

IMMUUNREGULERENDE, ANTI-MIKROBIESE EN ANTI-TUMOR AKTIWITEIT VAN NUWE RIMINOFENASIENE

IMMUUNREGULERENDE, ANTI-MIKROBIESE EN
ANTI-TUMOR AKTIWITEIT VAN NUWE
RIMINOFENASIENE

Chrisna Durandt

Voorgelê ter vervulling van 'n deel van die vereiste
vir die graad M.Sc. (Geneeskundige Immunologie)

Chrisna Durandt

in die Fakulteit Geneeskunde

Universiteit van Pretoria

Januarie 1994

Opsomming 3
 Summary 11
 Lys van afkortings 11

HOOFSTOE 1: LITERATUUR-OORSIG

1.1. IMMUNOREGULERENDE, ANTI-MIKROBIESE EN

riminofenasiens verbindings

ANTI-TUMOR AKTIWITEIT VAN NUWE

1.2. Klofasiasien as anti-mikobakteriële

RIMINOFENASIENE

1.2.1. Algemene kenmerke van klofasiasien

1.2.2. Anti-mikobakteriële aktiwiteit van klofasiasien teen:

1.2.2.1. Tuberkulose

Chrisna Durandt

1.3. Farmakokinetiese eienskappe van klofasiasien

1.3.1. Absorpsie van klofasiasien

1.3.2. Serum-konsentrasie van klofasiasien

Voorgelê ter vervulling van 'n deel van die vereiste vir die graad M.Sc (Geneeskundige Immunologie)

1.4. Algemene neuseffekte - met tydens die toediening van klofasiasien voorkom

in die Fakulteit Geneeskunde

1.4.1. Vel

1.4.2. Gastro-intestinale wanaki

Universiteit van Pretoria

1.4.3. Diverses neuseffekte

1.4.4. Opsomming

1.5. Die effek van struktuur veranderings op die immunomodulerende eienskappe van ander riminofenasiens verbindings

Januarie 1994

1.6. Kruis van riminofenasiens verbindings hierdie studie en die effek van veranderinge op die aktiwiteit van die verbindings

AFRICANA



HOOFSTUK 1: PRO-OXID INHOUDSOPGAWE PPE VAN NINE
RIMINOFENASIE VERBINDINGS

Bladsy

Opsomming	i
Summary	iii
Lys van afkortings	v
HOOFSTUK 1: LITERATUUR-OORSIG	1
1.1. Die ontstaan en ontwikkeling van riminofenasien verbindings	1
1.2. Klofasimien as anti-mikobakteriële geneesmiddel	13
1.2.1. Algemene kenmerke van klofasimien	13
1.2.2. Anti-mikobakteriële aktiwiteit van klofasimien teen:	14
1.2.2.1. Tuberkulose	14
1.2.2.2. Leprose	18
1.2.2.3. Ander mikobakteriële infeksies	23
1.3. Farmakokinetiese eienskappe van klofasimien:	28
1.3.1. Absorpsie van klofasimien	29
1.3.2. Serum-konsentrasies van klofasimien	29
1.3.3. Weefsel verspreiding van klofasimien	31
1.3.4. Metabolisme van klofasimien	35
1.3.5. Uitskeiding van klofasimien	37
1.4. Algemene newe-effekte wat tydens die toediening van klofasimien voorkom:	39
1.4.1. Vel	39
1.4.2. Gastro-intestinale kanaal	40
1.4.3. Oë	41
1.4.4. Naels	42
1.4.5. Diverse newe-effekte	42
1.4.6. Opsomming	43
1.5. Die effek van struktuur veranderings op die aktiwiteit van ander riminofenasien verbindings	45
1.6. Keuse van riminofenasien verbindings vir hierdie studie en die effek van strukturele veranderings op die aktiwiteit van die verbindings	55

