



Blick in die Wissenschaft 32

Forschungsmagazin der Universität Regensburg

„Sie erträgt den Himmel nicht“

Zeitgenössische Kontexte literarischer Texte über
Ballonfahrten

Die Farbe unseres Gedächtnisses

Wie die Farbe von Objekten unser Erinnerungs-
vermögen beeinflusst

Physik als Weg der Weltbegegnung

Grammatik des Lehrens und Lernens

Heißes Herz und kalte Noten

Carl Philipp Emanuel Bach zwischen Ekstase und
Musikphilologie

Der Kampf des Gehirns gegen eindringende Krebszellen

Die organspezifische Abwehr?

Über Menschliches und Übermenschliches

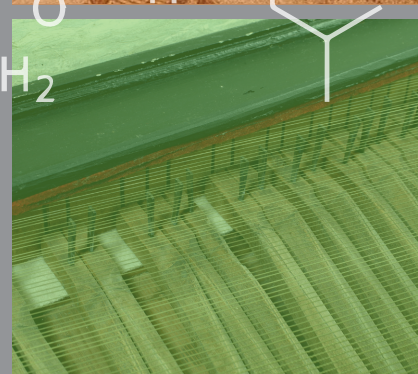
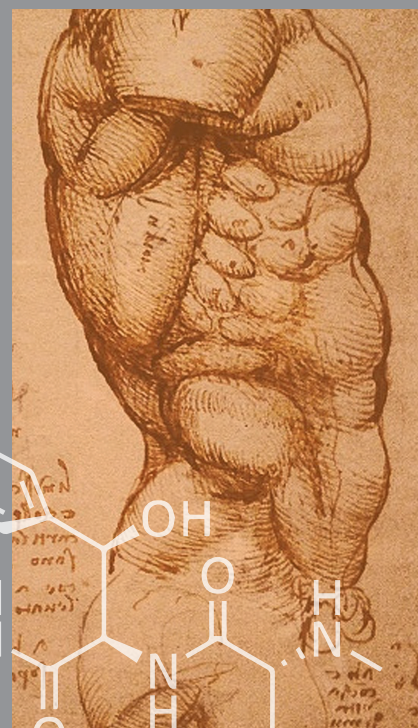
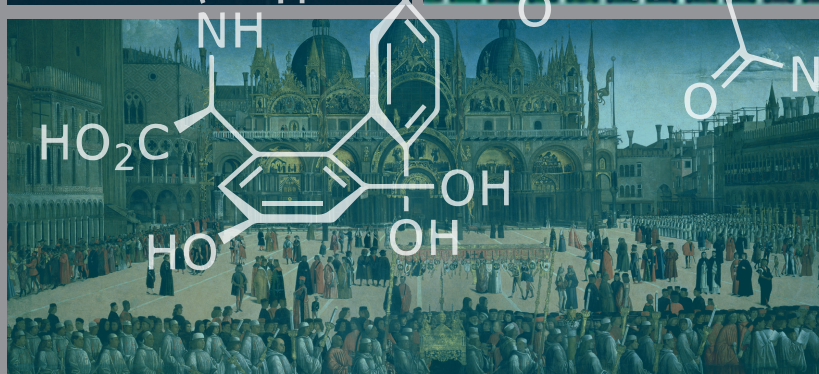
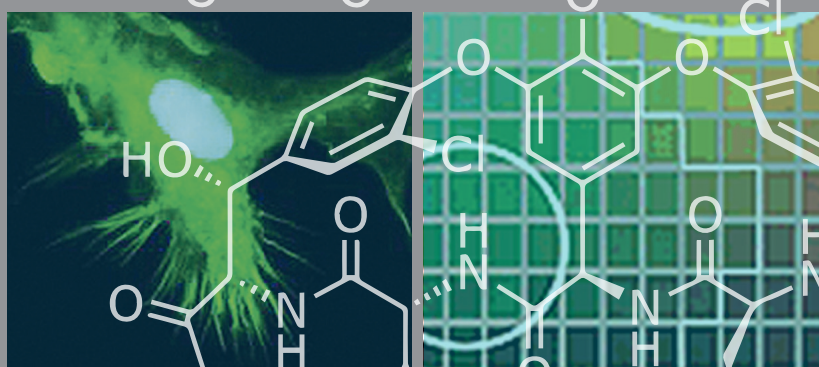
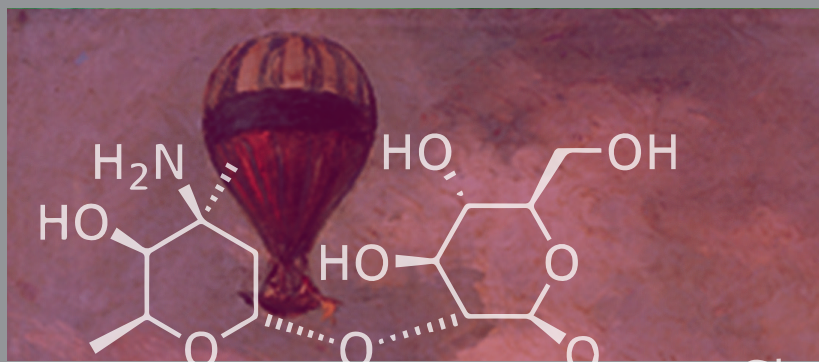
Zum *anthropological turn* der Philosophie

Die Stadt als Bühne

Einzüge, Umzüge und religiöse Prozessionen
in der mittelalterlichen Stadt

„Make it stick“

Kovalente Inhibitoren in der Medizinforschung



Blick in die Wissenschaft
Forschungsmagazin
der Universität Regensburg
 ISSN 0942-928-X, Heft 32/24. Jahrgang

Herausgeber

Prof. Dr. Udo Hebel
 Präsident der Universität Regensburg

Redaktionsbeirat

Prof. Dr. med. Reinhard Andreesen
 Prof. Dr. rer. pol. Susanne Leist
 Prof. Dr. rer. nat. Christoph Meinel
 Prof. Dr. phil. Ursula Regener
 Prof. Dr. rer. nat. Klaus Richter
 Prof. Dr. phil. Hans Rott

Universität Regensburg, 93040 Regensburg
 Telefon (09 41) 9 43-23 00
 Telefax (09 41) 9 43-33 10

Verlag

Universitätsverlag Regensburg GmbH
 Leibnizstraße 13, 93055 Regensburg
 Telefon (09 41) 7 87 85-0
 Telefax (09 41) 7 87 85-16
 info@univerlag-regensburg.de
 www.univerlag-regensburg.de
 Geschäftsführer: Dr. Albrecht Weiland

Abonnementservice

Bastian Graf
 b.graf@univerlag-regensburg.de

Anzeigenleitung

Niclas Martens
 info@univerlag-regensburg.de

Herstellung

Universitätsverlag Regensburg GmbH
 info@univerlag-regensburg.de

Einzelpreis € 7,00

Jahresabonnement

bei zwei Ausgaben pro Jahr

€ 10,00 / ermäßigt € 9,00

für Schüler, Studenten und Akademiker
 im Vorbereitungsdienst (inkl. 7% MwSt)
 zzgl. Versandkostenpauschale € 1,64 je
 Ausgabe. Bestellung beim Verlag

Für Mitglieder des **Vereins der Ehemaligen Studierenden der Universität Regensburg e.V.** und des **Vereins der Freunde der Universität Regensburg e.V.** ist der Bezug des Forschungsmagazins im Mitgliedsbeitrag enthalten.

In dem zentralen Handlungsfeld der Forschungsförderung verfolgt die Universität Regensburg gegenwärtig vor allem drei strategische Ziele: Stärkung der SFB-Felder und Weiterentwicklung der interdisziplinären Netzwerke, Etablierung außeruniversitärer Forschungseinrichtungen sowie Nachwuchsförderung. Um die Forschungsaktivitäten der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler in diesem Sinne zu unterstützen und die nötigen Freiräume zu schaffen, hat die Universität Regensburg in den vergangenen Semestern mehrere neue Programme aufgelegt.

