

**Derivate nichtsteroidaler Antirheumatika als
potentielle Cannabinoid- und Vanilloid-
Rezeptor Liganden
und
Fettsäure-Derivate des Metamizols als dessen
pharmakologisch aktives Prinzip**



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem
Fachbereich Pharmazie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt

von
Tobias Rogosch
aus Werl

Marburg/Lahn, im Dezember 2005

Vom Fachbereich Pharmazie
der Philipps-Universität Marburg

als Dissertation angenommen:

Erstgutachter:

Zweitgutachter:

Tag der mündlichen Prüfung:

Prof. Dr. P. Imming

Prof. Dr. G. Seitz

07.12.2005

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut
für pharmazeutische Chemie des Fachbereichs Pharmazie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn
auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Prof. Dr. P. Imming

dem ich für die wohlwollende Förderung meiner Arbeit und seine wertvollen
Anregungen aus
mehreren Diskussionen herzlich danken möchte.

Herrn Prof. Dr. G. Seitz möchte ich für die Übernahme des Zweitgutachtens
sehr herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. R. Nüsing und seiner Arbeitsgruppe – insbesondere Anika Schuster – Pharmazentrum Frankfurt, Institut für Klinische Pharmakologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt, danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit bei der Testung der Metamizol-Derivate.

Herrn B. Watzer, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Philipps-Universität Marburg, danke ich für die wertvollen Diskussionen und die hervorragende Zusammenarbeit.

Herrn Dr. V. DiMarzo, Endocannabinoid Research Group, Institute of Biomolecular Chemistry, Pozzuoli, Italien, danke ich für die Zusammenarbeit bei der Affinitätsbestimmung zu Cannabinoid-, Vanilloid-Rezeptoren und der Fettsäureamidhydrolase.

Der Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt, insbesondere Herrn Dr. J. Pünter, danke ich für Überlassung zweier Metamizol-Metabolite.

Folgenden Studenten danke ich für ihre hilfreiche Mitarbeit im Rahmen der so genannten Literaturarbeit: Silvia Peters und Marie-Luise Seibel

Auch den Mitarbeitern des Instituts für pharmazeutische Chemie der Philipps-Universität Marburg, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, möchte ich meinen Dank aussprechen.

Meinen Arbeitskolleginnen und -kollegen danke ich ganz herzlich für das hervorragende Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit.

Herzlichen Dank an meine Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben.

Herzlichen Dank an Dorothee Beul, die meinen privaten Rückhalt für das Gelingen dieser Arbeit darstellt.

Inhaltsverzeichnis

I. THEORETISCHER TEIL	9
1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	9
2. SCHMERZENTSTEHUNG.....	12
3. CANNABINOID-REZEPTOREN UND LIGANDEN.....	15
4. CYCLOOXYGENASE (COX) UND INHIBITOREN	22
4.1 Cyclooxygenase.....	22
4.2 COX-Inhibitoren.....	24
5. TRPV1 (VANILLOID) REZEPTOREN UND LIGANDEN	26
6. SYNTHESEN	31
6.1 Synthese der NSAR-Amide	31
6.2 Synthese der 2-Glycerolester	32
6.3 Synthese der Arachidonylamide	33
7. AFFINITÄTSMESSUNGEN	34
7.1 Fettsäureamidhydrolase.....	34
7.2 Cannabinoid-Rezeptor Typ 1 (CB ₁)	34
7.3 Cannabinoid-Rezeptor Typ 2 (CB ₂)	35
7.4 TRPV1 (Vanilloid) Rezeptor.....	35
7.5 Cyclooxygenase (COX).....	36
8. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	37
8.1 Derivate nichtsteroidaler Antirheumatika als potentielle Cannabinoid- und..... Vanilloid-Rezeptor Liganden	37
8.2 Fettsäure-Derivate des Metamizols als dessen pharmakologisch aktives..... Prinzip	41
9. ZUSAMMENFASSUNG	46
10. SUMMERY.....	48
11. AUSBLICK.....	49
II. EXPERIMENTELLER TEIL.....	50
1. ALLGEMEINE VORBEMERKUNGEN.....	50
1.1 Allgemeines	50
1.2 Chromatographie	50

1.3	<i>Analytik</i>	50
1.4	<i>Chemikalien und Materialien</i>	51
2.	ALLGEMEINE VORSCHRIFTEN.....	53
2.1	<i>AV 1: Synthese der Pentafluorphenylester</i>	53
2.2	<i>AV 2: Synthese der Dopaminamide</i>	53
2.3	<i>AV 3: Synthese der Vanillylamide</i>	54
2.4	<i>AV 4: Synthese der Benzylidenglycerolester</i>	54
2.5	<i>AV 5: Synthese der 2-Glycerolester</i>	54
2.6	<i>AV 6: Synthese der Arachidonylamide</i>	55
3.	EINZELVERBINDUNGEN.....	56
3.1	<i>Indometacin-pentafluorphenylester</i>	56
3.2	<i>Indometacin-dopaminamid</i>	57
3.3	<i>Indometacin-vanillylamid</i>	58
3.4	<i>Indometacin-benzylidenglycerol ester</i>	59
3.5	<i>2-Indometacin-glycerol</i>	61
3.6	<i>S-Naproxen-pentafluorphenylester</i>	62
3.7	<i>S-Naproxen-dopaminamid</i>	63
3.8	<i>S-Naproxen-vanillylamid</i>	64
3.9	<i>S-Naproxen-benzylidenglycerolester</i>	65
3.10	<i>2-(S-Naproxen)-glycerol</i>	66
3.11	<i>R-Naproxen-pentafluorphenylester</i>	68
3.12	<i>R-Naproxen-dopaminamid</i>	69
3.13	<i>R-Naproxen-vanillylamid</i>	70
3.14	<i>R-Naproxen-benzylidenglycerolester</i>	71
3.15	<i>2-(R-Naproxen)-glycerol</i>	72
3.16	<i>S-Ibuprofen pentafluorphenylester</i>	73
3.17	<i>S-Ibuprofen-dopaminamid</i>	74
3.18	<i>S-Ibuprofen-vanillylamid</i>	75
3.19	<i>S-Ibuprofen-benzylidenglycerolester</i>	76
3.20	<i>2-(S-Ibuprofen)-glycerol</i>	77
3.21	<i>R-Ibuprofen pentafluorphenylester</i>	78
3.22	<i>R-Ibuprofen-dopaminamid</i>	79
3.23	<i>R-Ibuprofen-vanillylamid</i>	80
3.24	<i>R-Ibuprofen-benzylidenglycerolester</i>	81

3.25	<i>2-(R-Ibuprofen)-glycerol</i>	82
3.26	<i>S-Flurbiprofen-pentafluorphenylester</i>	83
3.27	<i>S-Flurbiprofen-dopaminamid</i>	84
3.28	<i>S-Flurbiprofen-vanillylamid</i>	85
3.29	<i>S-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester</i>	86
3.30	<i>2-(S-Flurbiprofen)-glycerol</i>	87
3.31	<i>R-Flurbiprofen-pentfluorphenylester</i>	88
3.32	<i>R-Flurbiprofen-dopaminamid</i>	89
3.33	<i>R-Flurbiprofen-vanillylamid</i>	90
3.34	<i>R-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester</i>	91
3.35	<i>2-(R-Flurbiprofen)-glycerol</i>	92
3.36	<i>Diclofenac-pentafluorphenylester</i>	93
3.37	<i>Diclofenac-dopaminamid</i>	94
3.38	<i>Diclofenac-vanillylamid</i>	95
3.39	<i>Arachidonyl-methylaminophenazon</i>	96
3.40	<i>Arachidonyl-aminophenazon</i>	98
4.	AFFINITÄTSMESSUNGEN	100
4.1	<i>Fettsäureamidhydrolase</i>	100
4.2	<i>Cannabinoid-Rezeptor Typ 1 (CB1)</i>	102
4.3	<i>Cannabinoid-Rezeptor Typ 2 (CB2)</i>	104
4.4	<i>TRPV1 (Vanilloid) Rezeptor</i>	106
4.5	<i>COX (Cyclooxygenase)</i>	107
III.	LITERATURVERZEICHNIS	109
IV.	ANHANG	121
1.	VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN:	121

I. Theoretischer Teil

1. *Einleitung und Zielsetzung*

Die Strukturaufklärung der Cyclooxygenase-1 (COX-1) (Picot et al., 1994) und Cyclooxygenase-2 (COX-2) (Luong et al., 1996) führte zu einem besserem Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehungen der nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR). Eine wichtige Gruppe von seit längerem auf dem Markt befindlichen NSARs sind die 2-Arylpropion- und Arylessigsäuren, wie zum Beispiel Ibuprofen, Naproxen, Flurbiprofen (2-Arylpropionsäuren) und Indometacin, Diclofenac (Arylessigsäuren), die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden. Diese Substanzen hemmen die Aktivität der Cyclooxygenase-(COX)-Isoenzyme, die den ersten Schritt der Prostaglandin-Biosynthese katalysieren, und sind dadurch analgetisch und antiphlogistisch wirksam. Die Konfigurationsisomere der Propionsäure-Derivate besitzen eine unterschiedlich starke Wirkung. Das R-(-)-Enantiomer ist per se weitestgehend inaktiv hinsichtlich COX-Hemmung (Adams et al., 1976).

Allerdings konnten bisher noch nicht alle Wirkungen und Nebenwirkungen zufrieden stellend geklärt werden. Daraus ergab sich dann die Suche nach anderen, bislang unbekanntem Wirkmechanismen der NSARs. In den letzten Jahren wurden mehrere andere Mechanismen untersucht. Bei diesen Untersuchungen wurde unter anderem beim R-(-)-Ibuprofen eine analgetische Wirkung beobachtet. In üblichen Dosierungen erreicht R-(-)-Ibuprofen nicht eine für COX-Hemmung ausreichende Konzentration in Körperflüssigkeiten; die Analgesie muss daher durch Angriff an einer anderen Stelle erfolgen. So inhibiert R-(-)-Ibuprofen die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B im mikromolaren Bereich (Scheuren et al., 1998). Dieser hemmende Effekt auf die NF- κ B-Aktivierung scheint durch den Metaboliten R-Ibuprofen-CoA-thioester ausgelöst zu werden (Neupert et al., 1997). NF- κ B wird durch Aktivierung von I κ B getrennt und in den Zellkern translokiert, dort bindet er an spezifische Sequenzen in den Promotorregionen der Zielgene (Newton et al., 1997). Das COX-2-Gen ist eines dieser Zielgene, die durch NF- κ B reguliert werden.

Auch R-(-)-Flurbiprofen wirkt antinozizeptiv. Es ist fast genauso effektiv wie das S-(+)-Enantiomer bezüglich der Antinozizeption (Geisslinger et al., 1994). R-(-)-Flurbiprofen verursacht keine gastrointestinalen Nebenwirkungen, was sich durch die nicht vorhandene COX-Hemmung erklären lässt (Brune et al., 1991). Auch beim R-Flurbiprofen konnte ein hemmender Effekt auf die NF- κ B-

Aktivierung (Brune et al., 1992) nachgewiesen werden. Auch die spinale Freisetzung von Substanz P wird durch R-Flurbiprofen gehemmt (Schaible et al., 1998), dies führt zu einer Reduzierung der durch Capsaicin ausgelösten PGE₂-Freisetzung (Geisslinger et al., 2000). Zusammengenommen unterstützen diese Daten die Hypothese einer zentralen Prostaglandin-abhängigen, aber COX-unabhängigen Antinozizeption durch R-Flurbiprofen.

Des Weiteren inhibieren Ibuprofen und Flurbiprofen die Fettsäureamidhydrolase (FAAH), die für die Hydrolyse von Anandamid, einem Endocannabinoid, zu Arachidonsäure und Ethanolamin verantwortlich ist. Hierbei fällt auf, dass das R-(-)-Enantiomer des Ibuprofens eine etwa zwei- bis dreifach größere Potenz als das S-(+)-Enantiomer hat (Fowler et al., 1999). Beim Flurbiprofen sind beide Enantiomere equipotent.

Durch die Inhibition von sowohl COX als auch FAAH steigt die Arachidonsäure-Konzentration und damit auch die Anandamidsynthese und gleichzeitig wird der Abbau von Anandamid verlangsamt. Dies deutet auf eine indirekte analgetische Wirkung der NSAR über das Endocannabinoidsystem hin. Versuche hierzu haben gezeigt, dass die durch Flurbiprofen erzeugte Analgesie nur unbedeutend durch eine Coinjektion von Prostaglandin E₂ (PGE₂) aufgehoben wird; bei gleichzeitiger Gabe des selektiven CB₁-Rezeptor-Blockers AM-251 wurde die Analgesie allerdings fast vollständig aufgehoben (Ates et al., 2003).

Neben der FAAH-Hemmung kommt eine direkte Wirkung von Profenmetaboliten an CB-Rezeptoren in Frage. Durch die Entdeckung der Beteiligung der Amide aus Fettsäuren und biogenen Aminen und der Ester aus Fettsäuren und biogenen Alkoholen an einer Vielzahl biochemischer Prozesse gewinnen diese Substanzklassen in den letzten Jahren immer mehr an Interesse. Die Identifizierung von Arachidonsäuremetaboliten als endogene Liganden der Cannabinoid-Rezeptoren und der Nachweis von deren analgetischer Wirkung legt nahe, eine Wirkung von COX-Inhibitor-Metaboliten – als Arachidonsäure-Mimetika – an diesen Rezeptoren zu vermuten. Deshalb sollten im Rahmen dieser Arbeit Arylessigsäure- und Arylpropionsäureanaloga der endogenen Cannabinoide Anandamid und 2-Arachidonylglycerol und der Vanilloide N-Arachidonyl-dopamin und Capsaicin synthetisiert und auf Wirksamkeit an Cannabinoid-, Vanilloid-Rezeptoren und der Fettsäureamidhydrolase getestet werden. Zunächst sollte *in vitro* untersucht werden, ob eine oder mehrere dieser Substanzen überhaupt Ligand an einem der genannten Rezeptoren ist bzw. die FAAH hemmt. Erst bei Vorliegen einer Affinität sollte *in vivo* untersucht werden, ob diese Stoffe wirklich als Metabolite auftreten, da letzteres ungleich aufwändiger ist.

Ein weiterer analgetisch wirkender Arzneistoff ist Metamizol (= dipyrone), dessen Wirkungsmechanismus bis heute noch nicht aufgeklärt wurde. Durch die

Entdeckung von AM-404 (Abb. 1.1) als aktiven Metaboliten von Paracetamol, der sowohl die COX inhibiert als auch ein Agonist an Cannabinoid-Rezeptoren ist (Hoegestaett and Zygmunt, 2003), schien es sinnvoll, einen ähnlichen Mechanismus beim Metamizol zu vermuten, zumal die beiden Stoffe einige klinische Ähnlichkeiten aufweisen (u.a. starke antipyretische, aber fast keine antiphlogistische Wirkung).

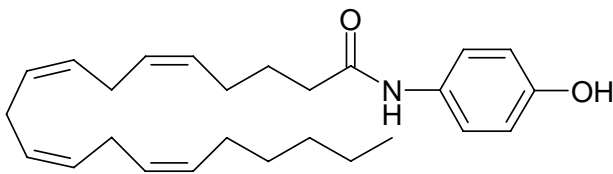


Abbildung 1.1: AM-404

Im Rahmen dieser Arbeit sollten deshalb auch zwei dem AM-404 ähnliche Metabolite des Metamizol synthetisiert werden. Diese sollten auf Inhibition von COX und Affinität zu CB-Rezeptoren getestet werden. Des Weiteren sollten diese Metabolite in vivo nachgewiesen und ihre Entstehung im Falle eines positiven in-vivo-Nachweises aufgeklärt werden.

2. Schmerzentstehung

Schmerzrezeptoren – auch Nozizeptoren genannt – sind spezialisierte afferente Nervenzellen, die bei Hitze, mechanischen und chemischen Reizen aktiviert werden. Die Zellkörper der Primärafferenzen befinden sich im Hinterwurzelganglion des Rückenmarks. Von dort aus gelangen die Signale über aufsteigende Schmerzbahnen (spinothalamischer Trakt, spinoreticulärer Trakt, spinomesencephalischer Trakt) zu den höheren Zentren des Gehirns.

Nach anatomischen und funktionellen Kriterien lassen sich drei Arten von primären afferenten nozizeptiven Neuronen unterscheiden, die C-, A δ - und A β -Fasern. A α -Fasern nehmen nur nicht-noxische mechanische Stimuli wahr (Julius and Basbaum, 2001).

C- und A δ -Fasern übermitteln noxische Reize mit unterschiedlicher Geschwindigkeit. Das erste Schmerzempfinden wird sehr schnell über myelinisierte A δ -Fasern mit einer Leitungsgeschwindigkeit von 2-40 m/s wahrgenommen, der brennende Sekundärschmerz hält länger an und wird über polymodale nicht-myelinisierte C-Fasern mit einer Leitungsgeschwindigkeit von < 2 m/s vermittelt. A β -Fasern werden als „schlafende Nozizeptoren“ bezeichnet. Sie reagieren unter normalen Bedingungen nicht auf schmerzhafte Reize, spielen aber bei der Chronifizierung von Schmerzen eine Rolle (Julius and Basbaum, 2001).

Nach einer Verletzung werden von den Zellen des geschädigten Gewebes Substanzen wie z.B. Protonen, Kaliumionen, Serotonin, Bradykinin, Prostaglandine und Leukotriene freigesetzt und zusätzlich Histamin aus Mastzellen ausgeschüttet. Prostaglandine und Leukotriene, die durch die Cyclooxygenasen bzw. Lipoxygenase synthetisiert werden, erniedrigen die Schwelle der Nozizeptoren. Durch diese Stimuli kommt es zur Aktivierung von Primärafferenzen über spezifische Rezeptoren. Einer davon ist z.B. der Vanilloid-Rezeptor. Die zentralen Enden der Primärafferenzen leiten das Signal weiter ins Hinterhorn des Rückenmarks, wo je nach Ausstattung und Herkunft der Primärafferenz exzitatorische Aminosäuren wie Glutamat oder Aspartat, sowie Neuropeptide (Substanz P, CGRP), ATP, NO und Neurotrophine (NGF, TNF α , GDNF, BDNF) ausgeschüttet werden (Scholz and Woolf, 2002). Durch inhibitorische und exzitatorische Interneurone im Hinterhorn werden die Signale moduliert.

Durch die Komplexität dieses Systems bieten sich verschiedene Möglichkeiten, um analgetisch einzugreifen. Dieser Eingriff kann entweder auf der modulatorischen Ebene oder aber bei der Synthese und Freisetzung von Entzündungsmediatoren geschehen.

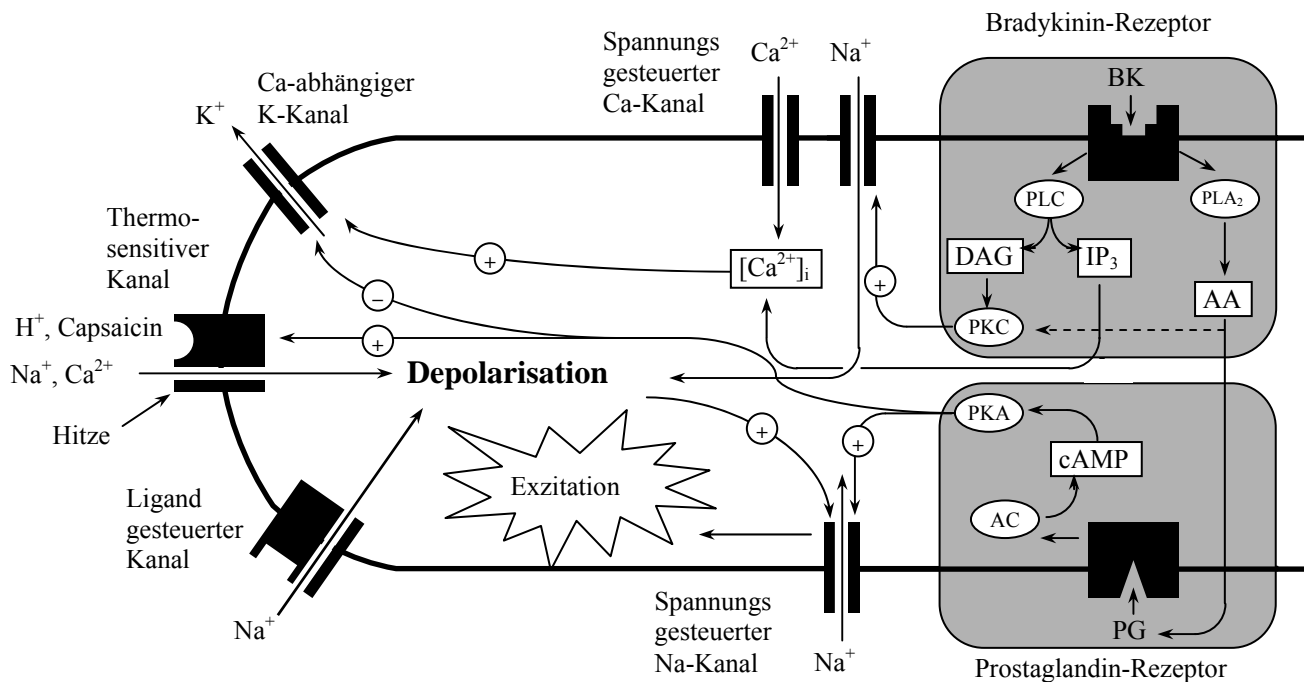


Abbildung 2.1: Verschiedene molekulare Ereignisse in einer Nervenzelle. Die Abkürzungen werden im folgenden Text erklärt.

In Abbildung 2.1 sind verschiedene Zellereignisse in einem Nozizeptor dargestellt, die entweder zu einer Erregung oder zu einer Sensibilisierung bzw. Desensibilisierung der Nervenzelle führen.

Wirkt eine Hitzereiz auf den TRPV1-Rezeptor (thermosensitiver Kanal) ein, so öffnet sich der gekoppelte Kanal und es kommt zu einem unspezifischen Kationeneinstrom. Die darauffolgende Depolarisation öffnet spannungsabhängige Natrium-Kanäle, was eine weitere Depolarisation der Zelle und damit ein Aktionspotential auslöst. Protonen und Capsaicin können den TRPV1-Rezeptor selbst nicht stimulieren, sie setzen aber die Rezeptorschwelle herab.

Eine Depolarisation kann auch durch einen Ligand-gesteuerten Kanal ausgelöst werden. Ein Beispiel hierfür ist Serotonin (5-HT), das an den 5-HT₃-Rezeptor bindet und einen Natriumeinstrom bedingt.

Der Bradykinin-Rezeptor ist ein Beispiel für einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor. Bindet Bradykinin (BK) an den Rezeptor, so werden die Phospholipasen C (PLC) und A₂ (PLA₂) aktiviert. PLC erhöht den intrazellulären Diacylglycerol-(DAG)-Spiegel, wodurch die Proteinkinase C (PKC) stimuliert wird. PKC katalysiert die Phosphorylierung von Proteinen, unter anderem des Natrium-Kanals, wodurch dieser sich schon bei einem geringeren Membranpotenzial öffnet und es zur Depolarisation der Zelle kommt. Das durch die PLC vermehrt freigesetzte Inositoltriphosphat (IP₃) setzt

Calcium-Ionen aus intrazellulären Speichern frei, das Calcium-abhängige Kalium-Kanäle öffnet und somit zu einer Verringerung des Membranpotentials führt.

PLA₂ erhöht die Konzentration an Arachidonsäure (AA) in der Zelle, die durch die Cyclooxygenase zu Prostaglandinen (PG) umgewandelt wird. Prostaglandine binden an einen eigenen Rezeptortyp, der G-Protein gekoppelt die Adenylatcyclase (AC) stimuliert. Durch die dadurch erhöhte Konzentration an cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) kommt es zu einer Aktivierung der Proteinkinase A (PKA), die durch Phosphorylierung Natrium-Kanäle öffnet und Kalium-Kanäle schließt. Damit kommt es zu einer Annäherung des Ruhepotentials an die Erregungsschwelle und dadurch zu einer Sensibilisierung des Nozizeptors.

3. Cannabinoid-Rezeptoren und Liganden

Als Cannabinoide werden im Allgemeinen die Inhaltsstoffe der Pflanze *Cannabis sativa L.* bezeichnet. *Cannabis sativa L.* findet schon seit mehreren 1000 Jahren als Nutzpflanze Verwendung, ihre Fasern können z.B. zu Textilien oder Seilen verarbeitet werden. Die erste Erwähnung aus medizinischer Sicht fand vor etwa 3000 Jahren durch den chinesischen Kaiser Shen Nung im „Chinesischen Kompendium der Medizin“ statt (Mechoulam, 1986). Nachdem *Cannabis sativa L.* durch William B. O'Shaughnessy Mitte des 19. Jahrhunderts aus Indien nach England eingeführt und erfolgreich bei Wundstarrkrampf angewandt wurde (O'Shaughnessy, 1838-1840), erregte diese Pflanze auch in Europa erstes Aufsehen. Auch heute wird *Cannabis sativa L.* noch verwendet, jedoch überwiegend als illegale Droge wegen der psychopharmakologischen Eigenschaften. Die therapeutische Anwendbarkeit von Cannabinoiden, den Inhaltsstoffen von *Cannabis sativa L.*, wurde in zahlreichen Studien gezielt untersucht. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass Cannabinoide eine analgetische, antikonvulsive und antiphlogistische Wirkung haben (Hollister, 1986).

Mittlerweile sind schon mehr als 300 Cannabinoide identifiziert worden (Razdan, 1986), von denen allerdings nur wenige pharmakologisch relevant sind. Die Isolierung und Strukturaufklärung des Hauptwirkstoffs von *Cannabis sativa L.*, (-)-trans- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), Mitte der 1960er Jahre (Mechoulam and Gaoni, 1965) markierte einen Meilenstein im Verständnis der Wirkung von Cannabis-Produkten. Δ^9 -THC und Δ^8 -THC, ebenfalls psychopharmakologisch aktiv, zählen zu den „klassischen Cannabinoiden“. Insgesamt unterscheidet man vier verschiedene Gruppen von Cannabinoiden. Neben den oben erwähnten „klassischen Cannabinoiden“ existieren noch die „nicht-klassischen Cannabinoide“, bei denen es sich um synthetische bi- und trizyklische Derivate des Δ^9 -THC (Compton et al., 1992; Melvin and Johnson, 1987) handelt z.B. CP 55,940, die synthetischen „Aminoalkylindole“ (Martin et al., 1991; Pacheco et al., 1991) z.B. WIN 55,212-2 und die „Endocannabinoide“, die endogen vorkommen, z.B. Anandamid (N-Arachidonyl-ethanolamid) (Devane et al., 1992) und 2-Arachidonyl-glycerol (2-AG) (Sugiura et al., 1995). Der Name Anandamid setzt sich aus dem Sanskrit „ananda“, was Ekstase bedeutet, und „amid“, der chemischen Klasse dieser Substanz, zusammen. Inzwischen sind noch Noladin (2-Arachidonyl-glycerolether) (Hanus et al., 2001), N-Arachidonyl-dopamin (NADA) (Bisogno et al., 2000) und Virodhamin (O-Arachidonyl-ethanolamin) (Porter et al., 2002) als weitere Endocannabinoide identifiziert worden (Abb.

3.1). Virodhamin ist wieder ein dem Sanskrit entlehnter Name („virodha“ bedeutet entgegengesetzt) und bezieht sich auf die Ähnlichkeit zu Anandamid.

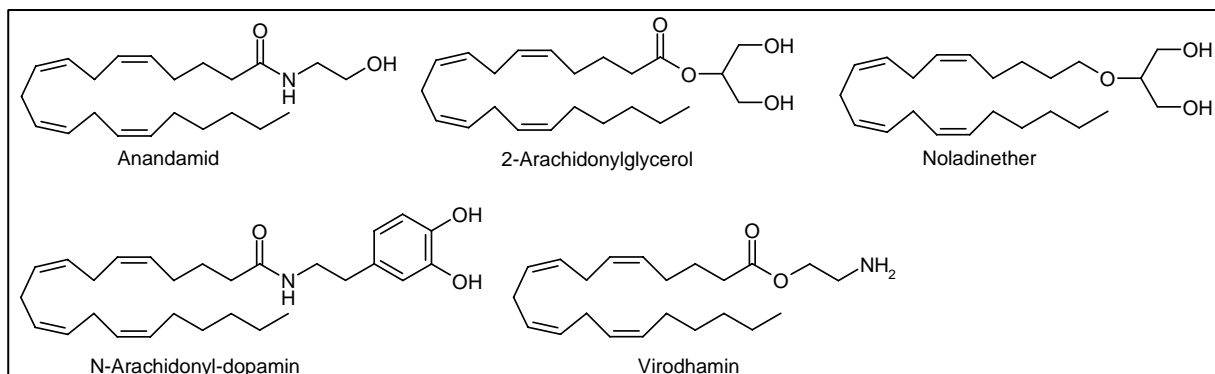


Abbildung 3.1: Endocannabinoide

Die Endocannabinoide sind keine Peptide wie die endogenen Liganden anderer G-Protein-gekoppelter Rezeptoren, sondern Derivate des nicht-oxidativen Metabolismus einer Fettsäure und werden zur Familie der Eicosanoide gerechnet. Sie werden bei Bedarf intrazellulär in den postsynaptischen Zellen synthetisiert.

In Tabelle 3.1 sind die K_i Werte einiger Endocannabinoide aufgeführt.

	Anandamid	Noladinether	2-AG	NADA	Virodhamin
CB ₁	89	21.2	58.3	250	1900
CB ₂	371	>10000	145	12000	1400

Tabelle 3.1: K_i [nM] (Bisogno et al., 2000; Hanus et al., 2001; Pertwee, 2001; Porter et al., 2002)

2-Arachidonyl-glycerol wird auf zwei verschiedenen Wegen gebildet. Die erste Variante ist die schnelle Hydrolyse von Phosphatidylinositol (PI) durch die Phospholipase C (PLC) und nachfolgende Hydrolyse des entstandenen sn-1-Acyl-2-arachidonyl-glycerols durch zwei sn-1-selektive Diacylglycerol-Lipasen (DAGL- α und DAGL- β) (Bisogno et al., 2003) – 1042 bzw. 672 Aminosäuren lang – die erst kürzlich geklont wurden und sich durch Tetrahydrolipstatin ($IC_{50} \leq 100$ nM) inhibieren lassen (Bisogno et al., 2003). Bei der zweiten Variante wird PI zuerst durch die Phospholipase A₁ (PLA₁) selektiv an der sn-1 Position zu LysoPI hydrolysiert und anschließend durch die Phospholipase C (PLC) zu 2-AG gespalten (Ueda et al., 1993).

