

**Synthese und biologische Evaluierung von  
Naturstoffanaloga hinsichtlich ihrer Inhibierung von  
Cholinesterasen**

**DISSERTATION**

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II

Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität

Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Frau Anne Loesche

geb. am 21.09.1989 in Stendal

Gutachter: Prof. Dr. R. Csuk (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)  
Prof. Dr. Hans-Peter Deigner (Hochschule Furtwangen)

Datum der Verteidigung: 20.11.2019

## **Vorwort**

Die vorliegende Dissertation wurde am Institut für Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Bereich Organische Chemie im Arbeitskreis von Prof. Dr. René Csuk angefertigt. Die Promotionsschrift wurde in kumulativer Form verfasst. Die Forschungsergebnisse sind bereits in internationalen „peer-reviewed“ Fachzeitschriften erschienen. Alle Ergebnisse und experimentellen Daten können diesen Publikationen entnommen werden.

**Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungsverzeichnis .....	III
1. Einleitung .....	1
1.1 Morbus Alzheimer – die häufigste Form der Demenz.....	2
1.1.1 Pathophysiologie der Alzheimerkrankheit .....	5
1.1.2 Risikofaktoren für die Entwicklung von Alzheimer.....	6
1.1.3 Diagnosekriterien in der Forschung .....	7
1.2 Therapiemöglichkeiten der Alzheimer-Demenz.....	9
1.2.1 Primärprävention .....	9
1.2.2 Sekundärprävention .....	10
1.2.3 Tertiärprävention .....	12
1.3 Cholinesterasen und reversible Hemmstoffe .....	13
1.3.1 Cholinesterase-Inhibitoren.....	16
2. Zielstellung .....	18
3. Zusammenfassung der Ergebnisse.....	19
3.1 Picloxydin-Derivate – mehr als bisbiguanide Antiseptika .....	19
3.2 Anti-Acetylcholinesterase-Aktivität von <i>trans</i> -2-Alkensäuren .....	21
3.3 Polyzyklische Terpen-carbonsäureamide als selektive Inhibitoren von Butyrylcholinesterase.....	23
4. Zusammenfassung der Dissertation und Ausblick .....	27
5. Literaturverzeichnis .....	30
6. Anhang .....	37
Publikation P1 .....	38
Publikation P2 .....	39
Publikation P3 .....	40
Publikation P4 .....	41

Danksagung .....	VI
Lebenslauf .....	VII
Publikationsliste .....	VIII
Selbstständigkeitserklärung .....	XIII

**Abkürzungsverzeichnis**

A4	Anti-Amyloid Treatment in Asymptomatic Alzheimer's (Studie)
A $\beta$ <sub>n</sub>	Amyloid-beta Peptid (n Anzahl der Aminosäuren)
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AChEI	Acetylcholinesterase-Inhibitor
AD	Alzheimer-Krankheit (engl. Alzheimer's disease)
ADRDA	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
API-ADAD	Alzheimer's Prevention Initiative for Autosomal Dominant Alzheimer's Disease (Studie)
APP	Amyloid-Precursor-Protein
BChE	Butyrylcholinesterase
BChEI	Butyrylcholinesterase-Inhibitor
BS	Betulinsäure
CAT	Cholin-Acetyltransferase
ChE	Cholinesterase
ChEI	Cholinesterase-Inhibitor
DIAN-TU	Dominantly Inherited Alzheimer Network Trials Unit (Studie)
EC	Enzyme Commission Number
<i>et al.</i>	und andere
GH	Galantamin Hydrobromid
Glu <sup>n</sup>	Glutaminsäure (n Nummerierung Aminosäuresequenz)
His <sup>n</sup>	Histidin (n Nummerierung Aminosäuresequenz)

---

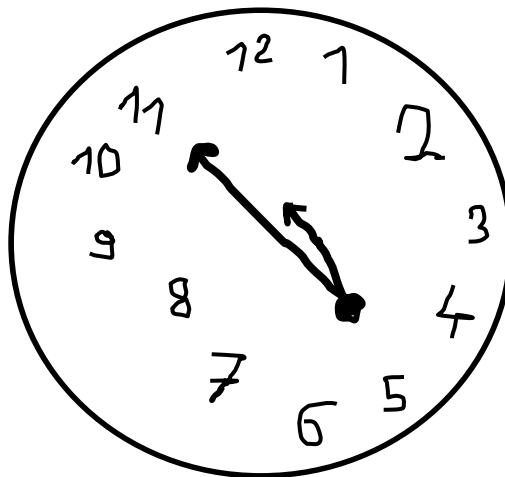
ICD	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (engl. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems)
$K_i$	Inhibierungskonstante (kompetitive Hemmung)
$K_i'$	Inhibierungskonstante (unkompetitive Hemmung)
MCI	leichte kognitive Störung (engl. mild cognitive impairment)
MD	gemischte Demenz (engl. mixed dementia)
MRT	Magnetresonanztomografie
NFTs	neurofibrilläre Bündel (engl. neurofibrillary tangles)
NIA-AA	National Institute on Aging-Alzheimer's Association
NIH	National Institutes of Health
NINCDS	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke
NMDA	<i>N</i> -Methyl-D-Aspartat
MS	Maslinsäure
OS	Oleanolsäure
P	Publikation
PAR	populationsbezogenes attributables Risiko
PAS	periphere anionische Stelle
PD	Picloxydin
PDD	primäre degenerative Demenz
PET	Positronenemissionstomographie
Phe <sup>n</sup>	Phenylalanin ( <sup>n</sup> Nummerierung Aminosäuresequenz)
PHFs	gepaarte helikale Tau-Filamente (engl. paired helical filaments)

PPAR	Peroxisomen-Proliferator-aktivierter Rezeptor
R	Rest
Ser <sup>n</sup>	Serin ( <sup>n</sup> Nummerierung Aminosäuresequenz)
T	Triterpengrundgerüst
Trp <sup>n</sup>	Tryptophan ( <sup>n</sup> Nummerierung Aminosäuresequenz)
US	Ursolsäure
VaD	vaskuläre Demenz

## 1. Einleitung

„Wie war doch gleich Ihr Name und woher kennen wir uns eigentlich?“ Das menschliche Denkorgan kann vergessen. Manchmal ist das auch gut aber wenn es um schöne Erlebnisse oder wichtige Fakten geht, möchten wir uns auf unser Gehirn verlassen können. Die Vergesslichkeit kann viele Ursachen haben und muss nicht zwangsläufig das Resultat einer schlimmen Erkrankung sein. Neben Müdigkeit und Stress können auch Bewegungsmangel, Flüssigkeitsdefizit und die Nebenwirkungen von Medikamenten sowie Drogen die Ursache für die Gedächtnisschwäche sein. Abgesehen von den eben genannten Störquellen, können aber auch Demenzerkrankungen den Grund für das Vergessen darstellen.<sup>[1-5]</sup>

Das demographische Altern ist ein globaler Entwicklungsprozess, der aus einer verbesserten Gesundheitsfürsorge resultiert. Da die Demenz eine Erkrankung ist, die hauptsächlich ältere Menschen betrifft, steigt die Zahl der Erkrankungen weltweit jedes Jahr dramatisch an. Laut dem World Alzheimer Report 2018 beträgt die Anzahl der Erkrankten derzeit etwa 50 Millionen Menschen und soll sich bis 2050 auf schätzungsweise 152 Millionen Demenzerkrankte verdreifachen. Die Uhr tickt – weltweit erkrankt etwa alle 3 Sekunden ein Mensch an dieser Volkskrankheit.<sup>[6]</sup>



**Abbildung 1** Ergebnis eines Clock-Drawing Tests<sup>[7]</sup> nach SHULMAN *et al.*<sup>[8]</sup> als Schnell-Screening für die Erkennung dementieller Erkrankungen; Aufgabe: 5 vor 12 Uhr in einen leeren Kreis einzeichnen.

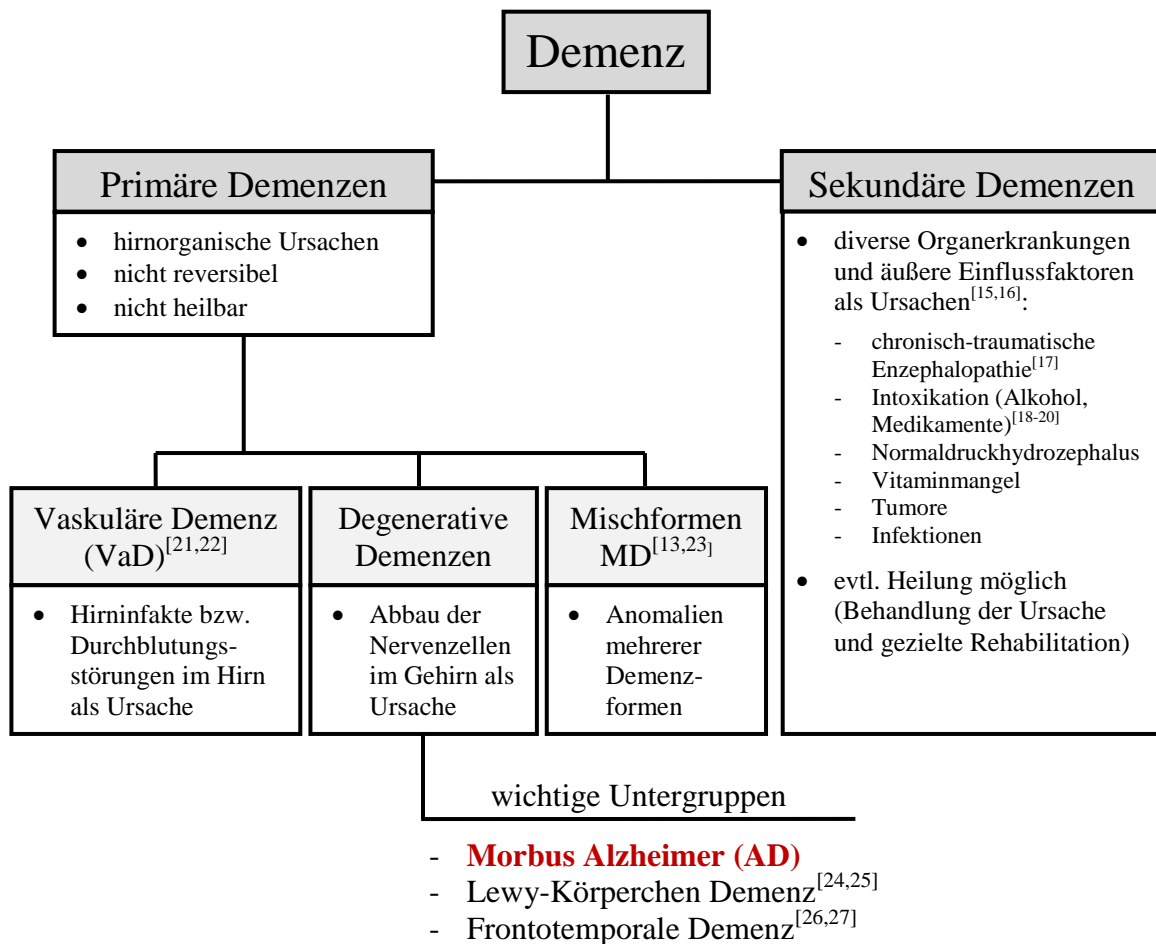


## 1.1 Morbus Alzheimer – die häufigste Form der Demenz

Entgegen der weitläufigen Meinung handelt es sich bei Demenz nicht um eine spezifische Erkrankung sondern um ein Syndrom, welches als Folge einer meist chronischen oder progressiven Hirnkrankheit entsteht. Laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) geht eine Demenz mit der Störung vieler höherer kortikaler Funktionen (u. a. Denken, Gedächtnis, Orientierung und Sprache) einher. Das Bewusstsein der erkrankten Personen ist dabei nicht getrübt. Gewöhnlich werden die kognitiven Beeinträchtigungen von Veränderungen der emotionalen Kontrolle, des sozialen Verhaltens oder der Motivation begleitet, gelegentlich können diese Veränderungen aber auch schon vorher auftreten. Für eine sichere klinische Demenzdiagnose müssen die oben genannten Symptome wenigstens 6 Monate offensichtlich bestanden haben.<sup>[9]</sup>

Etwa 5 – 7 % der Menschen im Alter von  $\geq 60$  Jahren sind von einer Demenz betroffen.<sup>[10,11]</sup> Die Prävalenz von Demenz nimmt mit dem Alter kontinuierlich zu.<sup>[10]</sup> Studien haben gezeigt, dass die leichte kognitive Störung (MCI) häufig ein Vorstadium für eine Demenzerkrankung darstellt.<sup>[12]</sup>

Es gibt viele verschiedene Demenzformen. Diese können aufgrund ihrer Ursachen in primäre und sekundäre Demenzen unterteilt werden. In Abbildung 2 sind die häufigsten Demenzformen in Abhängigkeit von ihrer Ursache dargestellt. Die Alzheimer-Krankheit (AD), die vaskuläre Demenz (VaD) und die gemischte Demenz (MD) sind die häufigsten Arten der Demenz.<sup>[13]</sup> 1962 wurde erstmals die Verbindung von vaskulären und generativen Läsionen in dem gleichen dementen Patienten beschrieben. DELAY *et al.* nannten diese Entdeckung senile gemischte Demenz. In den meisten epidemiologischen Studien wurde MD als Koexistenz von Alzheimer und vaskulärer Demenz definiert.<sup>[14]</sup>



**Abbildung 2** Darstellung einiger Demenzformen und ihrer Ursachen.

Morbus Alzheimer ist mit geschätzten 60 – 80 % die häufigste Form unter den Demenzerkrankungen in den USA.<sup>[28,29]</sup> Die Alzheimer's Association geht davon aus, dass 81 % der Alzheimererkrankten 75 Jahre oder älter sind.<sup>[29]</sup> Die Krankheit wurde 1906 erstmals vom deutschen Psychiater und Neuropathologen Dr. Alois Alzheimer beschrieben. ALZHEIMER entdeckte und beschrieb in „Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde“ die histologischen Veränderungen, später als Plaques und neurofibrilläre Bündel (NFTs) bekannt, im Hirn der 55-jährigen Patientin Auguste Deter.<sup>[30,31]</sup>

In der Medizin werden Krankheiten in Diagnosesystemen klassifiziert. Ärztliche Diagnosen erfolgen in Deutschland heutzutage normalerweise über die „Internationale Klassifikation der Krankheiten“ (ICD), einem international angewandten Klassifikationssystem der WHO. Aktuell gilt die zehnte Version, welche die Diagnosen nach Kapiteln unterteilt. Laut ICD-10 gehört die Demenz vom Alzheimer Typ in die Diagnosegruppe F00 (Kapitel V: Psychische und Verhaltensstörungen, Gruppe F00 – F09: Organische, einschließlich symptomatischer psychischer Störungen). Bei der Diagnose einer Demenzerkrankung (F00 – F03) werden die Grunderkrankungen, die zu

der Demenz geführt haben, zusätzlich mit angegeben (Kapitel VI: Krankheiten des Nervensystems, G30: Alzheimerkrankheit). Laut ICD-10 ist die Alzheimer-Krankheit (F00/G30) als eine primär degenerative zerebrale Krankheit mit unbekannter Ätiologie und charakteristischen neuropathologischen und neurochemischen Merkmalen definiert. Sie beginnt meist schleichend und entwickelt sich langsam aber stetig über einen Zeitraum von mehreren Jahren.<sup>[9]</sup>

Die Krankheit verläuft fortschreitend. REISBERG *et al.* haben eine siebenstufige Skala (Global Deterioratio Scale) eingeführt, die beschreibt, wie sich die Fähigkeiten eines Patienten mit primärer degenerativer Demenz (PDD) während des Krankheitsverlaufes ändern.<sup>[32]</sup>

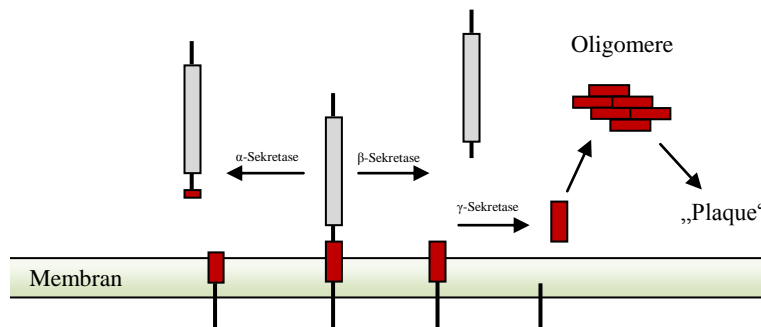
**Tabelle 1** Skala für die Beurteilung von PDD Patienten nach REISBERG *et al.*<sup>[32]</sup>.