Das neu geschaffene und bayernweit einzigartige Academic Research Sabbatical-Programm (ARSP) verbessert die Arbeitsbedingungen von Nachwuchswissenschaftler/innen auf Stellen als Akademische Rätinnen bzw. Akademische Räte auf Zeit durch die Freistellung von Lehr- und Verwaltungsaufgaben. Besonderes Augenmerk wird dabei auf die Erhöhung der Berufungschancen, die internationale Vernetzung, die Drittmittelbeantragung sowie die Förderung von Frauen in der Wissenschaft gerichtet.

Da der Freiraum für Forschung zunehmend eine wertvolle Ressource geworden ist, hat die Universitätsleitung auch bei der Neugestaltung des Verfahrens zur Deputatsermäßigung für Professoren/innen Forschungsaktivitäten und Antragsvorhaben besondere Bedeutung beigemessen.

Für Professorinnen und Professoren, die bereits auf eine erfolgreiche wissenschaftliche Karriere zurückblicken und weiterhin ihre Forschungsprojekte an der Universität Regensburg verfolgen möchten, wurde das Programm „Emeriti Research Fund“ (ERF) aufgelegt. Es richtet sich an Professoren/innen, die seit 2012 in Ruhestand getreten sind bzw. bis 2018 aus dem Dienst ausscheiden. Die Universitätsleitung kommt mit diesem Programm dem zunehmenden Bedürfnis nach Unterstützung von Forschungsarbeiten auch am Übergang in den Ruhestand nach.

Neben diesen Programmen steht die infrastrukturelle Unterstützung durch Information und Beratung in Zukunft noch mehr im Mittelpunkt. Die Universitätsleitung hat in Kooperation mit der Frauenbeauftragten der Universität eine neue Vortragsreihe initiiert, die über Fördermöglichkeiten, Antragsmodalitäten, Projektmanagement und Vernetzungsoptionen informiert. Zur Umsetzung dieser und anderer forschungsfördernder Initiativen wurde zudem eine zusätzliche EU-Refere-



© Referat Kommunikation UR

rentenstelle eingerichtet, die insbesondere Aktivitäten zu Horizon 2020 in den Fokus nimmt.

Für die zukunftsorientierte Entwicklung der Universität Regensburg, gerade auch im Hinblick auf die Fortführung der Exzellenzinitiative, ist es besonders wichtig, außeruniversitäre Forschungseinrichtungen vor Ort anzusiedeln. Die Universitätsleitung strebt in diesem Zuge mit voller Kraft an, das Institut für Ost- und Südosteuropaforschung (IOS) und das Regensburger Centrum für Interventionelle Immunologie (RCI) in Institute der Leibniz-Gemeinschaft zu überführen.

Diese nach innen gerichteten strategischen Bestrebungen werden ergänzt um die Außendarstellung von Wissenschaft und Forschung in der Öffentlichkeit. Um die Forschungsleistungen und -erfolge der Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen unserer Universität noch transparenter zu machen und den Transfer in die außeruniversitäre Öffentlichkeit zu intensivieren, erfolgt die Berichterstattung auf der neu gestalteten Webseite der Universität verstärkt forschungsorientiert und bildbasiert. Dieses Ziel verfolgt auch das Forschungsmagazin Blick in die Wissenschaft, das die Universität Regensburg in ihrer wissenschaftlichen Vielfalt, Lebendigkeit und Leistungsfähigkeit abbildet. In diesem Sinne wünsche ich Ihnen eine spannende und anregende Lektüre.

Präsident der Universität Regensburg
Prof. Dr. Udo Hebel

Inhalt

Literaturwissenschaften



„Sie erträgt den Himmel nicht“

Zeitgenössische Kontexte literarischer Texte über Ballonfahrten
Ursula Regener

3

Psychologie

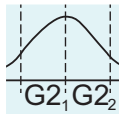


Die Farbe unseres Gedächtnisses

Wie die Farbe von Objekten unser Erinnerungsvermögen beeinflusst
Christof Kuhbandner

11

Physik



Physik als Weg der Weltbegegnung

Grammatik des Lehrens und Lernens
Karsten Rincke, Christian Maurer

16

Musikwissenschaft

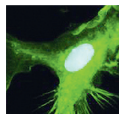


Heißes Herz und kalte Noten

Carl Philipp Emanuel Bach zwischen Ekstase und Musikphilologie
Wolfgang Horn

23

Medizin



Der Kampf des Gehirns gegen eindringende Krebszellen

Die organspezifische Abwehr?
Tobias Pukrop

28

Philosophie



Über Menschliches und Übermenschliches

Zum *anthropological turn* der Philosophie
Elif Özmen

32

Geschichtswissenschaften

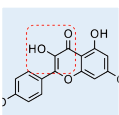


Die Stadt als Bühne

Einzüge, Umzüge und religiöse Prozessionen in der mittelalterlichen Stadt
Sabine Reichert