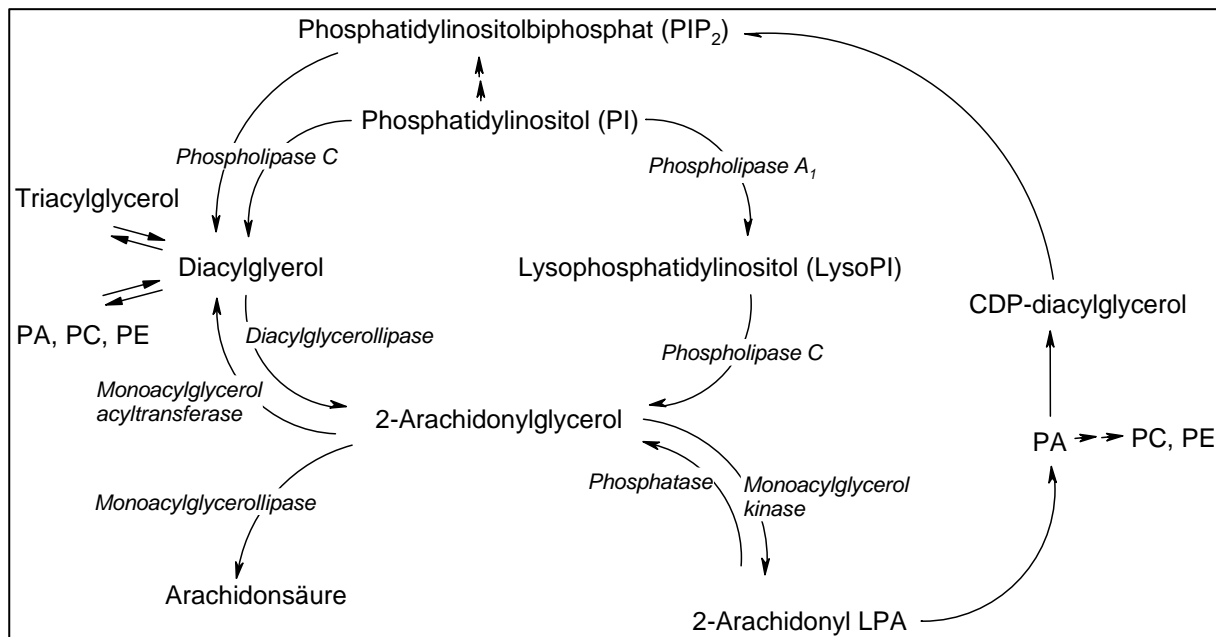


Abbildung 3.2: Biosynthese und Abbau von 2-Arachidonylglycerol

Auch für die Biosynthese von Anandamid sind zwei Stoffwechselwege bekannt. Der erste Stoffwechselweg besteht aus der direkten energieabhängigen N-Acylierung von Ethanolamin durch die Fettsäureamid-Hydrolase (FAAH), die eigentlich für den Abbau von Anandamid verantwortlich ist, bei genügend hoher Arachidonsäure- und Ethanolaminkonzentration aber auch die Synthese katalysiert (Kurahashi et al., 1997). Hauptsächlich wird Anandamid jedoch durch die Freisetzung aus N-Arachidonyl-phosphatidyl-ethanolamin (NAPE), einem Zellwandbestandteil von Säugerzellen, durch die N-Acyl-phosphatidyl-ethanolamin spezifische Phospholipase D (NAPE-PLD) gebildet (Schmid et al., 1983). Die NAPE-PLD, ein Mitglied der Zink-Metallo-Hydrolasen-Familie mit β -Lactamase-Faltung, ist sowohl chemisch als auch enzymatisch verschieden von anderen PLD Enzymen und auch für die Freisetzung von anderen N-Acylethanolamiden, wie z.B. N-Palmityl- und N-Stearyl-ethanolamid, verantwortlich (Okamoto et al., 2004). NAPE wiederum wird durch die Übertragung einer Arachidonyl-Gruppe aus der sn-1 Position anderer Phosphoglyceride auf die Aminogruppe von Phosphatidylethanolamin durch eine Ca^{2+} -abhängige N-Acyltransferase (NAT) gebildet. Dieses Enzym wurde bisher aber noch nicht geklont.

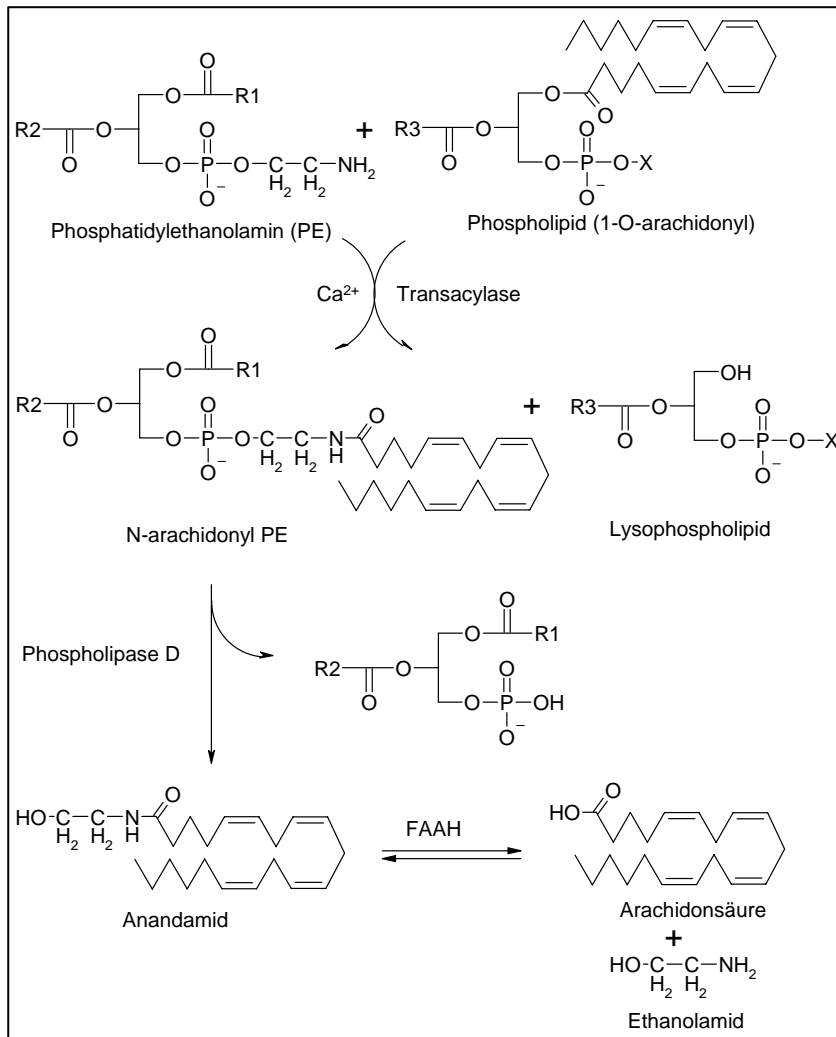


Abbildung 3.3: Biosynthese und Abbau von Anandamid

Die Freisetzung geschieht entweder durch Aktivierung metabotroper Glutamat-Rezeptoren (mGluR) (Maejima et al., 2001; Ohno-Shosaku et al., 2002) oder als Folge eines durch Depolarisation der Zelle bewirkten erhöhten Calcium-Einstroms (Wilson and Nicoll, 2002). Hohe intrazelluläre Calcium-Konzentrationen stimulieren sowohl die DAGLs als auch die NAPE-PLD, was eine Voraussetzung für die Freisetzung von Anandamid und 2-AG ist (Di Marzo et al., 2004). Um an der präsynaptischen Zelle eine Wirkung auslösen zu können, müssen die Endocannabinoide zuerst die postsynaptische Zelle verlassen. Der molekulare Mechanismus ist bisher noch nicht geklärt. Diskutiert wird ein Endocannabinoid Membran Transporter (EMT), für den es aber noch keinen Nachweis auf molekularer Ebene gibt (Hillard et al., 1997).

Die Endocannabinoide entfalten ihre Wirkung durch Bindung an spezifische Bindungsstellen, die Cannabinoid-Rezeptoren. Durch Bindung von mit Tritium markiertem [^3H]-CP 55,940 wurden erstmals 1988 eindeutige Beweise für diese Rezeptoren im Gehirn von Ratten erbracht (Devane et al., 1988). Inzwischen

sind zwei Typen dieses Rezeptors bekannt, Cannabinoid-Rezeptor Typ I (CB₁), der hauptsächlich im zentralen Nervensystem (ZNS), vorwiegend auf Interneuronen in Regionen, die für Motorik, Schmerzempfinden und Lernen zuständig sind, exprimiert wird und Cannabinoid-Rezeptor Typ II (CB₂), der in immunkompetenten Zellen des hämatopoetischen Systems, der Tonsillen und der Milz vorkommt. CB₁-Rezeptoren wurden auch an peripheren Nervenfasern und CB₂-Rezeptoren im Rückenmark von Ratten (Zhang et al., 2003), Astrozyten (Molina-Holgado et al., 2002) und Gliomazelllinien (Galve-Roperh et al., 2000) nachgewiesen. CB₁-Rezeptoren wurden erstmals 1990 geklont. Sie weisen sieben Transmembrandomänen auf und bestehen aus 472 Aminosäuren (Matsuda et al., 1990). CB₂-Rezeptoren, die erstmals 1993 geklont wurden, weisen ebenfalls sieben Transmembrandomänen auf, bestehen allerdings nur aus 360 Aminosäuren (Munro et al., 1993). Beide sind strukturell zu 44% identisch (in den Transmembrandomänen zu 68%). Inzwischen existieren auch Hinweise darauf, dass noch ein oder mehrere zusätzliche Cannabinoid-Rezeptoren existieren (Breivogel et al., 2001; Di Marzo et al., 2000; Pertwee, 1999). Darauf kann im Rahmen dieser Arbeit aber nicht weiter eingegangen werden.

Wegen der Lokalisation der Rezeptoren im Organismus wird der CB₂-Rezeptor für die immunmodulatorische Wirkung verantwortlich gemacht, während dem CB₁-Rezeptor die zentralnervösen Wirkungen zugeschrieben werden.

Die Cannabinoid-Rezeptoren sind an der Regulierung einer Vielzahl physiologischer Funktionen beteiligt, wie Veränderung des schmerzassoziierten Verhaltens, Beeinflussung von Lern- und Gedächtnisprozessen, retrograde neuronale Kommunikation, Kontrolle der Motorik, Immunsuppression und Zellproliferation. Sie gehören zur Gruppe der metabotropen, membranständigen, G-Protein gekoppelten Rezeptoren (Glass and Felder, 1997). Die Wirkung von Agonisten an CB-Rezeptoren ist sensitiv für Pertussis-Toxin, was dafür spricht, dass sie hauptsächlich an G_{i/o}-Proteine gekoppelt sind. Allerdings ist die Affinität von CB₁-Rezeptoren zu G_o-Proteinen etwa zehnfach größer als die von CB₂-Rezeptoren, wobei hingegen beide bei Stimulation die gleiche Affinität zu G_i-Proteinen zeigen (Glass and Northup, 1999). Durch CB-Rezeptoren wird sowohl eine Hemmung der Adenylatzyklase (AC) und durch den deshalb verminderten Gehalt an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) eine Inhibition der Proteinkinase A (PKA), als auch eine Stimulation der Mitogen-aktivierten Protein Kinase (MAPK) bewirkt (McAllister and Glass, 2002). Durch eine reduzierte PKA-Aktivität kommt es zu einer Hemmung von spannungsgesteuerten Natrium-Kanälen oder Protonen- bzw. hitzesensitiven Natrium-Kanälen, welches die Erregbarkeit und Depolarisationsgeschwindigkeit der Zelle herabsetzt (Begg et al., 2001). Außerdem wird die Phosphorylierung von Transkriptionsfaktoren reduziert, z.B. von CREB-Proteinen (cAMP-Reaktionselement-Bindungsprotein), denen ein Schutz gegenüber

neurotoxischen Reizen und eine Rolle bei der Langzeitpotenzierung, z.B. beim Lernen und der Gedächtnisausbildung, zugeschrieben wird. Durch die MAPK werden vermutlich auch andere Transkriptionsfaktoren phosphoryliert, allerdings ist der genaue Mechanismus noch nicht geklärt.

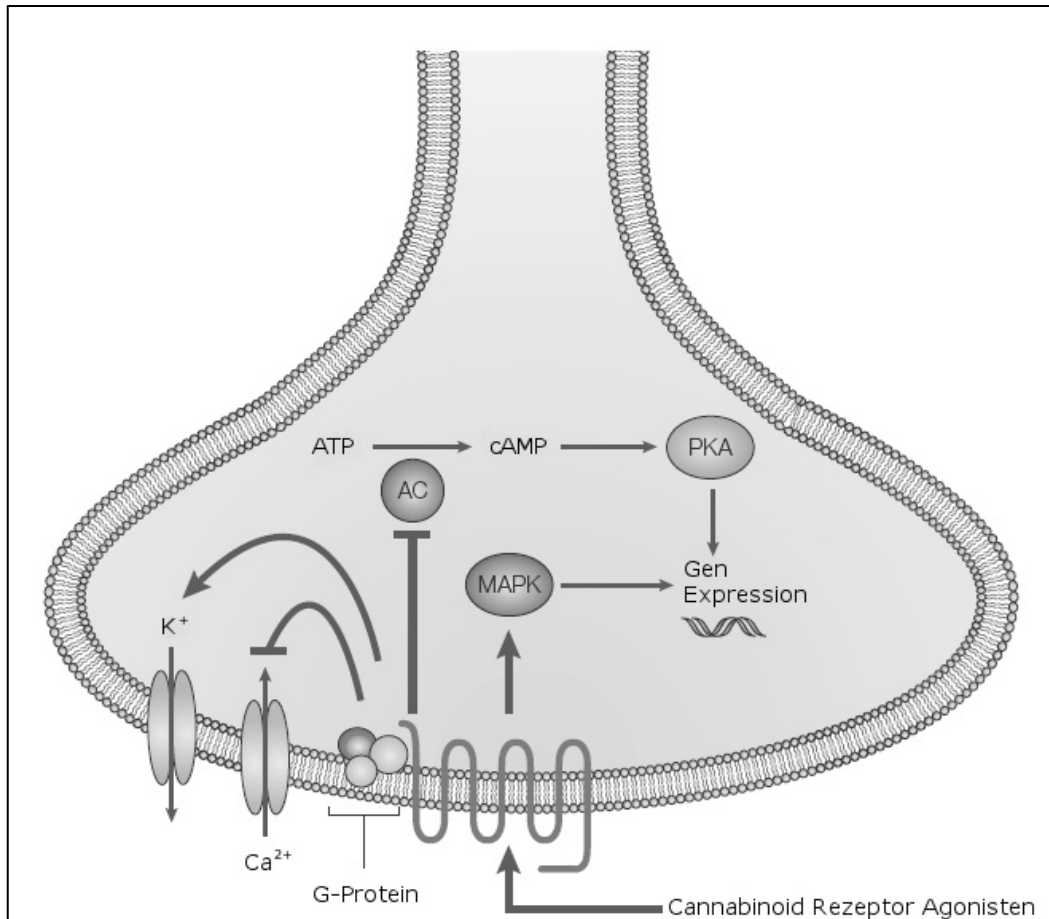


Abbildung 3.4: Signalkaskade bei Cannabinoid-Rezeptor Aktivierung

Zusätzlich bewirken CB₁-Rezeptoren über G-Proteine die Inhibierung von spannungsgesteuerten Calcium-Kanälen und die Aktivierung von auswärts gerichteten Kalium-Kanälen an präsynaptischen Zellen (Guo and Ikeda, 2004; Mackie and Hille, 1992; Twitchell et al., 1997). Dadurch kommt es zu einer verminderten Ausschüttung von Neurotransmittern aus den Vesikeln in den synaptischen Spalt und konsekutiv zu einer Modulation der Signalübertragung.

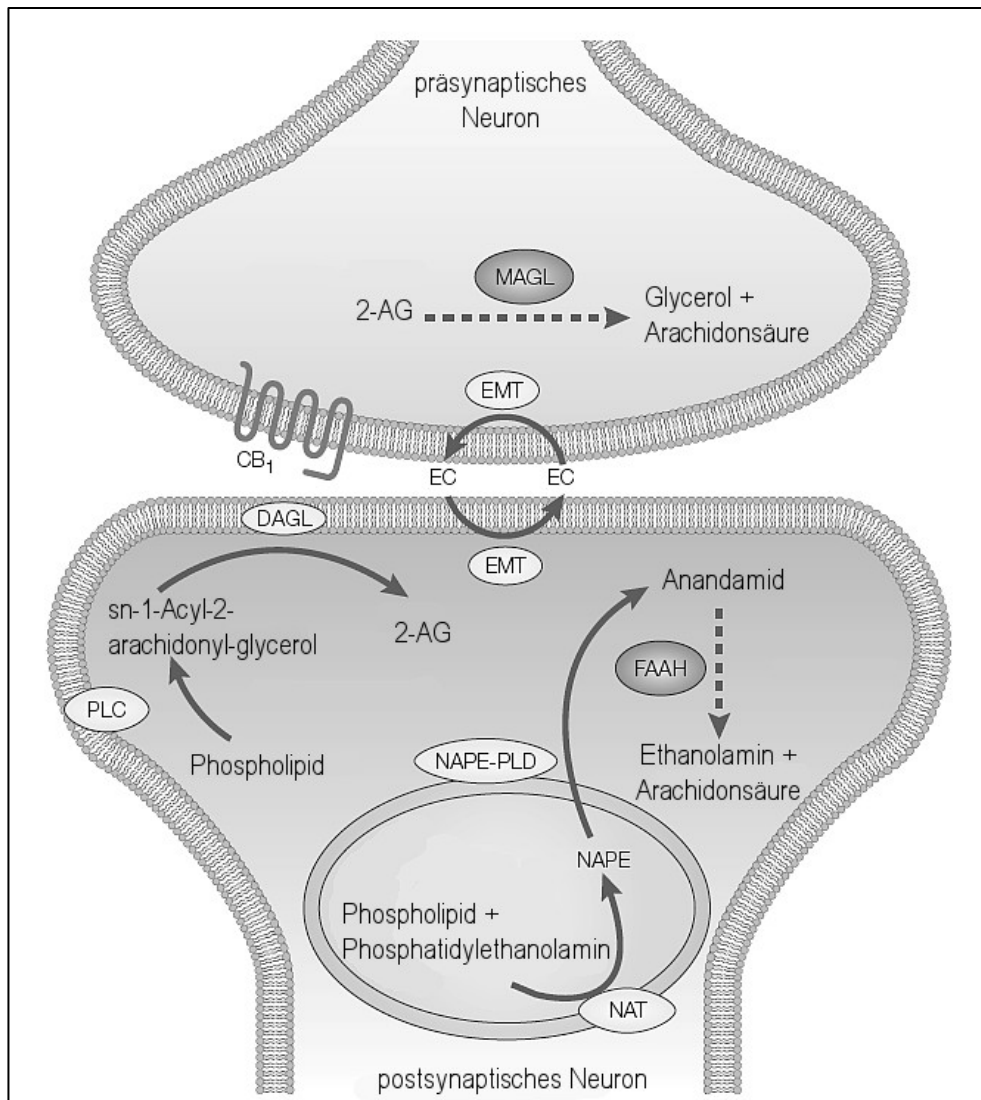


Abbildung 3.5: Anabolismus und Katabolismus der Endocannabinoide

Nach der Freisetzung und Interaktion der Endocannabinoide mit dem Rezeptor wird ihre Wirkung innerhalb weniger Minuten (Willoughby et al., 1997) durch intrazellulären Abbau terminiert. Die Endocannabinoide werden in einem proteinvermittelten (Beltramo et al., 1997), bidirektionalen Prozess durch die Plasmamembran transportiert (Hillard and Jarrahan, 2000) und anschließend intrazellulär durch die Fettsäureamid-Hydrolase (FAAH) (Cravatt et al., 1996) bzw. durch die Monoacylglycerol-Lipase (MAGL) (Dinh et al., 2002) abgebaut. Die FAAH ist ein integrales Membranprotein, das als Homodimer aus zwei 63-kD-Untereinheiten aufgebaut ist. Sie konnte in Gegenwart des kovalenten Inhibitors Methoxyarachidonylfluorophosphonat kristallisiert werden (Bracey et al., 2002). Sie ist für den Abbau von Anandamid und weiteren Fettsäureamiden wie Palmitoylethanolamin, Oleamid und N-Oleoylethanolamin zuständig.

4. Cyclooxygenase (COX) und Inhibitoren

4.1 Cyclooxygenase

Die Cyclooxygenase ist ein Enzym, das die Umsetzung der Arachidonsäure, einer vierfach ungesättigten C₂₀-Fettsäure, zu Prostaglandinen katalysiert. Prostaglandine sind Hormone, die lokal und in geringen Konzentrationen von bestimmten Zelltypen freigesetzt werden und am Freisetzungsort über Membranrezeptoren ihre Wirkung entfalten, z.T. auch von cAMP und cGMP vermittelt.

Bislang sind zwei Isoenzyme der COX bekannt: COX-1, ein konstitutiv exprimiertes Enzym in zahlreichen Körpergeweben. Hohe COX-1 Spiegel finden sich besonders in der Wandung des Magen sowie in der Niere. COX-2 ist ein nach heutigem Wissenstand induzierbares Enzym, das besonders in geschädigten oder entzündeten Geweben exprimiert wird und dort die Prostaglandine bildet, die eine Entzündungsreaktion verstärken oder aufrecht erhalten. COX-1 und COX-2 sind recht ähnlich, sie sind beide etwa 600 Aminosäuren lang und haben eine Übereinstimmung der Aminosäuren von ungefähr 65% (Chandrasekharan and Simmons, 2004). Hinweise auf ein weiteres Isoenzym, eine Splicing-Variante der COX-1, wurden 1997 erstmals entdeckt (Chandrasekharan et al., 2002; Hersh et al., 2005; Schwab et al., 2003). Die COX katalysieren die Umwandlung der Arachidonsäure in zyklische Endoperoxide (Prostaglandin H₂ und G₂), der Vorstufe der Prostaglandine, Thromboxan A und Prostacyclin. Dabei werden zwei Reaktionsschritte unterschieden, die durch verschiedene Domänen der COX katalysiert werden (Abb. 4.1).

- Die Cyclooxygenase-Reaktion, bei der es zur Ausbildung des Sauerstoffüberbrückten Cyclopentansystems kommt (PGG₂)
- Die Peroxidase-Reaktion, bei der die Peroxidfunktion am C-15 zum Alkohol reduziert wird (PGH₂)

Die biologischen Effekte dieser Eicosanoide sind sehr vielfältig, dazu gehören u.a. die:

- Regulation des Tonus der Gefäß-Muskulatur
- Regulation der Nierendurchblutung
- Regulation der Thrombocytenaggregation (TXA₂, PGI₂)
- Funktion als Schmerzmediatoren
- Funktion als Fieberinduktoren
- Bronchokonstriktion (PGF_{2α}, PGD₂, TXA₄, PGG₂)

- Bronchodilatation (PGE₂, PGI₂)
- Funktion als Modulatoren von Immunantworten
- Regulation im ovariellen Zyklus
- Regulation der Magenschleimhaut- und Magensäureproduktion (PGE₂, PGI₂)

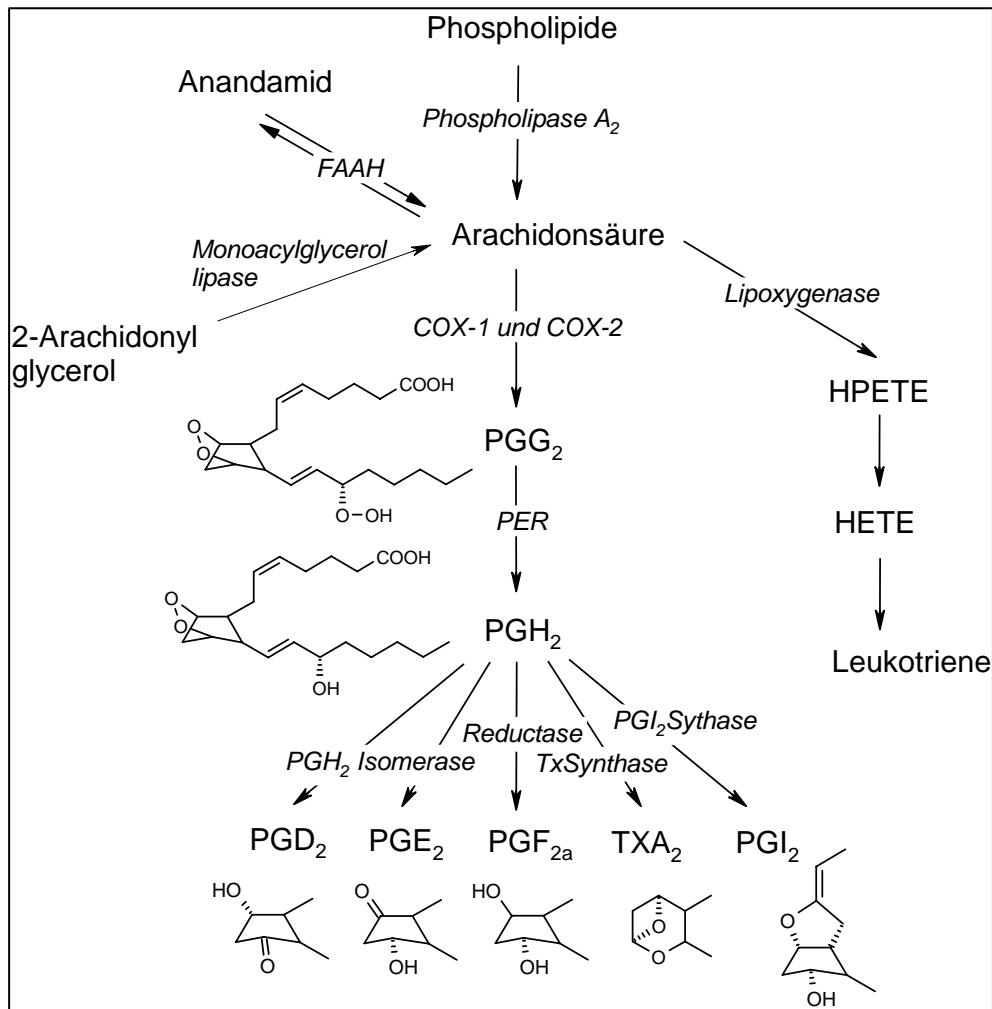


Abbildung 4.1: Arachidonsäure-Kaskade

Aufgrund der Beteiligung an diesen physiologischen Vorgängen ist die selektive Hemmung der erhöhten Prostaglandinfreisetzung bei pathophysiologischen Prozessen wie z.B. Entzündungen oder Schmerz wünschenswert.

4.2 COX-Inhibitoren

Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) wie Naproxen, Ibuprofen, Flurbiprofen, Indometacin, Diclofenac oder Metamizol werden für die Behandlung von Schmerzen, Entzündungen und Fieber eingesetzt. Sie entfalten ihre Wirkung - zumindest teilweise - über die Hemmung der Cyclooxygenase-(COX)-Isoenzyme (Laneuville et al., 1994). Bei den optisch aktiven 2-Arylpropionsäuren (2-APA) wird meist das Racemat eingesetzt. Allerdings haben Arzneimittel optisch aktiver NSAR, die reine S-(+)-Enantiomere enthalten, grundsätzlich eine Reihe theoretischer Vorteile. Da in therapeutischen Dosen nur das S-(+)-Enantiomer der 2-Arylpropionsäuren die COX-Isoformen hemmt, könnte die gleichzeitige Zufuhr des inaktiven R-(-)-Enantiomers als überflüssige Belastung des Organismus angesehen werden. Allerdings haben die R-(-)-Enantiomere teilweise andere Angriffspunkte bzw. werden in die S-(+)-Enantiomere umgewandelt. So wird die Eliminationshalbwertszeit des als Racemat eingesetzten Ibuprofens (S-(+)-Ibuprofen wird aus dem Plasma mit einer Halbwertszeit von ca. zwei Stunden eliminiert) durch das R-(-)-Enantiomer, das in variablem Umfang von 55 bis 85 % in das als COX-Inhibitor 100 bis 200-fach potentere S-(+)-Enantiomer isomerisiert wird, verlängert (Rudy et al., 1992). Dies ist auch bei einigen anderen 2-APA zu beobachten. Die Inversion erfolgt durch eine stereoselektive Aktivierung der R-(-)-2-APA durch eine Mg^{2+} - und ATP-abhängige Acyl-CoA-Synthetase zu den entsprechenden Acyl-CoA-Thioestern. Diese werden entweder durch eine Acyl-CoA-Hydrolase wieder gespalten oder durch eine 2-APA-CoA-Epimerase in die entsprechenden S-(+)-2-APA-CoA Thioester isomerisiert und dann durch eine Acyl-CoA-Hydrolase gespalten (Reichel et al., 1995; Reichel et al., 1997).

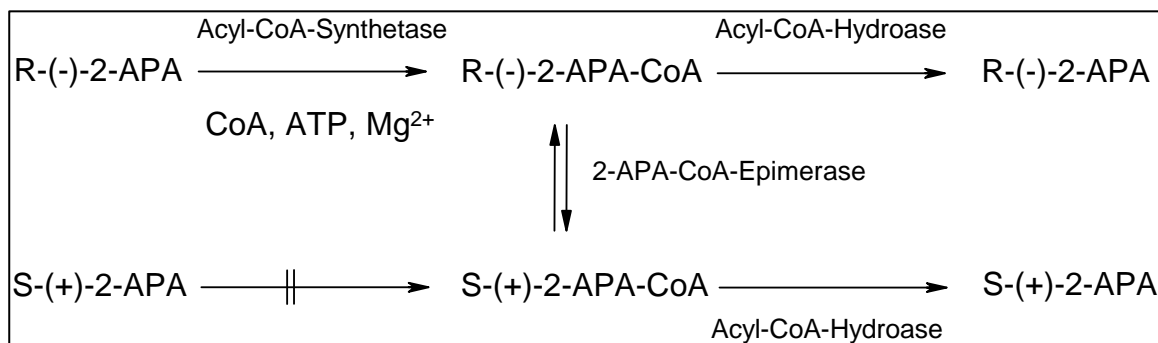


Abbildung 4.2: Mechanismus der Inversion der 2-APA

75% der verabreichten Dosis von Ibuprofen wird über den Urin wieder als freies Ibuprofen, 2-Hydroxyibuprofen und Carboxyibuprofen oder als Konjugat der oben genannten Metabolite mit Glucuronsäure ausgeschieden. Der Metabolismus über Glucuronidierung und Oxidierung erfolgt allerdings nur beim S-(+)-Ibuprofen (Tan et al., 2002).

Bei einem anderen Antirheumatikum dieser Gruppe, dem Flurbiprofen, tragen beide Enantiomere – wenn auch über unterschiedliche Mechanismen – zur Wirksamkeit bei. Das R-(-)-Enantiomer hemmt die beiden COX-Enzyme zwar 500- bis 100-fach schwächer als das S-(+)-Enantiomer, vermindert aber die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, der seinerseits die Expression von COX-2 und iNOS (induzierbare NO-Synthetase) anregt (Brune et al., 1992). R-(-)-Flurbiprofen wird im Menschen nicht in das S-(+)-Enantiomer isomerisiert. Flurbiprofen wird über Hydroxylierung und Methylierung metabolisiert, wobei das Chiralitätszentrum nicht verändert wird. 20% der verabreichten Dosis von Flurbiprofen wird über den Urin wieder als freies Flurbiprofen wieder ausgeschieden, der Rest als Acyl-Glucuronide (Davies, 1995).

	Inversion R-S beim Menschen [%]	analget. Dosierung [mg] Einzeldosis (max Tagesdosis)	t _{max} [h] (p.o., Plasma)	t _{1/2} [h]	Verteilungsvolumen [l/kg]	orale Bioverfügbarkeit [%]	Plasma-proteinbindung
Flurbiprofen	-	50 (200)	1.5	4-6	0.1	92	99.5
Ibuprofen	55-85	200-400 (800-2400)	1-2	1.8-3.5	0.11	95	99
Naproxen	?	250-500 (1250)	2-4	12-15	0.13	>50	99
Diclofenac	-	25-50 (300)	2-4*	3-6*	0.12	60	99.5
Indometacin	-	25-50 (200)	1-2	4-11	0.3	98	90
* Synovialflüssigkeit							

Abbildung 4.3: Eigenschaften der NSAR

5. TRPV1 (Vanilloid) Rezeptoren und Liganden

Capsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamid) (Abb. 5.1), ein im spanischen Pfeffer (*Capsicum annuum* L.) und Cayennepfeffer (*Capsicum frutescens* L.) vorkommendes Vanillylamid, ist seit langem als stark hautirritierender Stoff bekannt. Die erste schriftliche Erwähnung von Capsicum aus dem Jahr 1494 geht auf den spanischen Arzt Diego Alvarez Chanca zurück, der Columbus auf seiner zweiten Fahrt nach Westindien begleitete. In Europa wurde Capsicum durch die Spanier eingeführt, weshalb die Pflanze auch den Namen spanischer Pfeffer erhalten hat. Capsaicin wurde erstmals 1846 von Thresh isoliert (Thresh, 1846), die chemische Struktur konnte allerdings erst 1919 bestimmt werden (Nelson, 1919).