Stufe	kognitiver Rückgang	Auswahl klinischer Merkmale
1	kein	normales Verhalten, keine Gedächtnisprobleme
2	sehr mild	erste Gedächtnisdefizite, Patient selbst merkt die Veränderung
3	mild	geringe kognitive Leistungseinbußen (MCI), Außenstehende bemerken die Veränderungen
4	moderat	im klinischen Interview zeigen sich deutliche Defizite (u. a. Zurückrechnen, Erinnerungsprobleme an eigene Lebensgeschichte), keine komplexen Leistungen mehr möglich, bekannte Orte können bereist werden
5	mäßig stark	<b>Phase der frühen Demenz</b> , Patienten können ohne Hilfe nicht mehr überleben, oft keine Orientierung in Zeit und Raum, im Interview keine Erinnerung an relevante Dinge des Lebens (z. B. Telefonnummer, Adresse)
6	stark	<b>Phase der mittleren Demenz</b> , Verlust des Kurzzeitgedächtnisses, nur vages Wissen über vergangenes Leben, evtl. Schwierigkeiten beim Zurückzählen von 10, Patienten benötigen erhebliche Unterstützung (evtl. Inkontinenz), Wandel der Persönlichkeit, meist noch Erinnerung an den eigenen Namen
7	sehr stark	<b>Phase der späten Demenz</b> , Patient vollständig auf Hilfe angewiesen (Toilettengang, Mahlzeiten), Inkontinenz, Verlust grundlegender psychomotorischer Fähigkeiten (z.B. laufen), verbalen Fähigkeiten gehen verloren

Die meisten Fälle von AD treten sporadisch auf, weniger als 2 % der Patienten entwickeln die Krankheit, als Folge von autosomal dominanten Genmutationen, in einem früheren Lebensstadium (< 65). Diese Mutationen befinden sich in drei DNA-Abschnitten: Im Amyloid-Precursor-Protein Gen sowie im Gen für Präsenilin 1 und Präsenilin 2.<sup>[33]</sup>

### 1.1.1 Pathophysiologie der Alzheimerkrankheit

Morbus Alzheimer ist die häufigste Erkrankung des Alterns. Zahlreiche Wissenschaftler und Mediziner haben daher ihre Aufmerksamkeit der AD-Forschung gewidmet. Die ersten definierten histopathologischen Merkmale von Alzheimer waren Amyloidplaques im extrazellulären Raum und intrazelluläre NFTs.<sup>[30,34]</sup> Anfang des 20. Jahrhunderts beobachtete der polnische Neuropathologe T. Simchowicz in seinen Hirnstudien charakteristische pathologische Veränderungen bei Patienten mit seniler Demenz. Diesen Ablagerungen gab er den Namen „Senile Plaques“.<sup>[35]</sup> Es gibt frühe Berichte über den Zusammenhang zwischen einer bestehenden Demenz und der Intensität der Plaque-Bildung.<sup>[36,37]</sup> In den achtziger Jahren konzentrierten sich Wissenschaftler auf die Isolierung des Amyloids. 1984 reinigten GLENNER und WONG  $\beta$ -Faltblatt Fibrillen aus den Hirnhäuten von Patienten mit zerebraler Amyloidangiopathie und isolierten ein bis *dato* unbekanntes Protein (Amyloid- $\beta$ -Protein) bestehend aus ca. 40 Aminosäuren (4,2 kDa).<sup>[38]</sup> MASTERS *et al.* charakterisierten das gleiche Protein, isoliert aus Großhirnrinden, kurz danach als Untereinheit von Amyloid-Plaque-Kernen.<sup>[39]</sup> 1987 gelang die Identifikation des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) als molekularem Vorläufer des Amyloid- $\beta$ -Proteins.<sup>[40,41]</sup> Eine schrittweise enzymatische Spaltung des APP (siehe Abbildung 3) mittels  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretasen führt teilweise zur Bildung des Amyloid- $\beta$ -Proteins (A $\beta$ ).<sup>[42]</sup>



**Abbildung 3** Proteolyse von APP auf zwei Wegen: Der nicht-amyloidogene Weg (links) und der amyloidogene Weg (rechts). Der amyloidogene Weg führt zur Bildung von A $\beta$ ; Vereinfachte Abbildung nach LAFERLA *et al.*<sup>[42]</sup>.

Das Amyloid- $\beta$ -Protein neigt zur Aggregation. Das kleine Peptid (ca. 4 kDa) bildet u. a. lange, unlösliche Amyloidfibrillen, die sich zu kugelförmigen Ablagerungen (senile Plaques) akkumulieren.<sup>[43]</sup>

Etwa zur gleichen Zeit (1986) wurde das Mikrotubuli-assoziierte Protein Tau als Hauptbestandteil der gepaarten helikalen Tau-Filamente (PHFs) identifiziert.<sup>[44]</sup> Es zeigte sich, dass das Tau-Protein in AD-Gehirnen abnormal phosphoryliert ist.<sup>[45]</sup> PHFs sammeln sich nicht-membrangebunden zu großen Aggregaten im Zytoplasma von Nervenzellen an. Diese Akkumulationen werden als neurofibrilläre Bündel bezeichnet und repräsentieren das zweite histopathologische Merkmal von Morbus Alzheimer.<sup>[44]</sup> Auf Grundlage dieser Erkenntnisse wurde die geläufige „Amyloid-Hypothese“<sup>[46–48]</sup> sowie die „Tau-Hypothese“<sup>[49]</sup> entwickelt. Die A $\beta$ -Hypothese versucht den Zusammenhang zwischen den histopathologischen Läsionen, dem Zelltod im Hirn und dem Verlust kognitiven Fähigkeiten zu erklären. Die Hypothese ist umstritten.<sup>[49]</sup> Alle Anti-Amyloid-Wirkstoffe haben bisher in klinischen Studien versagt.

Eine weitere postulierte Hypothese nimmt an, dass der kognitive Verfall durch die Dysfunktion bestimmter cholinergischer Nervenzellen und der damit verbundenen Abnahme des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) begründet werden kann.<sup>[50,51]</sup> Die „Cholinerge Hypothese der Alzheimer-Krankheit“ beruht auf belegten präsynaptischen Defiziten im Hirn von AD-Patienten und Studien zur Rolle von ACh bei menschlichem und tierischen Verhalten.<sup>[52]</sup> 75 % der heute zugelassenen Anti-AD Medikamente sind Cholinesterase-Inhibitoren (siehe Abschnitt 1.3.1) und basieren somit weitestgehend auf dieser Acetylcholin-Mangel-Theorie. Als möglicher Treiber der Neurodegeneration ist außerdem u. a. die Neuroinflammation zu nennen.<sup>[53]</sup>

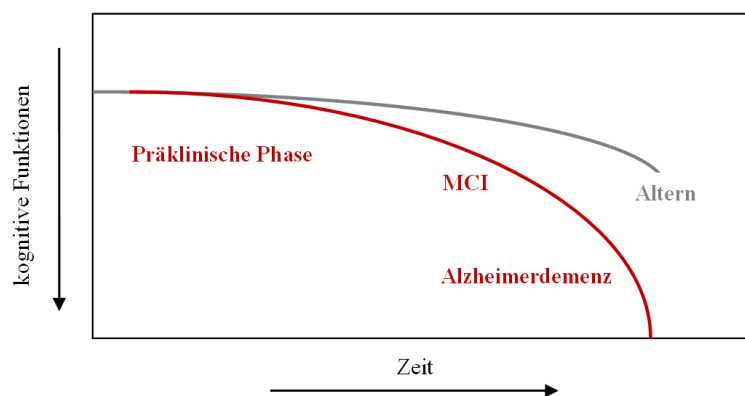
### **1.1.2 Risikofaktoren für die Entwicklung von Alzheimer**

Neben dem Alter und genetischen Faktoren<sup>[54,55]</sup> ist die erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine Erkrankung meist entweder mit kardiovaskulären Risikofaktoren oder ungünstigen Lebensgewohnheiten verbunden. Die Auswertung der prospektiven Rotterdam-Studie führt zu der Annahme, dass ein erheblicher Teil der Demenzfälle verhindert werden könnte, wenn man diese vermeidbaren Einflussfaktoren eliminieren würde.<sup>[56]</sup> Laut den National Institutes of Health (NIH) könnten vor allem Diabetes mellitus, Depressionen, Rauchen und schlechte Ernährung sowie geistige und körperliche Inaktivität Gründe für ein erhöhtes Risiko an Alzheimer zu erkranken sein.<sup>[57]</sup> Etwas später konnte diese Liste der Risikofaktoren noch um die Punkte Bluthochdruck und Fettleibigkeit erweitert werden.<sup>[58]</sup> Der Zusammenhang zwischen vaskulären Risikofaktoren im mittleren Lebensalter und einer später auftretenden Demenz wurde schon früh erkannt<sup>[59,60]</sup>, doch ob diese Faktoren auch direkt zu einer Ablagerung von Amyloid im Gehirn beitragen,

war weniger gut erforscht. Erst eine 2017 durch GOTTESMAN *et al.* durchgeführte Kohortenstudie konnte diesen Zusammenhang aufzeigen.<sup>[61]</sup>

### 1.1.3 Diagnosekriterien in der Forschung

Die ersten zur Diagnose vorgeschlagenen Kriterien wurden 1984 von dem National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke (NINCDS) und der Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (ADRDA, heute Alzheimer's Association) entwickelt und konzentrierten sich ausschließlich auf klinische Symptome, wie z. B. die progressive Verschlechterung des Gedächtnisses.<sup>[62]</sup> Aufbauend auf diesen NINCDS-ADRDA-Richtlinien hat das National Institute on Aging-Alzheimer's Association (NIA-AA) neue Diagnosekriterien festgelegt. Diese NIA-AA-Kriterien wurden 2011 publiziert und beschäftigen sich neben den AD-Stadien und der Alzheimerdiagnose auch mit der Krankheitsbestimmung von leichten kognitiven Störungen (MCI aufgrund von AD). Die neuen NIA-AA-Diagnosekriterien weisen darauf hin, dass der pathophysiologische Prozess der Alzheimerkrankheit schon Jahre vor den Anzeichen klinischer Symptome beginnt. Für die AD-Diagnose bei asymptomatischen Patienten wird daher die Verwendung von Biomarkern vorgeschlagen.<sup>[63–65]</sup>



**Abbildung 4** Hypothetisches Modell des pathologisch-klinischen Kontinuums von AD (rot) im Vergleich mit der normaler Alterung (grau); Abbildung nach SPERLING *et al.*<sup>[63]</sup>.

Im Allgemeinen kann man sagen, dass sich die NIA-AA-Kriterien in zwei wichtigen Punkten von den ursprünglichen Diagnosekriterien unterscheiden: Während die Kriterien von 1984 ausschließlich die AD-Diagnose abhandeln, findet in den 2011 veröffentlichten Publikationen eine Einteilung des Krankheitsverlaufes (siehe Abbildung 4) statt. Das erste Stadium (präklinische AD), welches auftritt bevor Veränderungen in der Wahrnehmung erkennbar werden. Das zweite Stadium (MCI

aufgrund von AD) tritt ein, wenn erste kognitive Störungen eintreten, diese den Alltag aber nicht erheblich behindern. Die tatsächliche Alzheimerdemenz stellt das dritte Stadium dar. Des Weiteren erfolgte die Aufnahme der Biomarker-Diagnostik.<sup>[66]</sup> Eine definitive AD Diagnose anhand der typischen neuropathologischen Veränderungen kann jedoch weiterhin erst nach dem Tod gestellt werden.

Der anhaltende wissenschaftliche Fortschritt führte 2018 zu einer weiteren Aktualisierung. Nach dem neuen NIA-AA-Forschungsrahmen ist die AD-Diagnose vollständig unabhängig von klinischen Symptomen möglich, da sie sich auf die Auswertung von Biomarkern in lebenden Personen konzentriert. Anders als bisher ermöglichen die neuen Kriterien eine Alzheimerdiagnose bereits bei noch lebenden asymptomatischen Personen.<sup>[67]</sup> Für die Anwendung in der klinischen Routinediagnostik werden die folgenden Biomarker empfohlen:

- Amyloid-PET-Scan für den Nachweis von  $\beta$ -Amyloid-Ablagerungen
- erniedrigtes Amyloid- $\beta$ -42 Level in der Zerebrospinalflüssigkeit
- erhöhte Werte von Tau und Phospho-Tau im Liquor
- Nachweis einer temporomesialen und parietalen Atrophie mittels MRT
- Bestätigung eines erniedrigten zerebralen Glukosestoffwechsels durch Fluordesoxyglukose-PET

Für die Klinik gilt jedoch vorerst weiterhin die rein syndromale ICD-10 Definition der Alzheimer-Krankheit.

## 1.2 Therapiemöglichkeiten der Alzheimer-Demenz

Die Maßnahmen, die gegen die Krankheit ergriffen werden können, lassen sich je nach Einsatzzeitpunkt in die primäre, die sekundäre oder die tertiäre Prävention einordnen (Abbildung 5).

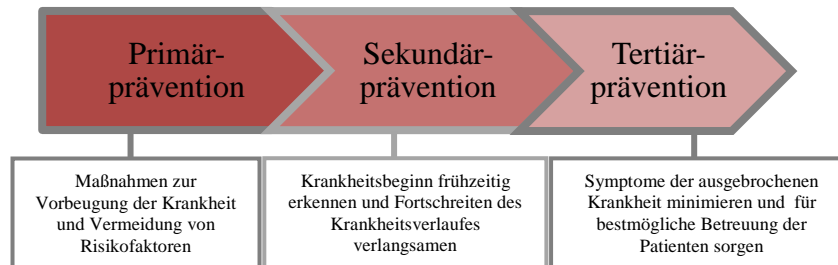


Abbildung 5 Die zeitliche Unterteilung präventiver Interventionen.

### 1.2.1 Primärprävention

Die Vorbeugung ist bekanntlich die beste Medizin. Interventionsstrategien, die auf die Vermeidung von Risikofaktoren (siehe Abschnitt 1.1.2) abzielen, gehören zu den therapeutischen Strategien für die Krankheitsprävention. Einige Kohorten-Studien untersuchten die Auswirkungen von verschiedenen Faktoren zur Risikovermeidung im Zusammenhang mit dem Rückgang der Prävalenz und Inzidenz.<sup>[68–70]</sup> Die Auswertung der Kohorten deutet darauf hin, dass die Anzahl der Neuerkrankungen in den letzten Jahrzehnten rückläufig ist. Als ein Grund für diesen Rückgang wird u. a. die bessere Kontrolle von kardiovaskuläres Risiken vermutet.

In der Rotterdam-Studie<sup>[56]</sup> wurde für verschiedene Risikofaktoren das jeweilige populationsbezogene attributable Risiko (PAR) berechnet. Das PAR ist der Anteil der Demenzkrankheit, der verhindert werden könnte, wenn man den Risikofaktor beseitigen würde. Die wichtigsten Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2 Berechnung des populationsbezogenen attributablen Risikos (PAR) ausgewählter Risikofaktoren; Tabelle erstellt nach DE BRUIJN *et al.*<sup>[56]</sup>.

Risikofaktor	Kohorte I (1990-2000)	Kohorte II (2000-2010)
	kombiniertes PAR	kombiniertes PAR
Bluthochdruck	0,04	0,16
Diabetes mellitus	0,04	0,06
Rauchen	0,07	-
Bildung	0,07	0,12

In der ersten Kohorte stellten Rauchen und ein niedriger Bildungsstand das größte Risiko dar. In der zweiten Kohorte hatten Hypertonie, gefolgt von einem niedrigen



Bildungsniveau und Diabetes mellitus die größten PARs. Laut dieser Studie könnten potentiell etwa ein Viertel bis ein Drittel der Demenzfälle verhindert werden, wenn durch eine optimale Prävention alle vermeidbaren Risikofaktoren verhindert werden würden.<sup>[56]</sup> Auch wenn durch die Vermeidung solcher Faktoren in den letzten Jahren ein scheinbarer Rückgang der Neuerkrankten zu verzeichnen ist, schreitet der demographische Wandel und somit auch die Zahl der Alzheimererkrankten voran.<sup>[6]</sup>

## 1.2.2 Sekundärprävention

Diese Prävention zielt auf die Verlangsamung des Krankheitsverlaufes von Patienten, bei denen die Demenz noch nicht klinisch manifestiert ist, ab. Ziel der Sekundärprävention ist also die Behandlung der zugrundeliegenden Pathophysiologie, um die Entwicklung von kognitiven Symptomen zu verhindern.<sup>[71]</sup> Da die Alzheimerkrankheit eine fortschreitende Gehirnerkrankung ist, bietet ein frühzeitiger Therapiebeginn eine Erhöhung der Lebensqualität. Außerdem kann sich ein früheres Eingreifen in den Krankheitsverlauf kosteneffizient auswirken.<sup>[72]</sup> Der Einsatz von krankheitsmodifizierenden Antikörpern wie Crenezumab und Solanezumab ist in der Vergangenheit jedoch nicht zielführend gewesen. Wissenschaftler sehen den zu späten Therapiebeginn als einen Grund für das bisherige Scheitern.<sup>[73]</sup> Eindeutigere Diagnosekriterien (siehe Abschnitt 1.1.3) sind daher unerlässlich für die Etablierung einer wirksamen Sekundärprävention. Derzeit gibt es zahlreiche Studien an Patienten, die sich im präklinischen AD-Stadium befinden und noch asymptomatisch sind. Einige dieser aktuellen Studien sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

**Tabelle 3** Zusammenfassung einiger ausgewählter Studien zur Sekundärprävention.

Studie	Beginn	eingeschriebene Teilnehmer	Medikament
	[erwartetes Ende]	[Alter]	[Typ]
API-ADAD <sup>[74,75]</sup>	12/2013	252	Crenezumab <sup>[76]</sup>
	[02/2022]	[30-60 Jahre]	[Anti-A $\beta$ Antikörper]
DIAN-TU <sup>[77,78]</sup>	12/2012	490	Gantenerumab <sup>[79]</sup>
	[03/2021]	[18-80 Jahre]	Solanezumab <sup>[80]</sup> [Anti-A $\beta$ Antikörper]
A4 <sup>[81,82]</sup>	02/2014	1150	Solanezumab <sup>[80]</sup>
	[07/2022]	[65-85 Jahre]	[Anti-A $\beta$ Antikörper]
TOMMORROW <sup>[83]</sup>	08/2013	3494	Pioglitazone <sup>[84]</sup>
	[08/2018]*	[65-83 Jahre]	[PPAR- $\gamma$ Agonist]

A4 = Anti-Amyloid Treatment in Asymptomatic Alzheimer's (NCT02008357), A $\beta$  = Amyloid-beta, AD = Alzheimerkrankheit, API-ADAD = Alzheimer's Prevention Initiative for Autosomal Dominant Alzheimer's Disease (NCT01998841), DIAN-TU = Dominantly Inherited Alzheimer Network Trials Unit (NCT01760005), NCT = ClinicalTrials.gov registry number, PPAR = Peroxisomen-Proliferator-aktivierender Rezeptor, TOMMORROW = Studie (NCT01931566). \*2018 erfolgte der Abbruch der Studie aufgrund des unzureichenden Behandlungseffektes<sup>[85]</sup>

Drei der genannten Studien zur Sekundärprävention basieren auf der Annahme der Amyloid-Hypothese und setzten daher Anti-A $\beta$  Antikörper als Testmedikament ein. API-ADAD ist die erste Studie, die das Ziel verfolgt, kognitiv normale Personen zu behandeln, die ein genetisch bedingtes Risiko für die Entwicklung von AD haben. Die Teilnehmer erhalten mindestens 260 Wochen lang subkutan oder intravenös Crenezumab bzw. ein Placebo.<sup>[74]</sup>

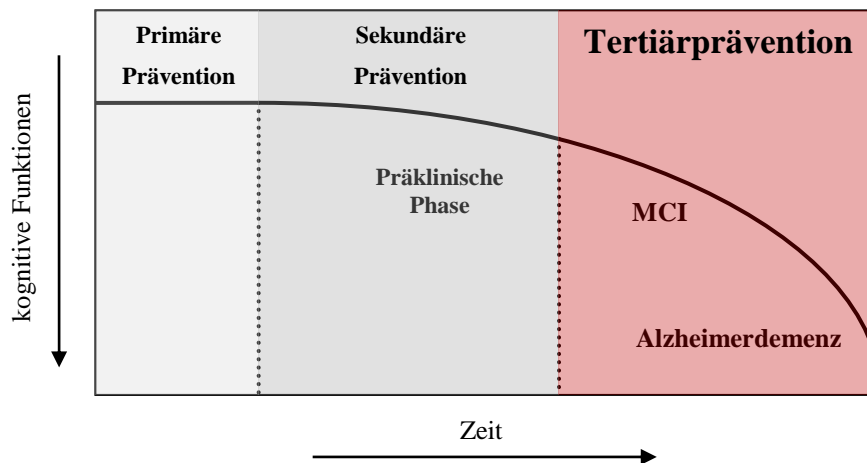
Die zweite Studie (DIAN-TU) befasst sich mit der autosomal dominanten Alzheimerkrankheit. Das Ziel dieser Studie ist u. a. die Beurteilung der kognitiven Wirksamkeit, Sicherheit und Verträglichkeit von Gantenerumab (subkutan) und Solanezumab (intravenös) bei Testpersonen, von denen bekannt ist, dass sie eine Alzheimer verursachende Mutation haben.<sup>[77]</sup>

Bei der A4-Studie handelt es sich um eine klinische Studie an älteren, kognitiv normalen Personen, bei denen Hinweise auf Amyloid-Plaques-Anhaftungen im Gehirn vorliegen. In dieser Studie wird ebenfalls das Anti-Amyloid-Präparat Solanezumab getestet. Es soll geprüft werden, ob das Medikament das Auftreten der sporadischen AD verlangsamen kann.<sup>[81]</sup>

Als einzige der oben genannten Studien richtete sich TOMMORROW an einen anderen AD-Mechanismus und ist nicht auf die Entfernung von  $\beta$ -Amyloid-Proteinen ausgelegt. Das Ziel der TOMMORROW Studie war u. a. die Bewertung der Wirksamkeit von Pioglitazon in Bezug auf die Verzögerung des Auftretens von MCI-AD bei kognitiv normalen Probanden, welche aufgrund von genetischen Risiken eine erhöhte Gefährdung aufweisen.<sup>[83]</sup> 2018 wurde die Studie eingestellt. Eine Zwischenanalyse zeigte die unzureichende Behandlungswirkung mit dem Prüfpräparat Pioglitazon.<sup>[85]</sup> TOMMORROW ist somit die erste dieser aktuellen Alzheimer Präventionsstudien, die Ergebnisse veröffentlicht.

