

Kurzzusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Dissertation war das Design, die Synthese und die enzymkinetische Charakterisierung neuer Hemmstoffe der Serinhydrolasen humane Monoacylglycerollipase (hMAGL), humane Fettsäureamidhydrolase (hFAAH) sowie Cholesterolesterase aus Mensch und Maus (hCEase bzw. mCEase). Zur Identifizierung neuer Leitstrukturen wurde ein *in silico-screening* von Substanzen, die z. T. der Zinc-Datenbank^[1-2] entstammten, an hMAGL durchgeführt, ausgewählte Verbindungen dieses *Screenings* synthetisiert und auf ihre Fähigkeit getestet die drei genannten Enzyme zu inhibieren. Zu diesem Zweck wurden ein fluorometrischer Assay für FAAH sowie ein kolorimetrischer Enzymassay für MAGL etabliert. *N*-(6-Methoxy-pyridin-3-yl)decanamid (D-MAP; **73**) wurde hierbei als neues fluorogenes FAAH-Substrat erstmalig synthetisiert und charakterisiert. Im Vergleich zu literaturbekannten Substraten weist D-MAP (**73**) eine höhere Wasserlöslichkeit sowie Empfindlichkeit für FAAH auf; für die enzymkinetischen Messungen wurde eine Enzymkonzentration von $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ gewählt, die unterhalb der in der Literatur beschriebenen Enzymkonzentrationen anderer fluorometrischer FAAH-Assays liegt. Zudem wurden für D-MAP (**73**) *Z'*-Werte von 0.76-0.86 ermittelt, die die hervorragende Eignung dieses Substrats (**73**) für das *High throughput screening* von Substanzbibliotheken bestätigten. Das Thiazol **135** wurde als ein neuer Inhibitor der hFAAH identifiziert, der das Enzym mit einem IC_{50} -Wert von $52.4 \mu\text{M}$ hemmt.

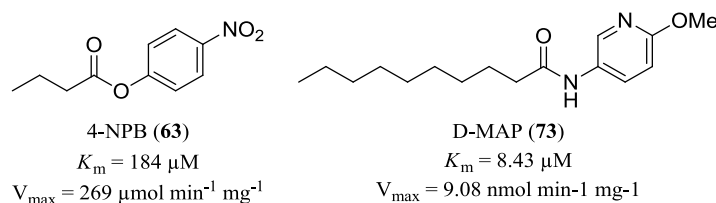


Abb. 1: Molekülstruktur des chromogenen MAGL-Substrates 4-NPB (**63**) und des fluorogenen FAAH-Substrates D-MAP (**73**).

Zur Etablierung des MAGL-Enzymassays wurde das von Muccioli *et al.*^[3] beschriebene chromogene Substrat 4-Nitrophenylbutyrat (4-NPB; **63**) erstmals vollständig kinetisch charakterisiert. Aufgrund der guten Substrateigenschaften des 4-NPB wurden die enzymkinetischen Experimente mit einer MAGL-Konzentration von 20 ng mL^{-1} durchgeführt, d. h. mit einer Enzymkonzentration, die unterhalb jener anderer in der Literatur beschriebenen kolorimetrischer MAGL-Assays liegt. Als neue Klasse reversibler hMAGL-Inhibitoren wurden ω -Chinazolinonylalkylaryle identifiziert, die IC_{50} -Werte im Bereich $20\text{-}41 \mu\text{M}$ aufweisen; das potenteste Derivat **175** zeigte einen K_i -Wert von $15.4 \mu\text{M}$. Die

hierzu verwandten ω -Phthalimidoalkylarylarnstoffe **184** und **203** wurden als neue Inhibitoren der hCEase und mCEase identifiziert und charakterisiert. Untersuchungen zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ergaben, dass die Harnstoffeinheit, eine an den Harnstoff gebundene 3,5-Bis(trifluormethyl)phenylgruppe sowie der aromatische Charakter des terminalen Phthalimidrests der Alkylkette entscheidend für die Hemmwirkung dieser Verbindungen sind. Die Alkylspacerlänge beeinflusste das Hemmvermögen der Verbindungen dagegen weniger. Die ω -Phthalimidoalkylarylarnstoffe zeigen K_i -Werte im niedrigen bis mittleren mikromolaren Bereich ($K_i = 1.19$ - $18.7 \mu\text{M}$) und hemmten die beiden CEasen vollständig, reversibel und selektiv (im Vergleich zu MAGL und FAAH) mit sowohl kompetitivem als auch nicht-kompetitivem Verhalten.

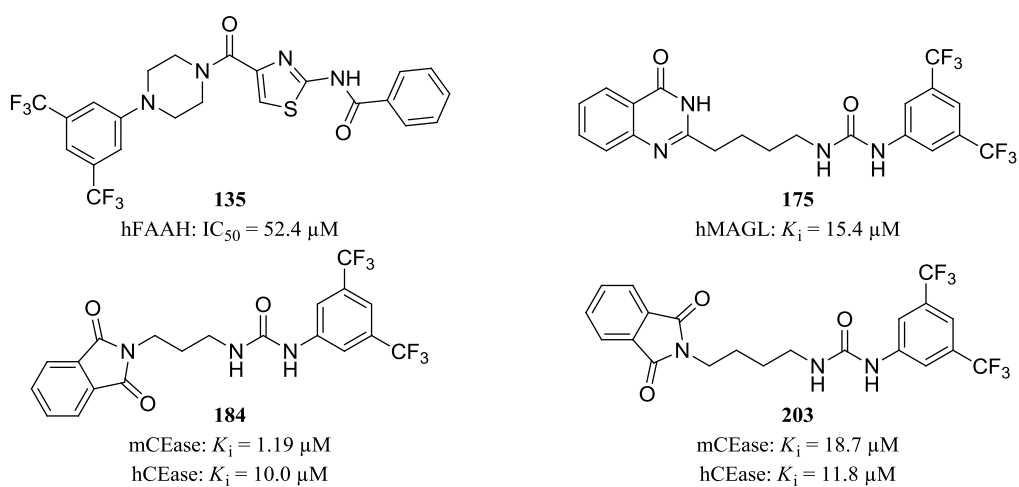


Abb. 2: Molekülstrukturen des Thiazolininhibitors **135**, ω -Chinazolinonylalkylarylarnstoffinhibitors **175**, und der ω -Phthalimidoalkylarylarnstoffinhibitoren **184** und **203**.