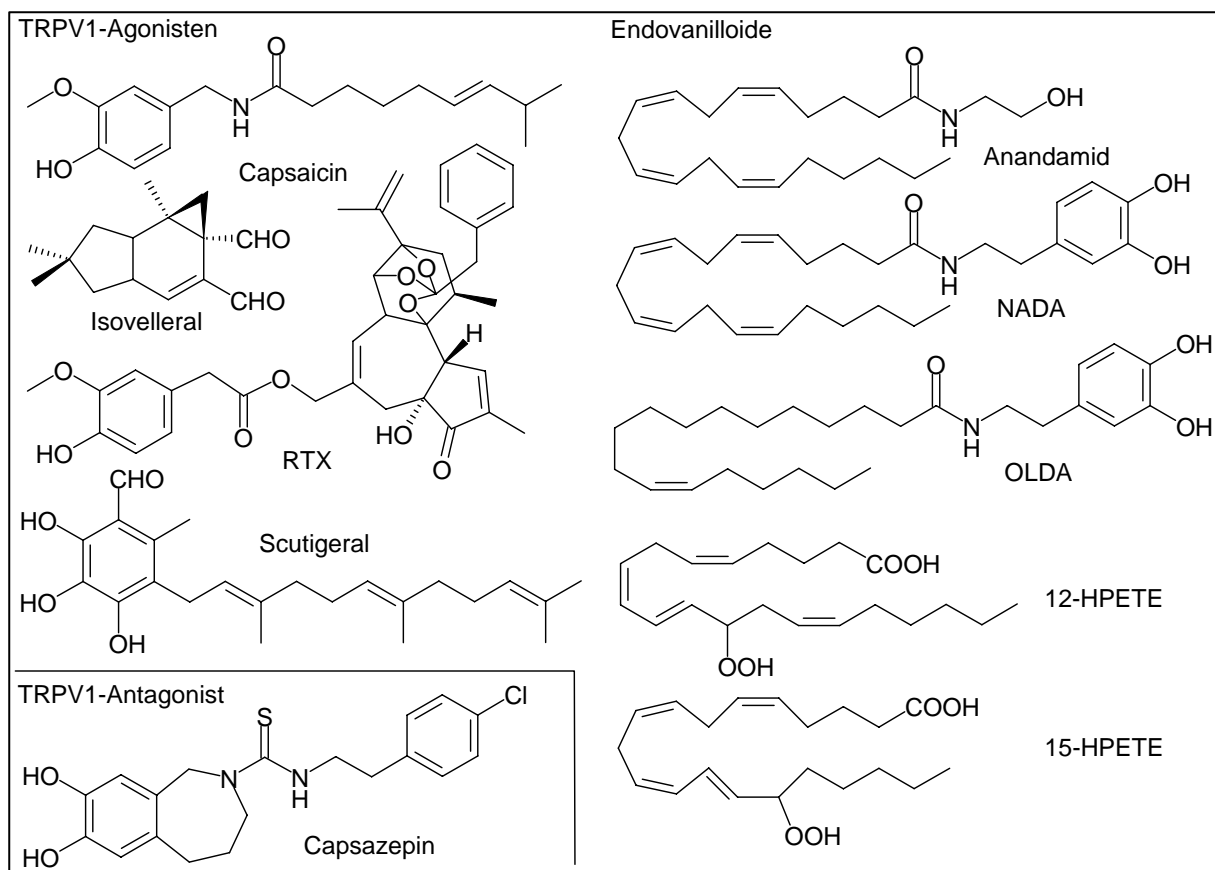


Abbildung 5.1: Strukturformeln von TRPV1-Agonisten und -Antagonisten

Capsaicin inhibiert das Substanz P System reversibel, indem es den axonalen Substanz P Transport von afferenten C-Fasern blockiert und die Substanz P Synthese in Spinalganglien hemmt. Der Mechanismus ist bisher noch nicht geklärt. Durch die Bindung von Capsaicin an einen spezifischen Rezeptor, den so genannten Vanilloid-Rezeptor, öffnen sich nicht-selektive Kationenkanäle,

die den Einstrom von Natrium- und Calcium-Ionen in die Zelle erlauben. Dies führt zu einer ausgeprägten Depolarisation des Neurons und zur Freisetzung von Substanz P und anderen Neurotransmittern (Tab. 5.1) (Szallasi and Blumberg, 1999). Die bei topischer Applikation zu beobachtende initiale, schmerzhaft und erythematöse Irritation ist auf diese initiale Erregung der Nozizeptoren zurückzuführen.

Neuropeptide:	Arginin, Vasopressin, Bombesin/Gastrin-releasing Peptide, CGRP, CCK, Dynorphin, Eledoisin, Galanin, NKA, Somatostatin, Substanz P, VIP
---------------	--

Tabelle 5.1: Durch Stimulation des Vanilloidrezeptors freigesetzte Mediatoren

Der Exzitation von sensiblen Neuronen durch Vanilloide folgt ein refraktärer Zustand, während dessen die Neuronen weder durch Vanilloide noch durch andere Reize, wie z.B. schmerzhaft Hitze, mechanischen Druck, endogene (Histamin, Bradykinin) oder exogene Mediatoren erregbar sind.

Durch Vanilloide werden die Neurotransmitterspeicher der Nervenzelle entleert. Studien konnten außerdem nachweisen, dass Capsaicin den intraaxonalen Transport von Makromolekülen blockiert. Unter anderem ist davon auch der axonale Transport von Substanz P und von Neurokinin A betroffen. Capsazepin ist ein kompetitiver Antagonist am Vanilloid-Rezeptor und blockiert die Wirkung von Capsaicin (Bevan et al., 1992).

Bei Capsaicin-sensitiven Neuronen handelt es sich im Wesentlichen um peptiderge, unmyelinisierte C-Fasern. Diese sind primäre sensorische Neurone mit kleinem Durchmesser (< 50 µm).

Capsaicin kann sowohl reversible als auch irreversible neurotoxische Wirkungen an den betroffenen Neuronen entfalten. Werden neugeborene Ratten mit Capsaicin behandelt, so kommt es zu einer lebenslang anhaltenden Ablation der afferenten C-Fasern. Werden die Tiere erst im Erwachsenenalter mit Capsaicin behandelt, so hält der Effekt nur für Tage bis Wochen an.

Substanz P ist ein aus 10 Aminosäuren bestehendes Neuropeptid, das in Spinalganglienzellen synthetisiert und von dort durch axonalen Transport zu den Nervenendigungen in der Peripherie und im Rückenmark transportiert wird. Substanz P ist als Transmitter afferenter Neuronen von Bedeutung, die als Teil der Schmerzbahn Signale aus der Peripherie, besonders der Haut, zum Rückenmark leiten.

TRPV1-Rezeptoren werden auch durch Anandamid, einem Cannabinoid-Rezeptor-Ligand, aktiviert (Ahluwalia et al., 2003; Zygmunt et al., 1999). Außer

Anandamid wurden noch weitere endogene Liganden für TRPV1-Rezeptoren gefunden, nämlich N-Arachidonyldopamin (NADA) (Huang et al., 2002) und N-Oleoyldopamin (OLDA) (Chu et al., 2003), sowie die Lipoxygenase-Produkte 12-HPETE und 15-HPETE (Hwang et al., 2000), deren Strukturformeln in Abb. 5.1 dargestellt sind.

Im Jahre 1997 wurde ein VR1 genannter Vanilloid-Rezeptor geklont (Caterina et al., 1997). Dieser Rezeptor funktioniert als ein molekularer Integrator von schmerzhaften chemischen und physikalischen Stimuli, unter anderem Hitze über 42°C oder niedriger pH-Wert (Tominaga et al., 1998). Anscheinend öffnet Hitze den VR1-Kanal, während sowohl Capsaicin als auch Protonen die Rezeptorschwelle herabsetzen. Dadurch reicht schon Raumtemperatur aus, um den Kanal bei niedrigen pH-Werten oder in Gegenwart von Capsaicin zu öffnen (Tominaga et al., 1998).

Durch die Entdeckung anderer Liganden und der hohen Sequenzhomologie zu anderen transient receptor potential (TRP) Kanälen wurde der VR1-Rezeptor als erster Vertreter einer neuen Subfamilie als TRPV1 bezeichnet. Terpenoide ungesättigte Dialdehyde (Szallasi et al., 1998; Szallasi et al., 1996) und Triprenylphenole (Szallasi et al., 1999) sind zwei chemische Klassen dieser neu entdeckten Liganden. Resiniferatoxin (RTX), ein ultrapotenten Capsaicin-Analogon (EC_{50} : 40 nM) (Szallasi and Blumberg, 1989; Szallasi and Blumberg, 1990), wird momentan klinischen Studien unterzogen.

Beim TRPV1-Rezeptor handelt es sich um ein aus 838 Aminosäuren bestehendes Membranprotein mit einer molekularen Masse von 95 kDa, das 6 Transmembrandomänen aufweist. Am N-terminalen Ende befinden drei Ankyrin-Domänen. Außerdem existieren noch drei Regionen, die durch die Proteinkinase A (PKA) phosphoryliert werden können, und vermutlich eine Rolle bei der Rezeptor-Desensibilisierung spielen.

Mittlerweile sind sechs thermosensitive TRP-Kanäle bekannt (Patapoutian et al., 2003; Tominaga and Caterina, 2004). Die Wahrnehmung von schmerzhafter Hitze wird durch die beiden Hitzerezeptoren TRPV1 und TRPV2 vermittelt. TRPV1 wird, wie schon erwähnt, bei Temperaturen von mehr als 42°C aktiviert, TRPV2, der nicht auf Capsaicin oder niedrigen pH-Wert reagiert, aber erst bei Temperaturen über 50°C. Nichtschmerzhafte Wärme (34-42°C) wird durch TRPV3 und TRPV4 sensorischer Fasern in Zunge, Haut und Nase vermittelt. Kälte wird über die Kälterezeptoren TRPM8 (nicht-schmerzhafte Kälte <25°C) und TRPA1 (schmerzhafte Kälte <17°C) vermittelt.

Eine Auflistung der TRP-Kanäle mit ihren bekannten Funktionen, Interaktionspartnern und Aktivierungsmechanismen gibt Tabelle 5.2.

TRP	Funktion	Interaktionen	Agonisten / Aktivierung
A1 (ANKTM1)	Detektion noxischer Kälte		$T \leq 17^\circ\text{C}$; potenziert durch Icillin; DAG, AA
C1-7	Vielfältig z.B. ZNS, Vasoregulation, Morphologie des Wachstumskegel, Atmungsregulation	bilden definierte Heterodimere; Calmodulin; PLC β ; IP3-R; Calveolin-1; DAG? $G\alpha_{q/11}$; PMCA	GPCR;
V1 (VR1)	Detektion von Hitze; Nozizeption; inflammatorische thermische Hyperalgesie; Ausdehnung der Blase	TRPV3; Calmodulin; β -Tubulin	$T \geq 42^\circ\text{C}$; Capsaicin; RTX; NADA; H^+ ; Anandamid; Ethanol; PIP $_2$; PKC
V2 (VRL-1;GRC)	Detektion noxischer Hitze; Nozizeption; Muskeldegeneration?		$T \geq 50^\circ\text{C}$; IGF-1 (Maus)
V3 (VRL-3)	Detektion moderater Wärme; Nozizeption?	TRPV1	$T > 33^\circ\text{C}$
V4 (VR-OAC)	ZNS: Druck- und osmotische Detektion; Detektion moderater Wärme; Nozizeption	Calmodulin; Kinasen der Src-Familie	Hypo-Osmolarität; $T > 24^\circ\text{C}$; Phorbolster; Anandamid; AA; Epoxyeicosatriensäure
V5 (CaT2)	Ca^{2+} -Aufnahme in Niere, Darm?	TRPV6; Annexin2	konstitutiv
V6 (CaT1)	Ca^{2+} -Aufnahme in Darm?	TRPV5; Annexin2	konstitutiv
M1 (MLSN)			Translokation?
M2	Sensor für oxidativen Stress		ADP-Ribose, NAD, H_2O_2
M3	Ca^{2+} -Aufnahme in Niere?		
M4			$[\text{Ca}^{2+}]_i$
M5 (Mtr1)	Geschmack (süß, bitter, umami)		T1R, T2R- G_{gus} -PLC β 2, $[\text{Ca}^{2+}]_i$
M6 (CHAK2)	Mg^{2+} -Aufnahme in Niere, Darm?		
M7 (TRP-PLIK)	zelluläres Mg^{2+} -Gleichgewicht?	PLC β 1-3; PLC γ	PIP $_2$, Mg^{2+} -ATP
M8 (CMR1)	Detektion noxischer Kälte; Nozizeption; Krebs?		$T \leq 25^\circ\text{C}$; potenziert durch Menthol, Eukalyptol, Icillin

Tabelle 5.2: Charakteristische Eigenschaften der TRP-Kanäle

Diese drei vorgestellten Systeme (Cannabinoid-, Vanilloid- und COX-System) stehen in einem direkten Zusammenhang, sei es dass endogene Liganden des einen Systems auch in ein anderes eingreifen oder dass durch Enzyme die Substratkonzentrationen eines anderen Systems beeinflusst wird. Durch die Verzahnung dieser Systeme scheint es logisch, einen direkten oder indirekten

Einfluss sowohl von Arzneistoffen, die in eines dieser Systeme eingreifen, als auch von deren Metaboliten auf die jeweils anderen anzunehmen.

Mögliche aktive Metabolite könnten Analoga der Endocannabinoide und Endovanilloide sein, also Ethanolamide, Dopaminamide, Vanillylamide und 2-Glycerolester der Arachidonsäure-Mimetika. Im Folgenden werden die Synthesen von Verbindungen beschrieben, die wir mit diesem Denkansatz zunächst ins Auge gefasst haben.

6.2 Synthese der 2-Glycerolester

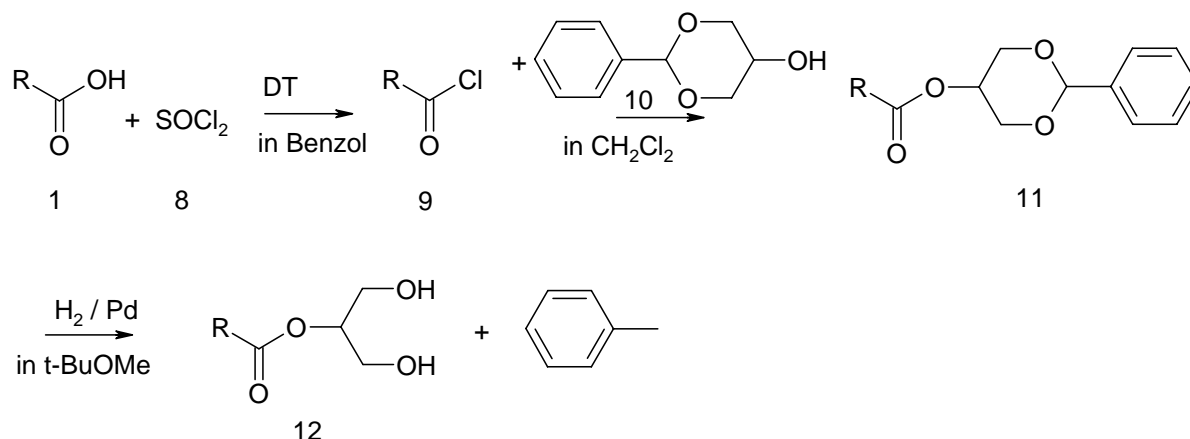


Abbildung 6.3: Synthesepfad der 2-Glycerolester

Der erste Schritt war eine Aktivierung der Carbonsäurefunktion der Arylpropionsäuren bzw. Arylessigsäure (**1a-g**) mit Thionylchlorid (**8**). Die aktivierten Säuren wurden dann mit Benzylidenglycerol (**10**) zu Benzylidenglycerolestern (**11a-g**) umgesetzt. Anschließend wurden die entstandenen Ester (**11a-g**) mit Wasserstoff unter Verwendung eines 10% Palladium-Aktivkohle Katalysators zu den jeweiligen symmetrischen Glycerolestern (**12a-g**) in mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert, um die Acyl-Umlagerung in 1- und 3-Position zu verhindern (Millqvist-Fureby et al., 1996).

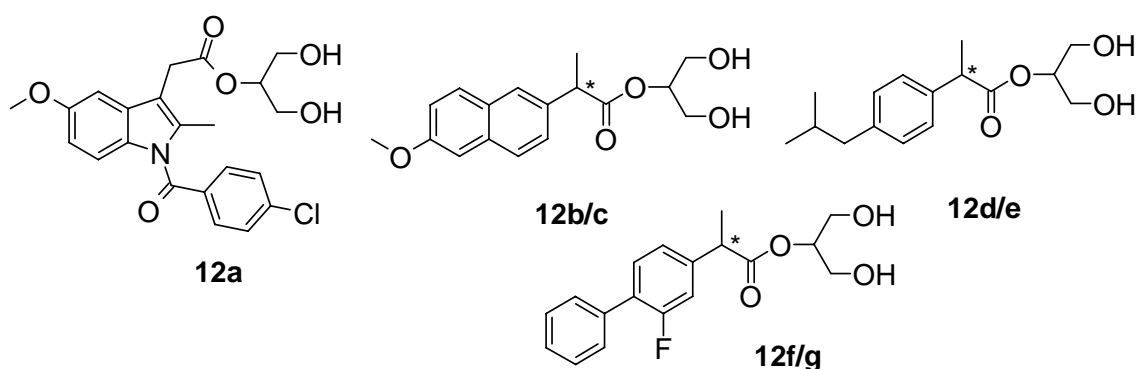


Abbildung 6.4: Synthetisierte 2-Glycerolester

6.3 Synthese der Arachidonylamide

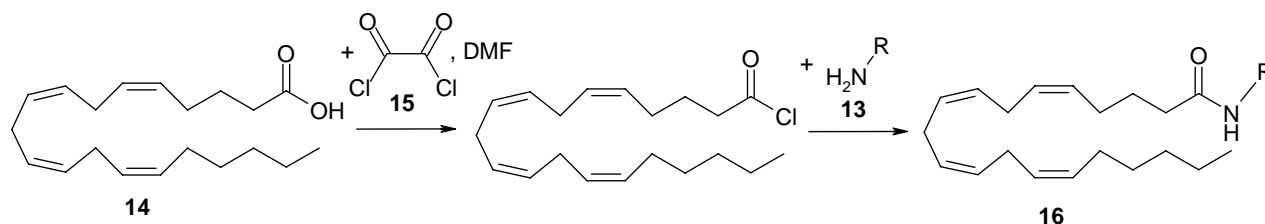


Abbildung 6.5: Synthese der Arachidonylamide

Der erste Schritt war eine Aktivierung der Carbonsäurefunktion der Arachidonsäure (**14**) mit Oxalylchlorid (**15**) und DMF. Die aktivierte Säure wurde anschließend mit dem in THF gelösten Amin (**13a-b**) zum Arachidonylamid (**16a-b**) umgesetzt.

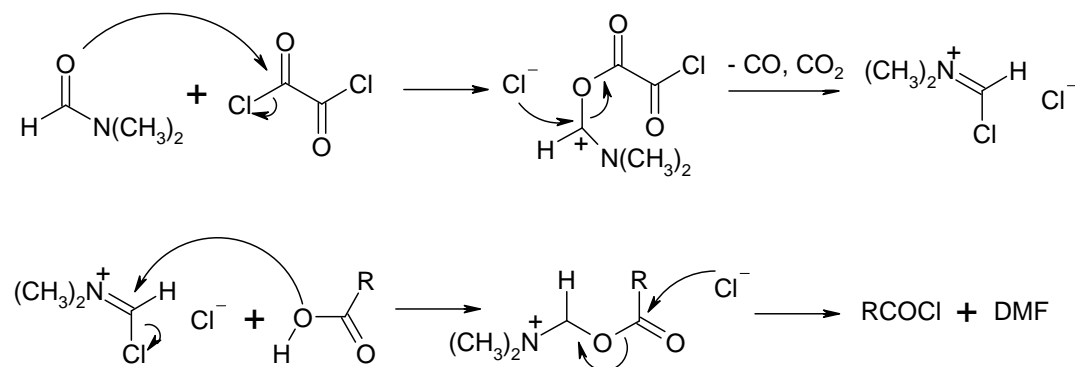


Abbildung 6.6: DMF als Katalysator für die Darstellung von Carbonsäurechloriden (Vilsmeier-Reagenz)

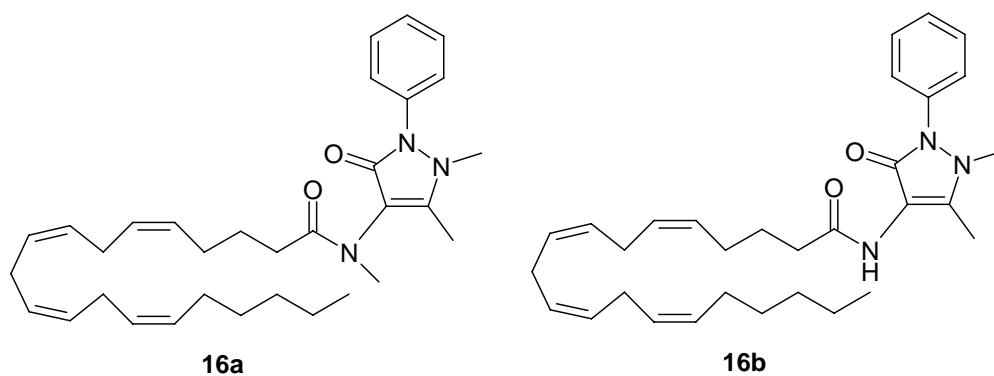


Abbildung 6.7: Synthetisierte Arachidonylamide

Der Erfolg der Umsetzung wurde jeweils durch $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und Massenspektrometrie bestätigt. Details der Synthesen finden sich im experimentellen Teil.

7. Affinitätsmessungen

7.1 Fettsäureamidhydrolase

Für die Inhibitionsmessungen wurde das Gehirn von männlichen Ratten für die Gewinnung der FAAH enthaltenden Membranen benutzt. Diese wurden mit [^{14}C]-Anandamid in einer Konzentration von 10.000 cpm (counts per minute) pro Probe und den Testsubstanzen inkubiert, mit CHCl_3 / MeOH versetzt und anschließend die verbliebene Radioaktivität der wässrigen Phase gemessen.

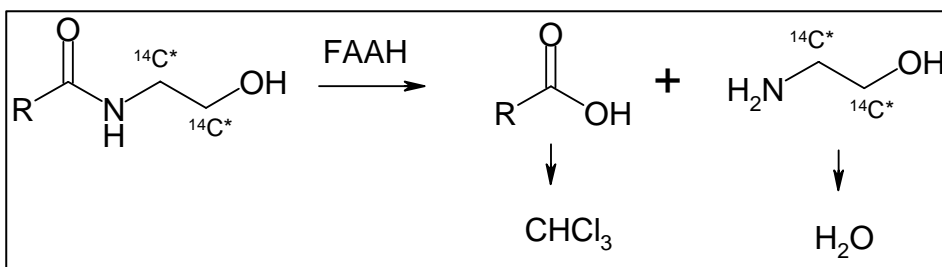


Abbildung 7.1: Hydrolyse von [^{14}C]-Anandamid durch FAAH

7.2 Cannabinoid-Rezeptor Typ 1 (CB_1)

Die Affinitätsmessungen wurden nach der Radioligandbindungsmethode durchgeführt. Das Gehirn von männlichen Ratten wurde für die Gewinnung der CB_1 -Rezeptoren enthaltenden Membranen benutzt. Diese wurden mit [^3H]-SR-141716a (Abb. 7.2), einem mit Tritium markierten selektiven CB_1 -Antagonisten, in einer Konzentration von 0.4 nM inkubiert, mit den Testsubstanzen versetzt und anschließend wurde die verbliebene Radioaktivität gemessen.

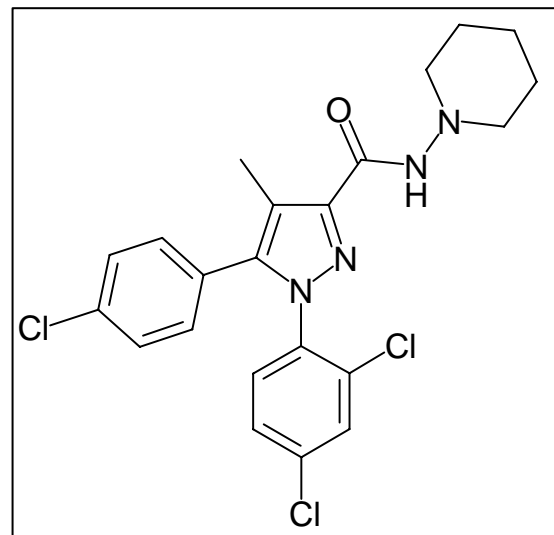


Abbildung 7.2: SR-141716a

7.5 Cyclooxygenase (COX)

Zur Bestimmung der Inhibitionskonstante der Testsubstanzen gegenüber COX wurden diese mit dem Protein und Arachidonsäure inkubiert. Nach Stoppen der Reaktion mit Ameisensäure wurde eine Flüssigextraktion zum Separieren des PGE₂ bzw. PGI₂ durchgeführt und dessen Konzentration per LC-MS bestimmt.

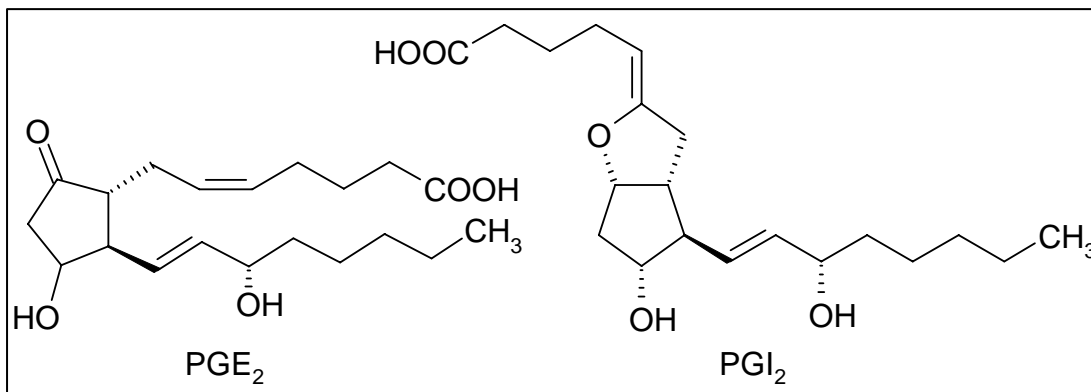


Abbildung 7.5: Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Prostacyclin (PGI₂)

8. *Ergebnisse und Diskussion*

8.1 Derivate nichtsteroidaler Antirheumatika als potentielle Cannabinoid- und Vanilloid-Rezeptor Liganden

Die drei eingangs vorgestellten Systeme (Cannabinoid-, Vanilloid- und COX-System) stehen in einem mittelbaren Zusammenhang. So ist z.B. das Endocannabinoid Anandamid gleichzeitig auch ein Ligand des TRPV1-Rezeptors. Auf den ersten Blick erscheint es wenig sinnvoll, dass ein Ligand an CB-Rezeptoren, über die Analgesie vermittelt wird, auch ein Ligand am TRPV1-Rezeptor ist, der als Integrator schmerzhafter chemischer und physikalischer Stimuli dient. Andererseits wird auch eine Desensitivierung der Vanilloid-Rezeptoren bewirkt, was wiederum der Analgesie zuträglich ist.

Die Sensitivität und Dichte der TRPV1-Rezeptoren ist bei einer Entzündung erhöht (Di Marzo et al., 2002). Cannabidiol, ein nicht-psychotropischer Inhaltsstoff von *Cannabis sativa L.*, der nicht an CB-Rezeptoren aktiv ist, bewirkt im Carrageen-induzierten Rattenpfoten-Ödem über TRPV1-Rezeptoren Antihyperalgesie (Costa et al., 2004). Auf der anderen Seite unterdrückt auch AM1241, ein CB₂-Agonist, die Capsaicin-induzierte Hyperalgesie (Hohmann et al., 2004).

Interessanterweise besteht auch noch eine direkte Verbindung zur Arachidonsäure-Kaskade. Die COX katalysieren die Oxygenierung von Anandamid und 2-AG zu einer Reihe von Lipiden, die den Prostaglandinen strukturell ähnlich sind (Patrignani et al., 2005). So wird Anandamid von COX-2, aber nicht von COX-1, zu PGE₂-Ethanamid als Hauptprodukt metabolisiert, das nicht an CB- und TRPV1-Rezeptoren bindet und eine etwa 500fach geringere Affinität zu EP-Rezeptoren (Prostaglandin E Rezeptoren) als PGE₂ hat (Ross et al., 2002). 12-OH-2-AG (2-(12-Hydroxy-Arachidonyl)-glycerol), ein Metabolit von 2-AG, aktiviert den Kernrezeptor PPAR- α (peroxisome proliferator-activated receptor- α) (De Petrocellis et al., 2004), der wahrscheinlich für die antiinflammatorischen Eigenschaften von 12-OH-2-AG verantwortlich ist.

Auch wirken NSARs nachweislich im Endocannabinoid-System (ECS). So wurde gezeigt, dass sowohl Ibuprofen als auch Flurbiprofen und Indometacin die FAAH in therapeutisch erreichter Konzentration hemmen (Fowler et al., 2005; Fowler et al., 1997). Da FAAH-Inhibitoren auch analgetisch wirken (Boger et al., 2005) – für den FAAH Inhibitor OL-135 wurde eine Reduktion des Schmerzverhaltens im Formalin induzierten Entzündungstest beobachtet

(Fowler et al., 2005) – und FAAH^{-/-}-Mäuse eine Hypoalgesie zeigen (Lichtman et al., 2004), trägt dies vermutlich auch zum Wirkungsmechanismus der NSARs bei. Des Weiteren erweisen sich Flurbiprofen und Indometacin spinal appliziert als antinozizeptiv im Formalin-Test. Diese Wirkung von Flurbiprofen lässt sich durch Gabe von AM-251, einem CB₁-Antagonisten, aber nicht durch Gabe von PGE₂ aufheben (Ates et al., 2003; Fowler et al., 2005); die Wirkung von Indometacin kann durch SR144528, einem CB₂-Antagonisten, blockiert werden (Fowler et al., 2005).

Ob diese Wirkung von Flurbiprofen und Indometacin sich „nur“ auf die Inhibierung von Enzymen, die Endocannabinoide abtransportieren und abbauen (COX, FAAH, EMT), bzw. auf die vermehrte Bereitstellung von Arachidonsäure zur Anandamidsynthese durch Blockade von anderen Arachidonsäure-Stoffwechselwegen (COX-Hemmung) beschränkt (Fowler, 2004), oder ob auch ein direkter Angriff von Metaboliten dieser Wirkstoffe an CB-Rezeptoren möglich ist, muss noch geklärt werden. Allerdings scheint es durch die Verzahnung dieser Systeme logisch, einen direkten oder indirekten Einfluss sowohl von Arzneistoffen, die in eines dieser Systeme eingreifen, als auch von deren Metaboliten auf die jeweils anderen anzunehmen.

Mögliche aktive Metabolite könnten die Derivate der Endocannabinoide sein, also Ethanolamide, Dopaminamide und 2-Glycerolester der Arachidonsäure-Mimetika. Des Weiteren wurden auch Vanillylamide dieser Arachidonsäure-Mimetika als Derivate des Vanilloids Capsaicin hergestellt und getestet.

Was haben wir nun für die von uns synthetisierten möglichen Metabolite der Profene und Arylessigsäure gefunden?

Wie Abbildung 8.1 zeigt, sind die Ethanolamide im Radioligand-Bindungstest an CB₁-Rezeptoren sowohl in einer Konzentration von 5 µM als auch 25 µM unwirksam. Die Dopamide und Vanillylamide hingegen zeigen zumindest in höheren Konzentrationen (25 µM) eine beachtliche Aktivität. Allerdings sind dies Konzentrationen, die in vivo nicht erreicht werden. An CB₂-Rezeptoren zeigt sich ein ähnliches Bild (Abb. 8.2): Wieder wird eine gewisse Aktivität beobachtet, die beim Diclofenac-vanillylamid sogar einen EC₅₀-Wert von unter 5 µM aufweist.

Die symmetrischen Glycerolester von Ibuprofen, Naproxen, Flurbiprofen und Indometacin, als Analoga des 2-AG, zeigten weder an CB₁- noch an CB₂-Rezeptoren Wirkung.

Diese Daten schließen eine direkte Wirkung zumindest der letztgenannten Metabolite im ECS aus.