### 1.2.3 Tertiärprävention

Die Tertiärprävention konzentriert sich auf die Bewältigung der manifestierten Krankheit und ihrer Komplikationen. Sie dient somit der Maximierung der Lebensqualität. Es gibt verschiedene Definitionen über den Beginn der Alzheimerdemenz und somit auch über den sinnvollsten Start der tertiären Prävention.<sup>[86]</sup> Abbildung 6 zeigt eine Möglichkeit der zeitlichen Einordnung.

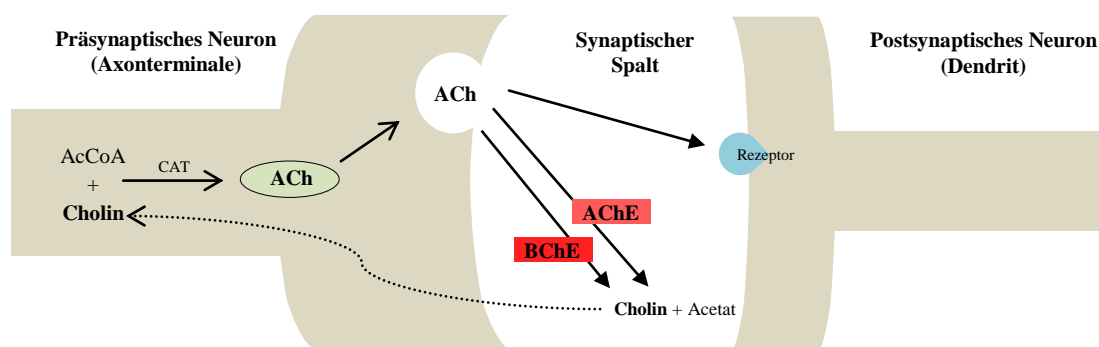


**Abbildung 6** Beispiel für die Einteilung der Präventionsphasen bezüglich des Verlaufes der Alzheimerkrankheit; Abbildung nach HODES *et al.*<sup>[87]</sup>.

Derzeit stehen vier Medikamente zur Behandlung von AD zur Verfügung. Diese Präparate verbessern die kognitive Funktion (gemessen am Verlauf), können die Krankheit jedoch nicht heilen. Alle eingesetzten Mittel können das Fortschreiten der Erkrankung nur verlangsamen. Für die symptomatische Behandlung der Alzheimerkrankheit sind derzeit zwei Klassen kognitionsfördernder Arzneimittel zugelassen: drei Cholinesterase-Inhibitoren (ChEIs, siehe Abschnitt 1.3.1) und ein *N*-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptorantagonist. Memantin (3,5-Dimethyl-1-adamantanamin), der gegenwertig einzige freigegebene NMDA-Rezeptorantagonist, ist für die mittelschwere bis schwere Alzheimersymptomatik zugelassen.<sup>[88]</sup> Eine 2011 publizierte Metaanalyse kommt zu dem Entschluss, dass es kaum Beweise für einen Nutzen des Wirkstoffs bei milder oder moderater AD gibt.<sup>[89]</sup> Memantin ist gut verträglich und wirkt neuroprotektiv.<sup>[90,91]</sup> Memantin darf als Mono- oder Kombinationspräparat mit Cholinesterase-Inhibitoren zusammen verwendet werden. Vor der Genehmigung (Europa 2002 und USA 2003) war die Behandlung der Alzheimer-Krankheit auf ChEIs beschränkt.

### 1.3 Cholinesterasen und reversible Hemmstoffe

Basierend auf der Hypothese, dass die AD-Symptome auf einem Mangel an cholinergem Neurotransmission beruhen, stellen die sogenannten Cholinesterase-Inhibitoren (ChEIs) häufig die Medikamente der Wahl gegen Alzheimerdemenz dar. Morbus Alzheimer steht im Zusammenhang mit einer reduzierten Acetylcholin-Verfügbarkeit. Der niedrige ACh-Gehalt ist u. a. ein Resultat der verminderten Aktivität des Enzyms Cholin-Acetyltransferase (CAT, EC 2.3.1.6)<sup>[92]</sup>, welches für die Synthese des Neurotransmitters zuständig ist. Ein weiterer Grund ist der katalytische Abbau des Acetylcholins durch Cholinesterasen.<sup>[93]</sup>

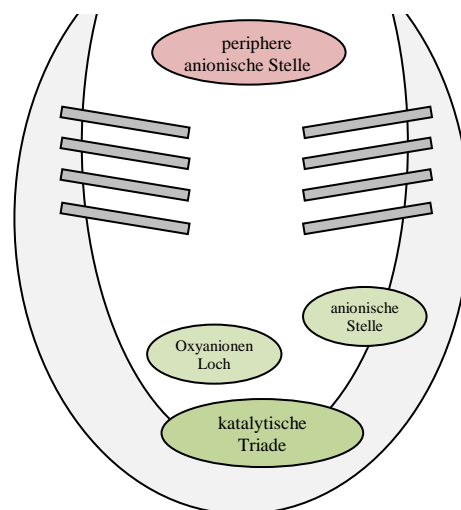


**Abbildung 7** Vereinfachte Darstellung der cholinergen Neurotransmission und des ACh-Abbaus; AcCoA = Acetyl-Coenzym A, ACh = Acetylcholin (Neurotransmitter), AChE = Acetylcholinesterase, BChE = Butyrylcholinesterase, CAT = Cholin-Acetyltransferase; Abbildung nach SCARPINI *et al.*<sup>[94]</sup>.

Wie in Abbildung 7 gezeigt, ist nicht ausschließlich das Enzym Acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) für die Zersetzung des Neurotransmitters verantwortlich. Die Butyrylcholinesterase (BChE, EC 3.1.1.8) ist ebenfalls in der Lage ACh in Cholin und Essigsäure abzubauen.

Die Cholinesterasen gehören zur Protein-Superfamilie der  $\alpha/\beta$ -Hydrolasen. Sie katalysieren die hydrolytische Spaltung (EC 3.-.-.-) einer Esterbindung (EC 3.1.-.-) eines Carboxylesters (EC 3.1.1.-). Bereits 1914 wurde die Existenz der Cholinesterasen postuliert, ihr Nachweis erfolgte 1926.<sup>[95]</sup> Die AChE kommt in cholinergen Synapsen des zentralen und peripheren Nervensystems sowie in nicht neuronalem Gewebe vor und spielt u. a. für die Beendigung der Impulsübertragung an cholinergen Synapsen eine entscheidende Rolle.<sup>[96,97]</sup> Die Acetylcholinesterase ist eines der effizientesten bekannten Enzyme ( $k_{\text{cat}} > 10000 \text{ s}^{-1}$ ).<sup>[98]</sup> Der Grund für die hohe spezifische Aktivität von AChE liegt in der Struktur des Enzyms. Mittels Röntgenkristallstrukturanalyse von *Torpedo californica* AChE konnte die dreidimensionale Struktur der Cholinesterase schon früh weitestgehend aufgeklärt werden. Das Enzym besitzt eine katalytische

Ser<sup>200</sup>-Glu<sup>327</sup>-His<sup>440</sup> Triade, welche den Ort der Substratspaltung darstellt. Diese befindet sich in etwa 2 nm Tiefe, am Fuße eines engen Hohlraumes. Das aktive Zentrum der Acetylcholinesterase besteht neben der katalytischen Triade u. a. auch aus einer anionischen Substratbindungsstelle, deren Funktion die Fixierung der quartären Trimethylammoniumgruppe des Neurotransmitters (z. B. via Kation- $\pi$ -Wechselwirkung mit Trp<sup>84</sup>) darstellt.<sup>[99,100]</sup> Das ebenfalls vorhandene Oxyanion-Loch dient der Stabilisierung des negativen Carbonyl-Sauerstoffs des Esters im Übergangszustand. Wie in Abbildung 8 gezeigt, machen 14 aromatische Aminosäurereste einen wesentlichen Anteil der Hohlraumoberfläche aus.<sup>[101]</sup> Ein weiterer wichtiger Strukturbestandteil des Enzyms ist die periphere anionische Stelle (PAS), welche sich weit entfernt vom aktiven Zentrum, in der Nähe des Hohlraumeingangs befindet.<sup>[98]</sup> Substratmoleküle müssen zuerst die PAS durchqueren. Dieser Ort bildet die initiale Bindungsstelle für das Substrat ACh und leitet somit den katalytischen Pfad ein. Studien haben gezeigt, dass Liganden, die spezifisch an diese periphere Stelle binden, eine sterische Blockade auslösen können. Diese Form der Absperrung kann die Geschwindigkeit verlangsamen, mit der andere Moleküle in das aktive Zentrum eintreten bzw. dieses verlassen.<sup>[102,103]</sup> PAS-Hemmstoffe können die Enzymaktivität außerdem durch allosterische Veränderung des aktiven Zentrums verringern.<sup>[104]</sup>



**Abbildung 8** Schematische, stark vereinfachte Darstellung des „active-side gorge“ der Cholinesterasen. Abbildung der aromatischen Aminosäurereste (14 in AChE und 8 in BChE) als dunkelgraue Rechtecke; Entwurf nach<sup>[105]</sup>.

Es existiert ein hohes Maß an Ähnlichkeit zwischen der Acetylcholinesterase und der Butyrylcholinesterase. Die Sequenzidentität zwischen der humanen BChE und der *Torpedo* AChE beträgt ca. 54 % und auch die Länge der katalytischen Untereinheiten ist ähnlich.<sup>[106,107]</sup> Beide Enzyme verfügen sowohl über das aktive Zentrum am Boden

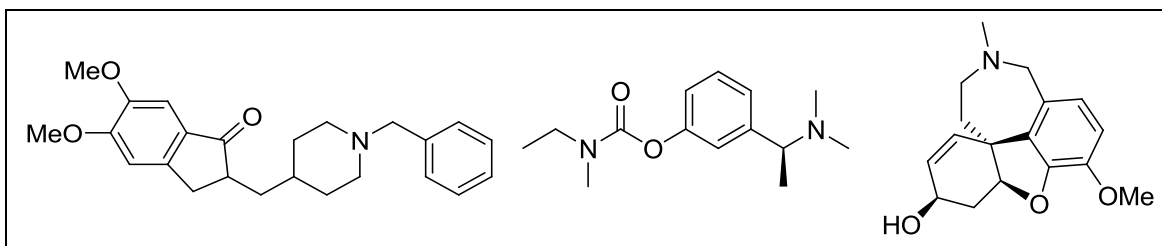
des Hohlrums, sowie über die PAS am Eingang der Enzymtasche.<sup>[108]</sup> BChE gehört wie AChE zu den Serin-Hydrolasen, die katalytische Triade des humanen Enzyms besteht aus den Aminosäuren Ser<sup>198</sup>, Glu<sup>325</sup> und His<sup>438</sup>.<sup>[109]</sup> Die Butyrylcholinesterase wird in der Leber gebildet. Sie kommt dort und in den meisten anderen Geweben, sowie im zentralen und peripheren Nervensystem und im Blutplasma vor.<sup>[110]</sup> Die beiden Enzyme unterscheiden sich neben ihrem Vorkommen, auch in der Substratspezifität. Während die Acetylcholinesterase hochselektiv für die Hydrolyse des Neurotransmitters ACh ist, besteht für die Butyrylcholinesterase eine geringere Substratspezifität. Somit ist BChE in der Lage, mehrere verschiedene Moleküle zu metabolisieren. Aus diesem Grund findet das Enzym Anwendung bei der Entgiftung von toxischen Substanzen wie z. B. Kokain.<sup>[109]</sup> BChE enthält nur 8 aromatische Aminosäure-Reste und besitzt somit 6 weniger als die AChE.<sup>[95]</sup> Des Weiteren sind die Phenylalanin-Reste (Phe<sup>288</sup> und Phe<sup>290</sup>) im unteren Teil der Enzymtasche, von denen man erwartet, dass sie die Abmessungen der Acyltasche einschränken, in BChE durch sterisch weniger anspruchsvolle Reste ersetzt.<sup>[111]</sup> Ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen den beiden Cholinesterasen ist ihre Kinetik. Die Effizienz von AChE ist bei niedrigen Neurotransmitterkonzentrationen am höchsten, zu hohe ACh Konzentrationen führen zur Hemmung des Enzyms (Substratinhibierung). BChE ist im Gegensatz dazu bei niedrigen Konzentrationen weniger effizient, bei höheren Konzentrationen dagegen nimmt die Effizienz zu und eine Substrathemmung bleibt aus.<sup>[112]</sup> Die physiologische Rolle von BChE ist noch nicht vollständig geklärt. Es wurden u. a. entgiftende, morphogenetische und wachstumsfördernde Funktionen beschrieben.<sup>[95]</sup> Studien an genmanipulierten Mäuse lassen eine Beteiligung der BChE am Neurotransmitter-Abbau vermuten: Die Verabreichung von selektiven AChEI führte nur bei den Mäusen zum Tod, welche ausschließlich die Cholinesterase AChE besaßen. Die Mäuse, die nur über BChE verfügten, waren gegen die toxische Wirkung immun.<sup>[109]</sup>

Im Verlauf der Alzheimerkrankheit nimmt der AChE Spiegel im Gehirn ab, währenddessen das BChE Level signifikant zunimmt.<sup>[113]</sup> In einer Studie von PERRY *et al.* nahm die AChE Aktivität im Temporallappen und im Hippocampus bei Patienten mit Alzheimerdemenz deutlich ab und erreichte nur noch 62 – 67 % des normalen Wertes. Im Vergleich zu den gleichaltrigen, nicht an AD erkrankten Personen stieg die Aktivität der Butyrylcholinesterase drastisch an und erreichte etwa 140 – 165 % des normalen Spiegels.<sup>[114]</sup> Des Weiteren konnten Studien eine Verbindung zwischen der Aktivität von BChE und der Reifung von gefährlichen A $\beta$ -Plaques herstellen.<sup>[115,116]</sup>

### 1.3.1 Cholinesterase-Inhibitoren

Die klinische Anwendung von Cholinesterase-Inhibitoren begann Anfang der achtziger Jahre mit der Verabreichung des Indolalkaloids Physostigmin.<sup>[117]</sup> Die Halbwertszeit des Wirkstoffes war mit weniger als 30 Minuten sehr gering.<sup>[118,119]</sup> Aufgrund unerwünschter Nebenwirkungen (Schwindel, Übelkeit) konnte die benötigte Maximaldosis den Probanden oft nicht verabreicht werden.<sup>[120]</sup>

1993 wurde das Acridin-Alkaloid Tacrin (1,2,3,4-Tetrahydroacridin-9-amin) als erster ChEI zugelassen.<sup>[121]</sup> HEILBRONN beschrieb die Substanz bereits 1961 als reversiblen ChE-Hemmstoff.<sup>[122]</sup> Tacrin führte zu einer geringfügigen Verbesserung der kognitiven Leistungen.<sup>[123,124]</sup> Aufgrund seiner leberschädigenden Wirkung ist Tacrin seit 2013 nicht mehr zugelassen.<sup>[125,126]</sup> Es folgte die zweite Generation der ChEIs. Diese Medikamente sollten auf der einen Seite selektiver und somit wirksamer sein und auf der anderen Seite eine bessere Verträglichkeit aufweisen.



**Abbildung 9** Strukturen der derzeit eingesetzten Antidementiva Donepezil (links), Rivastigmin (mittig) und Galantamin (rechts).