38

Chemie und Pharmazie



„Make it stick“

Kovalente Inhibitoren in der Medizinforschung
Sabine Amslinger

42

„Make it stick“

Kovalente Inhibitoren in der Medizinforschung

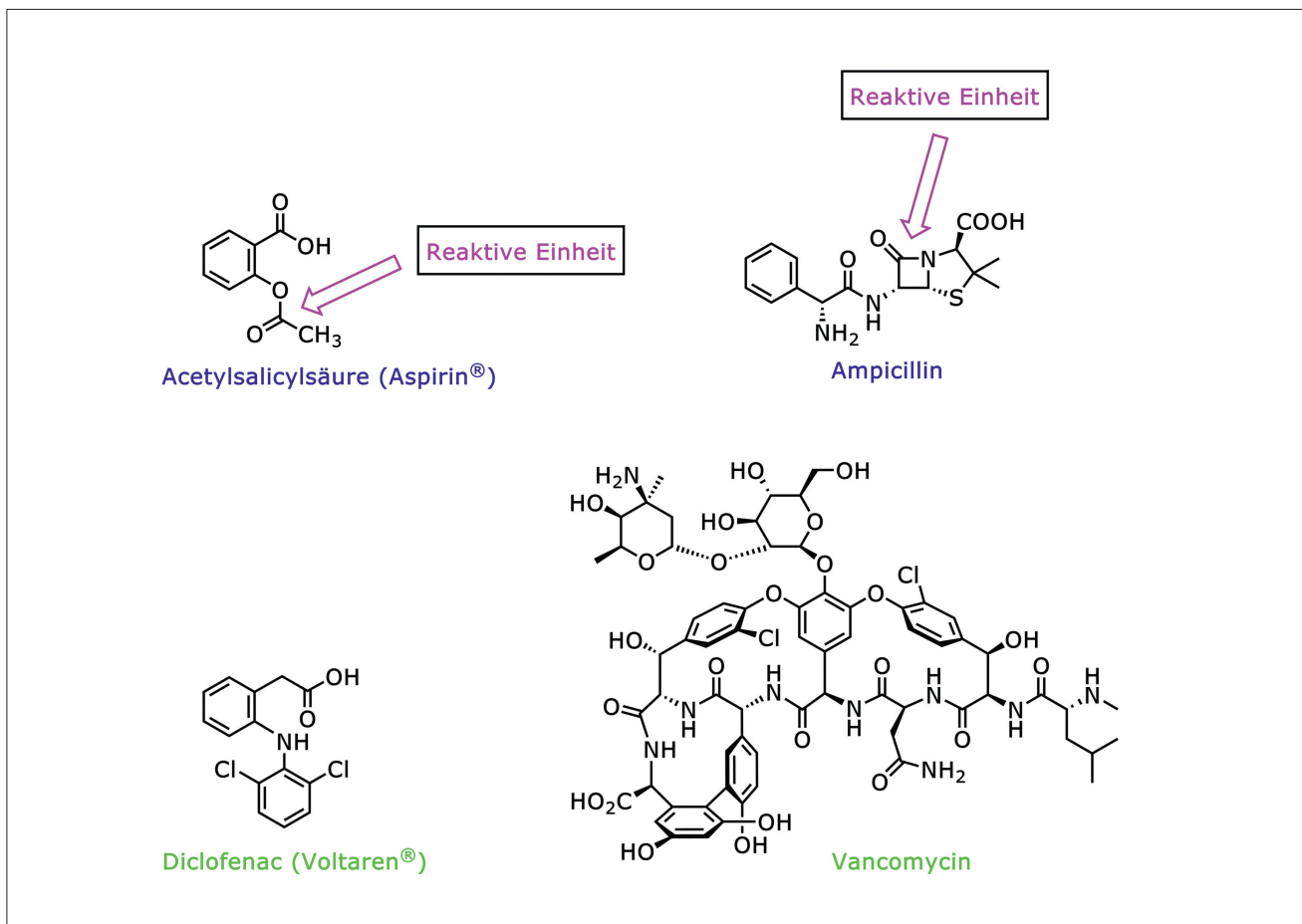
Sabine Amslinger

Bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe bzw. beim Einsatz bekannter Medikamente spielt die Vermeidung von Nebenwirkungen eine entscheidende Rolle. Diese Eigenschaft von Substanzen – neben dem gewünschten Wirkort nicht an weiteren Stellen anzugreifen – wird als Selektivität bezeichnet. Die Aufgabe der Pharmaforschung besteht nun darin, Moleküle bereitzustellen, die zur selektiven Bekämpfung einer Krankheit verwendet werden können. Ziel ist es, eine hohe pharmakolo-

gische Aktivität zu erreichen und gleichzeitig die Toxizität in einem tolerierbaren Rahmen zu halten.

Die Bekämpfung des Krankheitsprozesses erfolgt üblicherweise durch Eingriff in die Aktivität von Proteinen, häufig Enzymen, um die Bildung bestimmter Stoffe zu hemmen oder zu stimulieren. Es kann aber auch allgemein die Verknüpfung und Prozessierung von Biomolekülen wie Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren sowie Pri-

mär- und Sekundärmetaboliten beeinflusst werden. Entscheidend ist die Wechselwirkung des in der Regel vergleichsweise kleinen Wirkstoffmoleküls mit Teilstrukturen aus meist großen Biomolekülen wie Proteinen. Wie gelingt es nun, hohe Aktivitäten eines Wirkstoffs zu erzielen? Hohe Aktivität heißt in der Regel eine starke Bindung, d. h. hohe Affinität (= Verweilzeit) am jeweiligen Wirkort – dem ‚Target‘. Dies kann auf zweierlei Weise realisiert werden:



1 Beispiele für zwei Schmerzmittel (Acetylsalicylsäure und Diclofenac) und zwei Antibiotika (Ampicillin und Vancomycin), wobei jeweils eine der beiden Verbindungen eine Reaktiveinheit zur Ausbildung der kovalenten Bindung besitzt.

(1) Multiple nicht-kovalente Bindungen/ Wechselwirkungen, die eine Gesamtwchselwirkung aufgrund eines Netzwerkes von Interaktionen ergeben.

(2) Eine kovalente Bindung. Das heißt im Fall der irreversiblen Bindung eine Verweilzeit bis zum Abbau des Proteins bzw. bei reversiblen kovalenten Reaktionspartnern eine reaktivitätsabhängige Umkehrung des Bindungsschrittes.

Konzeptionell könnte man leicht vermuten, dass es erheblich einfacher ist, nur eine kovalente Bindung zu knüpfen, die den Wirkstoff bzw. Teile des Wirkstoffs irreversibel an den Wirkort bindet. Dies steht aber im direkten Gegensatz zur Selektivität, die sich durch eine Unterscheidung ähnlicher Wirkorte auszeichnet und üblicherweise durch eine Mehrzahl von nicht-kovalenten Wechselwirkungen erreicht wird. Das scheinbare Dilemma liegt in der Natur der beiden Bindungstypen: bei einer kovalenten Bindung handelt es sich um eine starke Bindung, nämlich eine Molekülbindung als kürzeste Verbindung von zwei Atomen; nicht-kovalente Bindungen oder Wechselwirkungen sind im Vergleich deutlich schwächer, daher ist für eine ausreichende Affinität bzw. Bindung an das Target eine größere Anzahl dieser schwachen Interaktionen notwendig. Die Lösung des Selektivitätsproblems erscheint nun naheliegend, indem man die Struktureinheit einer nicht-kovalenten Zielstruktur mit einer kovalenten Bindungseinheit kombiniert.

Kovalentinhibitoren werden vielfach eingesetzt

Trotz dieser sich anbietenden Strategie haben kovalent wirkende Moleküle einen schlechten Ruf in der Medikamentenentwicklung und werden häufig aus Screening-Verfahren, die neue Leitstrukturen identifizieren sollen, ausgeschlossen. Grund hierfür ist die Annahme, dass die für die Ausbildung kovalenter Bindungen benötigte chemische Reaktivität mit unspezifischen, ungewollten Bindungsknüpfungen einhergeht, die Toxizität auslösen. Trotzdem sind einige der bekanntesten und meistgenutzten Medikamente Kovalentinhibitoren, d. h. Moleküle die durch die Hemmung eines krankheitsrelevanten Targets funktionieren. Tatsächlich geht man davon aus, dass bis zu 30 % aller Medikamente auf Basis von kovalenten Bindungen wirken. In [1] ist ein Vergleich von

Tabelle 1: Beispiele für bekannte Medikamente und ihre Wirkmechanismen

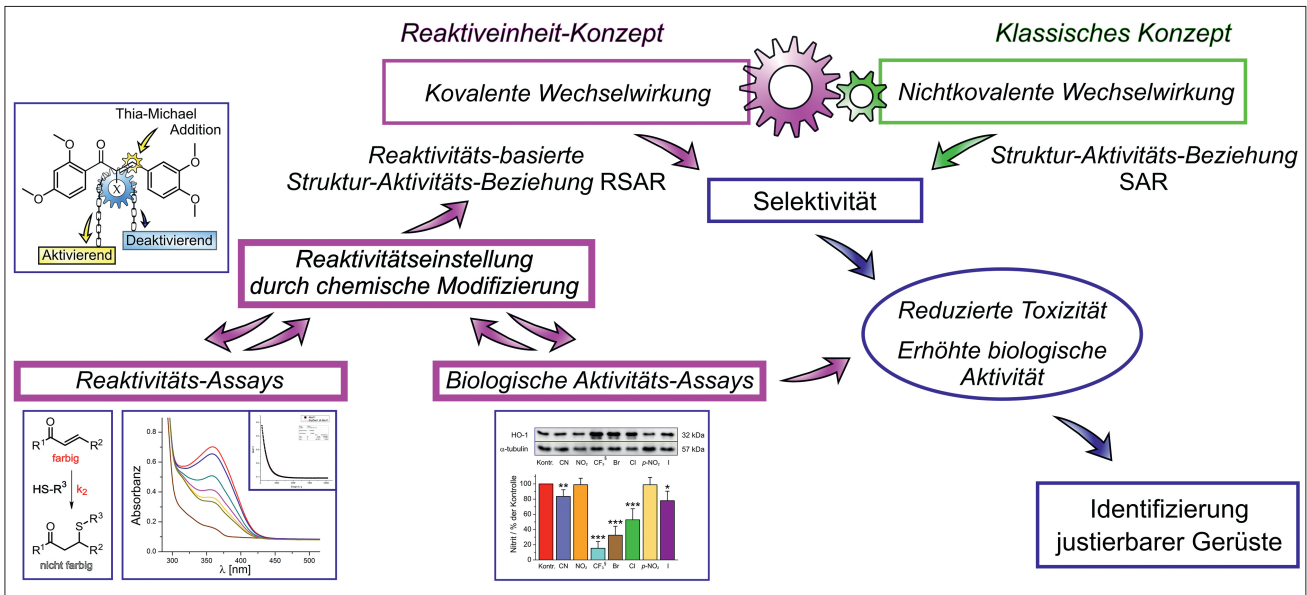
Verbindung	Bindungstyp	Wirkmechanismus
Acetylsalicylsäure	kovalent	Acylierung von Ser530 in Cyclooxygenase-1 (COX-1); initiale Wechselwirkung mit Arg120, Tyr385
Diclofenac	nicht-kovalent	Bindung in das Aktive Zentrum der Enzyme COX-1/COX-2; wichtiger Aminosäurerest für die Interaktion ist Arg120
Ampicillin	kovalent	Acylierung von Serin-Resten der bakteriellen Transpeptidasen
Vancomycin	nicht-kovalent	Bindung des Substrates D-Ala-D-Ala der bakteriellen Transpeptidasen über Vancomycin-Peptidrückgrat