	CPM	Mittelwert	Leerwert korregiert	spezif. Bindung
Leerwert	273 459	366		
Kontrolle	3607 3438	3523	3157	76.2%
SR 141716a 1microM	984 1252	1118	752	Bindung
SIEA 5microM	3330 3547	3439	3073	3.5%
SIEA 25microM	3579 3703	3641	3275	-4.9%
RIEA 5microM	3528 3666	3597	3231	-3.1%
RIEA 25microM	3308 3601	3455	3089	2.8%
SFV 5microM	3248 3001	3124	2758	16.6%
SFV 25microM	2157 2113	2135	1769	57.7%
SFD 5microM	3068 2925	2997	2631	21.9%
SFD 25microM	1944 2257	2100	1734	59.2%
RFV 5microM	3278 3291	3285	2919	9.9%
RFV 25microM	2192 2124	2158	1792	56.8%
RFD 5microM	2756 2801	2779	2413	30.9%
RFD 25microM	1596 1559	1577	1211	80.9%

	CPM	Mittelwert	Leerwert korregiert	spezif. Bindung
Leerwert	145 138	142		
Kontrolle	3981 4155	4068	3926	86.5%
SR 141716a 1microM	666 678	672	531	Bindung
IV 5microM	3278 3026	3152	3010	27.0%
IV 25microM	1524 1618	1571	1430	73.5%
ID 5microM	3238 2877	3058	2916	29.8%
ID 25microM	1495 1563	1529	1388	74.8%
DV 5microM	3054 2938	2996	2854	31.6%
DV 25microM	1460 1520	1490	1349	75.9%
DD 5microM	3927 3807	3867	3725	5.9%
DD 25microM	1916 2302	2109	1968	57.7%
IEA 5microM	4256 3781	4019	3877	1.5%
IEA 25microM	3730 3926	3828	3687	7.1%

Abbildung 8.1: CB₁ Affinitätsmessung (SIEA/RIEA = S-/R-Ibuprofen-ethanolamid, SFV/RFV = S-/R-Flurbiprofen-vanillylamid, SFD/RFD = S-/R-Flurbiprofen-Dopamid, IV/ID = Indometacin-vanillylamid/ -dopamid, DV/DD = Diclofenac-vanillylamid/-dopamid, IEA = Indometacin-ethanolamid)

	CPM	Mittelwert	Leerwert korregiert	spezif. Bindung
Leerwert	170 149	159		
Kontrolle	601 673	637	478	67.4%
SR 144528 1microM	320 311	315	156	Bindung
IV 5microM	620 576	598	439	12.2%
IV 25microM	532 474	503	344	41.7%
ID 5microM	591 430	511	351	39.3%
ID 25microM	516 484	500	340	42.7%
DV 5microM	412 414	413	254	69.6%
DV 25microM	331 291	311	152	101.2%
DD 5microM	476 510	493	334	44.7%
DD 25microM	409 407	408	249	71.2%
IEA 5microM	602 610	606	447	9.6%
IEA 25microM	499 464	481	322	48.4%

Abbildung 8.2: CB₂ Affinitätsmessung (IV/ID = Indometacin-vanillyamin/-dopamin, DV/DD = Diclofenac-vanillyamin/-dopamin, IEA = Indometacin-ethanolamid)

Des Weiteren wurden die Dopamide und Vanillylamide auch an TRPV1-Rezeptoren getestet. Wie in Abb. 8.3 zu sehen ist, zeigen hier einige dieser Substanzen recht hohe Aktivität, vier besitzen sogar einen EC_{50} -Wert im unteren mikromolaren Bereich ($EC_{50}(DD)$: $1.50 \mu\text{M}$, $EC_{50}(ID)$: $0.77 \mu\text{M}$, $EC_{50}(IV)$: $0.74 \mu\text{M}$, $EC_{50}(DV)$: $0.26 \mu\text{M}$). Durch vorangehende Inkubation der HEK-293 Zellen mit Capsazepin, einem TRPV1-Antagonisten, in einer Konzentration $10 \mu\text{M}$ wurde kein Calcium-Einstrom ausgelöst. Dies zeigt, dass die Wirkung dieser Substanzen wirklich TRPV1 vermittelt geschieht.

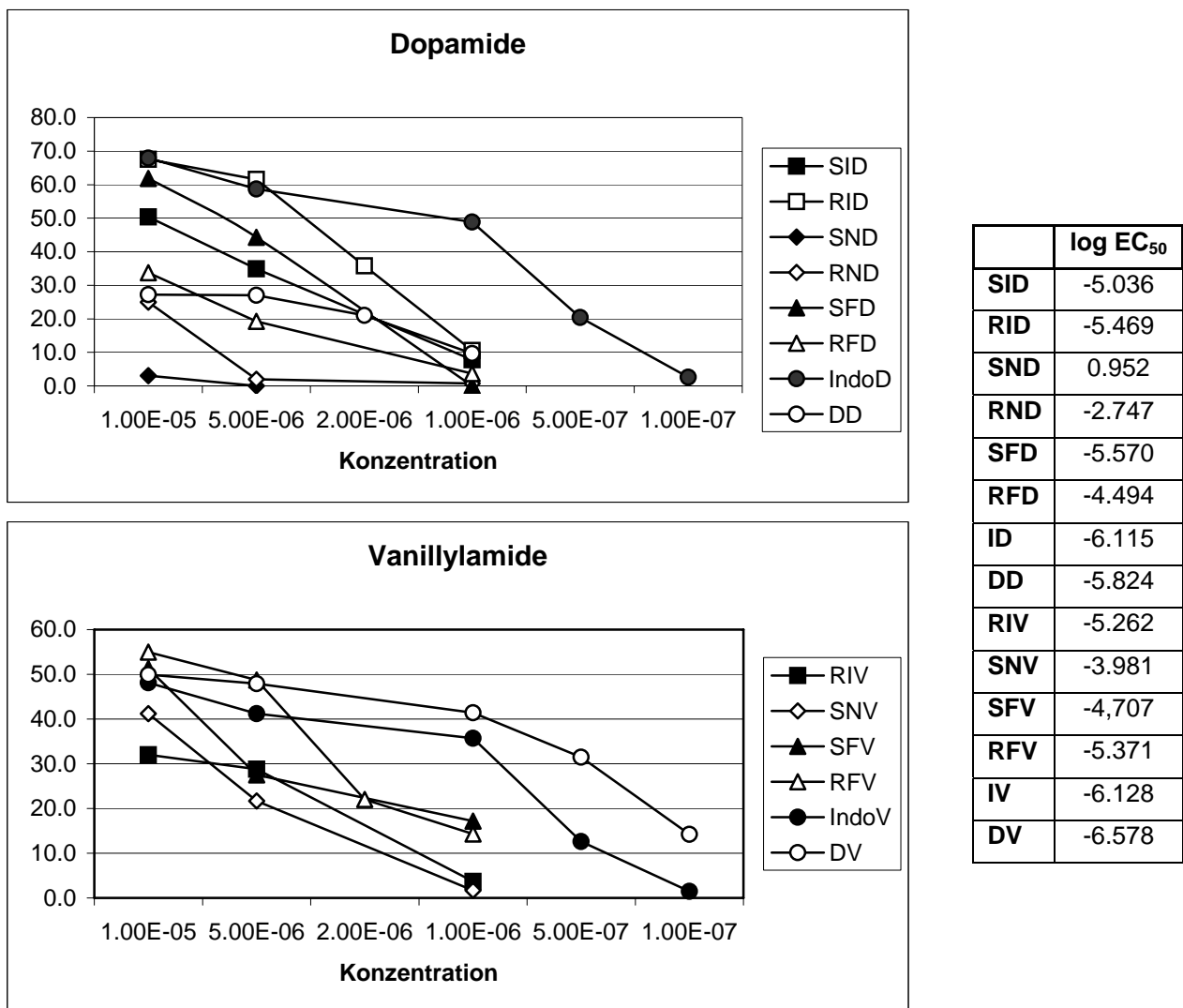


Abbildung 8.3: TRPV1 Aktivität

(SID/RID = S-/R-Ibuprofen-dopamid, SND/RND = S-/R-Naproxen-dopamid, SFD/RFD = S-/R-Flurbiprofen-Dopamid, RIV = R-Ibuprofen-vanillylamid, SNV = S-Naproxen-vanillylamid, SFV/RFV = S-/R-Flurbiprofen-vanillylamid, IV/ID = Indometacin-vanillylamid/-dopamid, DV/DD = Diclofenac-vanillylamid/-dopamid)

8.2 Fettsäure-Derivate des Metamizols als dessen pharmakologisch aktives Prinzip

Ein weiteres Analgetikum ist Metamizol, dessen molekularer Wirkungsmechanismus bislang nicht erklärt worden ist. Ein zentraler Angriffspunkt wurde von Tomek (Tomek, 1955) vorgeschlagen. Die antipyretischen und analgetischen aber nicht vorhandenen antiphlogistischen Eigenschaften untermauern diese Theorie genauso, wie die Tatsache, dass Metamizol einen größeren inhibitorischen Effekt auf Cyclooxygenasen im ZNS als in anderen Cyclooxygenase-haltigen Geweben besitzt (Dembinska-Kiec et al., 1976). 1985 wurde von Lorenzetti wieder ein peripherer Angriff postuliert (Lorenzetti and Ferreira, 1985), da in seinen Experimenten Metamizol durch Carageen, PGE₂, Isoprenalin und Calciumchlorid ausgelöste Hyperalgesie unterdrückte. Inzwischen wird eine Inhibition der Prostaglandin-Synthese sowohl im peripheren als auch im zentralen Nervensystem angenommen (Abbate et al., 1990; Shimada et al., 1994). Die Untersuchungen von Beirith deuteten darauf hin, dass Metamizol anders als andere NSARs einen direkten Effekt auf die Weiterleitung von Schmerzempfindungen hat (Beirith et al., 1998). Andere Untersuchungen zeigten, dass Metamizol die Antwort auf elektrische Stimuli abschwächt, unter anderem auch das so genannte wind-up (Mazario and Herrero, 1999). Das Phänomen des wind-up, das erstmals von Mendell beschrieben wurde (Mendell, 1966), ist ein progressiver Anstieg der neuronalen Antwort auf konstante und wiederkehrende elektrische Stimulation. Aber der genaue Mechanismus, wie diese Wirkungen erzielt werden, und auch der/die dafür verantwortliche(n) Metabolit(e) wurden bis heute nicht identifiziert.

Metamizol wird in Einzeldosen von 500-1000 mg (p.o.) bei einer maximalen Tagesdosis von 4000 mg bei akuten starken Schmerzen gegeben, insbesondere bei spastischen Schmerzen wie Gallen- und Harnwegskoliken, und zur Fiebersenkung. Die Antipyrese von Metamizol tritt allerdings nur bei Interleukin-1 β (IL-1 β) induziertem Fieber nicht bei Prostaglandin E induziertem Fieber auf (Shimada et al., 1994).

Nach oraler Gabe wird Metamizol rasch im Gastrointestinaltrakt zu N-Methylaminophenazon (MAP) hydrolysiert und auch als solches resorbiert. MAP hat eine Bioverfügbarkeit von etwa 90%, eine Plasmaeiweißbindung von 58% und besitzt ein Verteilungsvolumen von 30-40 l. MAP und das demethylierte Derivat Aminophenazon (AP) sind bisher die als pharmakologisch aktiv angenommenen Metabolite des Metamizols. Sowohl MAP als auch AP überwinden mühelos die Blut-Hirn-Schranke. Sie erreichen nach 1.5 bis 2 h eine maximale

Plasmakonzentration von 5-25 µg/ml (MAP) bzw. 1-2 µg/ml (AP) und eine maximale Konzentration in der cerebrospinalen Flüssigkeit von 5-30 µg/ml (MAP) bzw. 1-7 µg/ml (AP) (Cohen et al., 1998).

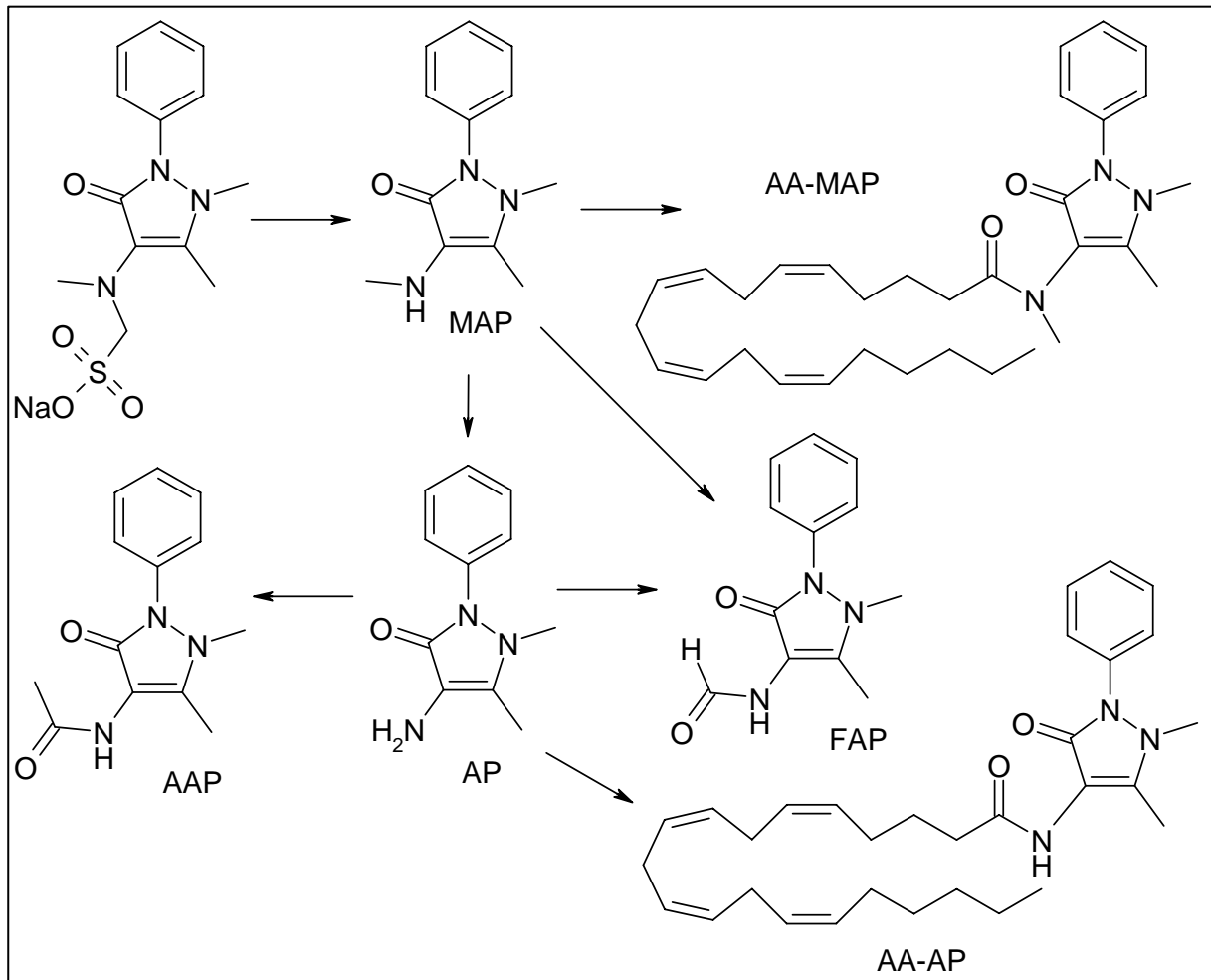
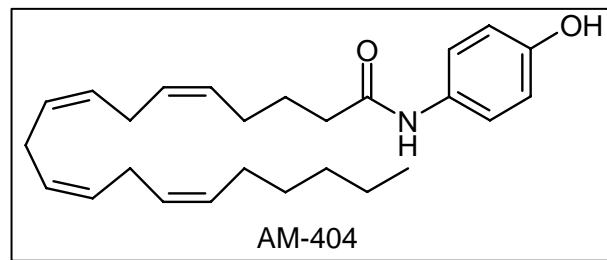


Abbildung 8.4: Schematische Darstellung der Biotransformation von Metamizol-Na einschließlich der von uns neu gefundenen Metabolite AA-MAP und AA-AP.

Da Metamizol hauptsächlich zentrale Effekte hat, schien es uns nahe liegend, einen Metaboliten, der die Blut-Hirn-Schranke überwindet, als Wirkprinzip zu postulieren. Bisher wurden die Metabolite MAP und AP für die Wirkung des Metamizols verantwortlich gemacht, allerdings konnte nur eine schwache Hemmung der COX ($IC_{50} \approx 10^{-3}$ M), die für die klinische Wirkung von Metamizol nicht ausreichend ist, gezeigt werden. Die beiden anderen Metabolite: N-Acetyl-Aminophenazon (AAP) und N-Formyl-Aminophenazon (FAP), sind bezüglich der COX-Hemmung praktisch unwirksam (Weithmann and Alpermann, 1985).

AM-404 (N-Arachidonyl-*p*-aminophenol) wurde vor kurzem als aktiver Metabolit von Paracetamol entdeckt, der sowohl die COX inhibiert als auch ein Ligand an Cannabinoid-Rezeptoren ist (Hoegestaett and Zygmunt, 2003;



Hoegestaett et al., 2005). Diese Entdeckung regte uns an, einen ähnlichen Wirkungsmechanismus für Metamizol zu vermuten, also ein Arachidonsäure-Derivat als eigentliche Wirksubstanz. MAP und AP sind Enamine und könnten in vivo acyliert werden. Deshalb stellten wir die beiden entsprechenden Amide her.

Sowohl das Konjugat aus MAP und Arachidonsäure (AA) – N-Arachidonyl-methyl-aminophenazon (AA-MAP) – als auch das Konjugat aus AP und AA – N-Arachidonyl-aminophenazon (AA-AP) – konnte nach peroraler Gabe von Metamizol im Rahmen einer Fütterungsstudie, die in der Arbeitsgruppe von Prof. Nüsing im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Philipps-Universität Marburg durchgeführt wurde, im Gehirn und Rückenmark von Ratten nachgewiesen werden. AA-MAP hemmt sowohl COX-1 als auch COX-2 und ist gleichzeitig ein Ligand an CB-Rezeptoren (CB₁: Ki = 7.8 μM; CB₂: Ki = 3.0 μM). Der IC₅₀-Wert im Gewebeextrakt beträgt für die PGE₂-Bildung 13.2 μM und für die PGI₂-Bildung 5.2 μM (Abb. 8.5). Auch AA-AP ist ein Ligand an CB-Rezeptoren, der Ki-Wert beträgt 2.9 μM (CB₁) und 5.4 μM (CB₂). Zum Vergleich die Ki-Werte je eines typischen CB₁- und CB₂-Liganden: Ki (SR-141716A) = 3.1 nM (CB₁), Kd (WIN-55212) = 1.6 nM (CB₂). An isolierter COX-1 und COX-2 sind die IC₅₀-Werte von AA-MAP für die PGE₂-Bildung mit 42.2 μM an COX-1 bzw. 68.9 μM an COX-2 (Abb. 8.5) etwa drei- bis fünffach größer im Vergleich zum Gewebeextrakt, was einen synergistischen Effekt bzw. noch einen weiteren Eingriff dieses Metaboliten in diesem System vermuten lässt.

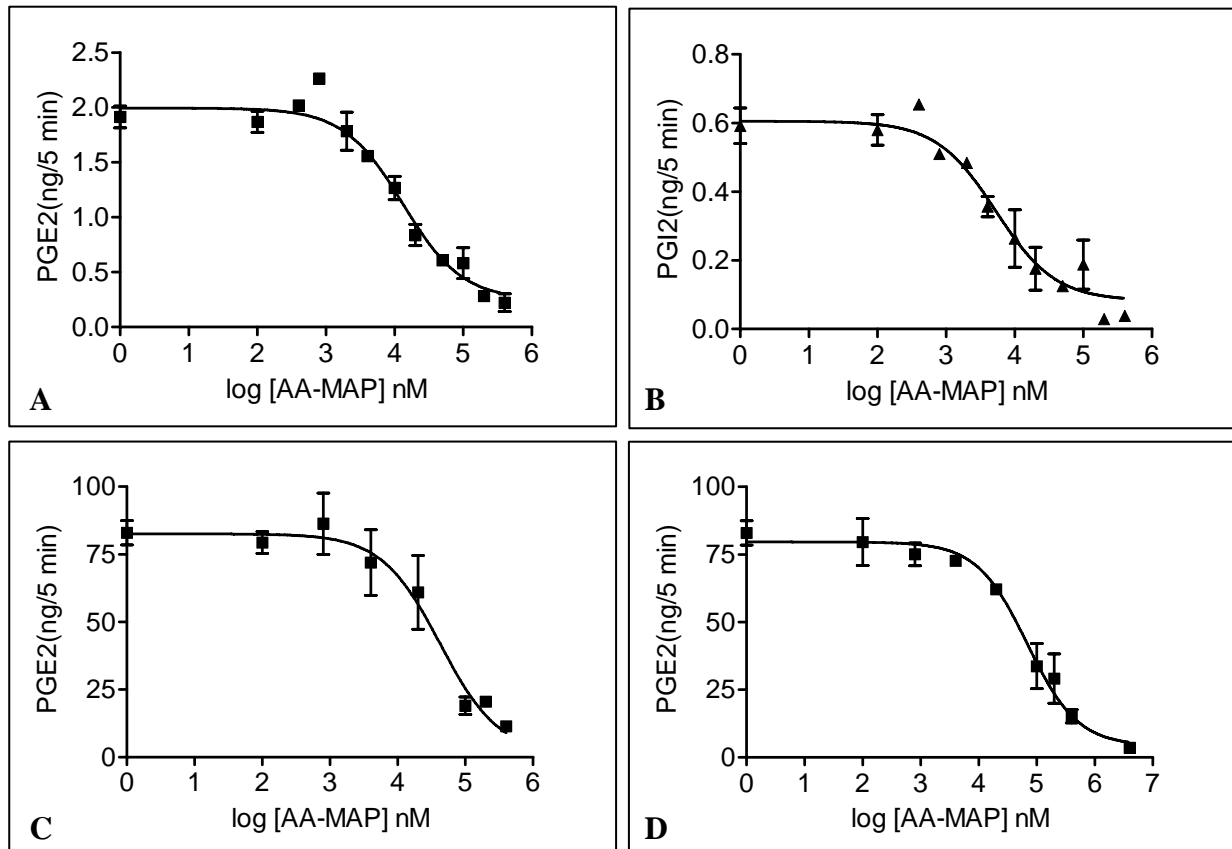


Abbildung 8.5: Hemmung der PGE₂ (A) bzw. PGI₂ (B) Entstehung im Gewebeextrakt und Hemmung der PGE₂ Entstehung an isolierter COX-1 (C) bzw. COX-2 (D)

Erste Vermutungen deuten darauf hin, dass die Entstehung dieser beiden Metabolite durch die FAAH katalysiert wird. Bei einer Fütterungsstudie von FAAH-Knockout-Mäusen, denen das für FAAH kodierende Gen fehlt, mit Metamizol konnten AA-MAP und AA-AP im Gehirn nicht oder nur in Spuren nachgewiesen werden, während in der Kontrollgruppe der Wildtyp-Mäuse eine signifikant höhere Konzentration nachgewiesen wurde (Abb. 8.6). Dies deutet auf eine Schlüsselrolle von FAAH bei der Entstehung dieser Metabolite hin.

Die Arachidonate konnten auf Grund der exakten Retentionszeit-Übereinstimmung in der HPLC-Analytik mit den reinen Standardverbindungen identifiziert und ihr Vorkommen qualitativ eindeutig bestätigt werden. Die Konzentrationsangaben sind nur als semiquantitative Aussagen zu werten. Es kam nur eine extern mitgeführte Eichkurve zur Anwendung. Schwankungen bei der Aufarbeitung (Extraktion, Probenüberführung, Eindampfen, Verdünnung, etc.) wurden so nicht erfasst. Deshalb lässt sich aus den Konzentrationsangaben nicht auf die real auftretenden Konzentrationen in Plasma oder Gehirnflüssigkeiten schließen.

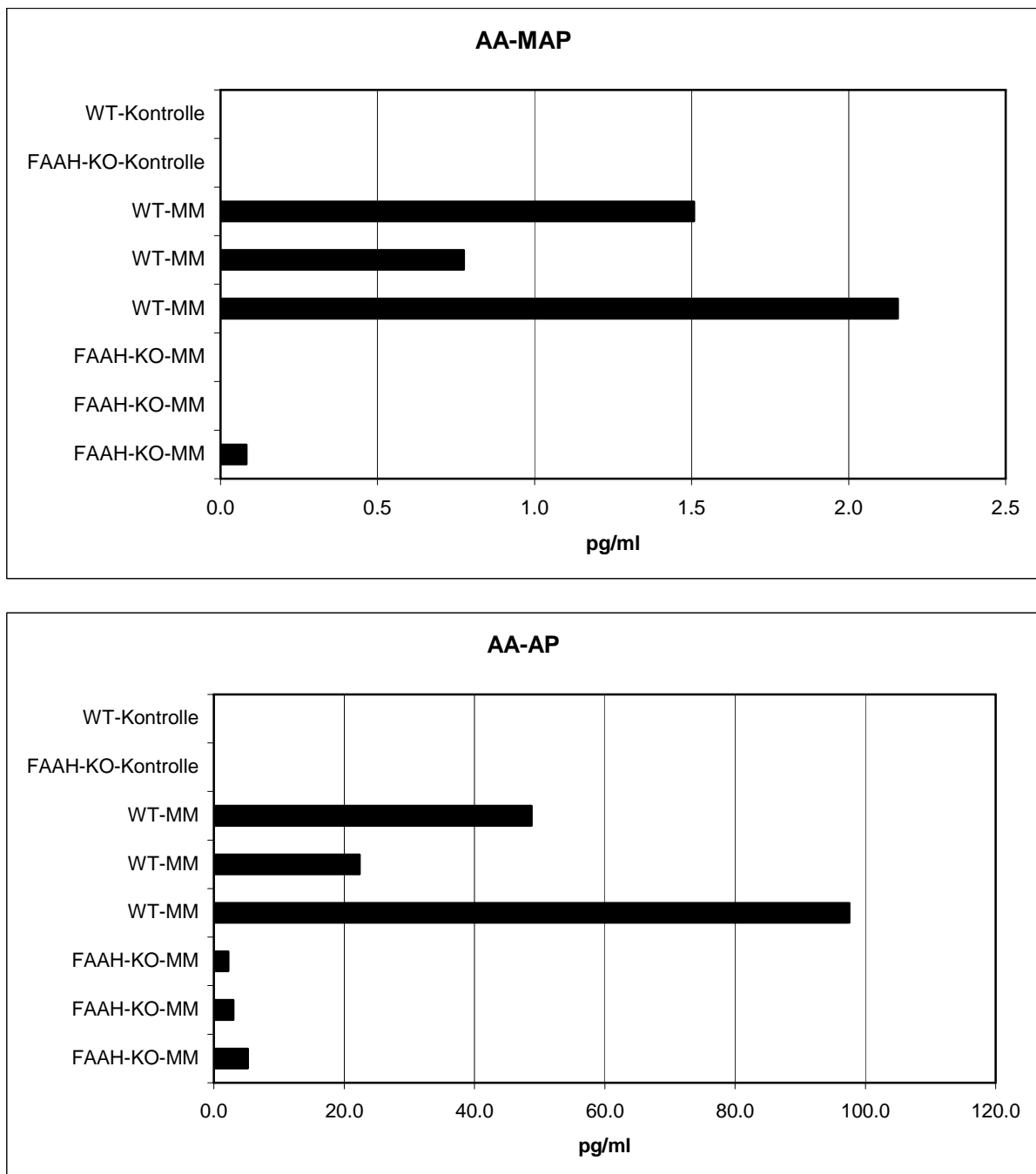


Abbildung 8.6: Konzentrationen von AA-MAP und AA-AP im Gehirn von Wildtyp-Mäusen (WT-MM) und FAAH-Knockout-Mäusen (FAAH-KO-MM)

Insgesamt ergibt sich somit ein recht genaues Bild über den Wirkungsmechanismus des Metamizols. Es konnten die wirksamen Metabolite (AA-MAP und AA-AP) im Gehirn und Rückenmark von mit Metamizol gefütterten Ratten nachgewiesen werden und deren Affinität zu CB-Rezeptoren und zur COX bestimmt werden. Des Weiteren wurde auch ihre Entstehung durch die FAAH als Schlüsselenzym durch die Abwesenheit dieser Metabolite bei FAAH-Knockout-Mäusen gezeigt.

9. Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertationsarbeit beschäftigt sich zum einen mit dem möglichen Eingriff von Metaboliten der nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), die strukturell mit den Endocannabinoiden bzw. -vanilloiden verwandt sind, in das endogene Cannabinoid- und Vanilloidsystem.

Zum anderen wurde der bislang nicht geklärte molekulare Wirkungsmechanismus des Metamizols untersucht und – zumindest teilweise – geklärt.

Im ersten Teil der Arbeit wurden Dopamide, Vanillylamide und 2-Glycerolester von Diclofenac, Ibuprofen, Indometacin, Naproxen und Flurbiprofen synthetisiert. Von den chiralen Wirkstoffen, also Ibuprofen, Naproxen und Flurbiprofen, wurden jeweils beide Enantiomere hergestellt.

Es konnte gezeigt werden, dass die Dopamide und Vanillylamide von Diclofenac und Indometacin einen Calciumeinstrom in mit hVR1 cDNA transfizierten HEK-293 Zellen auslösen, der durch den TRPV1-Rezeptor vermittelt wird (EC_{50} zwischen 0.26 und 1.50 μM). Dies wurde durch Zunahme der Fluoreszenz von mit Fluo-3 AM inkubierten HEK-293 Zellen nachgewiesen. Fluo-3 AM wird intrazellulär zu Fluo-3 hydrolysiert, das mit Ca^{2+} einen fluoreszierenden Komplex bildet. Die Zugabe von TRPV1-Agonisten bewirkt einen Ca^{2+} -Einstrom, wodurch die Fluoreszenz verstärkt wird. Bei vorheriger Zugabe von Capsazepin, einem TRPV1-Antagonisten, ließ sich keine Zunahme der Fluoreszenz beobachten. Dies beweist, dass der Effekt wirklich durch TRPV1 vermittelt wurde.

Da in Ermangelung von Vanillylamin *in vivo* die Vanillylamide nicht entstehen können, eignen sie sich „nur“ als pharmakologische Tools oder als Vorlage für neue TRPV1-Agonisten. Die Dopamide könnten theoretisch auch *in vivo* entstehen; bisher ist aber noch nicht nach ihnen gesucht worden.

Allerdings waren sowohl die im Rahmen meiner Diplomarbeit (Rogosch, 2003) hergestellten Ethanolamide als auch die Dopamide, Vanillylamide und 2-Glycerolester von jeweils beiden Enantiomeren von Ibuprofen, Naproxen und Flurbiprofen keine Liganden für CB- und TRPV1-Rezeptoren. Auch eine Inhibierung der FAAH konnte bei diesen Verbindungen nicht nachgewiesen werden. Dadurch wurde unsere Hypothese, dass NSARs ihre Wirkung zum Teil über diese Metabolite erzielen, die den Endocannabinoiden ähnlich sind, nicht bestätigt.

Der zweite Teil der Arbeit befasst sich mit der Aufklärung des Wirkungsmechanismus von Metamizol. Er konnte erstmals teilweise aufgeklärt werden. Metamizol wird im Magen rasch zu N-Methyl-aminophenazon (MAP) hydrolysiert und auch als solches resorbiert. Danach wird es in Aminophenazon (AP) und andere weniger wichtige Metabolite wie N-Acetyl-Aminophenazon (AAP) und N-Formyl-Aminophenazon (FAP) biotransformiert.

Die Arachidonsäure-Derivate des N-Methyl-aminophenazons (AA-MAP) und des Aminophenazons (AA-AP) wurden synthetisiert und konnten *in vivo* im Gehirn und Rückenmark von Mäusen und Ratten nach Fütterungsstudien mit Metamizol nachgewiesen werden. Das Arachidonsäure-Derivat von MAP inhibiert die COX-1 und COX-2 (IC_{50} -Wert im Gewebeextrakt für die PGE_2 -Bildung $13.2 \mu M$ und für die PGI_2 -Bildung $5.2 \mu M$; IC_{50} -Werte für die PGE_2 -Bildung $42.2 \mu M$ an isolierter COX-1 bzw. $68.9 \mu M$ an isolierter COX-2), was durch Inkubation des Gewebeextrakts bzw. isoliertem Enzym mit diesem Metaboliten und anschließender Bestimmung der Prostaglandin-Konzentration nachgewiesen wurde. Für CB_1 - und CB_2 -Rezeptoren zeigten beide Arachidonsäure-Derivate eine Affinität mit einem K_i -Wert im mikromolaren Bereich (CB_1 : $K_{iAA-MAP} = 7.8 \mu M$; $K_{iAA-AP} = 2.9 \mu M$; CB_2 : $K_{iAA-MAP} = 3.0 \mu M$; $K_{iAA-AP} = 5.4 \mu M$). Dies wurde durch die Radioligandbindungsmethode bewiesen, bei der die Gewebeextrakte jeweils mit einem selektiven radioaktiv markierten Liganden und diesen Metaboliten inkubiert wurden und anschließend die verbliebene Radioaktivität gemessen wurde.

Des Weiteren konnte auch die Entstehung dieser Metabolite geklärt werden. Bei FAAH-Knockout-Mäusen, die mit Metamizol gefüttert wurden, ließen sich diese Metabolite nicht oder nur in Spuren nachweisen, während sie bei den Wildtyp-Mäusen in signifikanter Konzentration auftraten. Dies deutet auf eine Schlüsselrolle von FAAH bei der Entstehung dieser Metabolite hin.