Donepezil (Donepezil Hydrochlorid, Aricept®) ist der zweite Anti-ChE-Wirkstoff der für die symptomatische Behandlung von milder bis moderater Alzheimerdemenz zugelassen wurde (1996/1997).<sup>[127]</sup> Wie in Abbildung 9 gezeigt, besteht Donepezil aus einer 1-Indanoneinheit sowie einer 1-Benzylpiperidingruppe und wurde zweckgerichtet als potenter, hoch selektiver Acetylcholinesterase-Inhibitor (AChEI) designt.<sup>[128,129]</sup> Bei dem Wirkstoff handelt es sich um einen nichtkompetitiven und reversiblen AChEI.<sup>[130]</sup> Die deutlich längere Plasmahalbwertszeit<sup>[131]</sup> von Donepezil ermöglicht eine täglich einmalige Dosierung. Durch die Einnahme des allgemein gut verträglichen Medikamentes zeigten AD-Patienten eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten in zahlreichen Studien.<sup>[132–136]</sup> Die Sicherheit von Donepezil konnte in diesen Studien ebenfalls belegt werden. Dessen ungeachtet kann die Einnahme des Medikamentes von einigen unerwünschten Nebenwirkungen, wie z. B. Erbrechen und Diarrhöe, begleitet sein.<sup>[137]</sup>

Der zweite gegenwärtig verwendete Wirkstoff wurde, nach seiner Anerkennung in Europa, 2000 auch in den USA zugelassen. Rivastigmin (Rivastigmin (2*R*,3*R*)-hydrogentartrat, Exelon<sup>®</sup>, Abbildung 9) führte bei Patienten mit milder bis mäßig schwer ausgeprägter AD in zahlreichen Studien ebenfalls zu einer verminderten Abnahmerate der kognitiven Funktionen.<sup>[138,139]</sup> Die Verabreichung von Rivastigmin kann oral oder transdermal erfolgen. Nebenwirkungen wie Übelkeit traten bei der Verwendung von Pflastern wesentlich seltener auf als nach einer oralen Einnahme.<sup>[140]</sup> Bei dem Wirkstoff handelt es sich um einen hirnselektiven, reversiblen (pseudo-irreversibel) AChEI, der ebenfalls auch als Butyrylcholinesterase-Inhibitor (BChEI) fungiert.<sup>[138,141]</sup> In einer zweijährigen Vergleichsstudie von Donepezil und Rivastigmin zeigten die Probanden, die mit Rivastigmin behandelt wurden, eine deutliche Verbesserung der Fähigkeit zur Bewältigung von Alltagsaktivitäten. Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis hat laut Autoren in der zusätzlichen Inhibierung der BChE gelegen, die sich vor allem in subkortikalen Hirnbereichen befindet, welche in Zusammenhang mit der Durchführung von alltäglichen Aktivitäten, wie z.B. der Haushaltsführung, stehen. Die Rivastigmin Probanden zeigten jedoch ein erhöhtes Aufkommen an Nebenwirkungen in der Titrationsperiode der Studie.<sup>[142]</sup>

Galantamin (Galantamin Hydrobromid, Reminyl<sup>®</sup>, Razadyne<sup>®</sup>) erhielt seine Zulassung im Jahr 2000/2001 und ist somit der neueste ChE Hemmer auf dem Markt.<sup>[143–145]</sup> Das Alkaloid (Abbildung 9) wurde Anfang der 1950er Jahre erstmals aus Schneeglöckchen (*Galanthus* ssp.) isoliert und fand früher Anwendung als Gegenmittel des Muskelrelaxans Curare in der Anästhesie.<sup>[146]</sup> Bei dem Wirkstoff handelt es sich um einen selektiven und kompetitiven AChE Hemmer<sup>[147,148]</sup>, welcher zusätzlich nikotinische Rezeptoren modulieren kann.<sup>[143]</sup> Die Verabreichung des ChEI wirkte sich in vielen Studien vorteilhaft auf die kognitiven Funktionen von Patienten mit milder bis moderater AD aus.<sup>[149–152]</sup> Auch dieser Wirkstoff ist mit keinen größeren Sicherheitsbedenken verbunden und zeigte eine gute Verträglichkeit.

Aufgrund des begrenzten Angebots an natürlichen Quellen wurde eine Synthese des Wirkstoffes unerlässlich, verschiedenste Syntheserouten wurden in der Literatur beschrieben.<sup>[153]</sup>



## 2. Zielstellung

Die Alzheimerkrankheit ist eine neurodegenerative Erkrankung mit progressivem Verlauf. Es ist anzunehmen, dass der demographische Wandel in den nächsten Jahren für einen dramatischen Anstieg der Patientenzahlen sorgen wird. Derzeit sind bereits etwa 33 Millionen Menschen erkrankt. Trotz exzessiver Forschung ist es bisher nicht gelungen ein Heilmittel gegen AD zu finden. Im aktuellen Welt Alzheimer Report wird beklagt, dass in den letzten 20 Jahren nur vier der über 100 getesteten Anti-AD-Wirkstoffe eine Zulassung erhalten haben.<sup>[6]</sup>

Zu den wirksamsten Medikamenten gehört die Klasse der Cholinesterase-Inhibitoren, welche dreiviertel der gegen Alzheimersymptome zugelassenen Arzneimittel ausmachen. Die letzte Zulassung erfolgte allerdings um die Jahrtausendwende.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Synthese neuer Cholinesterase-Hemmer. Hierbei sollte sich besonders auf die Derivatisierung leicht zugänglicher Naturstoffanaloga konzentriert werden. Für eine möglichst große Bandbreite an Inhibitoren sollten verschiedenste Grundgerüste modifiziert und anschließend auf ihre inhibitorischen Fähigkeiten gegen die Enzyme Acetylcholinesterase und Butyrylcholinesterase getestet werden. Ein besonderes Augenmerk sollte dabei unter anderem auf Diterpen- und Triterpenderivate gelegt werden, da diese in unserer Arbeitsgruppe bereits vielversprechende Ergebnisse in Bezug auf Cholinesterase-Inhibierung gezeigt haben. Die Behandlung der Alzheimer-Symptome konzentriert sich bisher primär auf die Hemmung der Acetylcholinesterase, da diese im Hirn hauptsächlich für den Abbau des Neurotransmitters ACh verantwortlich ist. Im Gegensatz zu AChE nimmt die Aktivität von BChE im Verlauf von Alzheimer stark zu.<sup>[113]</sup> Die Inhibierung von BChE könnte daher einen positiven Effekt auf die Behandlung von fortgeschrittenen AD-Stadien haben. Aus diesem Grund soll die Synthese und biologische Evaluierung von selektiven BChE-Hemmern eine zentrale Rolle dieser Arbeit spielen. Die Bestimmung der Anti-ChE-Fähigkeit wird photometrisch mittels Ellman's Assay erfolgen. Die Inhibierungskonstanten  $K_i$  (kompetitive Hemmung) und  $K_i'$  (unkompetitive Hemmung) sollen Aufschluss über die Affinität des Inhibitors und den Typ der Inhibierung geben.

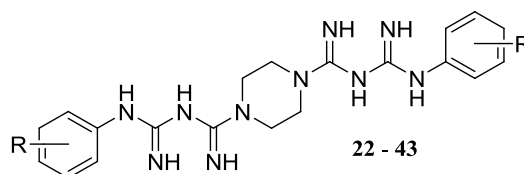
### 3. Zusammenfassung der Ergebnisse

#### 3.1 Picloxydin-Derivate – mehr als bisbiguanide Antiseptika

Die Neupositionierung von schon erforschten Medikamenten für neue Anwendungsbereiche ist eine gängige Strategie für die Zulassung neuer Arzneimittel. Gegenüber der Entwicklung eines neuen Medikamentes bietet die Neupositionierung oftmals viele Vorteile z. B. in Bezug auf Nebenwirkungen und Kosten.<sup>[154]</sup>

Als erfolgreiche Beispiele in der Vergangenheit sind unter anderem das ADHS-Medikament Atomoxetin<sup>[155]</sup>, welches anfänglich als Antidepressiva Verwendung finden sollte, und Sildenafil zu nennen. Letzteres wurde ursprünglich als Mittel gegen Angina entwickelt und gilt heute als das führende Präparat (Viagra®) bei der erektilen Dysfunktion.<sup>[156]</sup>

Guanidin-haltige Verbindungen kommen überall in der Natur vor und stellen schon seit langem einen vielversprechenden Gegenstand in der medizinischen Forschung dar. Es gibt eine Vielzahl von Guanidin-Derivaten mit wichtigen pharmakologischen Eigenschaften.<sup>[157]</sup> Die Stoffklasse der Bisbiguanide (z. B. Chlorhexidin, Alexidin) ist bekannt für ihre antimikrobiellen Eigenschaften.<sup>[158,159]</sup> Das Bisbiguanidin-Derivat Picloxydin (**PD**), welches derzeit Anwendung als Antiseptikum bei bakteriellen Augeninfektionen findet, konnte nun von uns ebenfalls als Inhibitor der Butyrylcholinesterase identifiziert werden. Ausgehend von diesem Erfolg bestand das Ziel dieser Publikation darin, durch systematische Variation der Phenylsubstituenten eine Steigerung der Anti-Cholinesteraseaktivität zu erhalten. Ausgehend von verschiedenen substituierten Anilinen wurden mittels Natriumdicyanamid zunächst die jeweiligen Cyanoguanidin-Derivate (**1 – 21**) generiert. Diese wurde anschließend mit Piperazin zu den Zielmolekülen (Abbildung 10, **22 – 43**) umgesetzt. Eine detaillierte Beschreibung der Synthese, die ermittelten Inhibierungskonstanten ( $K_i$  und  $K_i'$ ) aller Bisbiguanide sowie die Ergebnisse der



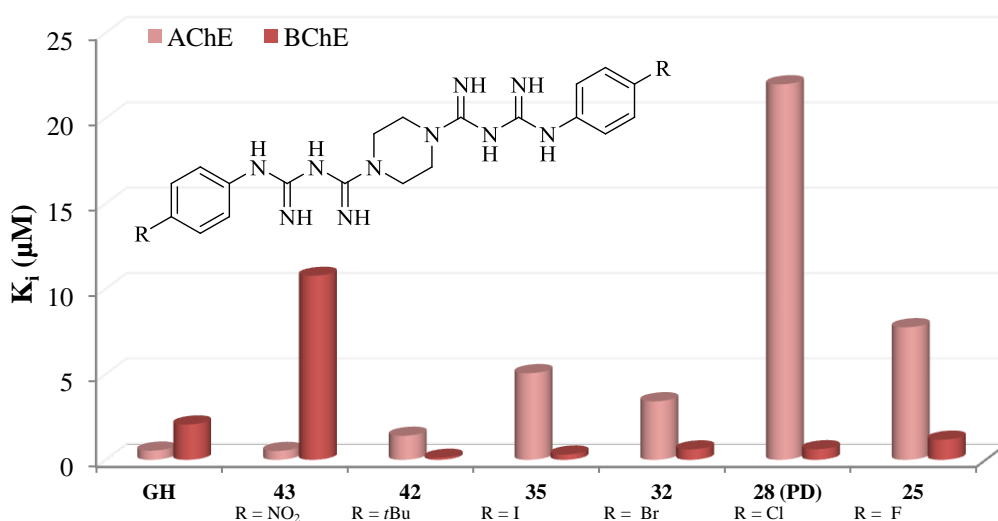
**Abbildung 10** Allgemeine Struktur der synthetisierten Bisbiguanidin-Derivate.

Molecular Modelling Untersuchungen sind der Publikation P1 „Repurposing *N,N'*-bis-(arylamidino)-1,4-piperazinedicarboxamides: An unexpected class of potent inhibitors of cholinesterases“ im Anhang zu entnehmen. Die Bestimmung der Enzymaktivität der Cholinesterasen erfolgte photometrisch nach ELLMAN<sup>[160]</sup>.

Aufgrund der Homologie zum humanen Enzym, der besseren Verfügbarkeit und des signifikant geringeren Preises arbeitet unsere Arbeitsgruppe mit AChE der Spezies Zitteraal und BChE aus Pferdeserum.<sup>[161]</sup>

Es handelt es sich bei nahezu allen getesteten Derivaten um Inhibitoren des Mischtyps. Da die Affinität des Hemmers am freien Enzym zu binden (kompetitive Hemmung) in allen Fällen größer ist als die Bindung am Enzym-Substrat-Komplex (unkompetitive Hemmung), wird für eine bessere Übersichtlichkeit nachfolgend auf die Angabe der  $K_i'$ -Werte verzichtet.

In Bezug auf das Enzym Acetylcholinesterase zeigte ausschließlich die *para*-Nitro-Verbindung **43** eine herausragende Hemmwirkung. Mit einer Inhibierungskonstante von  $K_i = 0,52 \mu\text{M}$  erreichte **43** eine Verminderung der AChE-Aktivität, die vergleichbar mit der des Standards Galantamin Hydrobromid (**GH**) ist. Durchgeführte Docking-Studien lassen vermuten, dass diese Beobachtung u. a. auf die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der *p*-NO<sub>2</sub>-Gruppe und einer Tyrosin-Hydroxygruppe im aktiven Zentrum des Enzyms zurückzuführen sind. Viele der getesteten Substanzen zeigen mit Inhibierungskonstanten im niedrigen  $\mu\text{M}$ -Bereich eine exzellente Affinität zur Butyrylcholinesterase. Die Begründung für diese Beobachtung liegt in dem größeren verfügbaren Platzangebot innerhalb der BChE-Enzymtasche, welches eine Faltung des Inhibitors zulässt und somit optimale Wechselwirkungen ermöglicht. Im Vergleich der *para*-substituierten Halogenderivate (siehe Abbildung 11) wird deutlich, dass die Abnahme der Atomgröße wie erwartet mit einem schrittweisen Rückgang der Bindungsaffinität (*p*-I (**35**) > *p*-Br (**32**) > *p*-Cl (**PD**, **28**) > *p*-F (**25**)) einhergeht.



**Abbildung 11** Graphische Darstellung der inhibitorischen Aktivität ( $K_i$  in  $\mu\text{M}$ ) ausgewählter Verbindungen bezogen auf AChE und BChE.

Bei Verbindung **35** ( $K_i = 0,31 \mu\text{M}$ ) handelt es sich somit um einen der aktivsten Hemmer in unserer Serie. Der effektivste BChEI ist das *para*-substituierte *tert*-Butylderivat **42** ( $K_i = 0,12 \mu\text{M}$ ). Verantwortlich für die hohe Affinität dieses Moleküls ist wahrscheinlich die durch intramolekulare Wechselwirkungen hervorgerufene Biegekonformation von **42**, welche die Bindung zum aktiven Zentrum stark begünstigt.

### 3.2 Anti-Acetylcholinesterase-Aktivität von *trans*-2-Alkensäuren

Wie bereits in Abschnitt 1.1.2 beschrieben, können kardiovaskuläre Risikofaktoren einen negativen Einfluss auf die Entstehung der Alzheimerkrankheit haben. Eine kürzlich erscheinende Metaanalyse zur Wirkung der Mittelmeer-Diät auf die Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen kommt zu dem Entschluss, dass sich diese Ernährungsform als vorteilhaft erweist.<sup>[162]</sup> Wissenschaftlern ist es gelungen den vorbeugenden Effekt der Mittelmeer-Diät in Bezug auf das AD-Risiko nachzuweisen.<sup>[163]</sup> Die erhöhte Aufnahme von Olivenöl gilt als ein Markenzeichen der mediterranen Ernährungsweise. Dieses Öl ist reich an einfach ungesättigten Fettsäuren und scheint eine schützende Funktion gegen altersbedingten kognitiven Verfall auszuüben.<sup>[164]</sup> Die Analysen einiger Pflanzenextrakte, welche hauptsächlich aus langkettigen, gesättigten Fettsäuren und *cis*-Monoenfettsäuren bestanden, zeigten bisher nur mäßige Anti-AChE-Fähigkeiten und kaum Inhibierung der BChE.<sup>[165,166]</sup> Wir haben uns infolgedessen für das ChE-Inhibierungspotential von langkettigen, einfach ungesättigten Fettsäuren mit *trans*-Konfiguration interessiert. Eine Serie von  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Fettsäuren (**7 – 16**) wurde hergestellt und in Abhängigkeit der Kettenlänge auf ihre Wirksamkeit und Selektivität als potentielle Cholinesterase-Inhibitoren zu fungieren getestet. Anschließend erfolgte der Vergleich mit den gesättigten Derivaten (**17 – 26**) dieser Reihe. Die Synthese der *trans*-Fettsäuren erfolgte ausgehend von den *tert*-Butylestern (siehe Abbildung 12). Diese wurden zuvor via Wittig-Reaktion aus den Aldehyden generiert.

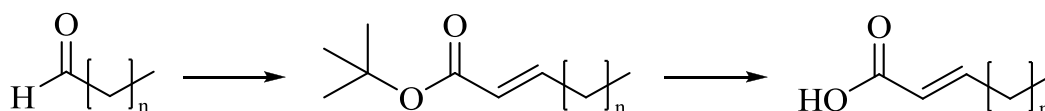
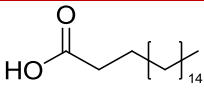
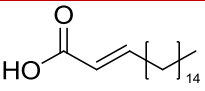
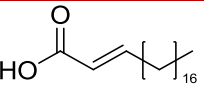


Abbildung 12 Syntheschema der *trans*-2-Alkensäuren **7 – 16**.

Die Synthese aller Verbindungen und die Ergebnisse der dazugehörigen enzymatischen Studien sind in der Publikation P2 „*Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids*“ zusammengefasst. Die durchgeführten Modellrechnungen weisen auf einen unterschiedlichen Bindungsmodus von aktiven und inaktiven Verbindungen für die Cholinesterasen hin.

Das Vorscreening der synthetisierten *trans*-Fettsäuren (**7** – **16**) und der gesättigten Verbindungen (**17** – **26**) ergab drei sehr aktive, potentielle AChEI (siehe Tabelle 4). Alle getesteten Säuren waren dagegen nur sehr schwache Butyrylcholinesterase-Inhibitoren (Inhibierung < 15 %). Auf fortführende kinetische Untersuchungen wurde hinsichtlich der BChE daher verzichtet.