HOOFSTUK 2: PRO-OKSIDATIEWE EIENSKAPPE VAN NUWE RIMINOFENASIEN VERBINDINGS	57
2.1. Inleiding	57
2.2. Media en metodes	69
2.3. Resultate	76
2.4. Gevolgtrekking	78
HOOFSTUK 3: ANTI-MIKROBIESE EIENSKAPPE VAN NUWE RIMINOFENASIEN VERBINDINGS	79
3.1. Inleiding	79
3.2. Media en metodes	84
3.3. Resultate	89
3.4. Gevolgtrekking	93
HOOFSTUK 4: IMMUUN-ONDERDRUKKENDE EIENSKAPPE VAN NUWE RIMINOFENASIEN VERBINDINGS	95
4.1. Inleiding	95
4.2. Media en metodes	101
4.3. Resultate	106
4.4. Gevolgtrekking	109
HOOFSTUK 5: ANTI-TUMOR EIENSKAPPE VAN NUWE RIMINOFENASIEN VERBINDINGS	111
5.1. Inleiding	111
5.2. Media en metodes	116
5.3. Resultate	120
5.4. Gevolgtrekking	123
HOOFSTUK 6: BESPREKING	124
VERWYSINGS	132

Dankbetuigings:

- (i) Eerstens my Hemelse Vader vir die genade en liefde wat ek so mildelik van Hom ontvang.
- (ii) Prof. Medlen vir haar getroue ondersteuning en leiding gedurende hierdie studie.
- (iii) Elize de Bruin en Yolanda Prinsloo vir die proeflees van die manuskrip.
- (iv) Prof. Anderson vir die raad en ondersteuning gedurende die studie.
- (v) Annette, Louise en al my ander kollegas vir al die ondersteuning en aanmoediging gedurende my studie.
- (vi) My ouers vir hul voortdurende belangstelling en ondersteuning.

113

IMMUNREGULERENDE, ANTI-MIKROBIESE EN ANTI-TUMOR AKTIVITEIT
VAN NIEUW-EININGENASIE

Christine Breyer

PROMOTOR: Prof. Dr. J. J. van der Vliet

DEPARTEMENT Immunologie

STAD: M.Sc. (Geneeskunde en Farmacie)

WAGeningen

Inleiding

De immuniteit is een unieke, specifieke en duurzame afweerreactie tegen ziekteverwekkende organismen. Deze afweerreactie wordt gereguleerd door een complex systeem van cellen en moleculen. Het doel van deze studie is om de immunoregulerende, antimicrobische en antitumorale activiteit van Nieuw-Eeningenasie te onderzoeken.

Hierdie tesis word met liefde opgedra aan:

My ouers

De afweer van het lichaam tegen ziekteverwekkende organismen is een complex proces dat wordt gereguleerd door een systeem van cellen en moleculen. Het doel van deze studie is om de immunoregulerende, antimicrobische en antitumorale activiteit van Nieuw-Eeningenasie te onderzoeken.

Die volgende gevolgtrekkinge is gemaak:

(1) In hierdie studie is bewys gemaak dat Nieuw-Eeningenasie 'n immunoregulerende, antimicrobiese en antitumorale aktiwiteit het.

IMMUUNREGULERENDE, ANTI-MIKROBIESE EN ANTI-TUMOR AKTIWITEIT
VAN NUWE RIMINOFENASIENE

Chrisna Durandt

PROMOTOR: Prof. C.E.J. Medlen

DEPARTEMENT: Immunologie

GRAAD: M.Sc. (Geneeskundige Immunologie)

OPSOMMING

Riminofenasien verbindings is 'n unieke groep verbindings deurdat dit verskeie biologiese aktiwiteite onder andere immuun-onderdrukkende, anti-tumor en anti-mikrobiese aktiwiteit besit. Dit het ook 'n unieke meganisme van werking deurdat die die Na⁺,K⁺ ATPase ensiem indirek inhibeer. Hierdie unieke meganisme van werking het ons gemotiveer om 'n reeks nuwe riminofenasien-derivate te ondersoek in 'n poging om biologies meer aktiewe verbindings uit te lig.

Tydens vorige strukturele studies van klofasimien derivate is daar gevind dat die teenwoordigheid van 'n siklo-alkiel-iminogroep op posisie 2 van die fenasienskern van hierdie verbindings 'n belangrike rol speel in die bepaling van die mate van biologiese aktiwiteit. Die doel van hierdie studie was om te bepaal of die grootte van die siklo-alkiel-iminogroep 'n invloed op die biologiese aktiwiteit van die riminofenasien verbindings het.