10. Summery

This PhD-Thesis deals on the one hand with the potential intervention of metabolites of the nonsteroidal antiinflammatory drugs that are structurally related to the endocannabinoids and endovanilloids into the endogenous cannabinoid and vanilloid system. On the other hand the molecular mechanism of action of dipyrone (=metamizol) was examined and could be clarified at least partly.

In the first part dopamids, vanillylamids und 2-glycerolesters of Diclofenac, Ibuprofen, Indometacin, Naproxen and Flurbiprofen were synthesized. It could be shown, that the dopamids and vanillylamids of Diclofenac and Indometacin trigger by TRPV1 receptor activation calcium influx into HEK 293 cells that were transfected with hVR1 cDNA (EC_{50} between 0.26 and 1.50 μ M). Since the vanillylamids cannot arise in vivo because of the lack of vanillylamin they are “just” suitable as pharmacological tools or as templates for new TRPV1-Agonisten. The dopamids could arise theoretically in vivo; but till now, anyone has searched for them yet. Both the ethanolamids produced in the context of my master thesis and dopamids, vanillylamids and 2-glycerolesters of Ibuprofen, Naproxen und Flurbiprofen were no ligands at CB- and TRPV1-receptors. Also an inhibition of FAAH could not be proved. Thereby our hypothesis that NSARs which are similar to the endocannabinoids achieve their effect partly about this metabolite was not confirmed.

The second part deals with the clearing up of the mechanism of dipyrone. Dipyrone is an analgetic and antipyretic drug. It is hydrolyzed in the stomach rapidly to N-methyl-aminophenazone (MAP) and absorbed as such. Afterwards it gets biotransformed into aminophenazone (AP) and other less important metabolites such as N-acetyl-aminophenazone (AAP) and N-formyl-aminophenazone (FAP). However its pharmacological mechanism is still unrevealed. We have designed and synthesized arachidonic acid derivatives of N-methyl-aminophenazone (AA-MAP) and aminophenazone (AA-AP). These metabolites could be found in brain and medulla extracts of mice and rats that have been fed with dipyrone. The arachidonic acid derivative of MAP inhibits COX-1 and COX-2 at low micromolare concentrations. At CB₁- and CB₂-receptors both arachidonic acid derivatives showed an affinity with a K_i value in the micro-molecular range. Furthermore the emergence of these metabolites could be clarified. In FAAH knockout mice, which were fed with dipyrone, these metabolites could not be found or only in traces, while they were found in wildtyp mice in significant concentration. This points to a key role of FAAH in the emergence of these metabolites.

11. Ausblick

Nach der Entdeckung der Archidonsäure-Metabolite des Metamizols und dem Nachweis ihrer Aktivität und Entstehung steht nun noch der funktionelle Nachweis aus. Es muss also noch geklärt werden, ob diese Metabolite wirklich analgetisch bzw. antinozizeptiv wirken.

Ob die beobachtete Aktivität der Diclofenac- und Indometacin-Derivate auch in vivo auftritt, ist zumindest bei den Vanillylamiden auszuschließen, da der menschliche Organismus kein Vanillylamin bildet. Die Dopamide könnten zumindest theoretisch entstehen. Deshalb wäre ein Nachweis in vivo sinnvoll, da er Aufschluss darüber geben würde, ob es sich bei diesen Verbindungen „nur“ um pharmakologische Werkzeuge oder um tatsächliche Metabolite handelt, wie wir bei Metamizol zeigen konnten. Wenn sie in vivo vorkommen, wäre ein funktioneller Test auf Wirksamkeit wiederum der logische nächste Schritt.

Des Weiteren konnte kein Effekt der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Derivate von Ibuprofen, Naproxen und Flurbiprofen im endogenen Cannabinoid-System beobachtet werden, der analgetische Effekt der R-Enantiomere wird also nicht über diese eventuellen Metabolite hervorgerufen. Auch hier sind noch weitere Untersuchungen von Nöten, in wie weit die R-(+)-Enantiomere dieser Arzneistoffe zur Gesamtwirkung beitragen bzw. an welcher Stelle sie überhaupt in die Analgesie eingreifen.

II. Experimenteller Teil

1. *Allgemeine Vorbemerkungen*

1.1 Allgemeines

Es wurden handelsübliche Lösungsmittel verwendet, deren Reinigung und Trocknung nach den gängigen Standardmethoden der Literatur erfolgte.

Die Ausbeuteangaben beziehen sich auf die säulenchromatographisch gereinigten bzw. umkristallisierten Produkte.

Die Bezifferung und Bezeichnung der Substanzen wurde gemäß der Beilstein Nomenklatur (Autonom) durchgeführt.

1.2 Chromatographie

Zur Dünnschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien Polygram SIL G/UV₂₅₄ der Firma Macherey-Nagel, Düren, verwendet. Die Detektion erfolgte im UV-Licht bei 254 nm.

Die Flash-Säulenchromatographie wurde entsprechend der Methode von Still et al. (Still et al., 1978) mit Kieselgel 60, Korngröße 40-63 μm (230-400 mesh ASTM) der Firma Merck, Darmstadt, durchgeführt.

1.3 Analytik

NMR-Spektren: ^1H - und ^{13}C -Messungen wurden an einem Jeol JNM-GX-400 und Eclipse+ 500 durchgeführt. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und beziehen sich auf die δ -Skala. Als Standards dienten internes Tetramethylsilan (TMS) oder das verwendete Lösungsmittel. Zur Charakterisierung der Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet:

s	Singulett
d	Dublett
dd	Dublett von Dubletts
t	Triplet
q	Quartett
m	Multipllett

Die Bearbeitung der Spektren erfolgte mit dem Delta NMR Processing Programm Version 4.3 der Firma Jeol USA.

Massenspektrometrie: Die Aufnahme der Massenspektren wurde mit einem doppelfokussierenden Sektorfeld-Massenspektrometer vom Typ VG 7070 H der Firma Vacuum Generators (Elektronenstoßionisation, 70 eV) und einem LC-MS/MS API3000 von Applied Biosystems, Thornhill, Canada (Elektronenstoßionisation, 30 und 60 eV) durchgeführt. Es sind relative Peakintensitäten angegeben.

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen wurden mit einem CH-Analyser nach Salzer der Firma Labormatic/Wösthoff und einem CHN-Autoanalyser 185 der Firma Hewlett-Packard durchgeführt. Die Angaben aller ermittelten Werte erfolgten in Prozent.

1.4 Chemikalien und Materialien

S-(+)-Ibuprofen (S-(+)-2-(4-Isobutylphenyl)-propionsäure) 99.7%

R-(-)-Ibuprofen (R-(-)-2-(4-Isobutylphenyl)-propionsäure) 99.4%

PAZ Pharma F&E GmbH, Bad Oeynhausen

S-(+)-Naproxen (S-(+)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure)

R-(-)-Naproxen (R-(-)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure)

Farchemia, Treviglio, Italien

S-(+)-Flurbiprofen (S-(+)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propionsäure)

R-(-)-Flurbiprofen (R-(-)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propionsäure)

PAZ Pharma F&E GmbH, Bad Oeynhausen

Diclofenac-Na (Natrium [2-(2,6-dichloro-phenylamino)-phenyl]-acetat)

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Indometacin

([1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-essigsäure)

Azupharma, Gerlingen

Methylaminophenazon (1,5-Dimethyl-4-methylamino-2-phenyl-1,2-dihydro-pyrazol-3-on)

Aminophenazon (4-Amino-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-pyrazol-3-on)

Aventis Pharma GmbH, Frankfurt

Benzylidenglycerol (2-Phenyl-[1,3]dioxan-5-ol)

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Dopamin-HCl (3-Hydroxy-tyramin-HCl)

Fluka, Seelze

4-Hydroxy-3-methoxybenzylammonium-chlorid

Merck KGaA, Darmstadt

Arachidonsäure ((5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure)

Calbiochem, Merck KGaA, Darmstadt

2. *Allgemeine Vorschriften*

2.1 AV 1: Synthese der Pentafluorphenylester

Die Arylpropionsäure oder Arylessigsäure (**1a-h**) wird in Ethylacetat (EtOAc) gelöst und Pentafluorphenol (**2**) im Stoffmengenverhältnis 1:1 dazu gegeben. Der Reaktionsansatz wird auf 0°C gekühlt, nach 3 min. wird Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 10%igem Überschuss dazugegeben und 1 h bei 0°C gerührt. Nach etwa 10 min. fällt Dicyclohexylharnstoff (DCU) aus. Der Ansatz wird weitergerührt, bis er sich auf RT erwärmt hat. Anschließend wird durch Zugabe einer Mischung von 2 ml H₂O und 1 ml AcOH das restliche DCC umgesetzt. Zur Entfernung des DCU wird nach 10 min. filtriert und danach zur Trockne eingeeengt.

Der Rückstand wird zur Reinigung per Flash-Chromatographie in dem jeweiligen Eluens aufgenommen und über die Säule gereinigt. Die gereinigte Phase wird wieder zur Trockne eingeeengt und aus einem passenden LM umkristallisiert oder mit n-Pentan gewaschen und anschließend an der Ölpumpe getrocknet.

2.2 AV 2: Synthese der Dopaminamide

Die Pentafluorphenylester **3a-h** werden in MeOH / CHCl₃ (4+1) gelöst und Triethylamin und Dopamin-HCl (**4**) werden jeweils im Stoffmengenverhältnis 1:1 zugesetzt, wobei das Triethylamin zuerst zugesetzt wird. Es entsteht eine klare Lösung, die 2 h lang bei RT gerührt und anschließend zur Trockne eingeeengt wird.

Der Rückstand wird in 25 ml EtOAc und 10 ml 3% HCl (aq) aufgenommen und zweimal mit H₂O gewaschen. Die EtOAc-Phase wird über MgSO₄ getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgt entweder über Umkristallisierung aus einem passenden LM oder durch Flash-Chromatographie.

2.3 AV 3: Synthese der Vanillylamide

Die Pentafluorphenylester **3a-h** werden in MeOH/CHCl₃ (4+1) gelöst und Triethylamin und Vanillylamin-HCl (**6**) werden jeweils im Stoffmengenverhältnis 1:1 zugesetzt, wobei das Triethylamin zuerst zugesetzt wird. Es entsteht eine klare Lösung, die 2 h lang bei RT gerührt und anschließend zur Trockne eingeeengt wird.

Der Rückstand wird in 25 ml EtOAc und 10 ml 3% HCl (aq) aufgenommen und zweimal mit H₂O gewaschen. Die EtOAc-Phase wird über MgSO₄ getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Die Reinigung erfolgt entweder über Umkristallisierung aus einem passenden LM oder durch Flash-Chromatographie.

2.4 AV 4: Synthese der Benzylidenglycerolester

Die Arylpropionsäure oder Arylessigsäure (**1a-h**) wird in Benzol gelöst und Thionylchlorid (**8**) im 1.5-fachem Überschuss dazu gegeben. Der Reaktionsansatz wird 1 h lang unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird zur Trockne eingeeengt.

Benzylidenglycerol (**10**), 50 mg DMAP und Pyridin (10%iger Überschuss) werden in CH₂Cl₂ gelöst. Danach wird das Säurechlorid (**9a-h**) im Stoffmengenverhältnis 1:1 dazugegeben und 12 h lang bei RT gerührt.

Der Ansatz wird zweimal mit 10% HCl (aq), zweimal mit 10% NaHCO₃ (aq) und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, zur Trockne eingeeengt und per Flash-Chromatographie gereinigt.

2.5 AV 5: Synthese der 2-Glycerolester

Der Benzylidenglycerolester (**11a-h**) wird in mit Wasser gesättigtem t-BuOMe gelöst und mit 10% Palladium/Aktivekohle in einem Massenverhältnis von 1:2 als Katalysator versetzt. In einer mit Wasserstoff gespülten Hydrierapparatur wird ca. 90 min. lang auf den Reaktionsansatz Wasserstoff zur Hydrierung geleitet. Der Ansatz wird danach filtriert und bei RT zur Trockene eingeeengt.

Der Rückstand wird per Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel gereinigt. Das imprägnierte Kieselgel wurde durch Lösen von Borsäure in Methanol, Zugabe von Kieselgel und anschließendes Einengen zur Trockne hergestellt.

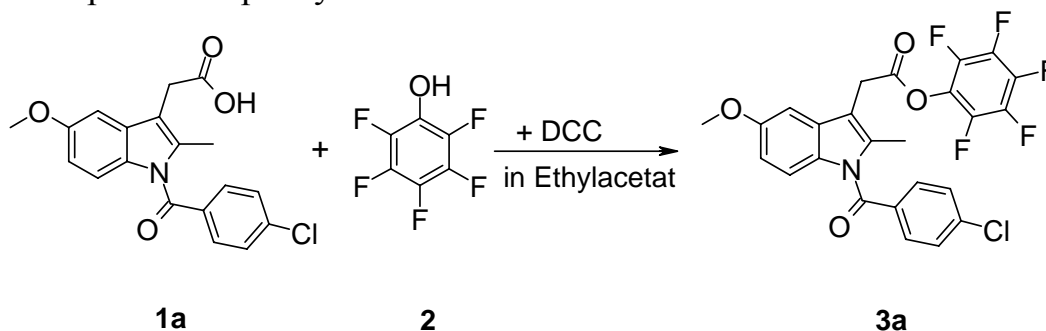
2.6 AV 6: Synthese der Arachidonylamide

Arachidonsäure (**14**) und Dimethylformamid (DMF) (p.a., über Molekularsieb 3Å getrocknet) werden in Benzol (p.a.) gelöst. Der Reaktionsansatz wird auf 0°C gekühlt, die doppelte Stoffmenge an Oxalylchlorid (**15**) wird tropfenweise zugegeben und 1 h bei 0°C gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit Tetrahydrofuran (THF) (p.a., über Molekularsieb 3Å getrocknet) verdünnt und das in THF gelöste Amin **13a-b** zugegeben. Der Ansatz wird 15 min. lang weitergerührt, mit CH₂Cl₂ verdünnt und mit 10% HCl (aq), mit 1 N NaOH (aq) und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, zur Trockne eingeeengt und per Flash-Chromatographie gereinigt.

3. Einzelverbindungen

3.1 Indometacin-pentafluorphenylester

[1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-essigsäure
pentafluorphenyl ester



1.07 g (3.0 mmol) Indometacin (**1a**) werden gemäß AV 1 mit 0.512 g (3.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 0.69 g (3.3 mmol) DCC in 50 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat.

Eigenschaften: weißer, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 1.348 g (86%)

Schmelzpunkt: 136°C

EI-MS (70 eV / 240 °C):

m/z (%) = 523 (M^+) (100), 139 (75.5), 525 (M^+) (36.8), 312 (30.8)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

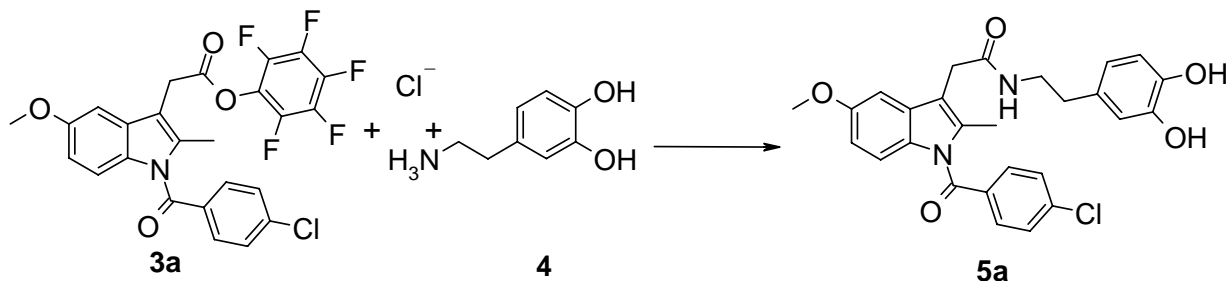
δ =	7.67-7.64	(d, 2H, aromat. H-Atome, $J=8.7\text{Hz}$)
	7.48-7.45	(d, 2H, aromat. H-Atome, $J=8.7\text{Hz}$)
	6.94	(d, 1H, 4- H , $J=2.3\text{Hz}$)
	6.87-6.86	(d, 1H, 7- H , $J=8.9\text{Hz}$)
	6.70-6.67	(dd, 1H, 6- H , $J=2.4\text{Hz}, 8.9\text{Hz}$)
	4.00	(s, 2H, 3- CH ₂ -)
	3.83	(s, 3H, - OCH ₃)
	2.42-2.40	(s, 3H, 2- CH ₃)

$\text{C}_{25}\text{H}_{15}\text{ClF}_5\text{NO}_4$ (523.86):

Ber.:	C 57.31	H 2.89	N 2.67	Cl 6.77
Gef.:	C 56.81	H 3.45	N 3.1	Cl 9.59

3.2 Indometacin-dopaminamid

2-[1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-N-[2-(3,4-dihydroxy-phenyl)-ethyl]-acetamid



0.600 g (1.13 mmol) Indometacin-pentafluorophenylester (**3a**) werden gemäß AV 2 mit 0.215 g (1.13 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml Methanol / Chloroform (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel und anschließendes Umkristallisieren aus einem Gemisch von t-BuOMe / EtOAc (3:1).

Eigenschaften: gelber Feststoff

Ausbeute: 0.366 g (65%)

Schmelzpunkt: 174°C

EI-MS (70 eV / 100 °C):

m/z (%) = 44 (100), 174 (73.6), 139 (71.6), 285 (29.7), 492 (M^+) (11.5)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH-D_4):

$\delta =$	7.67-7.66	(d, 2H, aromat. H-Atome $J=8.3\text{Hz}$)
	7.56-7.54	(d, 2H, aromat. H-Atome $J=8.3\text{Hz}$)
	6.96	(d, 1H, 4- H , $J=2.5\text{Hz}$)
	6.93-6.91	(d, 1H, 7- H , $J=8.9\text{Hz}$)
	6.68-6.66	(dd, 1H, 6- H , $J=2.5\text{Hz}$, 8.9Hz)
	6.58-6.56	(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.37-6.35	(dd, 1H, aromat. H-Atom, $J=1.8\text{Hz}$, 8.0Hz)
	3.79	(s, 3H, - OCH ₃)
	3.56	(s, 2H, 3- CH ₂ -)
	3.37-3.34	(m, 2H, - CO-N-CH ₂ -)
	2.61-2.58	(m, 2H, - CH ₂ -)
	2.25	(s, 3H, 2- CH ₃)

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3):

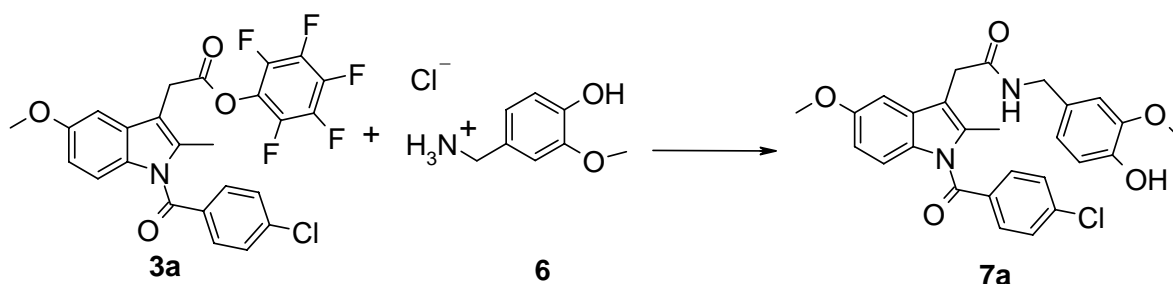
$\delta =$ 169.7, 168.3, 156.3, 146.6, 145.0, 139.6, 136.3, 133.5, 131.1, 130.9, 130.2, 129.9, 129.2, 120.4, 115.1, 114.2, 112.78, 112.2, 110.1, 100.9, 55.8, 43.5, 3.9, 32.4, 13.4

$\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_5$ (492.97):

Ber.:	C 65.78	H 5.11	N 5.68	Cl 7.19
Gef.:	C 65.82	H 5.06	N 5.48	Cl 7.43

3.3 Indometacin-vanillylamid

2-[1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-N-(4-hydroxy-3-methoxy-benzyl)-acetamid



0.520 g (1.0 mmol) Indometacin-pentafluorophenylester (**3a**) werden gemäß AV 3 mit 0.190 g (1.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**4**) in 50 ml Methanol / Chloroform (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel und anschließendes Umkristallisieren aus EtOAc.

Eigenschaften: gelber Feststoff

Ausbeute: 0.342 g (68%)

Schmelzpunkt: 186°C

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 139 (100), 174 (48), 44 (41.9), 312 (35.5), 492 (M^+) (29.7)

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$ 7.62-7.60 (d, 2H, arom. H-Atome, $J=8.7\text{Hz}$)
 7.46-7.44 (d, 2H, arom. H-Atome, $J=8.7\text{Hz}$)
 6.86 (d, 1H, 4-H, $J=2.5\text{Hz}$)
 6.85-6.83 (d, 1H, 7-H, $J=9.2\text{Hz}$)
 6.78-6.77 (d, 1H, 6-H, $J=9.2\text{Hz}$)

6.69-6.66	(m, 2H, aromat. H-Atome)
6.63-6.61	(dd, 1H, aromat. H-Atom, J=2.5, 8.9Hz)
4.32	(m, 2H, -CO-N-CH ₂ -)
3.76	(s, 3H, -OCH ₃)
3.74	(s, 3H, -OCH ₃)
3.68	(s, 2H, 3-CH ₂ -)
2.35	(s, 3H, 2-CH ₃)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃):

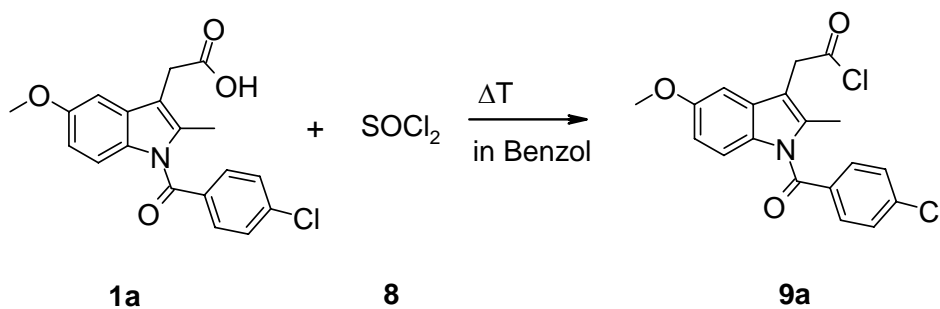
δ =	169.8, 168.4, 156.4, 146.7, 145.1, 139.7, 136.4, 133.6, 131.2, 131.0, 130.3, 130.0, 129.3, 120.5, 115.2, 114.3, 112.8, 112.3, 110.2, 101.0, 55.9, 55.8, 43.5, 32.4, 13.4
-----	--

C₂₇H₂₅ClN₂O₅ (492.97):

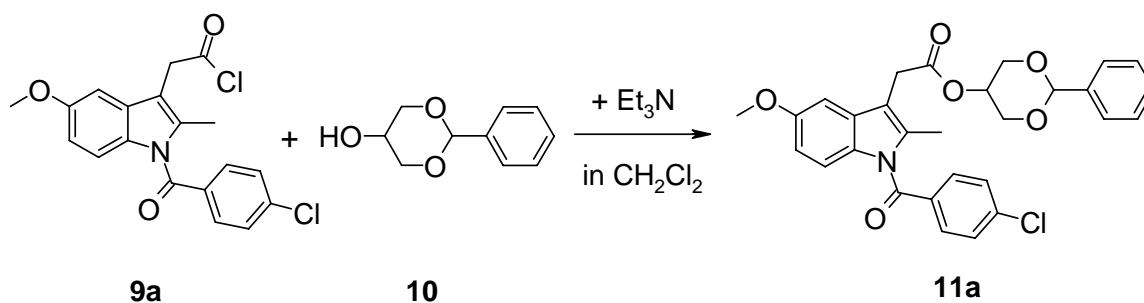
Ber.: C 65.78	H 5.11	N 5.68	Cl 7.19
Gef.: C 65.87	H 5.03	N 5.53	Cl 7.28

3.4 Indometacin-benzylidenglycerol ester

[1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-essigsäure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.720 g (2.0 mmol) Indometacin (**1a**) werden gemäß AV 4 mit 0.360 g (3.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.480 g (1.3 mmol) Indometacin-Cl (**9a**) werden gemäß AV 4 mit 0.230 g (1.3 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH_2Cl_2 umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel.

Eigenschaften: gelblicher, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 0.732 g (70%)

Schmelzpunkt: 148°C

EI-MS (70 eV / 100 °C):

m/z (%) = 139 (100), 519 (M^+) (37.8), 141 (33.1), 105 (32.4), 77 (27.0)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

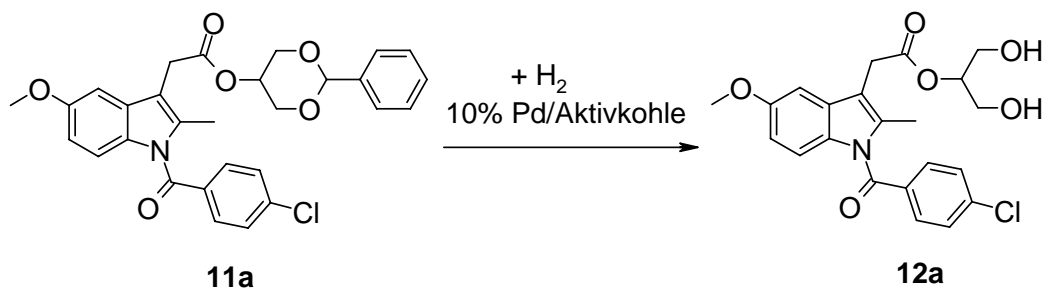
$\delta =$	7.64-7.33	(9H, arom. H-Atome)
	7.02	(d, 1H, 4- H , $J=2.5\text{Hz}$)
	6.91-6.89	(d, 1H, 7- H , $J=9.1\text{Hz}$)
	6.68-6.65	(dd, 1H, 6- H , $J=2.5\text{Hz}, 9.1\text{Hz}$)
	5.55	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.73	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.28-4.11	(dd, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$, $J=1.6\text{Hz}, 12.8\text{Hz}$)
	3.79	(s, 2H, 3- $\text{CH}_2\text{-}$)
	3.76	(s, 3H, $-\text{OCH}_3$)
	2.40	(s, 3H, 2- CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

$\delta =$ 170.8, 168.3, 156.1, 139.2, 137.9, 136.0, 133.8, 131.1, 130.8, 130.5, 129.1, 128.3, 125.9, 115.0, 112.3, 112.0, 101.1, 68.9, 66.6, 55.6, 30.5, 13.4

3.5 2-Indometacin-glycerol

[1-(4-Chlor-benzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-yl]-essigsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.4 mmol) Indometacin-benzylidenglycerolester (**11a**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: gelblicher wachsartiger Feststoff

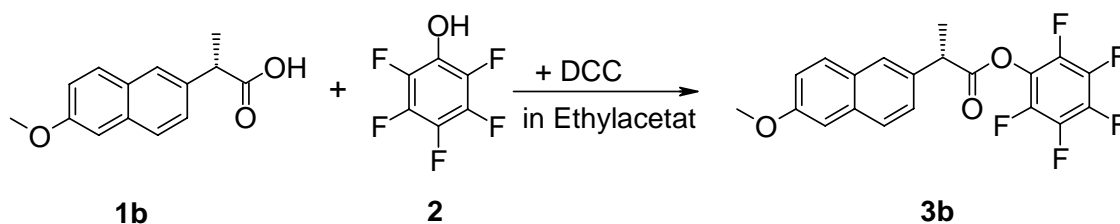
Ausbeute: 0.124 g (72%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.67-7.64	(d, 2H, aromat. H-Atome, $J=8.4\text{Hz}$)
	7.48-7.45	(d, 2H, aromat. H-Atome, $J=8.4\text{Hz}$)
	6.94	(d, 1H, 4- H , $J=2.5\text{Hz}$)
	6.87-6.86	(d, 1H, 7- H , $J=9.0\text{Hz}$)
	6.70-6.67	(dd, 1H, 6- H , $J=2.5\text{Hz}$, 9.0Hz)
	4.72-4.70	(m, 1H, - CH (CH_2OH) ₂)
	3.94	(s, 2H, 3- CH ₂ -)
	3.83	(s, 3H, - OCH ₃)
	3.71-3.69	(dd, 4H, - CH ₂ OH, $J=4.7\text{Hz}$)
	2.42-2.41	(s, 3H, 2- CH ₃)

3.6 S-Naproxen-pentafluorphenylester

(S)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



4.61 g (20.0 mmol) S-(+)-Naproxen (**1a**) werden gemäß AV 1 mit 3.68 g (20.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 4.6 g (22.0 mmol) DCC in 200 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (5:95) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus n-Hexan.

Eigenschaften: weißer, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 5.711 g (72%)

Schmelzpunkt: 86°C

EI-MS (70 eV / 210 °C):

m/z (%) = 185 (100), 396 (M⁺) (54.0), 186 (15.3), 397 (12.4)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.76-7.72	} (m, 6H, aromat. H-Atome)
	7.44-7.42	
	7.17-7.13	
	4.22-4.18	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	3.91	(s, 3H, -OCH ₃)
	1.72-1.71	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

[α]_D²⁰ (Ethylacetat) = 77.5

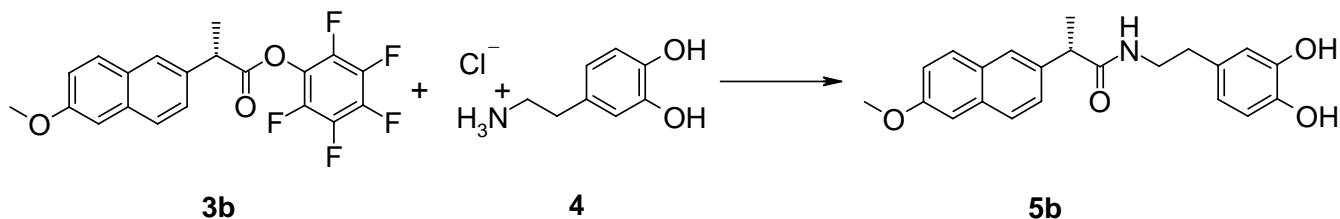
C₂₀H₁₃F₅O₃ (396.33):

Ber.: C 60.60 H 3.30

Gef.: C 60.75 H 3.51

3.7 S-Naproxen-dopaminamid

(S)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(6-methoxy-naphthalen-2-yl)-propionamide



0.574 g (1.45 mmol) S-Naproxen-pentafluorophenylester (**3b**) werden gemäß AV 2 mit 0.275 g (1.45 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus einem Gemisch von *t*-BuOMe / EtOAc (3:1).