**Tabelle 4** Zusammenfassung der Ergebnisse der enzymatischen Studien für ausgewählte Verbindungen.

			
	<b>23</b>	<b>13</b>	<b>14</b>
<b>Inhibierung (%)</b>	78,35 ± 0,99	89,64 ± 0,25	94,92 ± 0,04
<b>IC<sub>50</sub> (µM)</b>	7,50 ± 0,92	4,30 ± 0,54	5,00 ± 0,34
<b>K<sub>i</sub> (µM)</b>	4,40 ± 0,25	3,21 ± 0,18	1,51 ± 0,09
<b>K<sub>i</sub>' (µM)</b>	3,62 ± 0,06	5,51 ± 0,18	7,15 ± 0,55

Die kinetischen Experimente zeigten, dass es sich sowohl bei **13** als auch bei **23** um gute AChE-Inhibitoren des gemischten Typs handelt. Das ungesättigte Derivat **13** wies dabei nicht nur beim IC<sub>50</sub>-Wert (4,30 µM) sondern auch bei der Inhibierungskonstante (K<sub>i</sub> = 3,21 µM) die niedrigeren Werte auf und kann somit als der aktivere AChEI angesehen werden. Die aktivste Verbindung in unserer Reihe ist die (2E)-2-Eicosensäure (**14**), welche im Vergleich zu **13** um eine Methyleneinheit verlängert ist. **14** inhibiert die Acetylcholinesterase als Hemmer des Mischtyps, bei dem der kompetitive Teil der Inhibition überwiegt (K<sub>i</sub> = 1,51 µM < K<sub>i</sub>' = 7,15 µM). Die Docking-Studien ergaben, dass die drei aktiven Verbindungen mit derselben Tyrosin-Hydroxylgruppe in AChE wechselwirken. Derivat **14** ist nicht nur wegen des unerwarteten Hemmpotentials eine interessante Verbindung. Aufgrund der geringen Molmasse und der amphiphilen Struktur könnte die Verbindung möglicherweise für die transdermale Applikation, welche oft mit vielen Vorteilen verbunden ist, geeignet sein.<sup>[167]</sup>

### 3.3 Polyzyklische Terpen-carbonsäureamide als selektive Inhibitoren von Butyrylcholinesterase

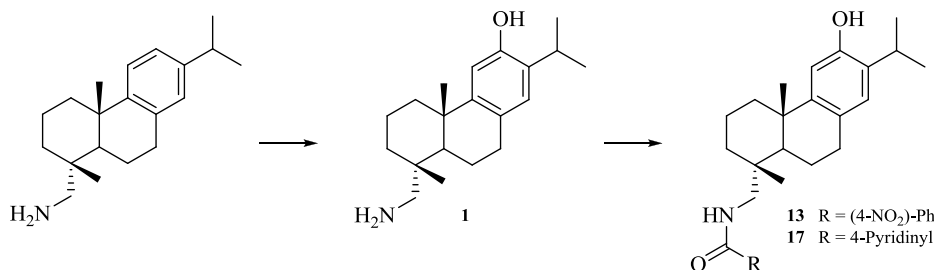
Terpene sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und umfassen die strukturell vielfältigste Klasse von Naturstoffen. Die Diversität der Terpenoide ist auf ihre komplexe Biosynthese zurückzuführen. Vereinfacht gesagt handelt es sich bei den Terpenen um enzymatisch zyklisierte/umgelagerte Produkte von linearen Alkenketten, welche eine charakteristische Anzahl an 1-4-verknüpften Isopreneinheiten enthalten.<sup>[168]</sup> Wie in

Tabelle 5 gezeigt, bestimmt die Anzahl der Isopreneinheiten (Isoprenregel<sup>[169]</sup>) den Typ des Terpens. Besonderes Interesse gilt in unserer Arbeitsgruppe den Diterpenen und Triterpenen. Erstere bestehen aus vier Isopreneinheiten und können abhängig von ihrem Grundgerüst in lineare, bi-, tri-, tetra-, penta- oder makrozyklische Diterpene eingeteilt werden. Aufbauend auf die bereits durch unseren

**Tabelle 5** Klassifizierung der Terpene.

C-Atome im Grundgerüst	Einheiten Isopren	Typ
5	1	Hemiterpene
10	2	Monoterpene
15	3	Sesquiterpene
<b>20</b>	<b>4</b>	<b>Diterpene</b>
25	5	Sesterterpene
<b>30</b>	<b>6</b>	<b>Triterpene</b>
40	8	Tetraterpene
> 40	> 8	Polyterpene

Arbeitskreis veröffentlichte Publikation über die hemmende Wirkung von Derivaten des Dehydroabietylamins (Abieta-8,11,13-trien-18-amin) auf die Enzymaktivität der Acetylcholinesterase<sup>[170]</sup> und der vielversprechenden Wirkung von Abieta-8,11,13-trien-12-ol als ChE-Inhibitor<sup>[171]</sup> haben wir uns entschlossen, ausgehend vom 12-Hydroxydehydroabietylamin (**1**), potentielle Anti-Cholinesterase-Wirkstoffe zu synthetisieren. Zunächst erfolgte dafür die Derivatisierung am C-Ring<sup>[172]</sup> des Dehydroabietylamins, gefolgt von der Modifikation der Aminogruppe an C-18 (siehe Abbildung 13).



**Abbildung 13** Syntheschema der 12-Hydroxydehydroabietylamide mit **13** und **17** als aktivste Verbindungen im Test.

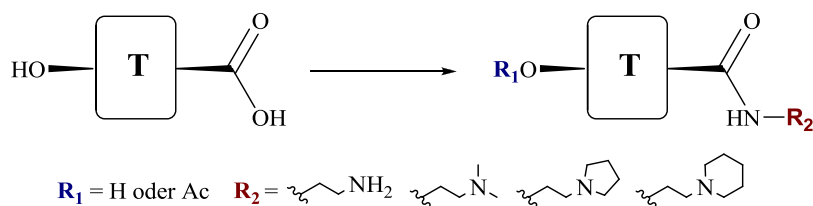
Verbindung **1** sowie die synthetisierten Amide **2** – **18** wurden anschließend auf ihre inhibitorischen Fähigkeiten getestet.

**Tabelle 6** Ergebnisse der enzymatischen Studien einiger ausgewählter Verbindungen.

Verbindung	AChE	BChE		
	Inhibierung (%)	Inhibierung (%)	K <sub>i</sub> / K <sub>i</sub> ' (μM)	Typ der Inhibierung
<b>1</b>	11,51 ± 1,74	31,65 ± 0,05		
<b>9</b>	93,22 ± 0,09	59,54 ± 0,11		
<b>12</b>	52,28 ± 0,38	75,46 ± 0,12	1,44 ± 0,14 / 7,00 ± 1,44	gemischt
<b>13</b>	6,32 ± 0,31	71,01 ± 0,26	0,72 ± 0,06	kompetitiv
<b>14</b>	19,65 ± 0,10	7,48 ± 0,36		
<b>16</b>	12,54 ± 0,69	74,53 ± 0,66	1,02 ± 0,09	kompetitiv
<b>17</b>	9,77 ± 0,75	75,87 ± 0,72	0,86 ± 0,19	kompetitiv
<b>18</b>	0,81 ± 0,14	6,90 ± 0,97		

Mit Ausnahme der *para*-CF<sub>3</sub>-Verbindung **9** (siehe Tabelle 6) zeigt keines der hergestellten Derivate eine signifikante Hemmung der Acetylcholinesterase. In Bezug auf die BChE zeigten dagegen viele der Diterpenamide eine vielversprechende Hemmwirkung und waren somit wesentlich aktiver als die Ausgangsverbindung **1**. Die Verbindungen mit dem höchsten Inhibierungspotential im Test waren die *meta*- und *para*-substituierten Nitroaromaten **12** und **13** sowie die Pyridinverbindungen **16** und **17**. Die für diese Substanzen durchgeführten kinetischen Experimente zeigten **12** als guten BChEI des Mischtyps. Bei den drei anderen Verbindungen handelt es sich um kompetitiv wirkende Inhibitoren der BChE. Die höchste Affinität zum Enzym zeigten das 4-NO<sub>2</sub>-Derivat **13** (K<sub>i</sub> = 0,72 μM) und das Isonicotinoyl-Derivat **17** (K<sub>i</sub> = 0,86 μM). Da die Acetylierung dieser Verbindungen zu einer enormen Herabsetzung der prozentualen Hemmung (**14** und **18**) führte, wurde auf diese Modifikation bei den übrigen Derivaten verzichtet. Für ein tieferes Verständnis über den Wirkmechanismus von **13** und **17** wurden Docking Studien durchgeführt. Interessanterweise haben beide kompetitiven Inhibitoren eine unterschiedliche Stellung in der Enzytasche der BChE. Der Grund für die ungleiche Orientierung liegt in der Nitrogruppe von **13**. Die genaue Beschreibung der Docking Experimente kann dem Anhang entnommen werden.

Pentazyklische Triterpene kommen in vielen verschiedenen Heilpflanzen vor. Sie zeigen die unterschiedlichsten biologischen Aktivitäten und dienen daher oft als Leitstrukturen für die Synthese potenzieller Therapeutika.<sup>[173]</sup> Aufgrund ihrer Vielfalt und des breiten Derivatisierungsspektrums stellen sie schon seit langer Zeit einen wichtigen Teil der Forschung in unserer Arbeitsgruppe dar. In der Vergangenheit konnten wir zeigen, dass gezielte Veränderung des Grundgerüsts zu potenten ChEI führen kann. Aufgrund der exzellenten Ergebnisse, die wir für die Amino-Platansäure-Derivate<sup>[174]</sup> und der in P3 beschriebenen Amide erhalten haben, wollten wir unser Augenmerk auf die biologische Evaluierung von pentacyklischen Triterpencarbonsäureamiden, die zusätzlich eine endständige Aminogruppe besitzen, setzen. Es wurden 40 verschiedene Derivate synthetisiert. Als Ausgangsstoff dienten fünf Triterpencarbonsäuren (Ursolsäure (**US**), Oleanolsäure (**OS**), Maslinsäure (**MS**), Betulinsäure (**BS**) und Platansäure), deren freie OH-Gruppen acetyliert wurden. Die anschließend generierten Säurechloride wurden direkt mit einer Diaminkomponente (siehe Abbildung 14) umgesetzt und die Schutzgruppe abschließend entfernt.

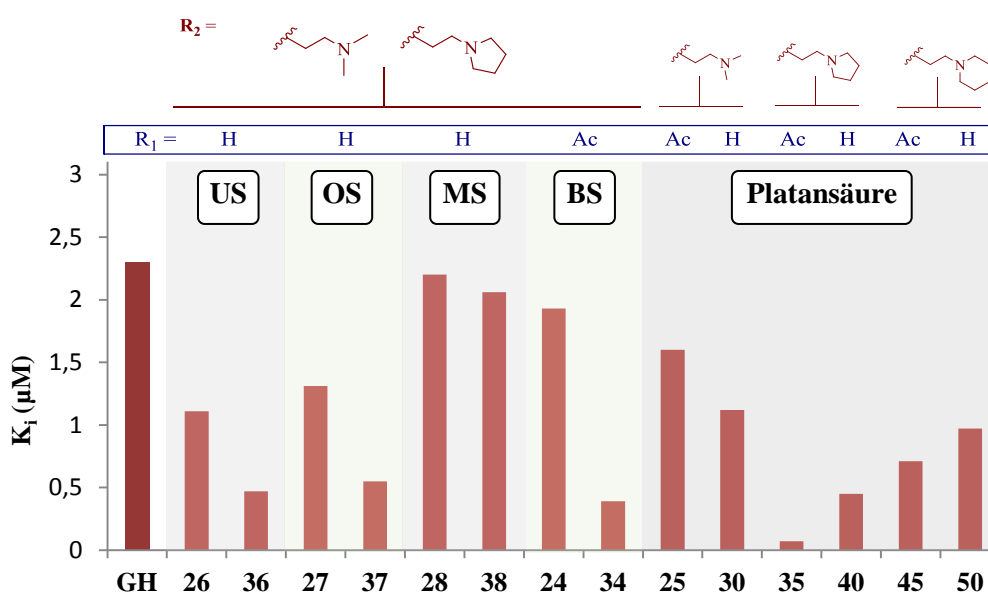


**Abbildung 14** Allgemeines Syntheschema der Triterpencarbonsäureamide; T symbolisiert die unterschiedlichen Triterpengrundgerüste.

Die Bestimmung der prozentualen Inhibierung diente erneut als Vorscreening. Es konnten insgesamt 17 potenzielle ChEI identifiziert werden. Nur zwei Derivate zeigten eine starke hemmende Wirkung auf die AChE. Von den 15 BChE-hemmenden Substanzen waren sieben Verbindungen in der Lage die Enzymaktivität sehr stark (Inhibierung > 80 %) zu senken. Es handelt sich hierbei nahezu ausschließlich um Platansäurederivate. Weiterführende kinetische Untersuchungen und das Aufstellen einer Struktur-Wirkungs-Beziehung zeigen deutliche Unterschiede der verwendeten Triterpengrundgerüste in Bezug auf die Inhibierungskonstanten. In Abbildung 15 sind die aktivsten Verbindungen eines jeden Grundgerüsts dargestellt. Es ist ersichtlich, dass die Maslinsäure-Derivate die geringste inhibierende Wirkung auf die Butyrylcholinesterase haben. Weiterhin haben unsere Tests ergeben, dass Verbindungen mit einem Aminoethylrest ebenfalls nur moderate BChE-Inhibitoren darstellen. Die Umsetzung mit *N,N*-Dimethylethylendiamin und 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin führte bei



den Derivaten der **US**, **OS**, **MS** und **BS** jeweils zu den aktivsten Substanzen. Es ist dabei klar zu erkennen, dass die Verbindungen mit einem Pyrrolidinrest die höchste Bindungsaffinität zur BChE besitzen. Die Verbindungen **34** ( $K_i = 0,39 \mu\text{M}$ ), **36** ( $K_i = 0,47 \mu\text{M}$ ) und **37** ( $K_i = 0,55 \mu\text{M}$ ) zeigen exzellente Inhibierungskonstanten in Bezug auf BChE.



**Abbildung 15** Graphische Darstellung der inhibitorischen Aktivität ( $K_i$  in  $\mu\text{M}$ ) der aktivsten Verbindungen bezogen auf BChE.

Mit Ausnahme der Aminoethyl-Derivate zeigen alle Verbindungen der Platansäure, wie eingangs erwartet, gute bis exzellente  $K_i$ -Werte. Neben den Piperidin-haltigen Substanzen weisen erneut die Verbindungen mit einem Pyrrolidinrest die besten Ergebnisse auf. Der aktivste Inhibitor in unserer Reihe ist das Platansäurederivat **35** ( $K_i = 0,07 \mu\text{M}$ ). Bei dieser Verbindung handelt es sich ähnlich der zweitbesten Verbindung (**34**) um die acetylierte Form eines vom Lupan-Typ abgeleiteten Grundgerüsts. Der herausragende  $K_i$ -Wert von **35** ist unter anderem mit der Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Acetylgruppe der Verbindung und einer phenolischen Tyrosin-Hydroxygruppe zu begründen. Ausführliche Informationen zu allen synthetisierten Derivaten, die Ergebnisse des Ellman Assays sowie der Docking Experimente können den Publikationen P3 „*Novel 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives act as potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors*“ und P4 „*Triterpene-based carboxamides act as good inhibitors of butyrylcholinesterase*“ entnommen werden.

#### 4. Zusammenfassung der Dissertation und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden in vier Publikationen veröffentlicht. Im Rahmen dieser Arbeit konnte eine Substanzbibliothek von 22 Picloxydin-Derivaten synthetisiert und erstmals auf ihre potenzielle Hemmwirkung auf die beiden Enzyme Acetylcholinesterase (AChE) und Butyrylcholinesterase (BChE) untersucht werden. In Bezug auf die BChE konnte durch systematische Veränderung der Arylsubstituenten eine Vielzahl von Bisbiguaniden generiert werden, deren  $K_i$ -Werte deutlich niedriger als die der Referenzsubstanz Galantamin Hydrobromid **GH** ( $K_i = 2,07 \mu\text{M}$ ) sind. Das in Abbildung 16 dargestellte *tert*-Butylderivat **42** ist die aktivste Verbindung dieser Reihe und stellt mit  $K_i = 0,12 \mu\text{M}$  und  $K_i' = 4,41 \mu\text{M}$  einen exzellenten BChE-Inhibitor des gemischten Hemmtyps dar. Die inhibitorische Aktivität der Leitverbindung Picloxydin **PD** ( $K_i = 0,62 \mu\text{M}$ ,  $K_i' = 9,37 \mu\text{M}$ ) konnte somit deutlich verbessert werden.

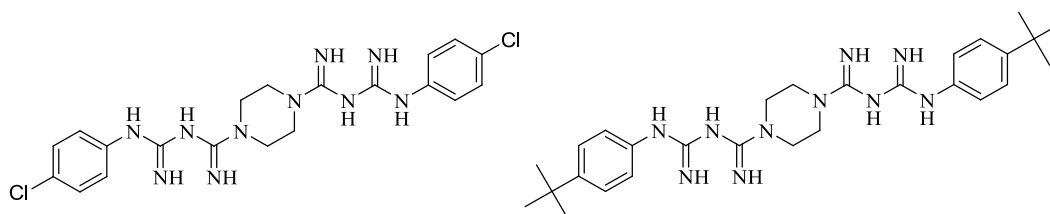


Abbildung 16 Struktur von **PD** (links) und des aktivsten BChEI **42** (rechts) der Publikation P1.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand in der Synthese und anschließenden biologischen Evaluierung von *trans*-2-Alkensäuren. Der Einfluss der Doppelbindung sowie der Kettenlänge auf die ChE-Inhibierung sollten untersucht werden. Im Allgemeinen konnte gezeigt werden, dass die getesteten Verbindungen keine inhibitorische Wirkung auf das Enzym BChE haben. Des Weiteren weisen die gesättigten Fettsäuren im Vergleich zu den *trans*-konfigurierten Fettsäuren einen geringeren Inhibierungsgrad auf. Die Variation der Kettenlänge hat dabei eine signifikante Auswirkung auf die Hemmwirkung. Eine Anzahl von 18 bzw. 20 Kohlenstoffatomen erwies sich als die „optimale“ Kette. Eine unerwartet gute AChE-Inhibierung zeigte die (2*E*)-2-Eicosensäure **14** (Abbildung 17). Es konnte gezeigt werden, dass **14** ( $K_i = 1,51 \mu\text{M}$ ,  $K_i' = 7,15 \mu\text{M}$ ) im Vergleich zur (2*E*)-2-Octadecensäure **13** ( $K_i = 3,21 \mu\text{M}$ ,  $K_i' = 5,51 \mu\text{M}$ ) eine doppelt so hohe Affinität zur Bindung an das aktive Zentrum der AChE besitzt.

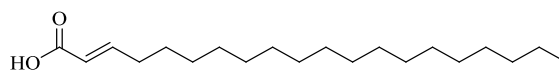


Abbildung 17 Struktur des (2*E*)-2-Eicosensäure **14** (Publikation P2).

Im letzten Teil dieser Arbeit lag das Hauptaugenmerk auf der Modifizierung der weitverbreiteten Naturstoffklasse der pentazyklischen Terpene. Im Schwerpunkt stand die Derivatisierung des Dehydroabietylamins. Das Grundgerüst dieses Diterpens wurde zunächst an C-12 modifiziert und anschließend mit einer aromatischen Carbonsäure umgesetzt. Die Serie von 12-Hydroxydehydroabietylamin-Derivaten wurde enzymatisch untersucht. Die Evaluierung der Inhibierungsfähigkeit hat gezeigt, dass einige dieser Verbindungen in der Lage sind die BChE in einem hohen Ausmaß zu hemmen. Für die AChE konnte hingegen keine bedeutsame Senkung der Aktivität festgestellt werden. Die Veränderung des aromatischen Restes hat einen entscheidenden Einfluss auf die Anti-BChE-Fähigkeit. Die kinetischen Experimente konnten drei selektiv wirkende Inhibitoren der BChE mit Inhibierungskonstanten im einstelligen mikromolaren Bereich aufzeigen. Diese BChEI sind in der Lage das Enzym kompetitiv zu hemmen und besitzen somit denselben Hemmtyp wie die Referenzsubstanz **GH**. Abbildung 18 zeigt die die *para*-Nitro-Verbindung **13** ( $K_i = 0,72 \mu\text{M}$ ) und das Isonicotinoyl-Derivat **17** ( $K_i = 0,86 \mu\text{M}$ ), die zwei aktivsten Substanzen dieser Reihe.