Die volgende gevolgtrekkings kon gemaak word:

(i) In hierdie studie is bevestig dat die teenwoordigheid

(ii)

van 'n siklo-alkiel wat direk aan die imino-stikstof gekoppel is, tot verhoogde aktiwiteit van hierdie middels by eukariotiese selle (maar nie by prokariotiese selle) lei.

(ii) By konsentrasies van 2 ug/ml en hoër het die aktiwiteit van die riminofenasien verbindings toegeneem namate die grootte van die siklo-alkiel op posisie 2 toegeneem het, maar hierdie verwantskap tussen chemiese struktuur en biologiese aktiwiteit was nie by laer konsentrasies duidelik nie.

Die bevindings in hierdie studie is belangrik vir die ontwerp van nuwe, meer effektiewe anti-tumor, anti-mikrobiese en immuun-onderdrukkende middels wat teen die Na⁺,K⁺ ATPase ensiem in die selmembraan gerig is.

IMMUNOREGULATORY, ANTI-TUMOR AND ANTI-MICROBIAL ACTIVITIES
OF NEW RIMINOPHENAZINES

Chrisna Durandt

LEADER: Prof C.E.J. Medlen

DEPARTMENT: Immunology

DEGREE: M.Sc. (Medical Immunology)

SUMMARY

Riminophenazines are a unique group of compounds with various biological properties, including immunoregulatory, anti-tumor and anti-microbial activities. They have a common mode of action which involves inhibition of the membrane-associated Na^+ , K^+ ATPase enzyme. In previous studies using neutrophils it was found that the presence of a cycloalkyl imino group at position 2 of the phenazine nucleus increases the biological activities of riminophenazines. All the experimental drugs used in this study have a cycloalkyl imino group at position 2 of the phenazine nucleus and this chemical group differs only in the number of carbon-atoms the ring contains. The primary objective of this study was therefore to determine whether the size of the cycloalkyl group would influence the biological activities of the riminophenazines.

The following observations were made:

- (i) It was confirmed that the presence of a cycloalkyl imino group at position 2 increases the biological activities of these agents in eukaryotic (but not in

LYS VAN AFSCHRIJFINGEN

procaryotic) cells.

(ii) At concentrations of 2 ug/ml and higher the activities of riminophenazines increased with the size of the cycloalkyl at position 2, but this relation between chemical structure and biological activity is not evident at lower concentrations.

These observations may be important for the design of new, more effective anti-tumour, anti-microbial and immunosuppressive drugs.

LYS VAN AFKORTINGS

ATP	Adenosien 5'-trifosfaat
DMSO	Dimetiel sulfoksied
DNA	Deoksiribonukleïensuur
EDTA	Etileendiamien tetra-asynsuur
ENL	Erithema nodosum leprosum
FBS	Fosfaat-gebufferde sout-oplossing
FKS	Fetale kalf serum
FMLP	N-Formiel-L-metioniel-L-leusiel-L-feniellalanien
GOT	Gemiddelde oorlewingstyd
HBSS	HBSS HANKS gebalanseerde sout-oplossing
HIV	Menslike immuniteits-gebrek virus
LPC	Lisofosfatidielcholien
LPE	Lisofosfatidieletanolamien
LT	Leukotrien
m/v	massa/volume
MAK	<u>Mycobacterium avium-intracellulare</u> kompleks
MBK(s)	Minimum bakteriosidiese konsentrasie(s)
MEM	Minimum essenële medium
MIK(s)	Mimum inhiberende konsentrasie(s)
MNL	Mononuklêre leukosiete
MPO	Meïeloperokidase
Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase	Na ⁺ ,K ⁺ -Adenosien 5'-trifosfatase
NADPH	Nikotienamied adenien dinukleotied fosfaat
OD	Optiese digtheid
PG(e)	Prostaglandien(e)
PGE ₂	Prostaglandien E ₂

PHA	Phytohemagglutinien
PKC	Proteien kinase C
PLA ₂	Fosfolipase A ₂
PMA	Forbol-miristaat-asetaat
PMNL	Polimorfonuklêre leukosiete
SDS	Natrium dodesiel sulfaat
SFG	Standaardfout van die gemiddelde
SOD	Superoksied dismutase
TMP	2,2,6,6-Tetrametielpiperidien
VIGS	Verworwe immuniteits-gebrek sindroom

LITERATUUR-CORSIE