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.320 g (61 %)

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 185 (100), 229 (29.1), 365 (M⁺) (23.0), 141 (16.2), 171 (13.5)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.67-7.62	}	(m, 6H, aromat. H-Atome)
	7.35-7.33		
	7.13-7.08		
	6.65-6.59		(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.38-6.36		(dd, 1H, aromat. H-Atom, J=1.8Hz, 8.0Hz)
	3.88		(s, 1H, -OCH ₃)
	3.63-3.60		(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.30-3.26		(t, 2H, -CH ₂ -NH-, J=7.2Hz)
	2.62-2.61		(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.2Hz)
	1.55-1.53		(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 174.6, 157.7, 146.5, 145.2, 135.4, 133.9, 129.6, 129.2, 129.1, 128.4, 127.1, 126.3, 126.1, 120.5, 119.0, 114.3, 112.8, 105.7, 45.4, 43.4, 35.7, 18.4

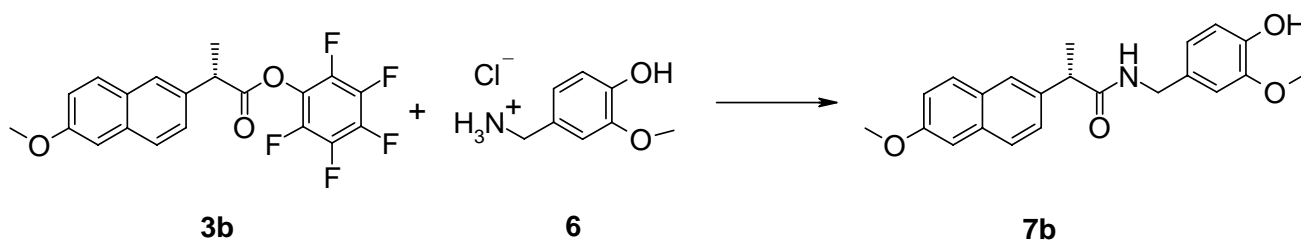
[α]_D²⁰ (Methanol) = 5.6°

C₂₂H₂₃NO₄ (365.43):

Ber.: C 72.31 H 6.34 N 3.83
 Gef.: C 71.98 H 6.21 N 3.49

3.8 S-Naproxen-vanillylamid

(S)-N-(4-Hydroxy-3-methoxy-benzyl)-2-(6-methoxy-naphthalen-2-yl)-propionamid



0.80 g (2.0 mmol) S-Naproxen-pentafluorophenylester (**3b**) werden gemäß AV 3 mit 0.38 g (2.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: weißer, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 0.468 g (64%)

Schmelzpunkt: 83°C

EI-MS (70 eV / 70 °C):

m/z (%) = 185 (100), 365 (M⁺) (44.6), 137 (22.3), 171 (8.4), 256 (7.4)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.67-7.62	} (m, 6H, arom. H-Atome)
	7.35-7.33	
	7.13-7.08	
	6.67-6.65	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.59-6.57	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.9Hz, 8.1Hz)
	4.33-4.14	(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
	4.11-4.08	(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.87	(s, 3H, -OCH ₃)
	3.68	(s, 3H, -OCH ₃)

1.55-1.53 (d, 3H, -CH₃, J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 174.7, 157.7, 146.6, 145.2, 135.4, 133.9, 129.5, 129.2, 129.1, 128.4, 127.2, 126.4, 126.2, 120.5, 119.0, 114.3, 112.8, 105.7, 55.4, 45.5, 43.4, 18.5

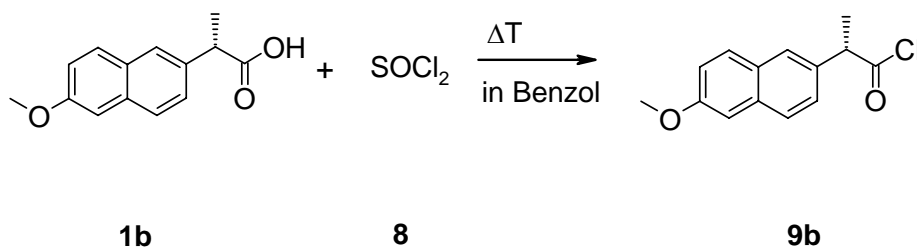
[α]_D²⁰ (Methanol) = -14.6°

C₂₂H₂₃NO₄ (365.43):

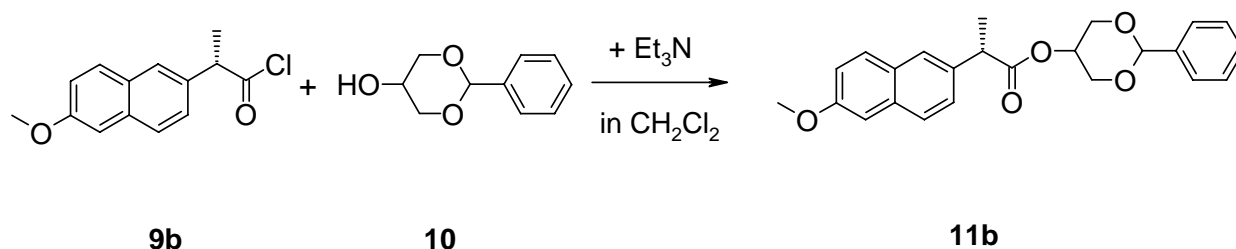
Ber.:	C 72.31	H 6.34	N 3.83
Gef.:	C 72.51	H 6.25	N 3.57

3.9 S-Naproxen-benzylidenglycerolester

(S)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.92 g (4.0 mmol) S-(+)-Naproxen (**1b**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.50 g (2.0 mmol) S-Naproxen-Cl (**9b**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH₂Cl₂ umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl₃ als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.557 g (71%)

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 185 (100), 392 (M^+) (54.1), 59 (24), 43 (18.2), 105 (16.2)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

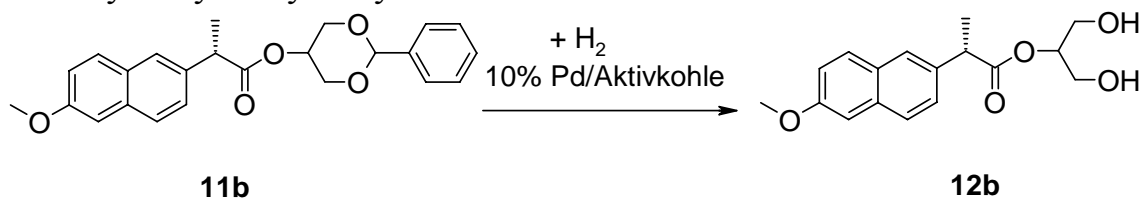
$\delta =$	7.74-7.67	} (m, 11H, aromat. H-Atome)
	7.49-7.32	
	7.13-7.09	
	5.55	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.66	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.31-4.08	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$)
	4.05-3.98	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.90	(s, 1H, $-\text{OCH}_3$)
	1.63-1.62	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

$\delta =$ 174.7, 157.7, 138.0, 135.4, 133.9, 129.5, 129.2, 129.1, 128.4, 127.2, 126.4, 126.2, 119.0, 105.7, 101.3, 69.0, 66.4, 55.4, 45.5, 18.5

3.10 2-(S-Naproxen-glycerol)

(S)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.5 mmol) S-Naproxen-benzylidenglycerolester (**11b**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

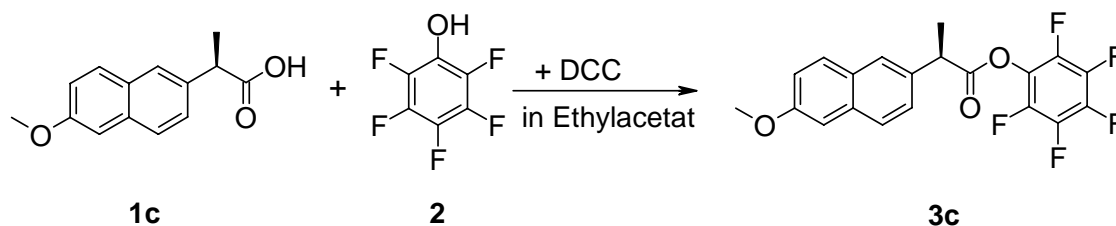
Ausbeute: 0.113 g (74%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.77-7.73	} (m, 6H, aromat. H-Atome)
	7.44-7.41	
	7.16-7.13	
	4.74-4.72	(m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$)
	4.12-4.08	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.91	(s, 3H, $-\text{OCH}_3$)
	3.69-3.67	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{OH}$)
	1.65-1.64	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

3.11 R-Naproxen-pentafluorphenylester

(R)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



4.61 g (20.0 mmol) R-(-)-Naproxen (**1c**) werden gemäß AV 1 mit 3.7 g (20.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 4.6 g (22.0 mmol) DCC in 200 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (5:95) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus n-Hexan.

Eigenschaften: weißer, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 5.003 g (63%)

Schmelzpunkt: 85°C

EI-MS (70 eV / 140 °C):

m/z (%) = 185 (100), 396 (M⁺) (50.6), 186 (15.5), 397 (11.7)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.75-7.69	}	(m, 6H, aromat. H-Atome)
	7.43-7.41		
	7.16-7.12		
	4.22-4.17		(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	3.94-3.88		(s, 3H, -OCH ₃)
	1.71-1.70		(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

$[\alpha]_D^{20}$ (Ethylacetat) = -78.2

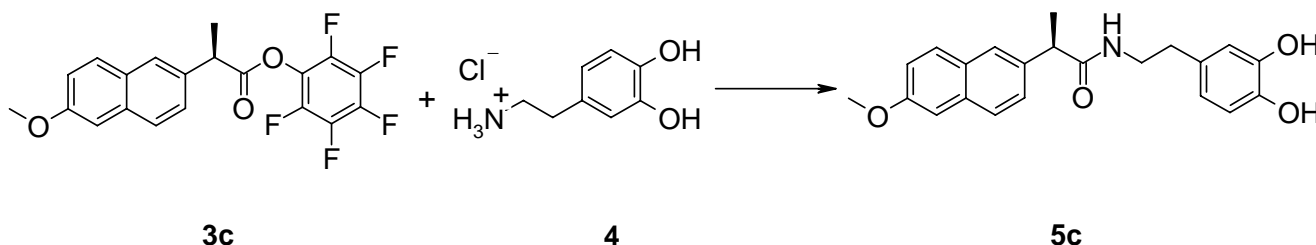
C₂₀H₁₃F₅O₃ (396.33):

Ber.: C 60.60 H 3.30

Gef.: C 60.72 H 3.64

3.12 R-Naproxen-dopaminamid

(R)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(6-methoxy-naphthalen-2-yl)-propionamid



0.80 g (2.0 mmol) R-Naproxen-pentafluorophenylester (**3c**) werden gemäß AV 2 mit 0.38 g (2.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus t-BuOMe / EtOAc (3:1).

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.395 g (54%)

EI-MS (70 eV / 90 °C):

m/z (%) = 185 (100), 229 (31.1), 365 (M⁺) (26.4), 141 (15.5), 171 (12.8)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.69-7.63	} (m, 6H, arom. H-Atome)
	7.35-7.33	
	7.13-7.08	
	6.65-6.59	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.38-6.36	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.8Hz, 8.0Hz)
	3.87	(s, 1H, -OCH ₃)
	3.67-3.64	(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.35-3.22	(t, 2H, -CH ₂ -NH-, J=7.2Hz)
	2.62-2.61	(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.2Hz)
	1.58-1.55	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 174.7, 157.7, 146.5, 145.2, 135.4, 133.9, 129.5, 129.2, 129.1, 128.5, 127.1, 126.4, 126.2, 120.5, 119.0, 114.3, 112.8, 105.7, 45.5, 43.4, 35.7, 18.4

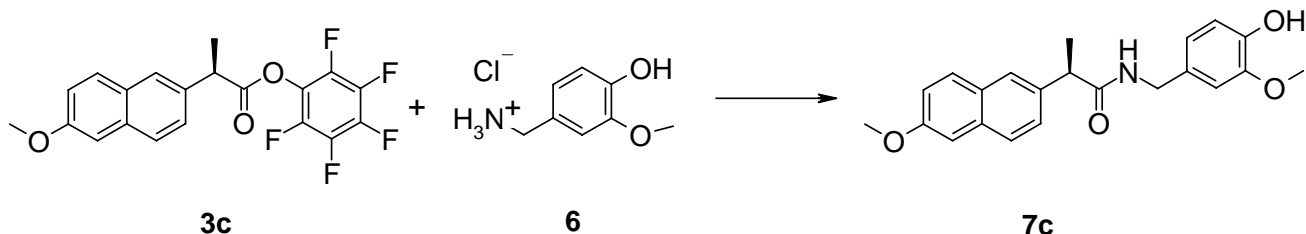
[α]_D²⁰ (Methanol) = -5.6°

C₂₂H₂₃NO₄ (365.43):

Ber.:	C 72.31	H 6.34	N 3.83
Gef.:	C 72.04	H 6.07	N 3.52

3.13 R-Naproxen-vanillylamid

(R)-N-(4-Hydroxy-3-methoxy-benzyl)-2-(6-methoxy-naphthalen-2-yl)-propionamid



0.80 g (2.0 mmol) R-Naproxen-pentafluorophenylester (**3c**) werden gemäß AV 3 mit 0.38 g (2.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: weißer, kristalliner Feststoff

Ausbeute: 0.468 g (64%)

Schmelzpunkt: 82°C

EI-MS (70 eV / 300 °C):

m/z (%) = 185 (100), 365 (M⁺) (48.7), 137 (22.4), 256 (8.2), 171 (7.7)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.67-7.62	}	(m, 6H, arom. H-Atome)
	7.35-7.33		
	7.13-7.08		
	6.65-6.63		(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.58-6.57		(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.9Hz, 8.1Hz)
	4.33-4.14		(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
	4.10-4.07		(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.65		(s, 3H, -OCH ₃)
	3.88		(s, 3H, -OCH ₃)
	1.55-1.53		(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 174.6, 157.7, 146.5, 145.2, 135.4, 133.9, 129.5, 129.2, 129.1, 128.3, 127.1, 126.4, 126.2, 120.5, 119.0, 114.3, 112.8, 105.7, 55.4, 45.5, 43.4, 18.4

[α]_D²⁰ (Methanol) = 14.4°

C₂₂H₂₃NO₄ (365.43):

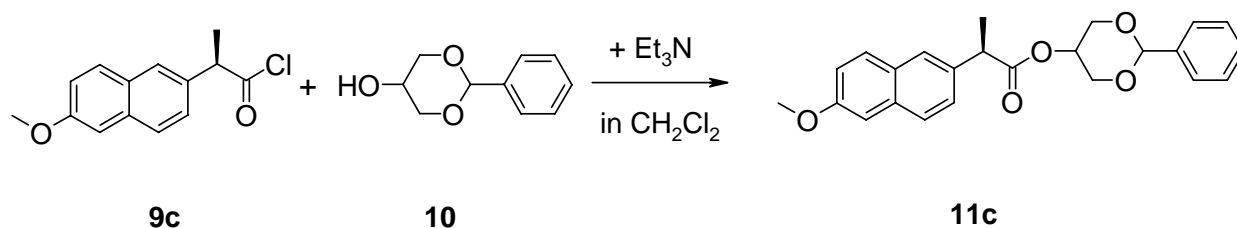
Ber.: C 72.31 H 6.34 N 3.83
 Gef.: C 72.11 H 6.13 N 3.61

3.14 R-Naproxen-benzylidenglycerolester

(R)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.92 g (4.0 mmol) R-(-)-Naproxen (**1c**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.50 g (2.0 mmol) R-Naproxen-Cl (**9c**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH₂Cl₂ umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl₃ als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.565 g (72%)

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 185 (100), 392 (M⁺) (58.1), 105 (18.9), 393 (15.5), 186 (15.2)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.74-7.68	}	(m, 11H, aromat. H-Atome)
	7.50-7.31		
	7.13-7.09		
	5.50	(s, 1H, -(OCH ₂) ₂ -CH-Phenyl)	
	4.66	(m, 1H, -COO-CH-)	
	4.30-4.08	(m, 4H, -CH ₂ O-)	

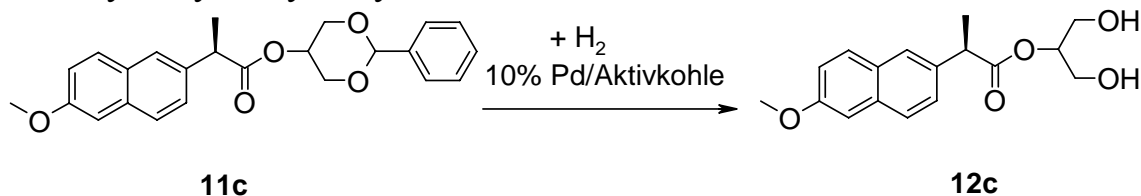
4.06-3.98	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
3.90	(s, 1H, -OCH ₃)
1.63-1.62	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃):

δ =	174.6, 157.6, 137.9, 135.3, 133.7, 129.3, 129.1, 129.0, 128.3, 127.3, 127.1, 126.3, 126.1, 125.9, 118.9, 105.6, 101.2, 68.9, 68.8, 66.3, 55.3, 45.4, 18.4
-----	---

3.15 2-(R-Naproxen)-glycerol

(R)-2-(6-Methoxy-naphthalen-2-yl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.5 mmol) R-Naproxen-benzylidenglycerolester (**11c**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

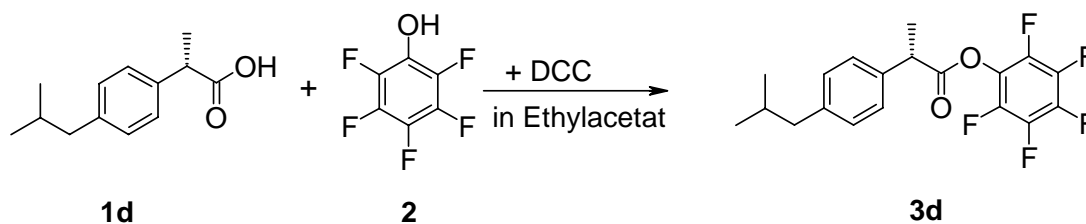
Ausbeute: 0.111 g (73%)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.75-7.72	} (m, 6H, arom. H-Atome)
	7.45-7.42	
	7.15-7.13	
	4.73-4.71	(m, 1H, -CH(CH ₂ OH) ₂)
	4.11-4.08	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	3.90	(s, 3H, -OCH ₃)
	3.69-3.66	(m, 4H, -CH ₂ OH)
	1.64-1.63	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

3.16 S-Ibuprofen pentafluorphenylester

(S)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



4.13 g (20.0 mmol) S-(+)-Ibuprofen (**1d**) werden gemäß AV 1 mit 3.68 g (20.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 4.6 g (22.0 mmol) DCC in 200 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (2:8) als Fließmittelgemisch. Nach dem Einengen zur Trockne wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: farbloses Öl
Ausbeute: 5.503 g (74%)

EI-MS (70 eV / 90 °C):

m/z (%) = 161 (100), 162 (14.3), 189 (6.7), 118 (4.9), 372 (M⁺) (4.5)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.14-7.12	(m, 4H, arom. H-Atome)
	4.04-4.03	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	2.47-2.45	(d, 2H, (CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -, J=7.1Hz)
	1.86-1.83	(m, 1H, (CH ₃) ₂ -CH-)
	1.63-1.62	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)
	0.89-0.87	(d, 6H, (CH ₃) ₂ -CH-, J=6.6Hz)

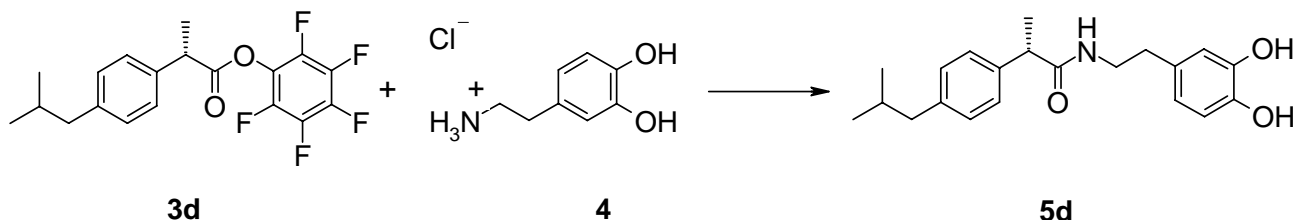
[α]_D²⁰ (Ethylacetat) = 73.7

C₁₉H₁₇F₅O₂ (372.36):

Ber.:	C 61.28	H 4.61
Gef.:	C 60.56	H 4.61

3.17 S-Ibuprofen-dopaminamid

(S)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(4-isobutyl-phenyl)-propionamid



4.85 g (13.0 mmol) S-Ibuprofen-pentafluorophenylester (**3d**) werden gemäß AV 2 mit 0.81 ml (13.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit EtOAc als Fließmittel. Nach dem Einengen zur Trockne wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 2.929 g (66%)

Schmelzpunkt: 92°C

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 206 (100), 161 (49.0), 136 (35.8), 341 (M⁺) (30.7), 73 (17.6)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ = 7.17-7.07 (m, 4H, arom. H-Atome)
 6.65-6.59 (m, 2H, arom. H-Atome)
 6.38-6.36 (dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.9Hz, 8.0Hz)
 3.54-3.50 (q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
 3.30-3.26 (t, 2H, -CH₂-NH-, J=7.2Hz)
 2.62-2.61 (t, 2H, -CH₂-, J=7.2Hz)
 2.44-2.43 (d, 2H, (CH₃)₂-CH-CH₂-, J=7.1Hz)
 1.84-1.81 (m, 1H, (CH₃)₂-CH-)
 1.40-1.38 (d, 3H, -CH₃, J=7.1Hz)
 0.90-0.87 (d, 6H, (CH₃)₂-CH-, J=6.6Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 177.3, 146.3, 144.8, 141.5, 140.3, 132.0, 130.3, 128.2,
 121.2, 116.9, 116.4, 47.3, 46.1, 42.3, 35.9, 31.5, 22.8,
 18.8

$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = 5.9°

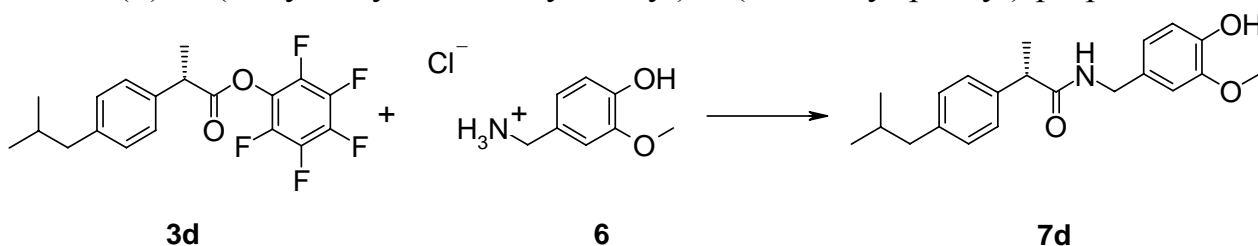
C₂₁H₂₇NO₃ (341.44):

Ber.: C 73.87 H 7.96 N 4.10

Gef.: C 73.59 H 8.05 N 3.94

3.18 S-Ibuprofen-vanillylamid

(S)-N-(4-Hydroxy-3-methoxy-benzyl)-2-(4-isobutyl-phenyl)-propionamid



0.74 g (2.0 mmol) S-Ibuprofen-pentafluorophenylester (**3d**) werden gemäß AV 3 mit 0.38 g (2.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: gelbliche Flüssigkeit

Ausbeute: 0.437 g (64%)

EI-MS (70 eV / 300 °C):

m/z (%) = 137 (100), 161 (52.4), 341 (M⁺) (35.4), 43 (22.5), 119 (16.9)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.24-7.04	(m, 4H, arom. H-Atome)
	6.65-6.63	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.58-6.57	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.8Hz, 8.1Hz)
	4.33-4.14	(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
	4.10-4.07	(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.65	(s, 3H, -OCH ₃)
	2.44-2.43	(d, 2H, (CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -, J=7.1Hz)
	1.83-1.80	(m, 1H, (CH ₃) ₂ -CH-)
	1.43-1.42	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)
	0.88-0.87	(d, 6H, (CH ₃) ₂ -CH-, J=6.6Hz)

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- D_4):

$\delta =$ 177.3, 146.3, 144.8, 141.5, 140.3, 132.0, 130.3, 128.2, 121.2, 116.9, 116.4, 55.8, 47.3, 46.1, 42.3, 31.5, 22.8, 18.8

$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = -4.3°

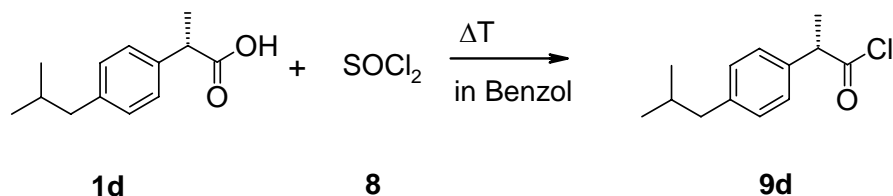
$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ (341.44):

Ber.: C 73.87 H 7.96 N 4.10

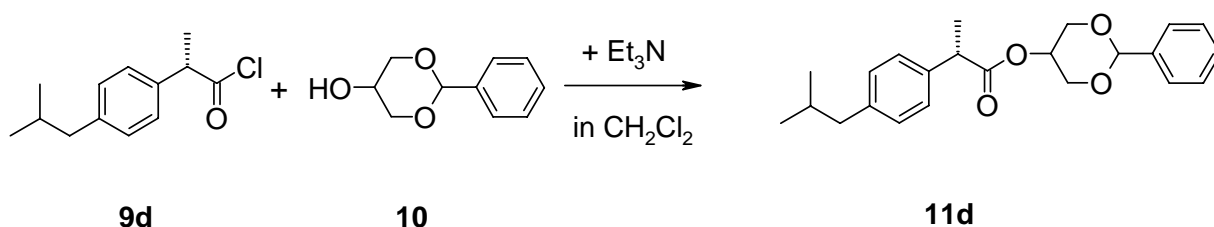
Gef.: C 73.61 H 7.83 N 3.87

3.19 S-Ibuprofen-benzylidenglycerolester

(S)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propion säure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.83 g (4.0 mmol) S-(+)-Ibuprofen (**1d**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.45 g (2.0 mmol) S-Ibuprofen-Cl (**9d**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH_2Cl_2 umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel.

Eigenschaften: farbloses Öl

Ausbeute: 0.516 g (70%)

EI-MS (70 eV / RT):

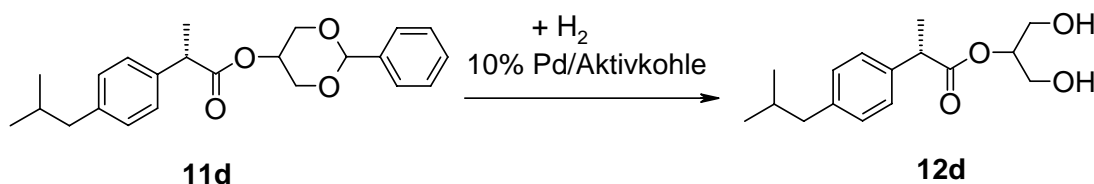
m/z (%) = 161 (100), 368 (M^+) (53.4), 162 (41.2), 189 (23.1), 119 (17.3)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.49-7.40	} (m, 9H, aromat. H-Atome)
	7.14-7.12	
	5.51	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.66	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.30-4.08	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$)
	4.03-4.01	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	2.47-2.45	(d, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2\text{-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.86-1.83	(m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)
	1.63-1.62	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)
	0.89-0.87	(m, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)

3.20 2-(S-Ibuprofen)-glycerol

(S)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.54 mmol) S-Ibuprofen-benzylidenglycerolester (**11d**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

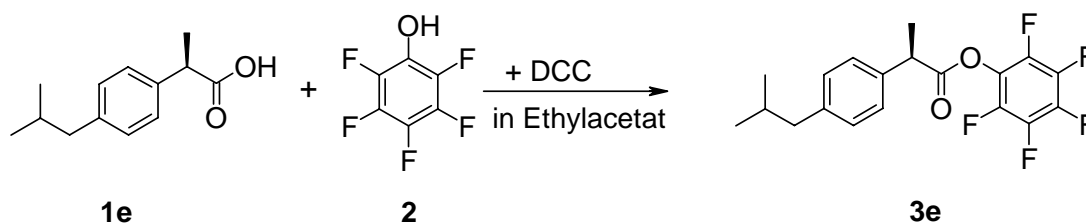
Ausbeute: 0.115 g (76%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.16-7.13	(m, 4H, aromat. H-Atome)
	4.73-4.71	(m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$)
	4.11-4.08	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.90	(s, 3H, $-\text{OCH}_3$)
	3.69-3.65	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{OH}$)
	2.48-2.47	(d, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2\text{-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.86-1.83	(m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)
	1.64-1.63	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)
	0.89-0.87	(m, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)

3.21 R-Ibuprofen pentafluorphenylester

(R)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



4.13 g (20.0 mmol) R-(-)-Ibuprofen (**1e**) werden gemäß AV 1 mit 3.68 g (20.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 4.6 g (22.0 mmol) DCC in 200 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (2:8) als Fließmittelgemisch. Nach dem Einengen zur Trockne wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: farbloses Öl
Ausbeute: 5.507 g (74%)

EI-MS (70 eV / 90 °C)

m/z (%) = 161 (100), 162 (14.3), 189 (6.7), 118 (4.9), 372 (M⁺) (4.5)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ =	7.14-7.12	(m, 4H, arom. H-Atome)
	4.04-4.03	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	2.47-2.45	(d, 2H, (CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -, J=7.1Hz)
	1.86-1.83	(m, 1H, (CH ₃) ₂ -CH-)
	1.63-1.62	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)
	0.89-0.87	(m, 6H, (CH ₃) ₂ -CH-)

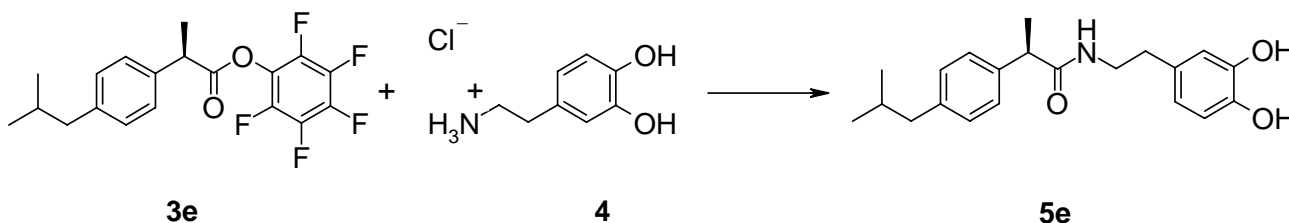
[α]_D²⁰ (Ethylacetat) = -72.8

C₁₉H₁₇F₅O₂ (372.36):

Ber.:	C 61.28	H 4.61
Gef.:	C 60.56	H 4.61

3.22 R-Ibuprofen-dopaminamid

(R)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(4-isobutyl-phenyl)-propionamid



4.85 g (13.0 mmol) R-Ibuprofen-pentafluorophenylester (**3e**) werden gemäß AV 2 mit 0.81 ml (13.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit EtOAc als Fließmittel. Nach dem Einengen zur Trockne wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 2.707 g (61%)

Schmelzpunkt: 92°C

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 161 (100), 206 (83.8), 136 (81.8), 341 (M⁺) (69.3), 119 (34.4)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.17-7.07	(m, 4H, arom. H-Atome)
	6.63-6.62	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.46-6.42	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.9Hz, 8.0Hz)
	3.54-3.50	(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.36-3.23	(t, 2H, -CH ₂ -NH-, J=7.2Hz)
	2.64-2.62	(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.2Hz)
	2.42-2.41	(d, 2H, (CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -, J=7.1Hz)
	1.83-1.80	(m, 1H, (CH ₃) ₂ -CH-)
	1.48-1.46	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)
	0.87-0.84	(d, 6H, (CH ₃) ₂ -CH-, J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 177.2, 146.3, 144.8, 141.5, 140.3, 132.0, 130.3, 128.2, 121.2, 116.9, 116.4, 47.3, 46.2, 42.3, 35.9, 31.6, 22.8, 18.7

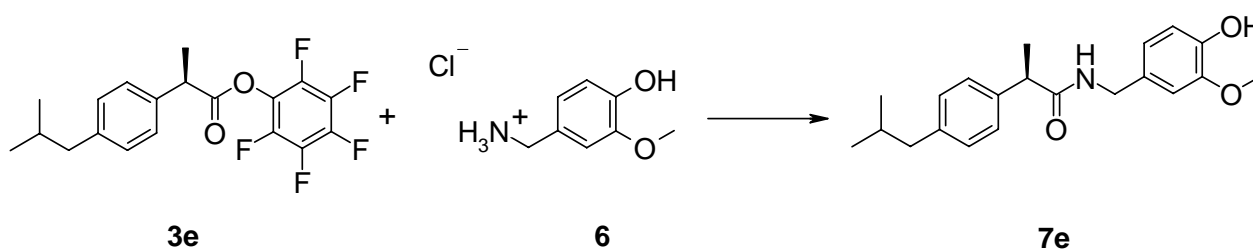
[α]_D²⁰ (Methanol) = -5.8°

$C_{21}H_{27}NO_3$ (341.44):

Ber.: C 73.87 H 7.96 N 4.10
 Gef.: C 74.22 H 7.75 N 3.86

3.23 R-Ibuprofen-vanillylamid

(R)-N-(4-Hydroxy-3-methoxy-benzyl)-2-(4-isobutyl-phenyl)-propionamid



0.74 g (2.0 mmol) R-Ibuprofen-pentafluorophenylester (**3e**) werden gemäß AV 3 mit 0.38 g (2.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: gelbliche Flüssigkeit

Ausbeute: 0.430 g (63%)

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 137 (100), 161 (56.1), 341 (M⁺) (39.9), 43 (21.6), 119 (17.6)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.26-7.07	(m, 4H, arom. H-Atome)
	6.67-6.65	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.60-6.58	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.8Hz, 8.1Hz)
	4.35-4.14	(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
	4.11-4.08	(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.67	(s, 3H, -OCH ₃)
	2.44-2.43	(d, 2H, (CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -, J=7.1Hz)
	1.84-1.81	(m, 1H, (CH ₃) ₂ -CH-)
	1.44-1.43	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)
	0.89-0.87	(d, 6H, (CH ₃) ₂ -CH-, J=6.6Hz)

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- D_4):

$\delta =$ 177.3, 146.3, 144.7, 141.5, 140.3, 132.0, 130.2, 128.2, 121.1,
116.9, 116.4, 55.8, 47.3, 46.0, 42.3, 31.5, 22.7, 18.8

$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = 4.2°

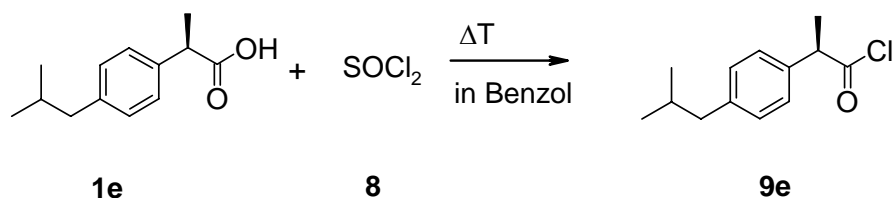
$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ (341.44):

Ber.: C 73.87 H 7.96 N 4.10

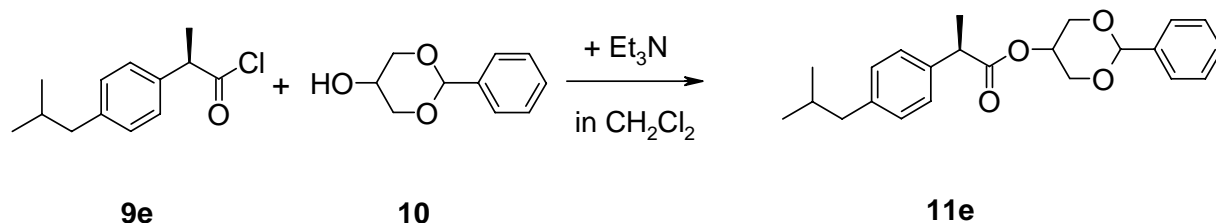
Gef.: C 73.61 H 7.68 N 3.91

3.24 R-Ibuprofen-benzylidenglycerolester

(R)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propion säure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.83 g (4.0 mmol) R-(-)-Ibuprofen (**1e**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.45 g (2.0 mmol) R-Ibuprofen-Cl (**9e**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH_2Cl_2 umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel.