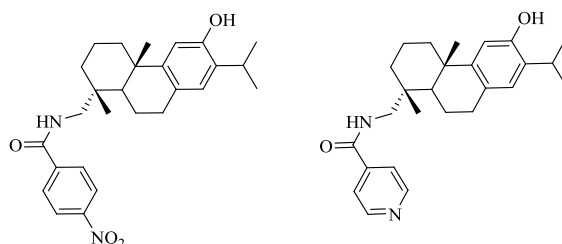
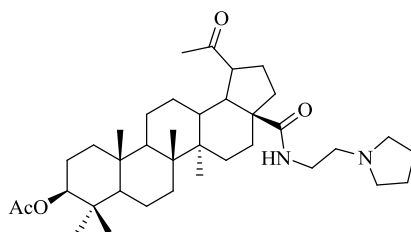


Abbildung 18 Struktur der aktivsten BChEIs **13** (links) und **17** (rechts) der Publikation P3.

Ein weiterer Fokus der Arbeit lag auf der Derivatisierung ausgewählter pentazyklischer Triterpencarbonsäuren. Ausgehend von der Ursol-, Oleanol-, Maslin-, Betulin- und Platansäure wurde eine Substanzbibliothek von 40 Carbonsäureamiden mit unterschiedlichen endständigen Aminogruppen aufgebaut. Die generierten Substanzen weisen ein wesentlich höheres Hemmpotential für die Butyrylcholinesterase auf. Die Untersuchungen zur Struktur-Wirkungs-Beziehung zeigen, dass es sich bei Pyrrolidin um die effektivste Aminkomponente handelt. Die Derivate der Betulinsäure **34**, Ursolsäure **36** und Oleanolsäure **37** zeigen herausragende  $K_i$ -Werte ( $0,39 - 0,55 \mu\text{M}$ ) und fungieren somit als sehr gute Inhibitoren der BChE. Besonders hervorzuheben ist das hohe Potential der BChE-Inhibierung der Platansäure-Derivate. Die Ergebnisse der enzymatischen Studien zeigen vier Verbindungen mit  $K_i$ -Werten unterhalb von  $1 \mu\text{M}$ .

Mit der Kombination aus Platansäure-Grundgerüst und Pyrrolidin als endständigem Amin erfolgte die Synthese der aktivsten Verbindung der Serie. Derivat **35** (Abbildung 19) ist mit  $K_i = 0,07 \mu\text{M}$  und  $K_i' = 2,38 \mu\text{M}$  ein überragender Inhibitor der BChE.



**Abbildung 19** Struktur des aktivsten BChEI **35** der Publikation P4.

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten das enorme Potential von Naturstoffanaloga hinsichtlich der Inhibierung von Cholinesterasen verdeutlichen. Die Synthese von selektiven Butyrylcholinesterase-Hemmstoffen ist von hoher Relevanz, da diese Wirkstoffklasse bisher eine untergeordnete Rolle unter den gängigen Anti-Alzheimer-Medikamenten spielt und besonders in späten Stadien der Krankheit von Bedeutung sein könnte. Eine tiefgründigere Erforschung der neuen ChE-Inhibitoren ist zur besseren Einschätzung des pharmakologischen Potentials notwendig.

## 5. Literaturverzeichnis

- [1] B. Rasch, J. Born, *Physiol. Rev.* **2013**, *93*, 681–766.
- [2] O. T. Wolf, *Curr. Opin. Behav. Sci.* **2017**, *14*, 40–46.
- [3] P. P. Foster, K. P. Rosenblatt, R. O. Kuljiš, *Front. Neurol.* **2011**, *2*, 28.
- [4] B. M. Popkin, K. E. D’Anci, I. H. Rosenberg, *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 439–458.
- [5] J. T. Wixted, *Annu. Rev. Psychol.* **2004**, *55*, 235–269.
- [6] “World Alzheimer Report 2018”; <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2018.pdf?2> (zuletzt aufgerufen am 20.03.2019).
- [7] B. Spenciere, H. Alves, H. Charchat-Fichman, *Dement. Neuropsychol.* **2017**, *11*, 6–14.
- [8] K. I. Shulman, R. Shedletsky, I. L. Silver, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **1986**, *1*, 135–140.
- [9] “The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders, Clinical descriptions and diagnostic guidelines, WHO”; <https://www.who.int/classifications/icd/en/bluebook.pdf> (zuletzt aufgerufen am 10.04.2019).
- [10] A. Lobo, L. J. Launer, L. Fratiglioni, K. Andersen, A. Di Carlo, M. M. Breteler, J. R. Copeland, J. F. Dartigues, C. Jagger, J. Martinez-Lage, H. Soininen, A. Hofman, *Neurology* **2000**, *54* (Suppl 5), S4–S9.
- [11] M. Prince, R. Bryce, E. Albanese, A. Wimo, W. Ribeiro, C. P. Ferri, *Alzheimer’s & Dementia* **2013**, *9*, 63–75.
- [12] R. C. Petersen, *J. Intern. Med.* **2004**, *256*, 183–194.
- [13] H. C. Chui, L. Ramirez-Gomez, *Alzheimer’s Res. Ther.* **2015**, *7*, 21.
- [14] D. Zekry, J.-J. Hauw, G. Gold, *J. Am. Geriatr. Soc.* **2002**, *50*, 1431–1438.
- [15] M. Tripathi, D. Vibha, *Indian J. Psychiatry* **2009**, *51* (Suppl 1), S52–S55.
- [16] V. M. E. Bello, R. R. Schultz, *Dement. Neuropsychol.* **2011**, *5*, 44–47.
- [17] R. J. Castellani, G. Perry, *J. Alzheimer’s Dis.* **2017**, *60*, 1209–1221.
- [18] J. M. Starr, L. J. Whalley, *Drug Saf.* **1994**, *11*, 310–317.
- [19] N. J. Ridley, B. Draper, A. Withall, *Alzheimer’s Res. Ther.* **2013**, *5*, 3.
- [20] A. Sachdeva, M. Chandra, M. Choudhary, P. Dayal, K. S. Anand, *Int. J. High Risk Behav. Addict.* **2016**, *5*, e27976.
- [21] J. T. O’Brien, A. Thomas, *Lancet* **2015**, *386*, 1698–1706.
- [22] H. V. Vinters, C. Zarow, E. Borys, J. D. Whitman, S. Tung, W. G. Ellis, L. Zheng, H. C. Chui, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **2018**, *44*, 247–266.
- [23] N. Custodio, R. Montesinos, D. Lira, E. Herrera-Pérez, Y. Bardales, L. Valeriano-Lorenzo, *Dement. Neuropsychol.* **2017**, *11*, 364–370.
- [24] I. McKeith, J. Mintzer, D. Aarsland, D. Burn, H. Chiu, J. Cohen-Mansfield, D. Dickson, B. Dubois, J. E. Duda, H. Feldman, S. Gauthier, G. Halliday, B. Lawlor, C. Lippa, O. L. Lopez, J. C. Machado, J. O’Brien, J. Playfer, *Lancet Neurol.* **2004**, *3*, 19–28.
- [25] Z. Walker, K. L. Possin, B. F. Boeve, D. Aarsland, *Lancet* **2015**, *386*, 1683–1697.
- [26] D. Neary, J. Snowden, D. Mann, *Lancet Neurol.* **2005**, *4*, 771–780.
- [27] J. Bang, S. Spina, B. L. Miller, *Lancet* **2015**, *386*, 1672–1682.
- [28] D. Hsu, G. A. Marshall, *Curr. Alzheimer Res.* **2017**, *14*, 426–440.
- [29] “Alzheimer’s Disease Facts and Figures Report 2019”; <https://www.alz.org/media/Documents/alzheimers-facts-and-figures-2019-r.pdf> (zuletzt aufgerufen am 26.03.2019).
- [30] A. Alzheimer, *Allg. Z. Psychiatr. Psych.-Gerichtl. Med.* **1907**, *64*, 146–148.
- [31] G. Cipriani, C. Dolciotti, L. Picchi, U. Bonuccelli, *Neurol. Sci.* **2011**, *32*, 275–279.

- [32] B. Reisberg, S. H. Ferris, M. J. de Leon, T. Crook, *Am. J. Psychiatry* **1982**, *139*, 1136–1139.
- [33] T. D. Bird, *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 862–864.
- [34] R. H. Swerdlow, *Clin. Interv. Aging* **2007**, *2*, 347–359.
- [35] A. Grzybowski, A. Pięta, M. Pugaczewska, *J. Neurol.* **2017**, *264*, 1831–1832.
- [36] G. Blessed, B. E. Tomlinson, M. Roth, *Br. J. Psychiatry* **1968**, *114*, 797–811.
- [37] M. Roth, B. E. Tomlinson, G. Blessed, *Proc. R. Soc. Med.* **1967**, *60*, 254–260.
- [38] G. G. Glenner, C. W. Wong, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1984**, *120*, 885–890.
- [39] C. L. Masters, G. Simms, N. A. Weinman, G. Multhaup, B. L. McDonald, K. Beyreuther, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1985**, *82*, 4245–4249.
- [40] J. Kang, H.-G. Lemaire, A. Unterbeck, J. M. Salbaum, C. L. Masters, K.-H. Grzeschik, G. Multhaup, K. Beyreuther, B. Müller-Hill, *Nature* **1987**, *325*, 733–736.
- [41] D. Goldgaber, M. I. Lerman, O. W. McBride, U. Saffiotti, D. C. Gajdusek, *Science* **1987**, *235*, 877–880.
- [42] F. M. LaFerla, K. N. Green, S. Oddo, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 499–509.
- [43] C. Haass, D. J. Selkoe, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 101–112.
- [44] K. S. Kosik, C. L. Joachim, D. J. Selkoe, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1986**, *83*, 4044–4048.
- [45] I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, Y. C. Tung, M. Quinlan, H. M. Wisniewski, L. I. Binder, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1986**, *83*, 4913–4917.
- [46] J. Hardy, D. Allsop, *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 383–388.
- [47] J. Hardy, D. J. Selkoe, *Science* **2002**, *297*, 353–356.
- [48] D. J. Selkoe, J. Hardy, *EMBO Mol. Med.* **2016**, *8*, 595–608.
- [49] F. Kametani, M. Hasegawa, *Front. Neurosci.* **2018**, *12*, 25.
- [50] N. R. Sims, D. M. Bowen, S. J. Allen, C. C. Smith, D. Neary, D. J. Thomas, A. N. Davison, *J. Neurochem.* **1983**, *40*, 503–509.
- [51] A. V. Terry, J. J. Buccafusco, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, *306*, 821–827.
- [52] P. T. Francis, A. M. Palmer, M. Snape, G. K. Wilcock, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **1999**, *66*, 137–147.
- [53] A. Walters, E. Phillips, R. Zheng, M. Biju, T. Kuruvilla, *Progress in Neurology and Psychiatry* **2016**, *20*, 25–31.
- [54] M. Gatz, C. A. Reynolds, L. Fratiglioni, B. Johansson, J. A. Mortimer, S. Berg, A. Fiske, N. L. Pedersen, *Arch. Gen. Psychiatry* **2006**, *63*, 168–174.
- [55] C. Van Cauwenberghe, C. Van Broeckhoven, K. Sleegers, *Genet. Med.* **2016**, *18*, 421–430.
- [56] R. F. de Bruijn, M. J. Bos, M. L. Portegies, A. Hofman, O. H. Franco, P. J. Koudstaal, M. A. Ikram, *BMC Med.* **2015**, *13*, 132.
- [57] M. L. Daviglus, C. C. Bell, W. Berrettini, P. E. Bowen, E. S. Connolly, N. J. Cox, J. M. Dunbar-Jacob, E. C. Granieri, G. Hunt, K. McGarry, D. Patel, A. L. Potosky, E. Sanders-Bush, D. Silberberg, M. Trevisan, *NIH Consens. State Sci. Statements* **2010**, *27*, 1–30.
- [58] D. E. Barnes, K. Yaffe, *Lancet Neurol.* **2011**, *10*, 819–828.
- [59] A. Hofman, A. Ott, M. M. Breteler, M. L. Bots, A. J. Slooter, F. van Harskamp, C. N. van Duijn, C. Van Broeckhoven, D. E. Grobbee, *Lancet* **1997**, *349*, 151–154.
- [60] M. Kivipelto, E. L. Helkala, M. P. Laakso, T. Hänninen, M. Hallikainen, K. Alhainen, H. Soininen, J. Tuomilehto, A. Nissinen, *BMJ* **2001**, *322*, 1447–1451.

- [61] R. F. Gottesman, A. L. C. Schneider, Y. Zhou, J. Coresh, E. Green, N. Gupta, D. S. Knopman, A. Mintz, A. Rahmim, A. R. Sharrett, L. E. Wagenknecht, D. F. Wong, T. H. Mosley, *JAMA* **2017**, *317*, 1443–1450.
- [62] G. McKhann, D. Drachman, M. Folstein, R. Katzman, D. Price, E. M. Stadlan, *Neurology* **1984**, *34*, 939–944.
- [63] R. A. Sperling, P. S. Aisen, L. A. Beckett, D. A. Bennett, S. Craft, A. M. Fagan, T. Iwatsubo, C. R. Jack, J. Kaye, T. J. Montine, D. C. Park, E. M. Reiman, C. C. Rowe, E. Siemers, Y. Stern, K. Yaffe, M. C. Carrillo, B. Thies, M. Morrison-Bogorad, M. V. Wagster, C. H. Phelps, *Alzheimer's & Dementia* **2011**, *7*, 280–292.
- [64] G. M. McKhann, D. S. Knopman, H. Chertkow, B. T. Hyman, C. R. Jack, C. H. Kawas, W. E. Klunk, W. J. Koroshetz, J. J. Manly, R. Mayeux, R. C. Mohs, J. C. Morris, M. N. Rossor, P. Scheltens, M. C. Carrillo, B. Thies, S. Weintraub, C. H. Phelps, *Alzheimer's & Dementia* **2011**, *7*, 263–269.
- [65] M. S. Albert, S. T. DeKosky, D. Dickson, B. Dubois, H. H. Feldman, N. C. Fox, A. Gamst, D. M. Holtzman, W. J. Jagust, R. C. Petersen, P. J. Snyder, M. C. Carrillo, B. Thies, C. H. Phelps, *Alzheimer's & Dementia* **2011**, *7*, 270–279.
- [66] A. E. Budson, P. R. Solomon, *Neurologist* **2012**, *18*, 356–363.
- [67] C. R. Jack, D. A. Bennett, K. Blennow, M. C. Carrillo, B. Dunn, S. B. Haeberlein, D. M. Holtzman, W. Jagust, F. Jessen, J. Karlawish, E. Liu, J. L. Molinuevo, T. Montine, C. Phelps, K. P. Rankin, C. C. Rowe, P. Scheltens, E. Siemers, H. M. Snyder, R. Sperling, C. Elliott, E. Masliah, L. Ryan, N. Silverberg, *Alzheimer's & Dementia* **2018**, *14*, 535–562.
- [68] C. L. Satizabal, A. S. Beiser, V. Chouraki, G. Chêne, C. Dufouil, S. Seshadri, *N. Engl. J. Med.* **2016**, *374*, 523–532.
- [69] L. Grasset, C. Brayne, P. Joly, H. Jacqmin-Gadda, K. Peres, A. Foubert-Samier, J.-F. Dartigues, C. Helmer, *Alzheimer's & Dementia* **2016**, *12*, 272–280.
- [70] K. M. Langa, E. B. Larson, E. M. Crimmins, J. D. Faul, D. A. Levine, M. U. Kabeto, D. R. Weir, *JAMA Intern. Med.* **2017**, *177*, 51–58.
- [71] R. A. Sperling, C. R. Jack, P. S. Aisen, *Sci. Transl. Med.* **2011**, *3*, 111cm33.
- [72] J. H. Barnett, L. Lewis, A. D. Blackwell, M. Taylor, *BMC Neurol.* **2014**, *14*, 101.
- [73] D. Mehta, R. Jackson, G. Paul, J. Shi, M. Sabbagh, *Expert. Opin. Investig. Drugs* **2017**, *26*, 735–739.
- [74] “A Study of Crenezumab Versus Placebo in Preclinical Presenilin1 (PSEN1) E280A Mutation Carriers to Evaluate Efficacy and Safety in the Treatment of Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease (AD), Including a Placebo-Treated Non-Carrier Cohort”; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01998841> (zuletzt aufgerufen am 02.04.2019).
- [75] P. N. Tariot, F. Lopera, J. B. Langbaum, R. G. Thomas, S. Hendrix, L. S. Schneider, S. Rios-Romenets, M. Giraldo, N. Acosta, C. Tobon, C. Ramos, A. Espinosa, W. Cho, M. Ward, D. Clayton, M. Friesenhahn, H. Mackey, L. Honigberg, S. Sanabria Bohorquez, K. Chen, T. Walsh, C. Langlois, E. M. Reiman, *Alzheimer's & Dementia* **2018**, *4*, 150–160.
- [76] O. Adolfsson, M. Pihlgren, N. Toni, Y. Varisco, A. L. Buccarello, K. Antonello, S. Lohmann, K. Piorowska, V. Gafner, J. K. Atwal, J. Maloney, M. Chen, A. Gogineni, R. M. Weimer, D. L. Mortensen, M. Friesenhahn, C. Ho, R. Paul, A. Pfeifer, A. Muhs, R. J. Watts, *J. Neurosci.* **2012**, *32*, 9677–9689.
- [77] “Dominantly Inherited Alzheimer Network Trial: An Opportunity to Prevent Dementia. A Study of Potential Disease Modifying Treatments in Individuals at Risk for or With a Type of Early Onset Alzheimer's Disease Caused by a