jeweils einem kovalent und nicht-kovalent-wirkenden Schmerzmittel gezeigt, welche beide an die Schmerzmediatoren produzierenden Enzyme Cyclooxygenase-1 bzw. Cyclooxygenase-2 (COX-1/COX-2) binden. Ebenso sind die beiden Antibiotika Ampicillin und Vancomycin gezeigt, wobei das Reserveantibiotikum Vancomycin aufgrund eines komplexen 3D-Netzwerkes seine Funktion entfaltet. Im Gegensatz dazu erscheint das kovalent-wirkende Ampicillin aus der Gruppe der Penicilline strukturell sehr einfach und ist trotz auftretender Resistenzen ein weiterhin oft verwendetes Antibiotikum. Interessanterweise werden ähnliche bzw. dieselben Wirkstrukturen angegriffen, die Inhibierung aber durch unterschiedliche Bindungsmodi erreicht [Tab. 1].

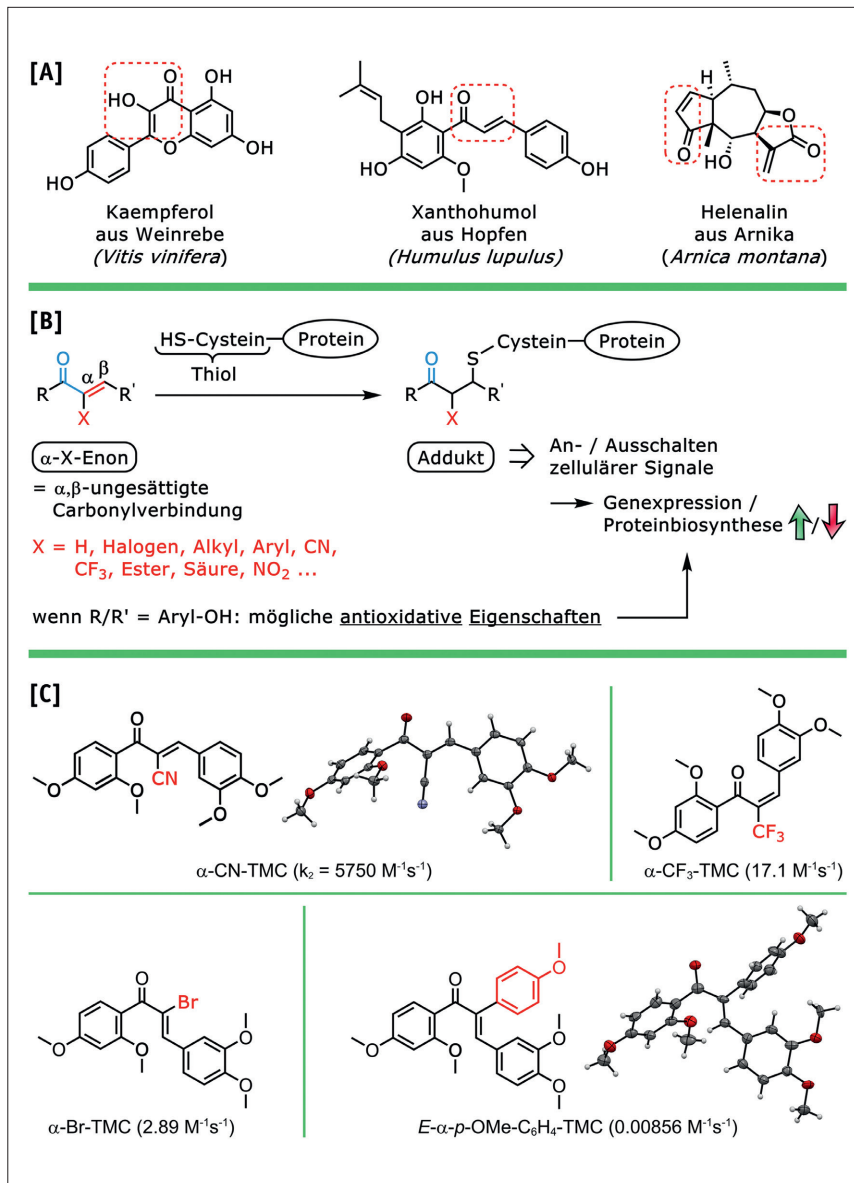
Die Herausforderung für die Entwicklung neuer, kovalent-bindender Wirkstoffe zur Erreichung der geforderten pharmakologischen Wirksamkeit (Potenz), der Selektivität und entsprechend niedrigen Toxizität wird entscheidend durch die Wahl der ‚Reaktiven Einheit‘ beeinflusst. Von besonderer Bedeutung ist hier die Feinjustierbarkeit der chemischen Reaktivität, welche die Interaktion – sprich chemische Bindung – nur an bestimmte Teile von Proteinen, d. h. spezifische Aminosäurereste, erlauben soll. Allerdings kann so eine Reaktiveinheit nicht iso-

liert für sich betrachtet werden, sondern ist immer Teil einer größeren Molekülstruktur, die ein nicht-kovalentes Bindungsnetzwerk vorgibt, welches hilft, Selektivität zu erzeugen. Diese Kombination von ‚Klassischem Konzept‘, nämlich der Konzentration auf eine Summe nicht-kovalenter Wechselwirkungen mit dem ‚Reaktiveinheit-Konzept‘, ist in [2] gezeigt und stellt die Grundlage unserer Forschungsarbeiten dar, wobei wir uns weitgehend auf das Reaktiveinheit-Konzept stützen und dessen Anwendungsbreite untersuchen. Unser Ziel ist es insgesamt, durch eine Verzahnung beider Konzepte Strategien zu entwickeln, die die Identifizierung geeigneter, feinjustierbarer Gerüste erlauben – sprich kleiner organischer Moleküle mit Bindungs- und Reaktiveinheiten.

Bei der Auswahl geeigneter funktioneller Gruppen, die als Reaktiveinheiten dienen können, lohnt sich ein Blick in die Natur, wo sich zahlreiche, meist pflanzliche und mikrobielle Naturstoffe als potente Wirkstoffe bzw. Leitstrukturen zur Wirkstoffentwicklung identifizieren lassen. Hier treten besonders elektrophile Substanzen in den Vordergrund, wobei sowohl eine große strukturelle Diversität als auch chemische Reaktivität vorliegt. Die zuvor gezeigte Ester-Einheit in Acetylsalicylsäure und die β -Lactam-Einheit des Ampicillins sind zwei Beispiele für solche elektrophile Reaktiveinheiten.