Eigenschaften: farbloses Öl

Ausbeute: 0.523 g (71%)

EI-MS (70 eV / RT):

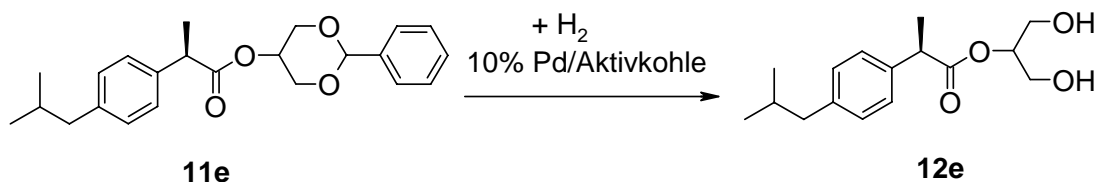
m/z (%) = 161 (100), 368 (M^+) (52.3), 162 (44.2), 119 (19.4), 189 (13.5)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.49-7.40	} (m, 9H, aromat. H-Atome)
	7.14-7.12	
	5.51	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.66	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.30-4.08	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$)
	4.03-4.01	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	2.47-2.45	(d, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2\text{-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.86-1.83	(m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)
	1.63-1.62	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)
	0.89-0.87	(m, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)

3.25 2-(R-Ibuprofen)-glycerol

(R)-2-(4-Isobutyl-phenyl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.54 mmol) R-Ibuprofen-benzylidenglycerolester (**11e**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

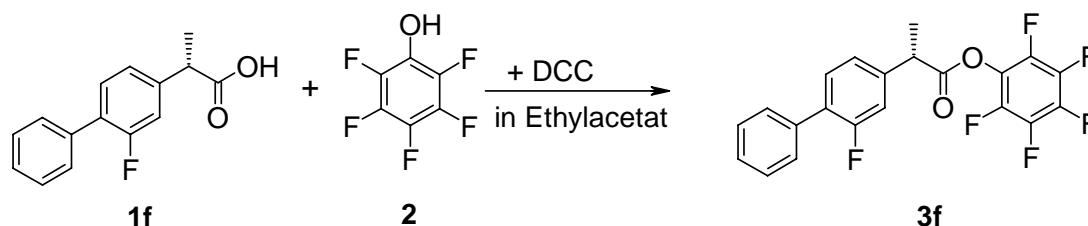
Ausbeute: 0.112 g (74%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.16-7.14	(m, 4H, aromat. H-Atome)
	4.72-4.70	(m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$)
	4.11-4.08	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.91	(s, 3H, $-\text{OCH}_3$)
	3.68-3.65	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{OH}$)
	2.49-2.48	(d, 2H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2\text{-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.86-1.84	(m, 1H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)
	1.64-1.63	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)
	0.89-0.88	(m, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$)

3.26 S-Flurbiprofen-pentafluorphenylester

(S)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



0.49 g (2.0 mmol) S-(+)-Flurbiprofen (**1f**) werden gemäß AV 1 mit 0.37 g (2.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 0.46 g (2.2 mmol) DCC in 20 ml Ethylacetat umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (5:95) als Fließmittelgemisch. Nach dem Einengen zur Trockene wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: farbloses Öl
Ausbeute: 0.704 g (85%)

EI-MS (70 eV / 500 °C):

m/z (%) = 199 (100), 410 (M⁺) (34.7), 200 (16.4), 163 (12.3)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃):

δ = $\left. \begin{array}{l} 7.50-7.30 \\ 7.16-7.11 \end{array} \right\} \text{ (m, 8H, aromat. H-Atome)}$
 $4.06-4.03 \text{ (q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)}$
 $1.63-1.62 \text{ (d, 3H, -CH}_3\text{, J=7.1Hz)}$

$[\alpha]_D^{20}$ (Ethylacetat) = 66.2

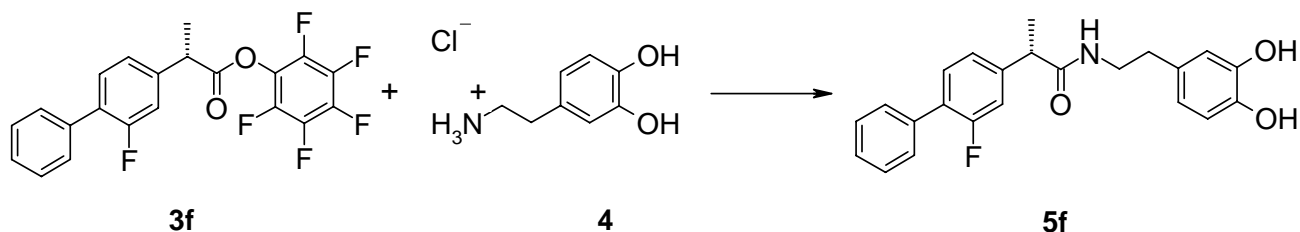
C₂₁H₁₂F₆O₂ (410.33):

Ber.: C 61.47 H 2.95

Gef.: C 62.46 H 3.58

3.27 S-Flurbiprofen-dopaminamid

(S)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(2-fluoro-biphenyl-4-yl)-propionamid



0.82 g (2.0 mmol) S-Flurbiprofen-pentafluorophenylester (**3f**) werden gemäß AV 2 mit 0.38 g (2.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus t-BuOMe / EtOAc (2:1).

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.486 g (64%)

Schmelzpunkt: 168°C

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 136 (100), 244 (76.7), 199 (61.8), 379 (M⁺) (27.0), 185 (20.9)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

$\delta =$

7.52-7.34	}	(m, 8H, arom. H-Atome)
7.16-7.10		
6.63-6.62		(m, 2H, arom. H-Atome)
6.46-6.42		(dd, 1H, arom. H-Atom, J=1.7Hz, 8.0Hz)
3.60-3.55		(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
3.41-3.29		(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
2.63-2.61		(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.2Hz)
1.52-1.50		(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

$\delta =$ 173.9, 159.6 (d, ¹J_{CF} = 248.6 Hz), 146.6, 145.1, 141.4, 135.5, 130.7, 129.0, 128.8, 128.4, 128.3, 127.5, 126.0, 123.5, 120.5, 115.3 (²J_{CF} = 23.1 Hz), 114.3, 112.8, 44.9, 43.6, 35.8, 18.3

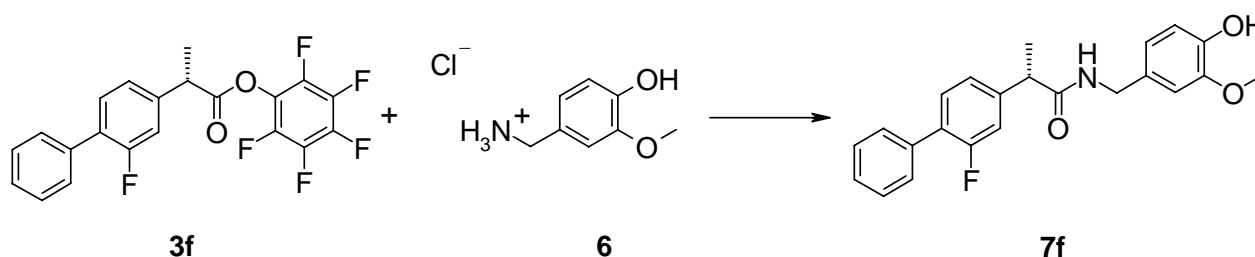
[α]_D²⁰ (Methanol) = 22.3°

$C_{23}H_{22}FNO_3$ (379.43):

Ber.: C 72.80 H 5.84 N 3.69
 Gef.: C 72.73 H 5.56 N 3.52

3.28 S-Flurbiprofen-vanillylamid

(S)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-N-(4-hydroxy-3-methoxy-benzyl)-propionamid



0.82 g (2.0 mmol) S-Flurbiprofen-pentafluorophenylester (**3f**) werden gemäß AV 3 mit 0.38 g (2.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / $CHCl_3$ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus t-BuOMe / EtOAc (2:1).

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.516 g (68%)

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 137 (100), 379 (M^+) (33.1), 199 (20.9), 178 (8.1)

1H -NMR (500 MHz, MeOH- D_4):

δ =	7.52-7.34	}	(m, 8H, aromat. H-Atome)
	7.16-7.10		
	6.65-6.64		(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.56-6.53		(dd, 1H, aromat. H-Atom, $J=1.8\text{Hz}$, 8.1Hz)
	4.35-4.14		(m, 2H, $-CH_2-NH-$)
	4.11-4.08		(q, 1H, $-CH-CON-$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.67		(s, 3H, $-OCH_3$)
	1.51-1.49		(d, 3H, $-CH_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- D_4):

$\delta =$ 173.9, 159.7 (d, $^1J_{\text{CF}} = 248.8$ Hz), 146.6, 145.1, 141.4, 135.5, 130.7, 129.0, 128.9, 128.4, 128.3, 127.6, 126.0, 123.6, 120.5, 115.3 ($^2J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz), 114.3, 112.8, 55.9, 44.9, 43.6, 18.3

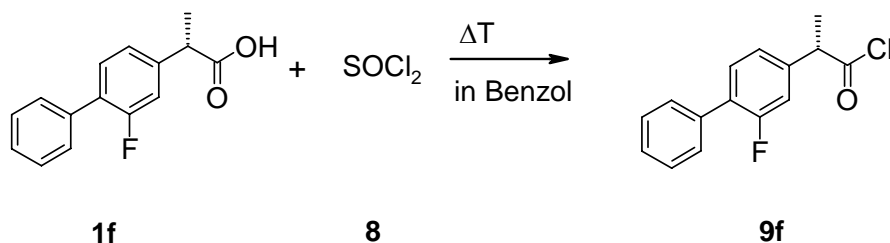
$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = 12.7°

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{FNO}_3$ (379.43):

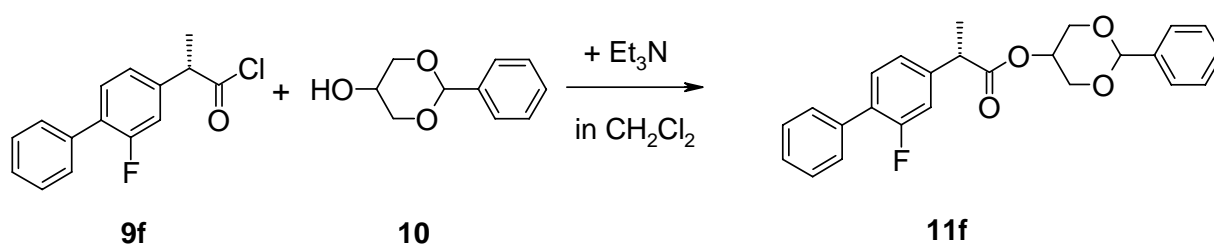
Ber.:	C 72.80	H 5.84	N 3.69
Gef.:	C 72.46	H 5.61	N 3.34

3.29 S-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester

(S)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propion säure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.98 g (4.0 mmol) S-(+)-Flurbiprofen (**1f**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.52 g (2.0 mmol) S-Flurbiprofen-Cl (**9f**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH_2Cl_2 umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel.

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.577 g (71%)

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 199 (100), 406 (M^+) (44.6), 105 (34.5), 77 (15.5), 178 (14.2)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

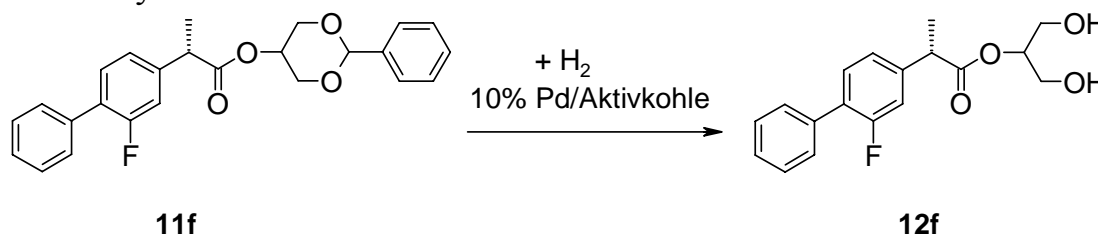
$\delta =$	7.46-7.11	(m, 13H, aromat. H-Atome)
	5.44	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.60	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.22-4.00	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$)
	3.85-3.80	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.51-1.49	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	173.9, 159.7 (d, $^1J_{\text{CF}} = 248.6\text{ Hz}$), 141.4, 137.8, 135.5, 130.7,
	129.0, 128.9, 128.4, 128.3, 127.6, 126.0, 123.6, 115.3
	($^2J_{\text{CF}} = 23.0\text{ Hz}$), 101.2, 68.8, 66.4, 44.9, 18.3

3.30 2-(S-Flurbiprofen)-glycerol

(S)-2-(2-Fluor-biphenyl-4-yl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.5 mmol) S-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester (**11f**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

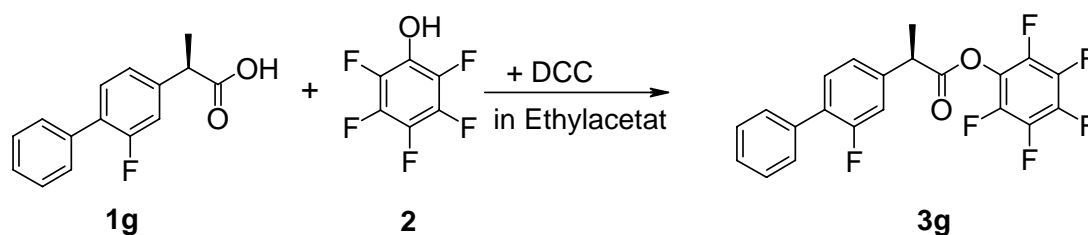
Ausbeute: 0.115 g (72%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.50-7.13	(m, 8H, aromat. H-Atome)
	4.76-4.74	(m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$)
	3.85-3.80	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.71-3.69	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{OH}$)
	1.51-1.49	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

3.31 R-Flurbiprofen-pentafluorphenylester

(R)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propionsäure pentafluorphenyl ester



0.49 g (2.0 mmol) R-(-)-Flurbiprofen (**1g**) werden gemäß AV 1 mit 0.37 g (2.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 0.46 g (2.2 mmol) DCC in 20 ml EtOAc umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt per Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / n-Hexan (5:95) als Fließmittelgemisch. Nach dem Einengen zur Trockne wird der Rückstand mit n-Pentan gewaschen und an der Ölpumpe getrocknet.

Eigenschaften: farbloses Öl
Ausbeute: 1.00 g (62%)

EI-MS (70 eV / 160 °C):

m/z (%) = 410 (M^+) (100), 200 (66.1), 411 (23.0), 184 (14.0)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.57-7.38	} (m, 8H, aromat. H-Atome)
	7.24-7.18	
	4.13-4.10	(q, 1H, -CH-COO-, J=7.1Hz)
	1.70	(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

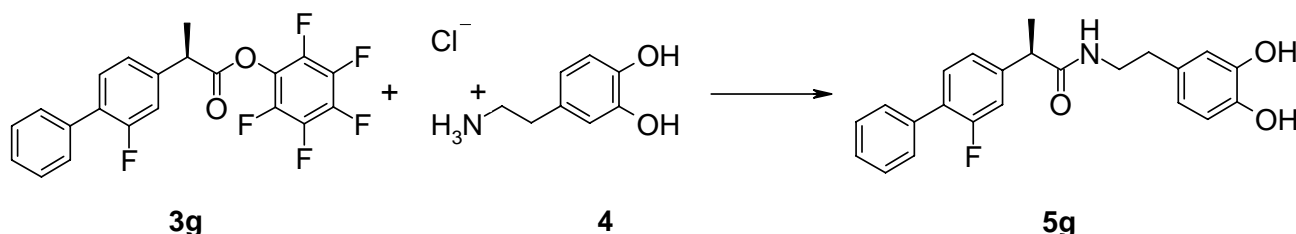
$[\alpha]_D^{20}$ (Ethylacetat) = -65.6

$\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{O}_2$ (410.33):

Ber.:	C 61.47	H 2.95
Gef.:	C 62.15	H 3.9

3.32 R-Flurbiprofen-dopaminamid

(R)-N-[2-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-ethyl]-2-(2-fluoro-biphenyl-4-yl)-propionamid



0.82 g (2.0 mmol) R-Flurbiprofen-pentafluorphenylester (**3g**) werden gemäß AV 2 mit 0.38 g (2.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus t-BuOMe / EtOAc (2:1).

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.478 g (63%)

Schmelzpunkt: 166°C

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 136 (100), 199 (95.9), 244 (90.5), 43 (82.4), 379 (M⁺) (20.6)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.52-7.34	}	(m, 8H, aromat. H-Atome)
	7.16-7.10		
	6.62-6.61		(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.44-6.41		(dd, 1H, aromat. H-Atom, J=1.7Hz, 8.0Hz)
	3.62-3.57		(q, 1H, -CH-CON-, J=7.1Hz)
	3.40-3.27		(m, 2H, -CH ₂ -NH-)
	2.62-2.60		(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.2Hz)
	1.51-1.49		(d, 3H, -CH ₃ , J=7.1Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

δ = 173.8, 159.7 (d, ¹J_{CF} = 248.7 Hz), 146.6, 145.1, 141.4, 135.5, 130.7, 129.0, 128.8, 128.4, 128.3, 127.5, 126.0, 123.6, 120.5, 115.3 (²J_{CF} = 23.3 Hz), 114.3, 112.8, 44.9, 43.6, 35.7, 18.3

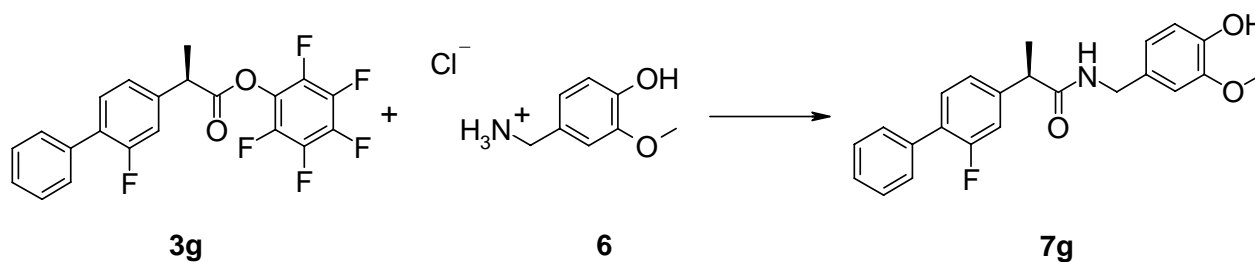
$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = -22.2°

$C_{23}H_{22}FNO_3$ (379.43):

Ber.: C 72.80 H 5.84 N 3.69
 Gef.: C 72.54 H 5.51 N 3.45

3.33 R-Flurbiprofen-vanillylamid

(R)-2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-N-(4-hydroxy-3-methoxy-benzyl)-propionamid



0.62 g (1.5 mmol) R-Flurbiprofen-pentafluorphenylester (**3g**) werden gemäß AV 3 mit 0.29 g (1.5 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / $CHCl_3$ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit t-BuOMe / EtOAc (2:1) als Fließmittelgemisch und anschließendes Umkristallisieren aus t-BuOMe / EtOAc (2:1).

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.370 g (65%)

EI-MS (70 eV / 80 °C):

m/z (%) = 137 (100), 379 (M^+) (32.4), 199 (21.6), 178 (8.8)

1H -NMR (500 MHz, MeOH- D_4):

δ =	7.52-7.34	} (m, 8H, aromat. H-Atome)
	7.16-7.10	
	6.65-6.64	(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.56-6.53	(dd, 1H, aromat. H-Atom, $J=1.8\text{Hz}$, 8.1Hz)
	4.35-4.14	(m, 2H, $-CH_2-NH-$)
	4.11-4.08	(q, 1H, $-CH-CON-$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.67	(s, 3H, $-OCH_3$)
	1.51-1.49	(d, 3H, $-CH_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- D_4):

$\delta =$ 173.9, 159.7 (d, $^1J_{\text{CF}} = 248.8$ Hz), 146.6, 145.1, 141.4, 135.5, 130.7, 129.0, 128.9, 128.4, 128.3, 127.6, 126.0, 123.6, 120.5, 115.3 ($^2J_{\text{CF}} = 23.2$ Hz), 114.3, 112.8, 55.9, 44.9, 43.6, 18.3

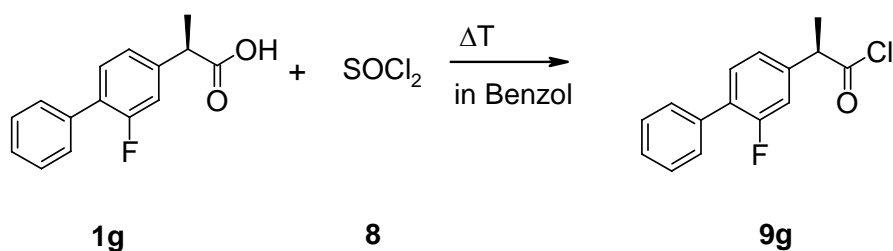
$[\alpha]_D^{20}$ (Methanol) = -12.5°

$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{FNO}_3$ (379.43):

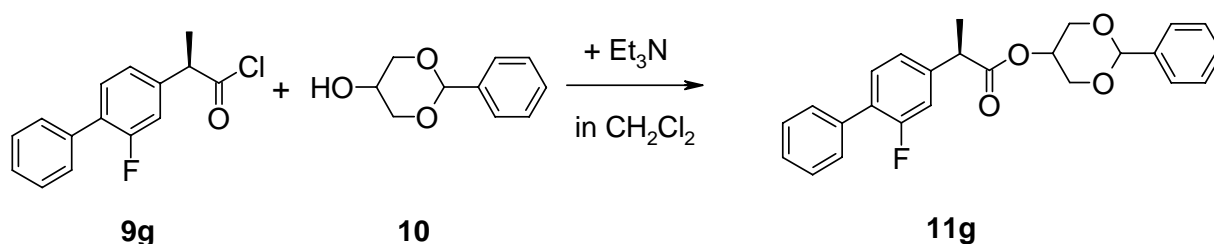
Ber.:	C 72.80	H 5.84	N 3.69
Gef.:	C 72.65	H 5.63	N 3.42

3.34 R-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester

(R)- 2-(2-Fluoro-biphenyl-4-yl)-propion säure 2-phenyl-[1,3]dioxan-5-yl ester



0.98 g (4.0 mmol) R-(-)-Flurbiprofen (**1g**) werden gemäß AV 4 mit 0.72 g (6.0 mmol) Thionylchlorid (**8**) in 50 ml Benzol umgesetzt.



0.52 g (2.0 mmol) R-Flurbiprofen-Cl (**9g**) werden gemäß AV 4 mit 0.36 g (2.0 mmol) Benzylidenglycerol (**10**) in 50 ml CH_2Cl_2 umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl_3 als Fließmittel.

Eigenschaften: gelbliche harzartige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.585 g (72%)

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 199 (100), 406 (M^+) (40.5), 105 (33.8), 77 (16.2), 178 (14.2)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

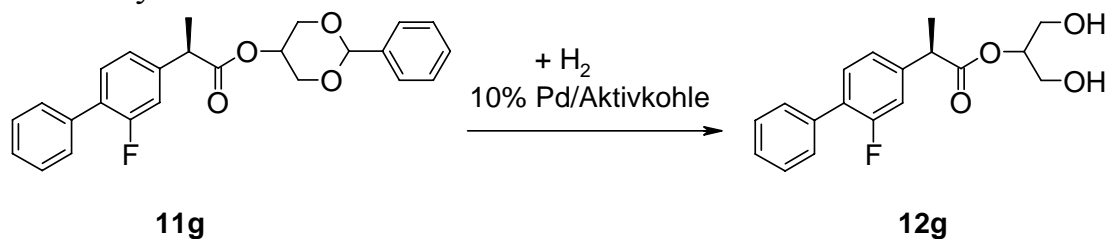
$\delta =$	7.57-7.24	(m, 13H, aromat. H-Atome)
	5.56	(s, 1H, $-(\text{OCH}_2)_2\text{-CH-Phenyl}$)
	4.71	(m, 1H, $-\text{COO-CH-}$)
	4.35-4.11	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{O-}$)
	3.97-3.92	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	1.63-1.62	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	173.9, 159.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 247.6\text{ Hz}$), 141.4, 137.8, 135.5, 130.8, 129.1, 128.9, 128.4, 128.3, 127.6, 126.0, 123.6, 115.3 ($^2J_{\text{CF}} = 24.0\text{ Hz}$), 101.2, 68.7, 66.5, 44.8, 18.3
------------	--

3.35 2-(R-Flurbiprofen)-glycerol

(R)-2-(2-Fluor-biphenyl-4-yl)-propionsäure 2-hydroxy-1-hydroxymethyl-ethyl ester



0.200 g (0.5 mmol) R-Flurbiprofen-benzylidenglycerolester (**11g**) werden gemäß AV 5 in 30 ml mit Wasser gesättigtem t-BuOMe hydriert.

Die Reinigung erfolgt per Filtration und anschließende Flash-Chromatographie über mit 10% Borsäure imprägniertes Kieselgel (24 g) mit EtOAc als Fließmittel.

Eigenschaften: weißer Feststoff

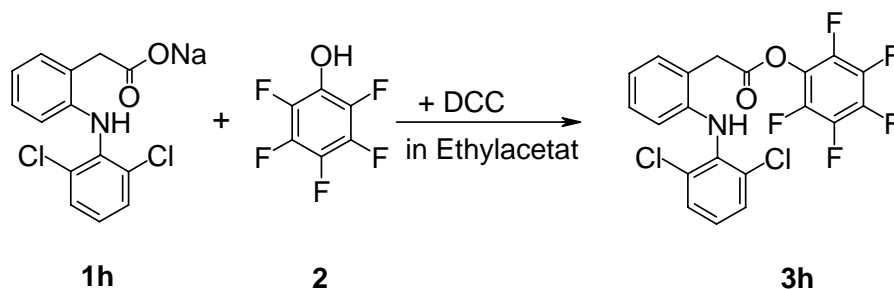
Ausbeute: 0.113 g (71%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.53-7.17	(m, 8H, aromat. H-Atome)
	4.78-4.75	(m, 1H, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$)
	3.85-3.81	(q, 1H, $-\text{CH-COO-}$, $J=7.1\text{Hz}$)
	3.73-3.70	(m, 4H, $-\text{CH}_2\text{OH}$)
	1.54-1.53	(d, 3H, $-\text{CH}_3$, $J=7.1\text{Hz}$)

3.36 Diclofenac-pentafluorphenylester

[2-(2,6-Dichlor-phenylamino)-phenyl]-essigsäure pentafluorphenyl ester



3.18 g (10.0 mmol) Diclofenac-Na (**1h**) werden gemäß AV 1 mit 1.84 g (10.0 mmol) Pentafluorphenol (**2**) und 2.30 g (11 mmol) DCC in 70 ml EtOAc umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Umkristallisieren aus Ethylacetat.