- Genetic Mutation. (DIAN-TU)”; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01760005> (zuletzt aufgerufen am 02.04.2019).
- [78] K. L. Moulder, B. Snider, S. L. Mills, V. D. Buckles, A. M. Santacruz, R. J. Bateman, J. C. Morris, *Alzheimer’s Res. Ther.* **2013**, *5*, 48.
- [79] B. Bohrmann, K. Baumann, J. Benz, F. Gerber, W. Huber, F. Knoflach, J. Messer, K. Oroszlan, R. Rauchenberger, W. F. Richter, C. Rothe, M. Urban, M. Bardroff, M. Winter, C. Nordstedt, H. Loetscher, *J. Alzheimer’s Dis.* **2012**, *28*, 49–69.
- [80] G. Gallardo, D. M. Holtzman, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2017**, *7*, a024331.
- [81] “Clinical Trial of Solanezumab for Older Individuals Who May be at Risk for Memory Loss (A4)”; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02008357> (zuletzt aufgerufen am 02.04.2019).
- [82] R. A. Sperling, D. M. Rentz, K. A. Johnson, J. Karlawish, M. Donohue, D. P. Salmon, P. Aisen, *Sci. Transl. Med.* **2014**, *6*, 228fs13.
- [83] “Biomarker Qualification for Risk of Mild Cognitive Impairment (MCI) Due to Alzheimer’s Disease (AD) and Safety and Efficacy Evaluation of Pioglitazone in Delaying Its Onset (TOMMORROW)”; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01931566> (zuletzt aufgerufen am 02.04.2019).
- [84] D. Galimberti, E. Scarpini, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2017**, *26*, 97–101.
- [85] “Takeda and Zinfandel Pharmaceuticals Discontinue TOMMORROW Trial Following Planned Futility Analysis”; <https://www.takeda.com/newsroom/newsreleases/2018/takeda-tommorrow-trial> (zuletzt aufgerufen am 02.04.2019).
- [86] A. Solomon, F. Mangialasche, E. Richard, S. Andrieu, D. A. Bennett, M. Breteler, L. Fratiglioni, B. Hooshmand, A. S. Khachaturian, L. S. Schneider, I. Skoog, M. Kivipelto, *J. Intern. Med.* **2014**, *275*, 229–250.
- [87] J. F. Hodes, C. I. Oakley, J. H. O’Keefe, P. Lu, J. E. Galvin, N. Saif, S. Bellara, A. Rahman, Y. Kaufman, H. Hristov, T. K. Rajji, A. M. Fosnacht Morgan, S. Patel, D. A. Merrill, S. Kaiser, J. Meléndez-Cabrero, J. A. Melendez, R. Krikorian, R. S. Isaacson, *Front. Neurol.* **2019**, *9*, 1179.
- [88] L. D. Kim, R. M. Factora, *Cleve. Clin. J. Med.* **2018**, *85*, 209–214.
- [89] L. S. Schneider, K. S. Dagerman, J.P. Higgins, R. McShane, *Arch. Neurol.* **2011**, *68*, 991–998.
- [90] D. M. Robinson, G. M. Keating, *Drugs* **2006**, *66*, 1515–1534.
- [91] S. J. Thomas, G. T. Grossberg, *Clin. Interv. Aging* **2009**, *4*, 367–377.
- [92] R. D. Terry, P. Davies, *Annu. Rev. Neurosci.* **1980**, *3*, 77–95.
- [93] H. Sugimoto, *Chem. Biol. Interact.* **2008**, *175*, 204–208.
- [94] E. Scarpini, P. Scheltens, H. Feldman, *Lancet Neurol.* **2003**, *2*, 539–547.
- [95] J. Massoulié, L. Pezzementi, S. Bon, E. Krejci, F. M. Vallette, *Prog. Neurobiol.* **1993**, *41*, 31–91.
- [96] M. E. Appleyard, *Trends Neurosci.* **1992**, *15*, 485–490.
- [97] M. B. Colović, D. Z. Krstić, T. D. Lazarević-Pašti, A. M. Bondžić, V. M. Vasić, *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11*, 315–335.
- [98] D. M. Quinn, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 955–979.
- [99] J. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* **1991**, *253*, 872–879.
- [100] J. C. Ma, D. A. Dougherty, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1303–1324.
- [101] H. Dvir, I. Silman, M. Harel, T. L. Rosenberry, J. L. Sussman, *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *187*, 10–22.
- [102] T. Szegletes, W. D. Mallender, P. J. Thomas, T. L. Rosenberry, *Biochemistry* **1999**, *38*, 122–133.



- [103] W. D. Mallender, T. Szegletes, T. L. Rosenberry, *Biochemistry* **2000**, *39*, 7753–7763.
- [104] Y. Bourne, Z. Radić, H. C. Kolb, K. B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, *Chem. Biol. Interact.* **2005**, *157–158*, 159–165.
- [105] M. Bajda, A. Więckowska, M. Hebda, N. Guzior, C. Sottriffer, B. Malawska, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 5608–5632.
- [106] O. Lockridge, C. F. Bartels, T. A. Vaughan, C. K. Wong, S. E. Norton, L. L. Johnson, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 549–557.
- [107] A. Chatonnet, O. Lockridge, *Biochem. J.* **1989**, *260*, 625–634.
- [108] T. L. Rosenberry, X. Brazzolotto, I. R. Macdonald, M. Wandhammer, M. Trovaslet-Leroy, S. Darvesh, F. Nachon, *Molecules* **2017**, *22*, 2098.
- [109] O. Lockridge, *Pharmacol. Ther.* **2015**, *148*, 34–46.
- [110] L. Santarpia, I. Grandone, F. Contaldo, F. Pasanisi, *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2013**, *4*, 31–39.
- [111] P. Taylor, Z. Radić, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1994**, *34*, 281–320.
- [112] E. Giacobini, *Jpn. J. Pharmacol.* **1997**, *74*, 225–241.
- [113] E. Giacobini, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2003**, *18*, 1–5.
- [114] E. K. Perry, R. H. Perry, G. Blessed, B. E. Tomlinson, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **1978**, *4*, 273–277.
- [115] A. L. Guillozet, J. F. Smiley, D. C. Mash, M. M. Mesulam, *Ann. Neurol.* **1997**, *42*, 909–918.
- [116] S. Darvesh, M. K. Cash, G. A. Reid, E. Martin, A. Mitnitski, C. Geula, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2012**, *71*, 2–14.
- [117] K. L. Davis, R. C. Mohs, *Am. J. Psychiatry* **1982**, *139*, 1421–1424.
- [118] M. Gibson, T. Moore, C. M. Smith, R. Whelpton, *Lancet* **1985**, *1*, 695–696.
- [119] N. S. Sharpless, L. J. Thal, *Lancet* **1985**, *1*, 1397–1398.
- [120] Y. Stern, M. Sano, R. Mayeux, *Ann. Neurol.* **1987**, *22*, 306–310.
- [121] L. Azevedo Marques, M. Giera, H. Lingeman, W. M. Niessen, *Biomed. Chromatogr.* **2011**, *25*, 278–299.
- [122] E. Heilbronn, *Acta Chem. Scand.* **1961**, *15*, 1386–1390.
- [123] W. K. Summers, L. V. Majovski, G. M. Marsh, K. Tachiki, A. Kling, *N. Engl. J. Med.* **1986**, *315*, 1241–1245.
- [124] K. L. Davis, L. J. Thal, E. R. Gamzu, C. S. Davis, R. F. Woolson, S. I. Gracon, D. A. Drachman, L. S. Schneider, P. J. Whitehouse, T. M. Hoover, N. L. Earl, V. Kumar, R. S. Doody, *N. Engl. J. Med.* **1992**, *327*, 1253–1259.
- [125] Y.-H. Lou, J.-S. Wang, G. Dong, P.-P. Guo, D.-D. Wei, S.-S. Xie, M.-H. Yang, L.-Y. Kong, *Toxicol. Res.* **2015**, *4*, 1465–1478.
- [126] C. de los Ríos, J. Marco-Contelles, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *166*, 381–389.
- [127] J. Knowles, *Core Evid.* **2006**, *1*, 195–219.
- [128] H. Sugimoto, Y. Iimura, Y. Yamanishi, K. Yamatsu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 871–876.
- [129] H. Sugimoto, Y. Iimura, Y. Yamanishi, K. Yamatsu, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4821–4829.
- [130] V. Jelic, T. Darreh-Shori, *Clin. Med. Insights Ther.* **2010**, *2*, 771–788.
- [131] A. Ohnishi, M. Mihara, H. Kamakura, Y. Tomono, J. Hasegawa, K. Yamazaki, N. Morishita, T. Tanaka, *J. Clin. Pharmacol.* **1993**, *33*, 1086–1091.
- [132] S. L. Rogers, M. R. Farlow, R. S. Doody, R. Mohs, L. T. Friedhoff, *Neurology* **1998**, *50*, 136–145.
- [133] S. L. Rogers, R. S. Doody, R. C. Mohs, L. T. Friedhoff, *Arch. Intern. Med.* **1998**, *158*, 1021–1031.

- [134] A. Burns, M. Rossor, J. Hecker, S. Gauthier, H. Petit, H. J. Möller, S. L. Rogers, L. T. Friedhoff, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **1999**, *10*, 237–244.
- [135] M. Boada-Rovira, H. Brodaty, P. Cras, S. Baloyannis, M. Emre, R. Zhang, R. Bahra, 322 Study Group, *Drugs Aging* **2004**, *21*, 43–53.
- [136] S. Mehta, K. Chandrasekhar, G. Prasadrao, L. Dutt, S. Patkar, R. D. Nagpal, M. Gupta, G. S. P. Raju, K. K. Praveen, B. S. V. Prasad, T. Roy, S. Kushwaha, J. Nag, D. Langade, D. Pawar, *Indian J. Psychiatry* **2012**, *54*, 337–343.
- [137] B. Seltzer, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2005**, *1*, 527–536.
- [138] B. R. Williams, A. Nazarians, M. A. Gill, *Clinical Therapeutics* **2003**, *25*, 1634–1653.
- [139] J. Birks, J. Grimley Evans, V. Iakovidou, M. Tsolaki, F. E. Holt, *Cochrane Database Syst. Rev.* **2009**, *2*, CD001191.
- [140] B. Winblad, J. Cummings, N. Andreasen, G. Grossberg, M. Onofrj, C. Sadowsky, S. Zechner, J. Nagel, R. Lane, *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2007**, *22*, 456–467.
- [141] N. Kandiah, M.-C. Pai, V. Senanarong, I. Looi, E. Ampil, K. W. Park, A. K. Karanam, S. Christopher, *Clin. Interv. Aging* **2017**, *12*, 697–707.
- [142] R. Bullock, J. Touchon, H. Bergman, G. Gambina, Y. He, G. Rapatz, J. Nagel, R. Lane, *Curr. Med. Res. Opin.* **2005**, *21*, 1317–1327.
- [143] D. S. Woodruff-Pak, C. Lander, H. Geerts, *CNS Drug Rev.* **2002**, *8*, 405–426.
- [144] H. A. Mucke, *Future Sci. OA* **2015**, *1*, FSO73.
- [145] M. Unzeta, G. Esteban, I. Bolea, W. A. Fogel, R. R. Ramsay, M. B. H. Youdim, K. F. Tipton, J. Marco-Contelles, *Front. Neurosci.* **2016**, *10*, 205.
- [146] A. L. Harvey, *Pharmacol. Ther.* **1995**, *68*, 113–128.
- [147] T. Thomsen, H. Kewitz, *Life Sci.* **1990**, *46*, 1553–1558.
- [148] H. M. Greenblatt, G. Kryger, T. Lewis, I. Silman, J. L. Sussman, *FEBS Lett.* **1999**, *463*, 321–326.
- [149] M. A. Raskind, E. R. Peskind, T. Wessel, W. Yuan, *Neurology* **2000**, *54*, 2261–2268.
- [150] P. N. Tariot, P. R. Solomon, J. C. Morris, P. Kershaw, S. Lilienfeld, C. Ding, *Neurology* **2000**, *54*, 2269–2276.
- [151] G. K. Wilcock, S. Lilienfeld, E. Gaens, *BMJ* **2000**, *321*, 1445–1449.
- [152] K. Rockwood, J. Mintzer, L. Truyen, T. Wessel, D. Wilkinson, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2001**, *71*, 589–595.
- [153] J. Marco-Contelles, C. Rodríguez, A. G. García, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2005**, *15*, 575–587.
- [154] S. Pushpakom, F. Iorio, P. A. Eyers, K. J. Escott, S. Hopper, A. Wells, A. Doig, T. Guilliams, J. Latimer, C. McNamee, A. Norris, P. Sanseau, D. Cavalla, M. Pirmohamed, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *18*, 41–58.
- [155] M. Garland, P. Kirkpatrick, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 385–386.
- [156] H. D. Langtry, A. Markham, *Drugs* **1999**, *57*, 967–989.
- [157] F. Saczewski, Ł. Balewski, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 1417–1448.
- [158] J. M. Tanzer, A. M. Slee, B. A. Kamay, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1977**, *12*, 721–729.
- [159] P. D. Marsh, *J. Dent.* **2010**, *38 (S 1)*, S11–S15.
- [160] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Feather-Stone, *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95.
- [161] P. Bacalhau, A. A. San Juan, C. S. Marques, D. Peixoto, A. Goth, C. Guarda, M. Silva, S. Arantes, A. T. Caldeira, R. Martins, A. J. Burke, *Bioorg. Chem.* **2016**, *67*, 1–8.

- [162] N. Becerra-Tomás, S. Blanco Mejía, E. Viguiliouk, T. Khan, C. W. C. Kendall, H. Kahleova, D. Rahelić, J. L. Sievenpiper, J. Salas-Salvadó, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2019**, 1–21.
- [163] N. Scarmeas, Y. Stern, M.-X. Tang, R. Mayeux, J. A. Luchsinger, *Ann. Neurol.* **2006**, 59, 912–921.
- [164] V. Solfrizzi, A. M. Colacicco, A. D’Introno, C. Capurso, F. Torres, C. Rizzo, A. Capurso, F. Panza, *Neurobiol. Aging* **2006**, 27, 1694–1704.
- [165] G. Tel, M. Öztürk, M. E. Duru, B. Doğan, M. Harmandar, *Rec. Nat. Prod.* **2013**, 7, 86–95.
- [166] C. V. Itriago, A. A. Melo Filho, P. R. E. Ribeiro, A. C. G. R. Melo, J. A. Takahashi, V. P. Ferraz, D. M. S. Mozombite, R. C. Santos, *Orbital: Electron. J. Chem.* **2017**, 9, DOI 10.17807/orbital.v0i0.894.
- [167] K. Vávrová, J. Zbytovská, A. Hrabálek, *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 2273–2291.
- [168] D. W. Christianson, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 11570–11648.
- [169] L. Ruzicka, *Experientia* **1953**, 9, 357–367.
- [170] J. Wiemann, A. Loesche, R. Csuk, *Bioorg. Chem.* **2017**, 74, 145–157.
- [171] G. Topcu, U. Kolak, M. Ozturk, M. Boga, S. Damla Hatipoglu, F. Bahadori, B. Culhaoglu, T. Dirmenci, *Nat. Prod. J.* **2013**, 3, 3–9.
- [172] M. A. González, D. Pérez-Guaita, *Tetrahedron* **2012**, 68, 9612–9615.
- [173] N. A. J C Furtado, L. Pirson, H. Edelberg, L. M Miranda, C. Loira-Pastoriza, V. Preat, Y. Larondelle, C. M. André, *Molecules* **2017**, 22, 400.
- [174] L. Heller, M. Kahnt, A. Loesche, P. Grabandt, S. Schwarz, W. Brandt, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 126, 652–668.

## 6. Anhang

Die für diese Dissertation zugrunde liegenden Publikationen:

Publikation P1:

**„Repurposing N,N'-bis-(arylamidino)-1,4-piperazinedicarboxamides: An unexpected class of potent inhibitors of cholinesterases“**

Loesche, A.; Wiese, J.; Sommerwerk, S.; Simon, V.; Brandt, W.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 430-434.

Publikation P2:

**“Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids“**

Loesche, A.; Wiemann, J.; Al Halabi, Z.; Karasch, J.; Sippl, W.; Csuk, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28* (20), 3315–3319.

Publikation P3:

**“Novel 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives act as potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors”**

Loesche, A.; Wiemann, J.; Rohmer, M.; Brandt, A.; Csuk, R., *Bioorg. Chem.*, **2019**, *90*, 103092.

Publikation P4:

**“Triterpene-based carboxamides act as good inhibitors of butyrylcholinesterase”**

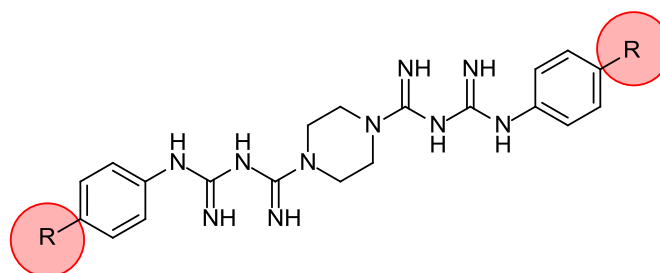
Loesche, A.; Kahnt, M.; Serbian, I.; Brandt, W.; Csuk, R., *Molecules* **2019**, *24*, 948.

## Publikation P1

### Repurposing *N,N'*-bis-(arylamidino)-1,4-piperazinedicarboxamides: An unexpected class of potent inhibitors of cholinesterases

Loesche, A.; Wiese, J.; Sommerwerk, S.; Simon, V.; Brandt, W.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 430–434.

#### Graphical abstract:



R = NO<sub>2</sub>: K<sub>i</sub> = 0.52 μM (AChE), K<sub>i</sub> = 10.78 μM (BChE)

R = <sup>t</sup>Bu: K<sub>i</sub> = 1.41 μM (AChE), K<sub>i</sub> = 0.12 μM (BChE)

Galantamine HBr: K<sub>i</sub> = 0.54 μM (AChE), K<sub>i</sub> = 2.07 μM (BChE)

#### Abstract:

Drug repurposing (=drug repositioning) is an effective way to cut costs for the development of new therapeutics and to reduce the time-to-market time-span. Following this concept a small library of compounds was screened for their ability to act as inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase. Picloxydine, an established antiseptic, was shown to be an inhibitor for both enzymes. Systematic variation of the aryl substituents led to analogs possessing almost the same good properties as gold standard galantamine hydrobromide.