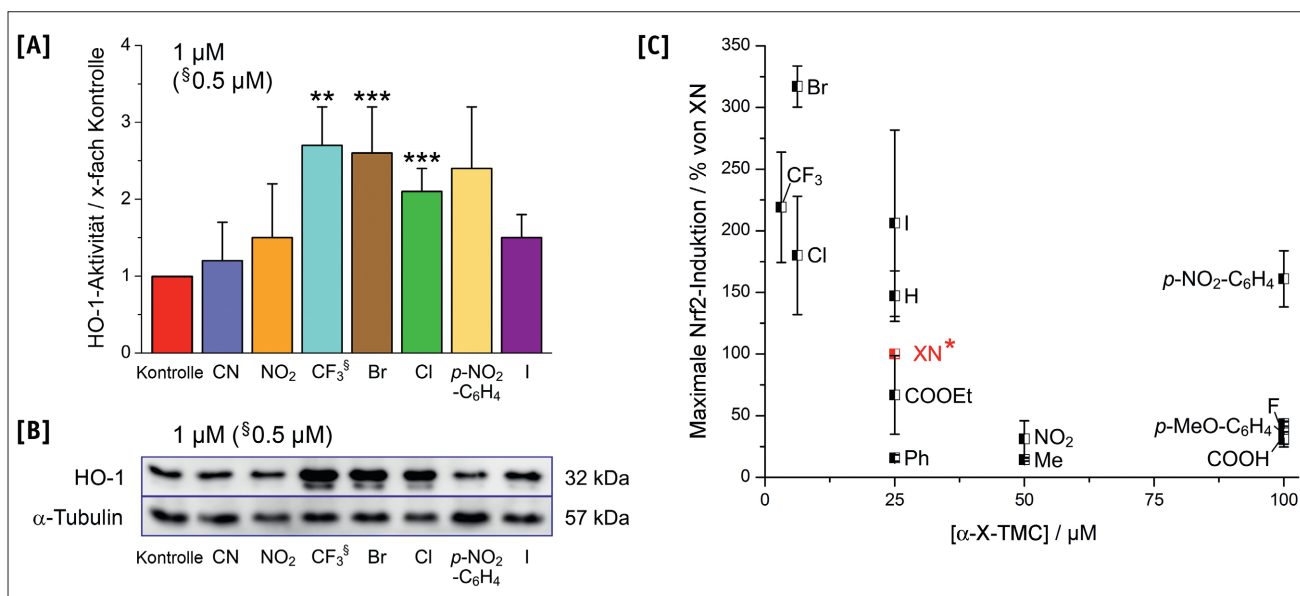
2 Forschungskonzept: Verknüpfung von Chemischer Reaktivität mit Biologischer Aktivität als Basis zur Identifizierung justierbarer/modulierbarer Gerüste für die Entwicklung neuer kovalent-basierter Wirkstoffe. Assays bezeichnet experimentelle Tests zur Quantifizierung eines Effekts.



Die Enon-Einheit – Teilstruktur vieler Naturstoffe

Die α,β -ungesättigte Carbonyl-Einheit, auch Enon-Einheit genannt, ist durch ihre Reaktivität als Elektrophil gekennzeichnet, d. h. sie kann an elektronenreiche (= nukleophile) Positionen eines anderen Moleküls binden. Besonders wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass sich diese Reaktivität aufgrund ihrer strukturellen Variabilität bezüglich ihrer Reaktivität sehr gut fein einstellen lässt.

3 Bedeutung von Enonen. [A] Die Enon-Einheit (α,β -ungesättigte Carbonyl-Einheit) kommt in vielen Naturstoffen vor, die sowohl in Nahrungsmitteln als auch Arzneipflanzen zu finden sind. [B] Gleichzeitig lässt sich die Enon-Einheit chemisch gezielt modifizieren. Ein Substituent X in der α -Position hat sich als besonders effizient zur Modifikation erwiesen. Entscheidend für die Reaktivität der Enone ist die Addition von Protein-Thiolgruppen (= Cystein-Resten), was zur Beeinflussung der Gen- und Proteinexpression verwendet werden kann. [C] Anhand der Naturstoff-basierten α -X-substituierten Tetramethoxychalkone (α -X-TMCs) konnte gezeigt werden, wie sowohl die chemische Reaktivität (angegeben als kinetische Konstante k_2) als auch die 3D-Struktur verändert werden kann (exemplarische Röntgen-Strukturen sind für α -CN-TMC und E- α -p-OMe-C₆H₄-TMC gezeigt).



4 Entzündungshemmende Effekte der α -X-TMCs anhand der Stimulation des antientzündlichen Enzyms Hämoxxygenase-1 (HO-1) in RAW264.7-Zellen. [A] HO-1-Enzymaktivität; [B] HO-1-Protein-Expression (Westernblot); [C] Aktivierung des zur HO-1-Induktion notwendigen Transkriptionsfaktors Nrf2. Die Induktionsaktivität ist in Beziehung zum bekannten Nrf2-Stimulator Xanthohumol (XN*) gesetzt. Signifikanzniveaus: ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$.

Chalkone als ideale Modell-Enone zur Feinjustierung

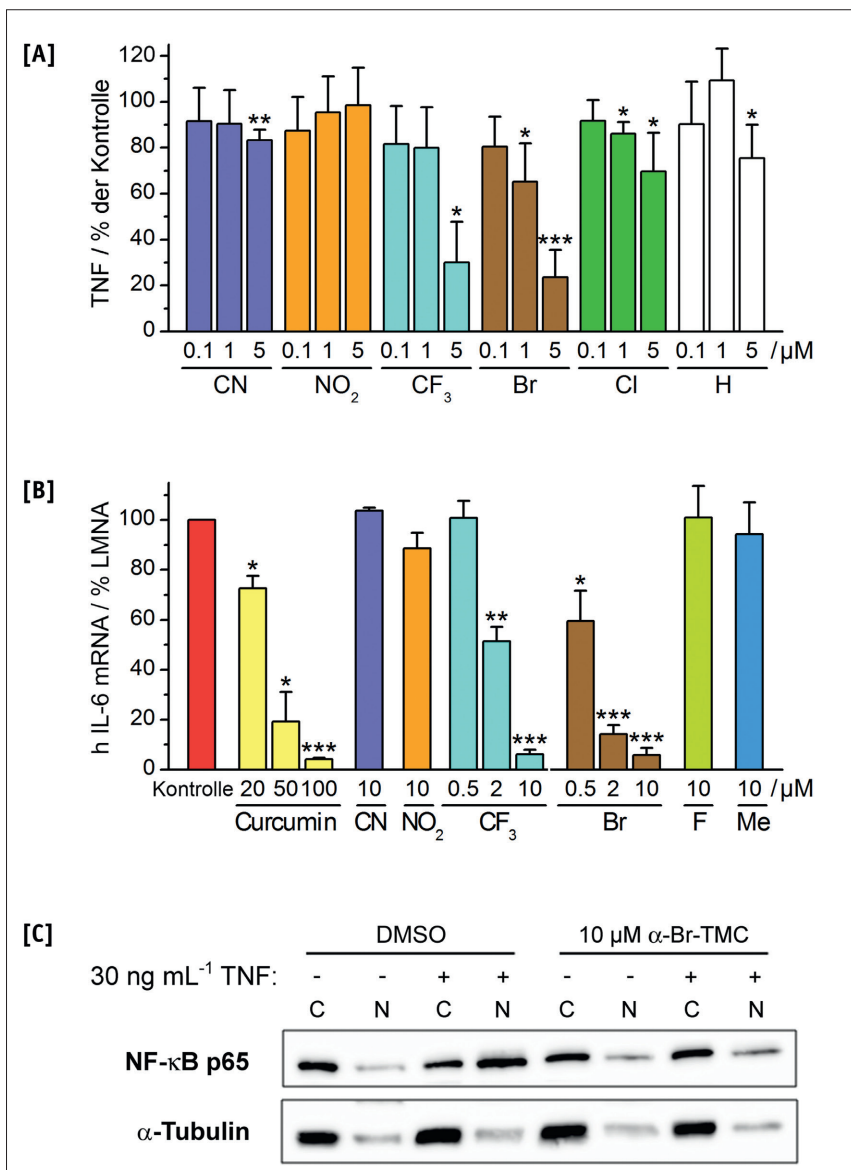
Chalkone (1,3-Diphenyl-prop-2-enone) sind Naturstoffe, die als biosynthetische Vorstufen der Flavonoide dienen und in vielen Pflanzen vorkommen. Beispiele sind das Xanthohumol [3 A] aus Hopfen, Isoliquiritigenin aus Süßholz und verschiedene Hydroxymethoxychalkone aus Tomate, Dahlie oder Weichsel. Beim Einsatz der α -X-2',3,4,4' Tetramethoxychalkone (α -X-TMCs) zur Untersuchung des Einflusses des Substituenten X auf die chemische Reaktivität und biologische Aktivität wurde gezielt eine vollständig methoxilierte Verbindung aus der Klasse der Polyphenole eingesetzt. Dies soll antioxidative Eigenschaften zurückdrängen, die bei polyphenolischen Verbindungen üblicherweise von freien Hydroxygruppen an den aromatischen Ringen abhängen. Solche antioxidativen Eigenschaften besitzen beispielsweise das Flavon Kaempferol, aber auch Xanthohumol [3 A]. Stattdessen soll die sog. Michael-Akzeptor-Aktivität, d. h. die Bildung von Thiol-Addukten mit Cystein-Resten von Proteinen, als Werkzeug zur Beeinflussung biologischer Aktivitäten dienen [3 B]. Diese Addukte stellen kovalente Alkylierungsprodukte der elektrophilen Enone mit den nukleophilen Thiol-Resten der Proteine dar. Die für eine therapeutische Anwendbarkeit notwendige Selektivität kann nun prinzipiell durch zweierlei Einflussgrößen erhalten werden:

(1) Die chemische Reaktivität des Elektrophils. So können nur bestimmte Stellen des Proteins, d. h. eine Auswahl nukleophiler Aminosäurereste wie Cystein-Sulphydryl-Gruppen, alkyliert werden.

(2) Einbettung oder Anbindung der Enon-Einheit in bzw. an eine strukturelle Einheit, die mit Hilfe von nicht-kovalenten Wechselwirkungen eine ausreichende Verweilzeit an bzw. nahe der gewünschten kovalenten Bindungsstelle ermöglicht.

Um die chemische Reaktivität des Elektrophils zu beeinflussen, hat die synthetische Organische Chemie unterschiedliche Möglichkeiten. Insgesamt gilt es, eine Balance zu finden, welche nicht nur eine schlichte Erhöhung der Reaktivität einschließt, sondern auch, wenn möglich, die Toxizität aufgrund ungewollter unselektiver Alkylierungsreaktionen niedrig hält. Dies stellt die größte Herausforderung bei der Entwicklung von Kovalentwirkstoffen dar, und war/ist auch der verbreitetste Kritikpunkt an diesem Konzept. Es ist also notwendig, ein sog. Reaktivitätsfenster zu identifizieren, in welchem die Substanz trotz ausreichender biologischer Aktivität (Potenz) selektiv reagiert. Man spricht in diesem Zusammenhang von einem ‚Reaktivitätsfenster‘, um anzudeuten, dass hier ein enger Bereich getroffen werden muss. In [3 C] sind beispielhaft vier Substanzen aus der Klasse der Chalkone gezeigt, die aus einer Gruppe von 14 Derivaten entnommen worden sind. Dabei konnten

Reaktivitätsunterschiede für die Adduktbildung des Modellthiols Cysteamin mit den α -X-TMCs (X = H, F, Cl, Br, I, CN, Me, p-NO₂-C₆H₄, Ph, p-OMe-C₆H₄, NO₂, CF₃, COOEt, COOH) von 1.6 Millionen gefunden werden, das bedeutet sechs Größenordnungen. Die Herstellung eines entsprechenden Doppelbindungsisomeres der Verbindung *E*- α -p-OMe-C₆H₄-TMC [3 C] konnte dieses Reaktivitätsfenster nochmals erweitern. Auf diese Weise haben wir Reaktivitätsunterschiede von 300 Millionen für eine kovalente Bindungsbildung unserer elektrophilen Chalkone mit entsprechend nukleophilen Cystein-Resten in der Zelle zur Verfügung. Diese in der Tat sehr großen Unterschiede in der chemischen Reaktivität (man vergleicht hier kinetische Konstanten k_2 mit Werten von 5750 – 0.0000196 M⁻¹s⁻¹, wobei große Werte hoher Elektrophilie entsprechen) erlauben allerdings noch keinerlei Vorhersagen zur biologischen Aktivität dieser Verbindungen. Außerdem ist es notwendig, den von uns entwickelten Thiol-Reaktivitätstest auf weitere Substanzklassen zu erweitern, was augenblicklich ein wichtiges Forschungsziel unserer Arbeitsgruppe darstellt. Bezüglich der biologischen Aktivitäten ist es unsere Zielsetzung, entzündungshemmende Substanzen zu erzeugen; aber auch eine Wirkung gegen Krebszellen, die Hemmung des programmierten Zelltods nach Zellschäden (Apoptose) sowie neuroprotektive Eigenschaften sind für uns von großem Interesse.



5 Entzündungshemmende Effekte der α -X-TMCs anhand der Inhibition der entzündungsfördernden Proteine [A] Tumornekrosefaktor (TNF) in primären humanen Makrophagen; [B] humanem Interleukin-6 (h IL-6) in HeLa-Zellen; [C] Hemmung der Aktivierung des zur TNF- und IL-6-Induktion notwendigen Transkriptionsfaktors NF- κ B in HeLa-Zellen. C, cytosolischer Extrakt; N, nuklearer Extrakt. Signifikanzniveaus: ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$.

Entzündungen – Segen und Fluch

Das Immunsystem des Menschen erfüllt seine Funktion, indem es auf das Eindringen körperfremder Substanzen oder Organismen bzw. Erreger oder Teile von diesen reagiert und diese Eindringlinge eliminiert, außerdem ist es an der Heilung nach Zellschädigungen wie Verletzungen beteiligt. Um das zu bewerkstelligen, ist ein sehr komplexes Zusammenspiel von Zellen und Biomolekülen wie Proteinen notwendig. Wichtige Zelltypen sind beispielsweise B-Zellen, die Antikörper erzeugen, und T-Zellen aus dem Blut, aber auch Makrophagen, die in Ge-

weben ihre Funktion ausführen. Diese Zellen ‚sprechen‘ miteinander, indem sie nach dem Erkennen eines Eindringlings Proteine herstellen und diese an benachbarte Zellen bzw. ins Blutplasma abgeben und so Gefahr signalisieren. Auf diese Weise werden komplexe Signalwege ausgelöst, mit deren Hilfe die Bekämpfung/Eliminierung des Eindringlings bzw. Reparatur eines Schadens erreicht wird. Klassische Zeichen der Entzündung sind: Fieber, Schmerz, Rötung, Schwellung und Funktionseinschränkung. Diese benötigten und gewünschten Reaktionen geraten bei Autoimmunerkrankungen aus dem Ruder, wobei der Körper eine

Immunreaktion gegen körpereigene Bestandteile auslöst. Aus diesem Grund werden Entzündungshemmer benötigt, die zum einen bei ernsthaften Infektionen zum Einsatz kommen, aber insbesondere auch bei Autoimmunerkrankungen wie chronischen entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), rheumatoide Arthritis und Multiple Sklerose.

