

Svea Kristina Leendertz

Dr. med.

Kinetische Untersuchungen von Inhibitoren der *Trypanosoma cruzi* Trypanothionreduktase, entwickelt anhand strukturbasierter Wirkstoffdesigns

Geboren am 16.02.1979 in Herdecke

(Staats-)Examen am 11.05.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. R. L. Kauth-Siegel

Das parasitenspezifische Flavoenzym Trypanothionreduktase (TR) ist ein vielversprechendes Zielmolekül der Medikamentenentwicklung gegen trypanosomale Erkrankungen.

Im ersten Teil der Arbeit wurde untersucht, ob der verfügbare polyklonale Trypanothionreduktase Antikörper 06/88 gegen *T. cruzi* TR geeignet ist, TR aus *T. b. brucei* zu präzipitieren und für die Bestimmung der *in vivo* Halbwertszeit des Proteins verwendet werden kann. Western Blots von *T. b. brucei* Zellextrakten zeigten, dass der Antikörper empfindlich ist, aber neben der erwarteten Bande bei 50 kDa weitere Proteine erkennt. Deshalb wurde das Antiserum an Membran- bzw. an Affi-Gel-10-gebundener *T. cruzi* TR aufgereinigt. Der gereinigte Antikörper erkannte problemlos 5 ng rekombinante *T. cruzi* TR. Bei den *T. b. brucei* Zellextrakten ergab sich eine deutlich geringere Hintergrundfärbung. Die Aufreinigung des TR-Antikörpers war somit erfolgreich. Immunpräzipitationen mit *T. b. brucei* Zellextrakten zeigten jedoch, dass der gereinigte Antikörper leider nicht in der erhofften Sensitivität TR in *T. b. brucei* erkennt. Somit konnte der Antikörper nicht wie geplant, für Versuche zur Bestimmung der *in vivo* Halbwertszeit der TR in *T. b. brucei* verwendet werden.

Der zweite Teil der Arbeit widmete sich der enzymkinetischen Charakterisierung potentieller Inhibitoren der TR.

Auf der Grundlage des Bis (biguanids) Chlorhexidin, eines kompetitiven Inhibitors der TR, wurden von der 4SC GmbH Verbindungen synthetisiert und im Rahmen dieser Arbeit als Inhibitoren der TR getestet. Vier Bis(amidin)-Derivate zeichneten sich durch eine effektive Hemmung der TR aus. Verbindung 20 hemmte die TR kompetitiv mit einer

Inhibitorkonstante K_i von 6 μM . Die Verbindungen 14, 18 und 30 waren vollständig gemischte Inhibitoren der TR mit K_i -Werten von 2-5 μM und K_i' -Werten von 16-47 μM . Alle drei Verbindungen tragen einen identischen Phenyl-substituierten Diether als Substituenten, welcher mitverantwortlich für den gemischten Hemmtyp zu sein scheint.

Obwohl die Hemmwirkung der neuen Verbindungen im Vergleich zu Chlorhexidin nicht besser war, ist der Wechsel zu einem gemischten Hemmtyp für die Medikamentenentwicklung vorteilhaft, da die Akkumulation von Substrat die Hemmwirkung des Enzyms nicht so leicht aufhebt wie bei einem rein kompetitiven Liganden.