**Keywords:** Picloxydine, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Bisbiguanides

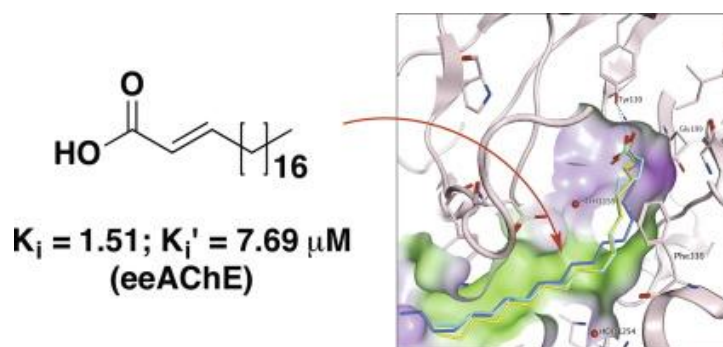
**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2016.09.051

## Publikation P2

### Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids

Loesche, A.; Wiemann, J.; Al Halabi, Z.; Karasch, J.; Sippl, W.; Csuk, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28 (20), 3315–3319.

#### Graphical abstract:



#### Abstract:

A small library of (*E*)  $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids was prepared, and 20 different saturated and mono-unsaturated fatty acids differing in chain length were subjected to Ellman's assays to determine their ability to act as inhibitors for AChE or BChE. While the compounds were only very weak inhibitors of BChE, seven molecules were inhibitors of AChE holding  $\text{IC}_{50} = 4.3\text{--}12.8 \mu\text{M}$  with three of them as significant inhibitors of this enzyme. The results have shown *trans* 2-mono-unsaturated fatty acids are better inhibitors for AChE than their saturated analogs. Furthermore, the screening results indicate that the chain length is crucial for obtaining an inhibitory efficacy. The best results were obtained for (2*E*) eicosenoic acid (**14**) showing inhibition constants  $K_i = 1.51 \pm 0.09 \mu\text{M}$  and  $K_i' = 7.15 \pm 0.55 \mu\text{M}$ . All tested compounds were mixed-type inhibitors with a dominating competitive part. Molecular modelling calculations indicate a different binding mode of active/inactive compounds for the enzymes AChE and BChE.

**Keywords:** Acetylcholinesterase, Alzheimer's disease, Butyrylcholinesterase, Fatty acid derivatives

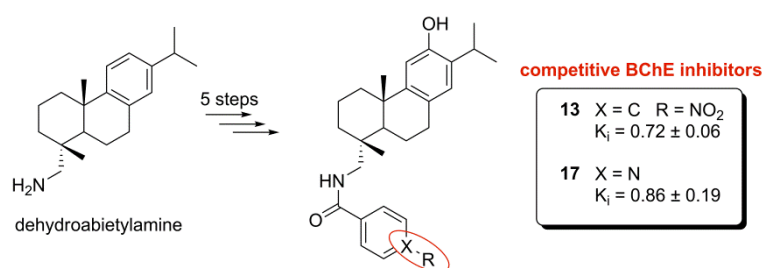
**DOI:**10.1016/j.bmcl.2018.09.013

## Publikation P3

### Novel 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives act as potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors

Loesche, A.; Wiemann, J.; Rohmer, M.; Brandt, A.; Csuk, R., *Bioorg. Chem.*, **2019**, *90*, 103092.

#### Graphical abstract:



#### Abstract:

The skeleton of the diterpene dehydroabietylamine was modified, and a set of 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives was obtained. The compounds were screened in colorimetric Ellman's assays to determine their ability to act as inhibitors for the enzymes acetylcholinesterase (AChE, from electric eel) and butyrylcholinesterase (BChE, from equine serum). Additional investigations concerning the enzyme kinetics were performed and showed 12-hydroxy-*N*-(4-nitro-benzoyl)dehydroabietylamine (**13**) and 12-hydroxy-*N*-(isonicotinoyl)dehydroabietylamine (**17**) as selective BChE inhibitors holding good inhibition constants  $K_i = 0.72 \pm 0.06 \mu\text{M}$  and  $K_i = 0.86 \pm 0.19 \mu\text{M}$ , respectively.

**Keywords:** cholinesterase inhibitors, 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives

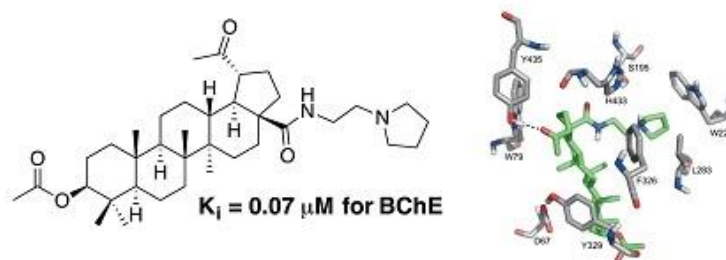
**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2019.103092

## Publikation P4

### Triterpene-based carboxamides act as good inhibitors of butyrylcholinesterase

Loesche, A.; Kahnt, M.; Serbian, I.; Brandt, W.; Csuk, R., *Molecules* **2019**, *24*, 948.

#### Graphical abstract:



#### Abstract:

A set of overall 40 carboxamides was prepared from five different natural occurring triterpenoids including oleanolic, ursolic, maslinic, betulinic, and platanic acid. All of which were derived from ethylene diamine holding an additional substituent connected to the ethylene diamine group. These derivatives were evaluated regarding their inhibitory activity of the enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) employing Ellman's assay. We further determined the type of inhibition and inhibition constants. Carboxamides derived from platanic acid have been shown to be potent and selective BChE inhibitors. Especially the mixed-type inhibitor (3β)-N-(2-pyrrolidin-1-ylethyl)-3-acetyloxy-20-oxo-30-norlupan-28-amide (**35**) showed a remarkably low  $K_i$  of  $0.07 \pm 0.01 \mu\text{M}$  ( $K_i' = 2.38 \pm 0.48 \mu\text{M}$ ) for the inhibition of BChE.

**Keywords:** acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, triterpenoids

**DOI:** 10.3390/molecules24050948



## **Danksagung**

Zuallererst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. René Csuk für das entgegengebrachte Vertrauen und den mir gegebenen Freiraum bedanken. Ich bin dankbar für die Überlassung eines so interessanten Themas und die jahrelang erfolgreiche Zusammenarbeit mit Ihnen. Ich werde immer mit Stolz sagen, dass ich ein Teil Ihres Teams war.

Ein herzlicher Dank geht auch an Dr. Renate Schäfer, die stets ein offenes Ohr für meine Probleme hatte und mir mit Ihren Ratschlägen stets helfen konnte. Des Weiteren bedanke ich mich bei Dr. Ralph Kluge für die Anfertigung der zahlreichen ESI-MS-Spektren. Für die Aufnahme der unzähligen NMR-Spektren danke ich Dr. Dieter Ströhl, B.Sc. Senta Kuring und Frau Yvonne Schiller.

Ein besonderer Dank geht an Dr. Stefan Schwarz für das Heranführen an die Enzymassays. Bei Dr. Wolfgang Brandt, Dr. Susana Lucas und M.Sc. Zayan Al Halabi möchte ich mich für die Durchführung der Molecular Modelling-Untersuchungen bedanken.

Ich bedanke mich bei M.Sc. Jana Wiese und B.Sc. Vivienne Simon für die Durchführung der UV/Vis-, IR- und Drehwertmessungen.

Außerdem möchte ich mich bei allen meinen Freunden innerhalb der aktuellen und ehemaligen Arbeitsgruppe Csuk für das familiäre Arbeitsklima und die anregenden Diskussionen bedanken. Meiner Laborpartnerin Dr. Jana Wiemann danke ich für die stetig aufmunternden Worte, ein Hohes Maß an Toleranz und eine einfach unvergessliche Zeit. M.Sc. Michael Kahnt danke ich für die angenehme Zeit im Praktikum und bei den gemeinsamen Konferenzbesuchen. Dr. Annemarie E. Kramell möchte ich für die zahlreichen Tipps bei der Anfertigung der Arbeit danken.

Ein außerordentlicher Dank geht an meinen ehemaligen Betreuer Dr. Sven Sommerwerk, der mir stets ein Vorbild war und den Grundstein für meinen Erfolg gelegt hat.

Ein letzter Dank gilt meinen Freunden und meiner Familie. Ihr habt mich stets unterstützt und ohne euren Rückhalt wäre diese Promotion nicht möglich gewesen.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name	Anne Loesche
Geburtsdatum	21.09.1989
Geburtsort	Stendal
Nationalität	Deutsch

### Bildungsweg:

seit 09/2016	Wissenschaftliche Mitarbeiterin (Promotionsstudium) am Institut für Chemie im Bereich Organische Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr. René Csuk <i>Thema der Dissertation: Synthese und biologische Evaluierung von Naturstoffanaloga hinsichtlich ihrer Inhibierung von Cholinesterasen</i>
07/2018	GMP-Kurs für Studenten, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg <i>GMP-Zertifikat</i>
10/2014 – 07/2016	Masterstudium Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg <i>Master of Science (1,5)</i>
10/2011 – 09/2014	Bachelorstudium Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg <i>Bachelor of Science (1,9)</i>
08/2009 – 07/2011	Berufsbildende Schule „Dr. Otto Schlein“ in Magdeburg <i>Staatlich geprüfter Biologisch-technischer Assistent (1,0)</i>
09/2002 – 07/2008	Winkelmann-Gymnasium in Stendal, <i>Allgemeine Hochschulreife (1,7)</i>

---

## Publikationsliste

### Publikationen

„Converting maslinic acid into an effective inhibitor of acylcholinesterases“

Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Lucas, S. D.; Sommerwerk, S.; Serbian, I.; Siewert, B.; Pianowski, E.; Csuk, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *103*, 438–445.

**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2015.09.007

“Synthesis and evaluation of the biological profile of novel analogues of nucleosides and of potential mimetics of sugar phosphates and nucleotides”

Xavier, N. M.; Lucas, S. D.; Jorda, R.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Oliveira, M., *Synlett* **2015**, *26* (19), 2663–2672.

**DOI:** 10.1055/s-0035-1560591

“Synthesis of glucopyranos-6'-yl purine and pyrimidine isonucleosides as potential cholinesterase inhibitors. Access to pyrimidine-linked pseudodisaccharides through Mitsunobu reaction“

Batista, D.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Costa, P. J.; Oliveira, M. C.; Xavier, N. M., *Pure Appl. Chem.* **2016**, *88* (4), 363–379.

**DOI:** 10.1515/pac-2016-0102

“Drotaverine - a concealed cytostatic!”

Pavel, I. Z.; Heller, L.; Sommerwerk, S.; **Loesche, A.**; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2017**, *350*, e1600289.

**DOI:** 10.1002/ardp.201600289

„Repurposing N,N'-bis-(arylamidino)-1,4-piperazinedicarboxamidines: An unexpected class of potent inhibitors of cholinesterases“

**Loesche, A.**; Wiese, J.; Sommerwerk, S.; Simon, V.; Brandt, W.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 430-434.

**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2016.09.051

“Amino derivatives of platanic acid act as selective and potent inhibitors of butyrylcholinesterase”

Heller, L.; Kahnt, M.; **Loesche, A.**; Grabandt, P.; Schwarz, S.; Brandt, W.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *126*, 652–668.

**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2016.11.056

“Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase“

Wiemann, J.; **Loesche, A.**; Csuk, R., Novel Dehydroabietylamine Derivatives as Potent Inhibitors of Acetylcholinesterase. *Bioorg. Chem.* **2017**, *74*, 145–157.

**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2017.07.013

“Piperlongumine B and analogs are promising and selective inhibitors for acetylcholinesterase” Wiemann, J.; Karasch, J.; **Loesche, A.**; Heller, L.; Brandt, W.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 222–231.

**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2017.07.081

„Furanosyl nucleoside analogues embodying triazole or theobromine units as potential lead molecules for Alzheimer’s disease“

Gonçalves-Pereira, R.; Pereira, M. P.; Serra, S. G.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Silvestre, S.; Costa, P. J.; Oliveira, M. C.; Xavier, N. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018* (20–21), 2667–2681.

**DOI:** 10.1002/ejoc.201800245

“Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids “

**Loesche, A.**; Wiemann, J.; Al Halabi, Z.; Karasch, J.; Sippl, W.; Csuk, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28* (20), 3315–3319.

**DOI:** 10.1016/j.bmcl.2018.09.013

“Ursolic and oleanolic acid derivatives with cholinesterase inhibiting potential”

**Loesche, A.**; Köwitsch, A.; Lucas, S. D.; Al-Halabi, Z.; Sippl, W.; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Bioorg. Chem.* **2019**, *85*, 23–32.

**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2018.12.013

“Triterpene-based carboxamides act as good inhibitors of butyrylcholinesterase”

**Loesche, A.**; Kahnt, M.; Serbian, I.; Brandt, W.; Csuk, R., *Molecules* **2019**, *24*, 948.

**DOI:** 10.3390/molecules24050948

“Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)-derivatives act as selective inhibitors of acetylcholinesterase”

Gießel J. M.; **Loesche A.**; Serbian, I.; Csuk R. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *177*, 259–268.

**DOI:** 10.1016/j.ejmech.2019.05.059

“Substituted cinnamic anhydrides act as selective inhibitors of acetylcholinesterase”

Gießel J. M.; Serbian I.; **Loesche A.**; Csuk R. *Bioorg. Chem.* **2019**, *90*, 103058.

**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2019.103058

“The cytotoxicity of oleanane derived aminocarboxamides depends on their aminoalkyl substituents”

Kahnt M.; **Loesche A.**; Serbian I.; Hoenke S.; Fischer L.; Al-Harrasi A.; Csuk R. *Steroids* **2019**, *149*, 108422.

**DOI:** 10.1016/j.steroids.2019.05.014

“Novel 12-hydroxydehydroabietylamine derivatives act as potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors”

**Loesche A.**; Wiemann J.; Rohmer M.; Brandt W.; Csuk R. *Bioorg. Chem.* **2019**, *90*, 103092.

**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2019.103092

“Synthesis and Biological Evaluation of Structurally Varied 5'-/6'-Isonucleosides and Theobromine-Containing N-Isonucleosidyl Derivatives”

Xavier, N. M.; de Sousa, E. C.; Pereira, M. P.; Loesche, A.; Serbian, I.; Csuk, R.; Oliveira, M. C. *Pharmaceuticals* **2019**, *12* (3), 103.

**DOI:** 10.3390/ph12030103

“Ureidobenzenesulfonamides as efficient inhibitors of carbonic anhydrase II”

Serbian I.; Schwarzenberger P.; **Loesche A.**; Hoenke S.; Al-Harrasi A.; Csuk R. *Bioorg. Chem.* **2019**, *91*, 103123.

**DOI:** 10.1016/j.bioorg.2019.103123

“In search of new cinnamic acid derived flavours and fragrances”

Gießel J. M.; **Loesche A.**; Hoenke S.; Csuk R. *Results in Chemistry* **2019**, *1*, 100010.

**DOI:** 10.1016/j.rechem.2019.100010

## Konferenzbeiträge

“Synthesis, conformational studies and biological evaluation of new N-glycosyl sulfonamides”

Fortunato, A.; Costa, P. J.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Xavier, N. M., 11<sup>th</sup> International Meeting of the Portuguese Carbohydrate Group, 06. – 10. September 2015, Viseu, Portugal.

“Novel triazole, purine and sulfonohydrazide glycoconjugates for the targeting of nucleotide-dependent enzymes: synthesis and bioactivity evaluation”

Xavier, N. M.; Lucas, S. D.; Jorda, R.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk R., CQB-Day 2015, 15. September 2015, Lissabon, Portugal.

“Synthesis and bioactivity evaluation of purine and pyrimidine 6'-isonucleosides”

Batista, D.; Jorda, R.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Xavier N. M., CQB-Day 2015, 15. September 2015, Lissabon, Portugal.

“Pyranosyl 6'-isonucleosides: synthesis and biological profile”

Batista, D.; **Loesche, A.**; Schwarz, S.; Csuk, R.; Jorda, R.; Xavier N. M., Congresso química orgânica e química terapêutica, 1. – 3. Dezember 2015, Porto, Portugal.

“Glucopyranos-6'-yl purines and pyrimidines as novel types of isonucleosides possessing therapeutic potential”

Batista, D.; Schwarz, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Jorda, R.; Costa, P.; Xavier N. M., XXVIII International Carbohydrate Symposium, 17. – 21. Juli 2016, New Orleans, USA.

“Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase”

Wiemann, J.; **Loesche, A.**; Csuk R., 18th Tetrahedron Symposium, 27. – 30. Juni 2017, Budapest, Ungarn.

“Picloxydine derivatives as effective inhibitors of cholinesterases”

**Loesche, A.**; Simon, V.; Wiese, J.; Simon, V.; Sommerwerk, S.; Csuk R., 18th Tetrahedron Symposium, 27. – 30. Juni 2017, Budapest, Ungarn.

“Platanic acid derivatives: From an AChE inhibitor to a BChE inhibitor in only two steps”

Heller, L.; Kahnt, M.; **Loesche, A.**; Grabandt, P.; Schwarz, S.; Brandt, W.; Csuk R., VII EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, 27. – 31. August 2017, Wien, Österreich.

“Unexpected AChE inhibitory activity of (2E)  $\alpha,\beta$ -unsaturated fatty acids”

**Loesche, A.**; Wiemann, J.; Al Halabi, Z.; Karasch, J.; Sippl, W.; Csuk, R., XXV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry, 02. – 06. September 2018, Ljubljana, Slowenien.

“Novel glycosyl triazoles and theobromine isonucleosides as promising anti-Alzheimer agents”

Gonçalves-Pereira, R.; Pereira, M.; Serra, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Silvestre, S.; Xavier N. M., 3<sup>rd</sup> Meeting of the College of Chemistry of the University of Lisbon, 27. – 29. Juni 2018, Lissabon, Portugal.

“Synthesis of novel D-glucuronamide-based triazole nucleosides as potential anti-Alzheimer agents”

Gonçalves-Pereira, R.; Serra, S.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Silvestre, S.; Xavier, N. M., 29<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium, 14. – 19. Juli 2018, Lissabon, Portugal.

“Synthesis of new nucleos(t)ide analogues and evaluation of their cholinesterase inhibitory activities”

de Sousa, E. C.; Pereira, M. P.; Beriša, A.; Pereira, R. G.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Xavier N. M., 29<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium, 14. – 19. Juli 2018, Lissabon, Portugal.

„Novel azido and glucuronamide-based nucleosides of potential therapeutic interest”

Xavier, N. M.; Pereira, R. G.; Jorda, R.; Řezníčková, E.; Kryštof, V.; **Loesche, A.**; Csuk, R.; Mesquita, N.; Oliva G., 41<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 21. – 24. Mai 2018, Foz do Iguaçu, Brasilien.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe. Die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit wurde bisher an keiner anderen Universität oder Hochschule vorgelegt.

Halle (Saale), 12.06.2019

Anne Loesche