Um nun Experimente bezüglich des entzündungshemmenden Verhaltens eines Moleküls durchführen zu können, muss als erster Schritt ein Konzentrationsbereich für die Testungen identifiziert werden, in welchem kein relevanter Einfluss auf die Zellviabilität – sprich die Lebensfähigkeit der Zellen – ausgeübt wird. Das heißt man testet auf entzündungshemmende Effekte bei Konzentrationen, die nicht toxisch für die Zellen sind. Wir verwenden beispielsweise eine Immunzelllinie aus der Maus, nämlich die Makrophagen RAW264.7, mit deren Hilfe Entzündungen gut simuliert werden können. Konzeptionell wird die Zelle durch Gabe eines Bakterienbestandteils, üblicherweise Bakterienzellwand oder eines immunstimulierenden Proteins, in Alarmbereitschaft versetzt, was sich durch eine Entzündungsreaktion manifestiert. Ziel der Entwicklung neuer Entzündungshemmer ist es nun, die Entzündungsreaktion abzumildern bzw. zu hemmen. Dazu ist es notwendig, Substanzen einzusetzen, die entweder entzündungsfördernde Proteine hemmen oder entzündungshemmende Proteine stimulieren.

Wir verfolgen beide Ansatzpunkte anhand unterschiedlicher Proteinaktivitätstests, aber auch eine Quantifizierung der Proteinbiosynthese sowie der Genexpression sind gängige Methoden, die wir zum Nachweis der Entzündungshemmung einsetzen.

Entzündungshemmung durch Reaktivitätsmodulierung

Die von uns identifizierten Elektrophil-Reaktivitäten der α -X-TMCs zeigten einen starken Zusammenhang mit ihrer Toxizität, wobei die beiden sehr starken Elektrophile nicht toxisch sind, was einer zellulären Abfangreaktion für zu starke Elektrophile zugeschrieben werden kann. Gleichzeitig zeigen die chemisch

mittleren bis starken Elektrophile eine entsprechend potente Entzündungshemmung, wohingegen die schwachen Elektrophile inaktiv sind. Konkret konnten wir dies an der Untersuchung des antientzündlichen Proteins Hämoxxygenase-1 (HO-1) zeigen. Ein entzündungshemmender Effekt wird hier durch eine Erhöhung der Enzymaktivität dieses Proteins erreicht, was mittels einer Stimulierung der Genexpression und damit Proteinexpression erfolgt. In [4 A] ist die Enzymaktivität für HO-1 nach Stimulation der Mausemakrophagen RAW264.7 mit den chemisch reaktivsten α -X-TMCs gezeigt. Analog zum Fehlen der Toxizität der reaktivsten Verbindungen, α -CN-TMC und α -NO₂-TMC, konnte keine signifikante Stimulation der HO-1-Aktivität nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigen die in der Reaktivität nachfolgenden Verbindungen mit X = CF₃, Br und Cl sehr gute Aktivität. Dies ent-

spricht auch der Proteinexpression [4 B] und der Aktivierung des für die Genexpression benötigten Proteins Nrf2 [4 C].

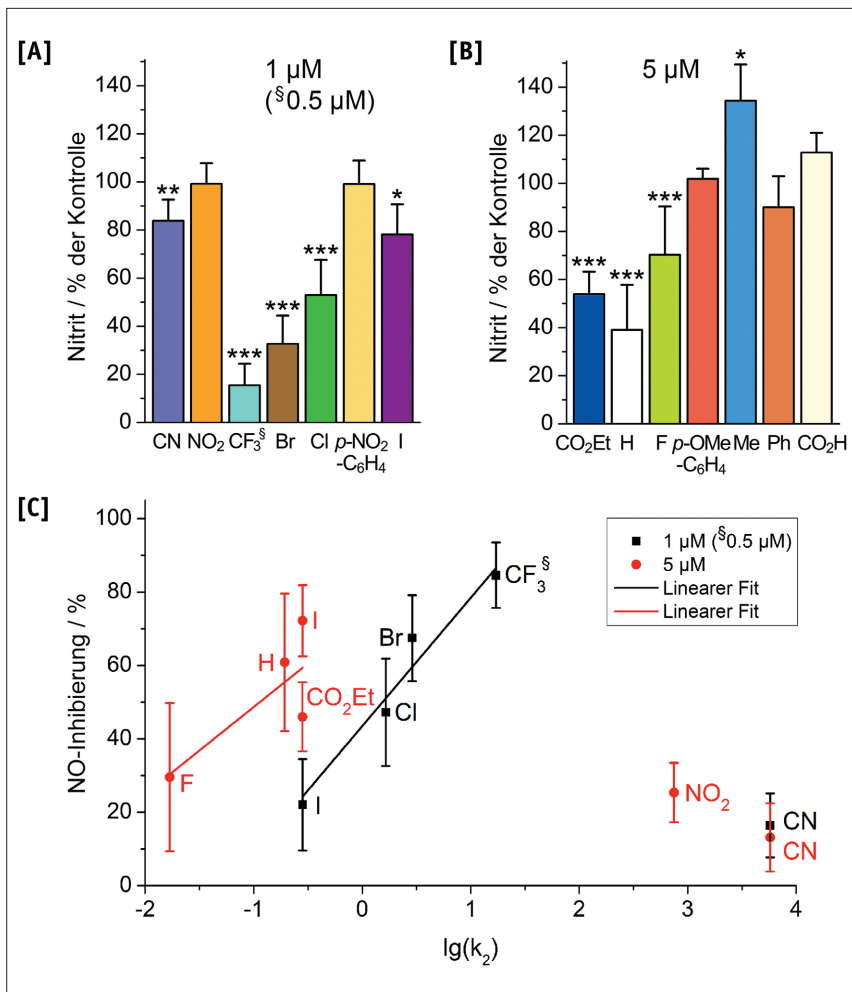
In weiteren Studien haben wir die entsprechend umgekehrte Zielsetzung verfolgt. Im Gegensatz zu einer Verbesserung der Entzündung durch Erzeugung antientzündlich wirkender Produkte bzw. Herabsetzung der Menge entzündungsfördernder Substanzen mittels des Enzyms HO-1 kann eine Entzündungshemmung auch durch eine Inhibierung der Expression entzündungsfördernder Proteine erreicht werden. In [5 A, B] ist die Inhibierung zweier entzündungsfördernder Proteine dargestellt. Im Teil A wurde in humanen Makrophagen aus Spenderblut der u. a. für die Gefährlichkeit der Sepsis verantwortliche Entzündungsmediator Tumornekrosefaktor (TNF) untersucht. Im Teil B wurde die Genexpression eines weiteren Entzündungsproteins des Menschen verfolgt –

konkret humanes Interleukin-6 (h IL-6). In beiden Fällen konnte wiederum bestätigt werden, dass nicht die chemisch besten Elektrophile die beste biologische Aktivität besitzen, sondern Moleküle mit mittlerer Reaktivität. Schwache Elektrophile waren hingegen inaktiv. Als Positivkontrolle diente in einem Fall Curcumin, welches ein bekannter NF- κ B-Inhibitor ist. Im Teil C wird der Nachweis geführt, dass die Aktivierung des für die Genexpression von TNF und IL-6 notwendigen Transkriptionsfaktors NF- κ B durch die Substanz α -Br-TMC verhindert wird. Damit ist der Einfluss auf genetischer Ebene direkt nachgewiesen.

