziellen Trick“, erzählt Hunte, „wir kristallisieren dieses Membranprotein mithilfe von rekombinanten Antikörpern. Und so gelingt es, die schwierigen Strukturen zu bestimmen.“ Dabei nehmen sie nicht den ganzen in E.coli produzierten Antikörper, sondern nur das kleinste antigenbindende Element, das Fv-Fragment (variable fragment). „Dann bekommen wir eine genaue Anordnung von Molekülen als 3D-Gitter“, demonstriert die Forscherin.

Ihr Modellorganismus ist die Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*), da Cytochrom-bc1 aus dem Plasmodium nur schwer in nötiger Menge und Reinheit zu gewinnen ist. In aufwendigen Sequenzanalysen konnte Postdoktorand Dr. Wei-Chun Kao zeigen, dass die fraglichen Aminosäuren des katalytischen Zentrums in der Hefe und dem parasitären Komplex übereinstimmen.

Ein Blick auf die Sequenzen des Cytochrom-b von Parasit, Mensch und Hefe zeigte dem Team, „dass die wesentlichen Kontaktstellen in der Bindungstasche, mit denen der Wirkstoff interagiert, alle identisch sind“. Anhand der Sequenzvergleiche lässt sich die Position einer Aminosäure im Komplex III des Plasmodiums vorhersagen. Spezifische Unterschiede in der Bindungstasche beim Menschen können die schwächere Bindung von Atovaquon im Menschen erklären.

Nun möchte Hunte den Ball an die Chemiker weiterspielen, die diese Erkenntnisse der exakten Bindung von Wirkstoff und Tasche für gezielte Veränderungen am Medikament nutzen können. Weiß man, wie das Originalmolekül bindet, kann man sinnvolle Vorschläge machen. „Die Pharmaindustrie und die Generika-Produzenten haben jetzt die Struktur zur Verfügung“, meint Hunte, „hoffentlich können sie sie gut nutzen.“

---

## Fachbeitrag

09.03.2015

Stephanie Heyl

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

## Weitere Informationen

Prof. Dr. Carola Hunte

Institut für Biochemie und Molekularbiologie

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Stefan-Meier-Str. 17

79104 Freiburg

Tel.: 0761 / 203 - 5279

E-Mail: carola.hunte(at)biochemie.uni-freiburg.de

---

## Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Infektionskrankheiten des Menschen: Neue Bedrohungen