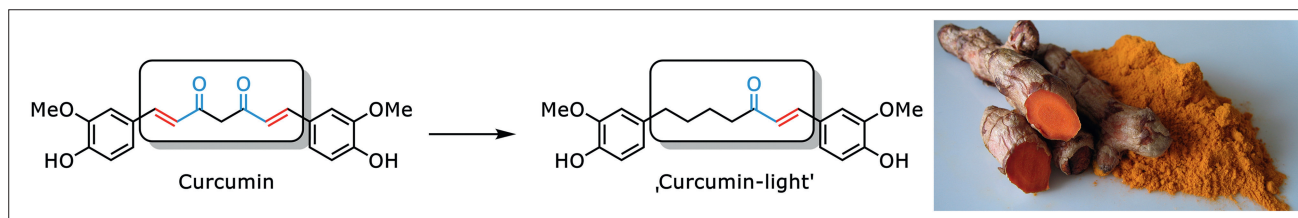
Antientzündliche Effekte können auch anhand des ebenfalls NF- κ B-abhängigen, entzündungsfördernden Proteins induzierbare Stickstoffmonoxid(NO)-Synthase (iNOS) untersucht werden [6]. Hier wurde in RAW264.7-Zellen die Inhibierung der NO-Produktion anhand des im Medium auftretenden Nitrits (NO₂, ein Oxidationsprodukt von NO) quantifiziert. Bei niedrigen Konzentrationen zeigten dieselben Verbindungen wie zuvor gute bis sehr gute Aktivitäten, bei höheren Konzentrationen wiesen auch einige der weniger elektrophilen Substanzen biologische Aktivität auf.

In [6 C] ist der Zusammenhang der chemischen Reaktivität gegen die biologische Aktivität anhand der NO-Inhibierung aufgetragen, wobei eindeutig ein starker Zusammenhang besteht. Allerdings muss sich die Reaktivität in einem gewissen Rahmen bewegen und Sekundärinteraktionen von X, wie sie in X = COOEt und *p*-NO₂-C₆H₄ auftreten können, müssen ausgeschlossen sein. Das heißt mit anderen Worten, dass die durch das Tetramethoxychalkon-Gerüst vorgegebenen Wechselwirkungen im Kontext einer Bindungsstelle durch diese zusätzlichen wechselwirkenden Reste ergänzt bzw. signifikant verändert werden, was sicherlich auch teilweise von der 3D-Struktur des gesamten Moleküls abhängt.

Von entscheidender Bedeutung ist die Tatsache, dass sich durch ein gezieltes Feineinstellen das erhoffte bzw. geforderte Reaktivitätsfenster erzeugen ließ, was direkt in einen antientzündlichen Effekt umgesetzt werden konnte. Momentan arbeiten wir an weiteren Gerüsten, die wir durch das Einführen einer Reaktivseinheit als mögliche Entzündungshemmer entwickeln wollen.



6 Entzündungshemmende Effekte der α -X-TMCs anhand der Inhibierung des entzündungsfördernden Proteins induzierbare Stickstoffmonoxid(NO)-Synthase (iNOS) in RAW264.7-Zellen. [A], [B] Hemmung der Nitrit/NO-Produktion; [C] Struktur-Aktivitäts-Beziehung auf Basis der chemischen Reaktivität (k_2) vs. NO-Inhibierung. Signifikanzniveaus: ***, $p < 0.001$; **, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$.



7 Curcumin, dessen Stabilität und Bioverfügbarkeit für therapeutische Zwecke ungeeignet ist, konnte durch synthetische Modifikation ohne Aktivitätsverlust in ein Monoenon-Derivat überführt werden.

Curcumin aus Curry als vielfältig-gesundheitsfördernde Substanz – warum nicht ‚Curcumin-light‘?

Die Verbindung Curcumin aus der Pflanze *Curcuma longa* ist der Hauptbestandteil des gelben Currypulvers. Wie zuvor kurz angesprochen, ist Curcumin eine entzündungshemmende Substanz, da sie es vermag, Nrf2 zu aktivieren und NF-κB zu inhibieren. Weil es sich bei Curcumin um ein Molekül handelt, welches zwei konjugierte Enon-Einheiten besitzt, war es unser Bestreben, den Einfluss chemischer Modifikationen auf die biologische Aktivität zu testen. Aus diesem Grund haben wir eine Reihe synthetischer Analoga hergestellt. Bei der Untersuchung neuroprotektiver Eigenschaften zeigte sich, dass die formale Entfernung der zweiten Enon-Einheit ungünstige Eigenschaften des Curcumins eliminieren konnte, ohne die neuroprotektive Aktivität zu verlieren. Diese Substanz, welche im Gegensatz zu Curcumin hohe Plasmastabilität und Bioverfügbarkeit aufweist, kann man als Monoenon-Derivat oder ‚Curcumin-light‘ bezeichnen [7].

Bei diesen Experimenten zeigte sich ebenfalls, dass das Gerüst an sich, d. h.

in diesem Fall die Substituenten am aromatischen Ring, entscheidend für die Aktivität sind. Auch hier ist die Enon-Einheit für sich genommen nicht ausreichend, um die besten Aktivitäten zu erzielen.

Die zentrale Bedeutung des Wechselspiels – und damit der Verknüpfung – von kovalent und nicht-kovalent bindenden Einheiten ließ sich demonstrieren. Die Feineinstellung und Methoden zur ihrer Charakterisierung sind entscheidend, um definierte Reaktiveinheiten zu erhalten. Diese können dann gezielt in Molekülarchitekturen eingebaut werden, um in Kombination mit dem nicht-kovalent-wechselwirkenden Gerüst ihre Wirkung zu entfalten. Auf diese Weise kann das alte Paradigma, dass Kovalent-Inhibitoren für die Wirkstoffentwicklung ungeeignet sind, hoffentlich bald ausgemustert werden.

Literatur

Robert Mah, Jason R. Thomas, Cynthia M. Shafer, Drug discovery considerations in the development of covalent inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 24 (2014), S. 33–39.

Sabine Amslinger, The Tunable Functionality of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds Enables Their Differential Application in Biological Systems. *ChemMedChem* 5 (2010), S. 351–356.

Sabine Amslinger, Nafisah Al-Rifai, Katrin Winter, Kilian Wörmann, Rebekka Scholz, Paul Baumeister, Martin Wild, Reactivity assessment of chalcones by a kinetic thiol assay. *Organic and Biomolecular Chemistry* 11 (2013), S. 549–554. Nafisah Al-Rifai, Hannelore Rucker, Sabine Amslinger, Opening or Closing the Lock? When Reactivity Is the Key to Biological Activity. *Chemistry – A European Journal* 19 (2013), S. 15384–15395.

Hannelore Rucker, Nafisah Al-Rifai, Anne Rasclé, Eva Gottfried, Lidia Brodziak-Jaroszk, Clarissa Gerhäuser, Tobias P. Dick, Sabine Amslinger, Enhancing the anti-inflammatory activity of chalcones by tuning the Michael acceptor site. *Organic and Biomolecular Chemistry* 13 (2015), S. 3040–3047.

Petr Jirásek, Sabine Amslinger, Jörg Heilmann, Synthesis of Natural and Non-natural Curcuminoids and Their Neuroprotective Activity against Glutamate-Induced Oxidative Stress in HT-22 Cells. *Journal of Natural Products* 77 (2014), S. 2206–2217.



© Referat Kommunikation UR

PD Dr. rer. nat. Sabine Amslinger, geb. 1974 in Weißenburg i. Bay. Chemiestudium in Erlangen und Lawrence, Kansas, USA. 2003 Promotion an der Technischen Universität München, seit 2006 Gruppenleiterin am Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg. 2014 Habilitation im Fach Organische Chemie; seitdem Privatdozentin an der Universität Regensburg. Im November 2014 wurden die Arbeiten zur Habilitation mit dem Regensburger Preis für Frauen in Wissenschaft und Kunst ausgezeichnet.

Forschungsgebiete: Entwicklung von Kovalent-Inhibitoren zur Bekämpfung von Entzündungen und Krebs mittels Feinjustierung der chemischen Reaktivität und biologischen Aktivität; Untersuchung antiapoptotischer und neuroprotektiver Substanzen im Kontext von Naturstoffen.