Eigenschaften: gelblicher Feststoff

Ausbeute: 2.911 g (63%)

Schmelzpunkt: 138°C

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 59 (100), 214 (73.6), 72 (55.4), 224 (33.8), 461 (M^+) (22.3),

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

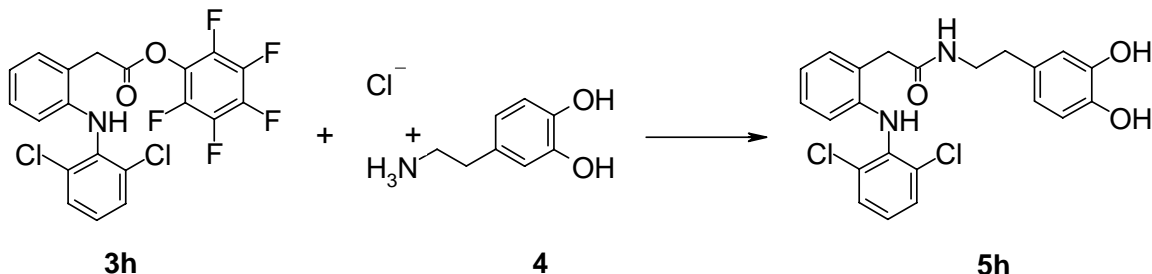
$\delta =$	7.36-7.32	(d, 2H, aromat. H-Atome, $J=8.0\text{Hz}$)
	7.22-7.18	(d, 1H, aromat. H-Atome, $J=7.6\text{Hz}$)
	7.06-6.99	(m, 2H, aromat. H-Atome)
	6.63-6.61	(q, 1H, aromat. H-Atome, $J=7.3\text{Hz}$)
	6.36-6.35	(d, 1H, aromat. H-Atome, $J=8.0\text{Hz}$)
	4.18	(s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}-$)

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{F}_5\text{NO}_2$ (410.33):

Ber.:	C 51.97	H 4.58	N 3.03	Cl 15.34
Gef.:	C 52.15	H 4.72	N 2.78	Cl 15.61

3.37 Diclofenac-dopaminamid

2-[2-(2,6-Dichlor-phenylamino)-phenyl]-N-[2-(3,4-dihydroxy-phenyl)-ethyl]-acetamid



0.46 g (1.0 mmol) Diclofenac-pentafluorophenylester (**3h**) werden gemäß AV 2 mit 0.19 g (1.0 mmol) Dopamin-HCl (**4**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit EtOAc / MeOH (9+1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.259 g (60%)

Schmelzpunkt: 172°C

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 214 (100), 278 (25), 430 (M⁺) (21.6), 242 (20.9), 180 (17.6)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.41-7.39	(d, 2H, arom. H-Atome, J=8.0Hz)
	7.17-7.15	(d, 1H, arom. H-Atome, J=7.6Hz)
	7.07-7.03	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.88-6.85	(q, 1H, arom. H-Atome, J=7.2Hz)
	6.38-6.37	(d, 1H, arom. H-Atome, J=8.0Hz)
	6.63-6.62	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.46-6.42	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=2.0Hz, 8.0Hz)
	3.63	(s, 2H, -CH ₂ -CON-)
	3.35-3.30	(t, 2H, -CO-N-CH ₂ -, J=7.4Hz)
	2.64-2.62	(t, 2H, -CH ₂ -, J=7.3Hz)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

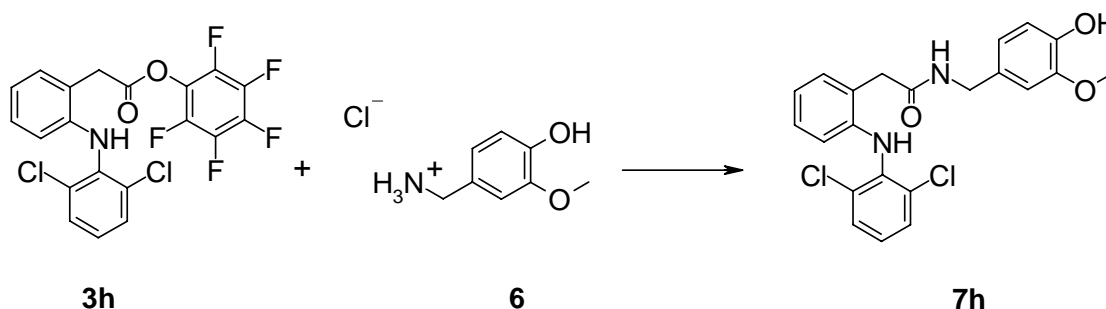
δ = 174.6, 146.2, 144.7, 144.4, 139.2, 131.9, 131.6, 131.2, 130.0, 128.5, 126.9, 125.5, 122.4, 121.1, 118.1, 116.4, 112.2, 42.5, 40.9, 35.8

C₂₂H₂₀Cl₂N₂O₃ (431.31):

Ber.:	C 61.26	H 4.67	N 6.49	Cl 16.44
Gef.:	C 60.80	H 4.87	N 6.41	Cl 16.11

3.38 Diclofenac-vanillylamid

2-[2-(2,6-Dichlor-phenylamino)-phenyl]-N-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-acetamid



0.46 g (1.0 mmol) Diclofenac-pentafluorophenylester (**3h**) werden gemäß AV 3 mit 0.19 g (1.0 mmol) Vanillylamin-HCl (**6**) in 50 ml MeOH / CHCl₃ (4+1) umgesetzt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit EtOAc / MeOH (9+1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: weißer Feststoff

Ausbeute: 0.263 g (61%)

Schmelzpunkt: 154°C

EI-MS (70 eV / RT):

m/z (%) = 214 (100), 137 (42.6), 242 (25), 152 (21.6), 277 (18.9), 430 (M⁺) (15.5)

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄):

δ =	7.41-7.37	(d, 2H, arom. H-Atome, J=7.9Hz)
	7.16-7.15	(d, 1H, arom. H-Atome, J=7.6Hz)
	7.06-7.03	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.89-6.85	(q, 1H, arom. H-Atome, J=7.3Hz)
	6.37-6.36	(d, 1H, arom. H-Atome, J=7.9Hz)
	6.62-6.61	(m, 2H, arom. H-Atome)
	6.41-6.39	(dd, 1H, arom. H-Atom, J=2.0Hz, 8.0Hz)

3.68	(s, 3H, -OCH ₃)
3.61	(s, 2H, -CH ₂ -CO-N-)
3.32-3.29	(m, 2H, -CO-N-CH ₂ -)

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-D₄):

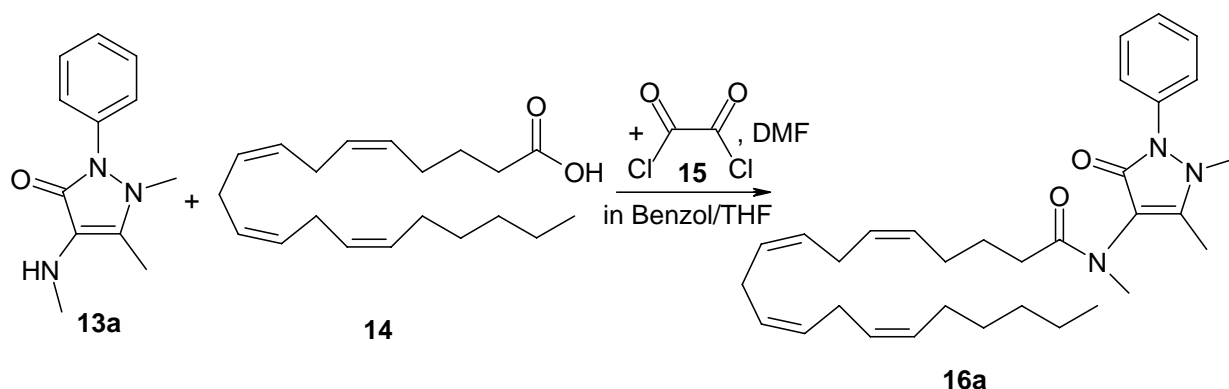
δ =	174.4, 149.0, 146.8, 144.5, 139.1, 131.6, 131.3, 130.0, 128.6, 126.9, 125.6, 122.4, 121.3, 118.1, 116.1, 112.2, 56.2, 44.1, 34.8
-----	--

C₂₂H₂₀Cl₂N₂O₃ (431.31):

Ber.:	C 61.26	H 4.67	N 6.49	Cl 16.44
Gef.:	C 60.98	H 4.72	N 6.22	Cl 16.71

3.39 Arachidonyl-methylaminophenazon

(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure (1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-methyl-amid



0.200 g (0.66 mmol) Arachidonsäure (**14**) werden gemäß AV 6 mit 0.168 g (2.0 mmol) Oxalylchlorid (**15**) in 5 ml Benzol unter Zusatz von 48 mg (0.66 mmol) DMF umgesetzt. Anschließend wird mit 5 ml THF verdünnt und 0.717 g (3.3 mmol) Methylaminophenazon (**13a**) gelöst in 5 ml THF zugegeben.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit CHCl₃ / EtOH (9+1) als Fließmittelgemisch.

Eigenschaften: grünliche, ölige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.223 g (67%)

EI-MS (30 eV):

m/z (%) = 218 (100), 504 (M⁺) (9.5)

EI-MS (60 eV):

m/z (%) = 56 (100), 97 (48.7), 159 (19.1), 218 (11.8), 187 (9.0)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.47-7.28	(m, 5H, arom. H-Atome)
	5.39-5.29	(m, 8H, AA(5-H, 6-H, 8-H, 9-H, 11-H, 12-H, 14-H, 15-H))
	3.12	(s, 3H, N- CH_3)
	3.11	(s, 3H, N- CH_3)
	2.80-2.73	(m, 6H, AA(7-H, 10-H, 13-H))
	2.27-2.23	(t, 2H, AA(2-H) J=7.6Hz)
	2.18	(s, 3H, - CH_3)
	2.12-2.00	(m, 4H, AA(4-H, 16-H))
	1.69-1.64	(m, 2H, AA(3-H))
	1.35-1.23	(m, 6H, AA(17-H, 18-H, 19-H))
	0.87-0.84	(t, 3H, AA(20-H) J=7.0Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3):

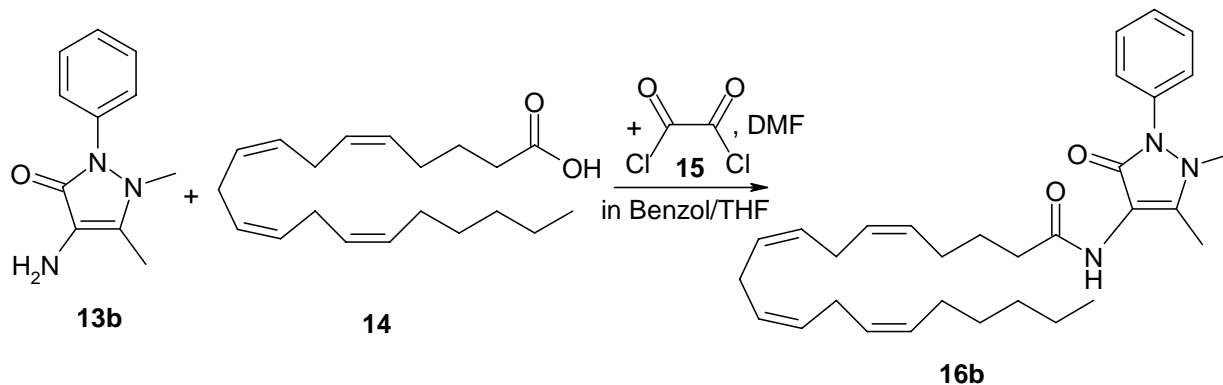
$\delta =$ 174.3, 161.7, 151.7, 134.6, 130.5, 129.6, 129.3, 129.1, 128.6, 128.3, 128.1, 127.9, 127.5, 127.0, 124.0, 115.3, 35.9, 35.7, 32.7, 31.5, 29.3, 27.2, 26.7, 25.6, 24.9, 22.5, 14.0, 10.5

$\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_2$ (503.77):

Ber.:	C 76.29	H 9.00	N 8.34
Gef.:	C 76.41	H 8.89	N 8.46

3.40 Arachidonyl-aminophenazon

(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure (1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)-amid



0.200 g (0.66 mmol) Arachidonsäure (**14**) werden gemäß AV 6 mit 0.168 g (2.0 mmol) Oxalylchlorid (**15**) in 5 ml Benzol unter Zusatz von 48 mg (0.66 mmol) DMF umgesetzt. Anschließend wird mit 5 ml THF verdünnt und 0.671 g (3.3 mmol) Aminophenazon (**13b**) gelöst in 5 ml THF zugegeben.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Chromatographie mit einem Fließmittelgemisch aus $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (9+1).

Eigenschaften: gelbliche, ölige Flüssigkeit

Ausbeute: 0.211 g (65%)

EI-MS (30 eV):

m/z (%) = 204 (100), 472 (48.7), 490 (M^+) (45.2)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3):

$\delta =$	7.44-7.26	(m, 5H, arom. H-Atome)
	5.37-5.31	(m, 8H, AA(5-H, 6-H, 8-H, 9-H, 11-H, 12-H, 14-H, 15-H))
	3.05	(s, 3H, N- CH_3)
	2.81-2.77	(m, 6H, AA(7-H, 10-H, 13-H))
	2.32-2.29	(m, 2H, AA(2-H))
	2.20	(s, 3H, - CH_3)
	2.10-2.00	(m, 4H, AA(4-H, 16-H))
	1.74-1.68	(m, 2H, AA(3-H))
	1.35-1.23	(m, 6H, AA(17-H, 18-H, 19-H))
	0.87-0.84	(t, 3H, AA(20-H) $J=6.9\text{Hz}$)

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃):

δ = 172.3, 161.6, 149.5, 134.4, 130.4, 129.3, 128.5, 128.3, 128.1,
127.9, 127.5, 127.0, 124.4, 108.8, 36.0, 35.6, 31.5, 29.3, 27.2,
26.7, 25.6, 25.5, 22.5, 14.0, 12.5

C₃₁H₄₃N₃O₂ (489.76):

Ber.: C 76.02 H 8.84 N 8.58

Gef.: C 76.05 H 9.03 N 8.43

4. Affinitätsmessungen

Die folgend unter 4.1-4.4 beschriebenen Messungen wurden im Institute of Biomolecular Chemistry, Pozzuoli, Italien in der Endocannabinoid Research Group von Dr. V. DiMarzo während meines dortigen Forschungsaufenthaltes durchgeführt.

4.1 Fettsäureamidhydrolase

Für die Experimente wurde das Gehirn männlicher Ratten verwendet. Ein halbes Gehirn wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax in 10 ml eines eiskalten Tris-HCl-Puffers (Tris 50 mM; pH 7.4) homogenisiert. Anschließend wurden die Zellmembranen mit einem Dounce Homogenisierer aufgebrochen. Das Homogenat wurde in einer Kühlzentrifuge (Beckman J2-21) bei 3000 U/min, entsprechend 800 g, für eine Dauer von 6 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde abermals für 25 Minuten bei 11000 U/min, entsprechend 10000 g, bei 4°C zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wurde in 0.2 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 9.5) suspendiert und in Portionen zu je 2.0 ml bei -80°C eingefroren.

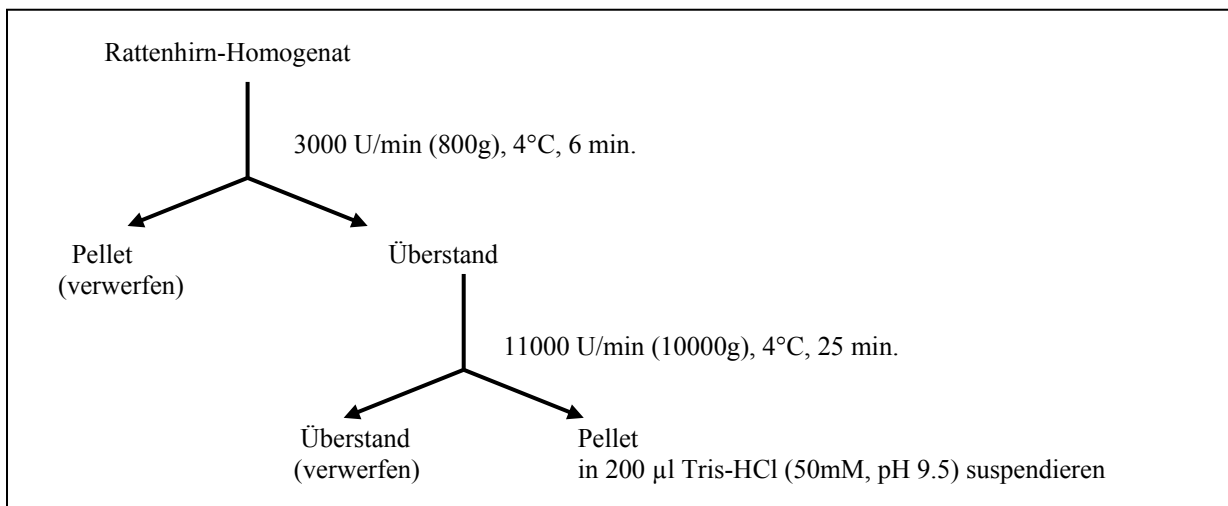


Abbildung 4.1: Gewinnung der FAAH

Die Gesamtproteinkonzentration wurde mit der Proteinbestimmungsmethode nach Bradford gegen eine BSA-Eichgerade bei einer Wellenlänge von $\lambda = 595$ nm und einer Verdünnung von 1:20 bestimmt.

	Wasser	BSA	Protein-Lsg.	BIO-RAD
Leerwert	1200 μ l	-	-	300 μ l
BSA 30	1170 μ l	30 μ l	-	300 μ l
BSA 60	1140 μ l	60 μ l	-	300 μ l
BSA 90	1110 μ l	90 μ l	-	300 μ l
Protein 5	1195 μ l	-	5 μ l	300 μ l
Protein 10	1190 μ l	-	10 μ l	300 μ l

Die Inhibierungsexperimente wurden in einem Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 9.5) in einem endgültigen Reaktionsansatz von 0.5 ml in Eppendorf-Cups (2.0 ml) durchgeführt. Es wurden für die Inhibierungsexperimente jeweils 100 μ l [14 C]-Anandamid und 200 μ l der zu untersuchenden Substanz in entsprechender Konzentration vorgelegt und mit Zugabe von 200 μ l des Proteinhomogenates, 0.07 mg Protein enthaltend, wurde die Reaktion gestartet. [14 C]-Anandamid wurde für die Verdrängungsexperimente in einer Konzentration von 10000 cpm verwendet. Die Inkubation bei 37°C in einem Wasserbad wurde nach einer Dauer von 30 Minuten durch Zugabe von 1 ml MeOH / CHCl₃ (1:1) beendet. Je 0.5 ml der wässrigen Phase wurde in Mini Poly-Q Vials mit je 5.0 ml Szintillationsflüssigkeit (OptiPhase „HiSave“ 2) versetzt und die Radioaktivität wurde durch Flüssigkeitsszintillationszählung (Packard 1600 TR) bestimmt.

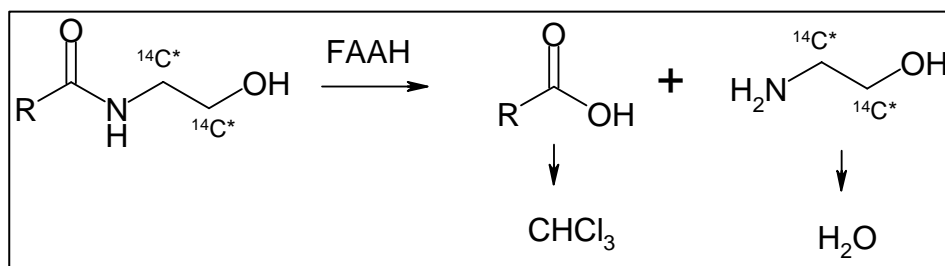


Abbildung 4.2: Hydrolyse von [14 C]-Anandamid durch FAAH

4.2 Cannabinoid-Rezeptor Typ 1 (CB1)

Für die Experimente wurde das Gehirn männlicher Ratten verwendet. Ein halbes Gehirn wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax in 10 ml eines eiskalten Tris-HCl-Puffers (Tris 50 mM; pH 7.4) homogenisiert. Anschließend wurden die Zellmembranen mit einem Dounce Homogenisierer aufgebrochen. Das Homogenat in einer Kühlzentrifuge (Beckman J2-21) bei 11000 U/min, entsprechend 10000 g, für eine Dauer von 25 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Das Pellet wurde resuspendiert in 10 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4) und abermals für 25 Minuten bei 11000 U/min, entsprechend 10000 g, bei 4°C zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wurde in 1.5 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4) suspendiert und in Portionen zu je 2.0 ml bei -80°C eingefroren.

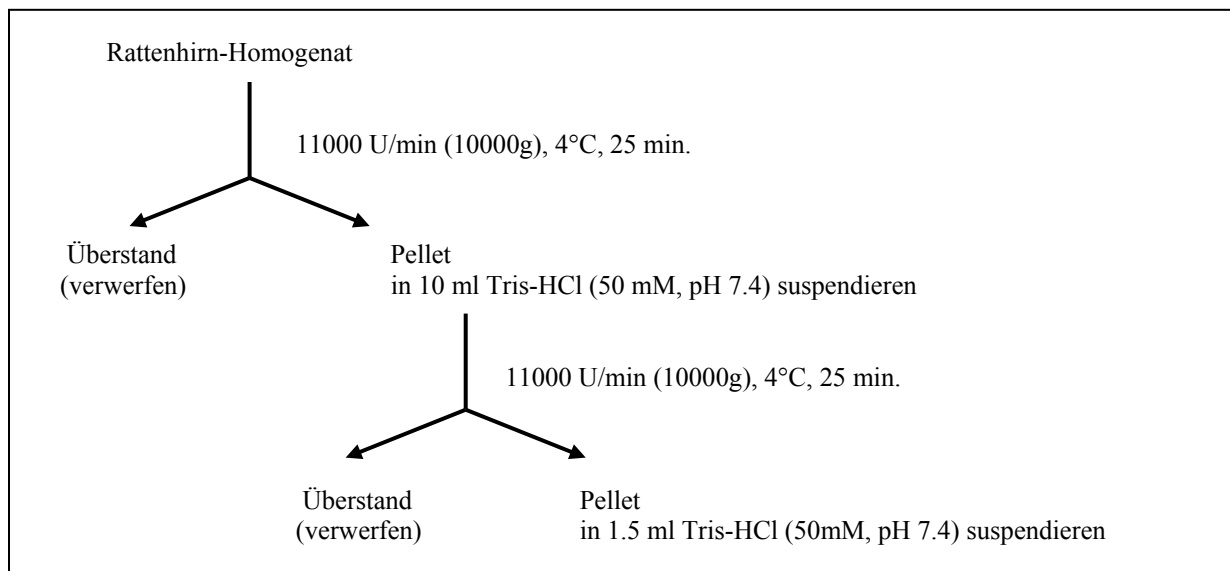


Abbildung 4.3: Gewinnung von CB1-Rezeptoren

Die Gesamtproteinkonzentration wurde mit der Proteinbestimmungsmethode nach Bradford gegen eine BSA-Eichgerade bei einer Wellenlänge von $\lambda = 595 \text{ nm}$ und einer Verdünnung von 1:20 bestimmt.

	Wasser	BSA	Protein-Lsg.	BIO-RAD
Leerwert	1200 μl	-	-	300 μl
BSA 30	1170 μl	30 μl	-	300 μl
BSA 60	1140 μl	60 μl	-	300 μl
BSA 90	1110 μl	90 μl	-	300 μl
Protein 5	1195 μl	-	5 μl	300 μl
Protein 10	1190 μl	-	10 μl	300 μl

Die Bindungsexperimente wurden in einem Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4; EDTA 1 mM; BSA 2 mg/ml; PMSF 100 μ M) in einem endgültigen Reaktionsansatz von 1.0 ml in Falcon-Tubes (5.0 ml) durchgeführt. Es wurden für die Verdrängungsexperimente jeweils 500 μ l [3 H]-SR-141716a und 100 μ l der zu untersuchenden Substanz in entsprechender Konzentration vorgelegt und mit Zugabe von 400 μ l des Proteinhomogenates, 0.1 mg Protein enthaltend, wurde die Reaktion gestartet. [3 H]-SR-141716a wurde für die Verdrängungsexperimente in einer Konzentration von 0.4 nM verwendet. Die Inkubation bei 30°C in einem Wasserbad wurde nach einer Dauer von 90 Minuten durch Zugabe von 3 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4) und rasche Vakuumfiltration mit einem Inotech Cell Harvester über Whatman GF/C-Filtern beendet. Die Inkubationsgefäße und GF/C-Filter wurden anschließend mit jeweils dreimal 2 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4; 4°C) gewaschen. Die Filter wurden in Mini Poly-Q Vials mit je 8.0 ml Szintillationsflüssigkeit (OptiPhase „HiSave“ 2) versetzt, 2 Stunden geschüttelt und die Radioaktivität wurde durch Flüssigkeitsszintillationszählung (Packard 1600 TR) bestimmt.

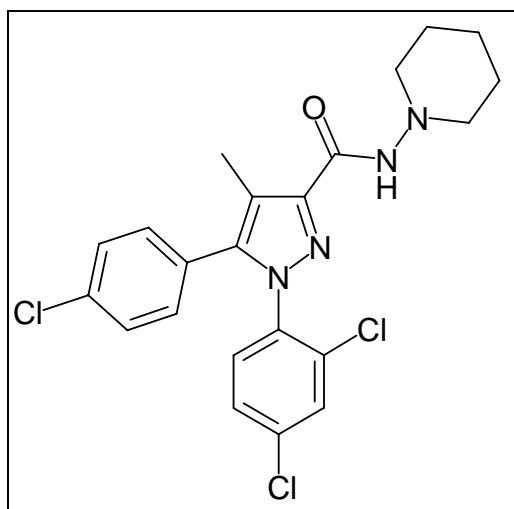


Abbildung 4.4: SR-141716a

4.3 Cannabinoid-Rezeptor Typ 2 (CB2)

Für die Experimente wurde die Milz männlicher Ratten verwendet. Die Milz wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax in 10 ml eines eiskalten Tris-HCl-Puffers (Tris 50 mM; pH 7.4; EDTA 1 mM; MgCl₂ 3 mM) homogenisiert. Anschließend wurden die Zellmembranen mit einem Dounce Homogenisierer aufgebrochen. Das Homogenat wurde in einer Kühlzentrifuge (Beckman J2-21) bei 3000 U/min, entsprechend 800 g, für eine Dauer von 6 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde abermals für 25 Minuten bei 11000 U/min, entsprechend 10000 g, bei 4°C zentrifugiert. Das so gewonnene Pellet wurde in 0.5 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4; EDTA 1 mM; MgCl₂ 3 mM; BSA 1 mg/ml) suspendiert und in Portionen zu je 2.0 ml bei -80°C eingefroren.

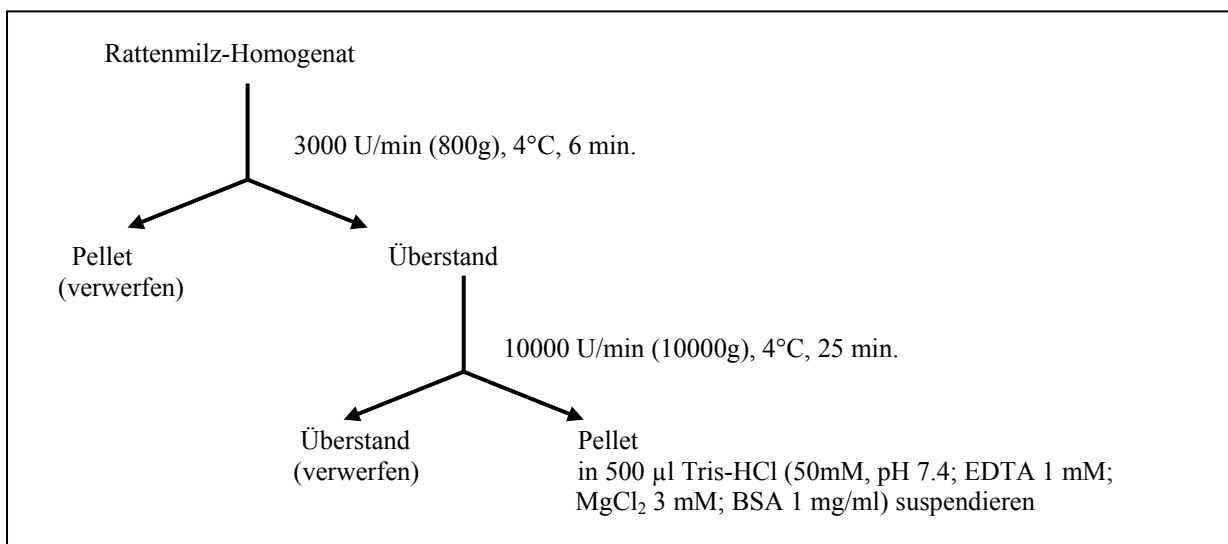


Abbildung 4.5: Gewinnung von CB2-Rezeptoren

Die Gesamtproteinkonzentration wurde mit der Proteinbestimmungsmethode nach Bradford gegen eine BSA-Eichgerade bei einer Wellenlänge von $\lambda = 595$ nm und einer Verdünnung von 1:20 bestimmt.

	Wasser	BSA	Protein-Lsg.	BIO-RAD
Leerwert	1200 µl	-	-	300 µl
BSA 30	1170 µl	30 µl	-	300 µl
BSA 60	1140 µl	60 µl	-	300 µl
BSA 90	1110 µl	90 µl	-	300 µl
Protein 5	1195 µl	-	5 µl	300 µl
Protein 10	1190 µl	-	10 µl	300 µl

Die Bindungsexperimente wurden in einem Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4; EDTA 1 mM; MgCl₂ 3 mM; BSA 1 mg/ml) in einem endgültigen Reaktionsansatz von 0.2 ml in Falcon-Tubes (5.0 ml) durchgeführt. Es wurden für die Verdrängungsexperimente jeweils 100 µl [³H]-WIN-55212 und 50 µl der zu untersuchenden Substanz in entsprechender Konzentration vorgelegt und mit Zugabe von 50 µl des Proteinhomogenates, 0.05 mg Protein enthaltend, wurde die Reaktion gestartet. [³H]-WIN-55212 wurde für die Verdrängungsexperimente in einer Konzentration von 0.8 nM verwendet. Die Inkubation bei 30°C in einem Wasserbad wurde nach einer Dauer von 90 Minuten durch Zugabe von 3 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4) und rasche Vakuumfiltration mit einem Inotech Cell Harvester über Whatman GF/C-Filtern beendet. Die Inkubationsgefäße und GF/C-Filter wurden anschließend mit jeweils dreimal 2 ml Tris-HCl-Puffer (Tris 50 mM; pH 7.4; 4°C) gewaschen. Die Filter wurden in Mini Poly-Q Vials mit je 8.0 ml Szintillationsflüssigkeit (OptiPhase „HiSave“ 2) versetzt, 2 Stunden geschüttelt und die Radioaktivität wurde durch Flüssigkeitsszintillationszählung (Packard 1600 TR) bestimmt.

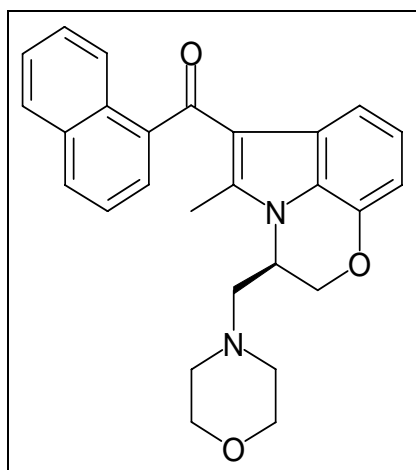


Abbildung 4.6: WIN-55212

4.4 TRPV1 (Vanilloid) Rezeptor

Für die Experimente wurden mit hVR1 cDNA transfizierte HEK-293 Zellen verwendet. Die Zellen wurden 2 h lang mit Fluo 3 AM, das intrazellulär zu Fluo 3 hydrolysiert wird, inkubiert. Anschließend wurde die Zellsuspension in einem Fluoreszenzspektrometer mit einer Wellenlänge von 488 nm bestrahlt und die Fluoreszenz bei 540 nm detektiert. Nach Zugabe der potentiellen Liganden in den Konzentrationen 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM und 0.1 μM wurde erneut die Fluoreszenz bestimmt und gegen die Fluoreszenz nach Zugabe von Ionomycin, einem Calcium-Kanalöffner, in einer Konzentration von 4 μM (100%-Wert) verglichen.

Zur Kontrolle, ob der Calcium-Einstrom wirklich durch TRPV1 vermittelt wurde, wurden die Zellsuspensionen vor Proben-Zugabe 5 min. mit Capsazepin, einem TRPV1-Antagonisten, in einer Konzentration von 10 μM inkubiert.

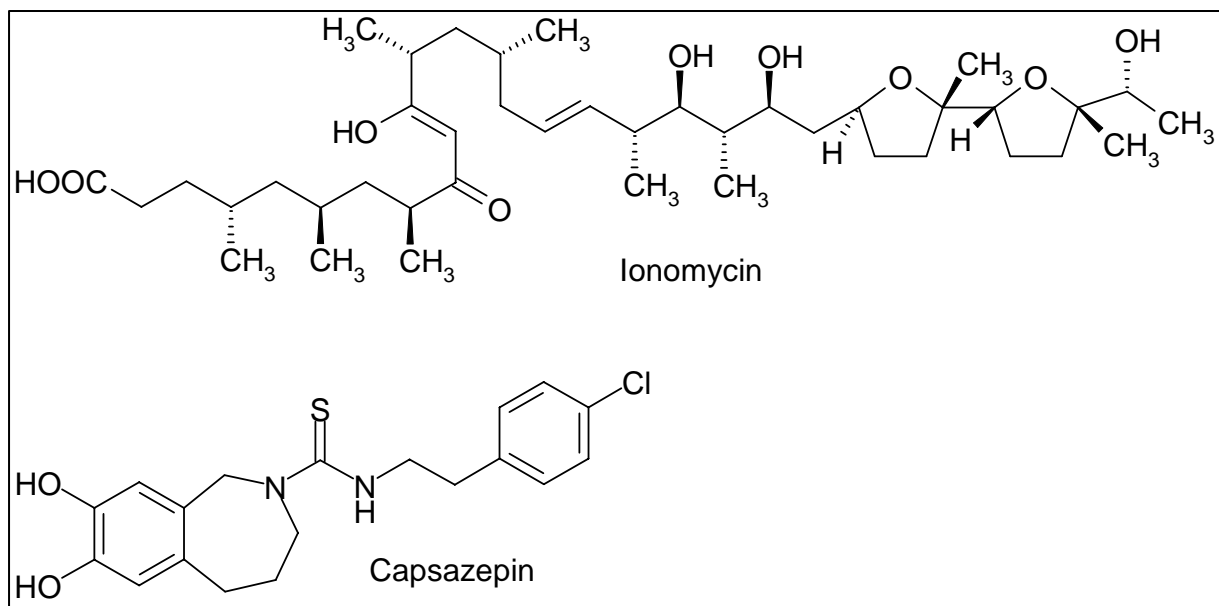


Abbildung 4.7: Ionomycin, Capsazepin

4.5 COX (Cyclooxygenase)

Die hier beschriebenen Messungen wurden im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Philipps-Universität Marburg von Anika Schuster und Bernhard Watzer durchgeführt.

Für die Experimente wurde das Gehirn von Mäusen verwendet. Das Gewebe wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax in der doppelten Menge des Gewichtes des Gewebes eines eiskalten Tris-HCl-Puffers (Tris 50 mM; Phenol 1 mM; PMSF 100 µM; pH 7.4 (Gewebepuffer)) homogenisiert. Anschließend wurden die Zellmembranen nach erneuter Zugabe der doppelten Menge des Gewichtes des Gewebes an Gewebepuffer mit einem Dounce-Homogenisierer aufgebrochen. Das Homogenat wird danach 30 sec. mit einem Sonifier bei maximaler Frequenz beschallt und anschließend in einer Kühlzentrifuge (Biofuge fresco) bei 6000 U/min, für eine Dauer von 15 Minuten bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde in Portionen zu je 2.0 ml bei -80°C eingefroren

Die Inhibierungsexperimente wurden in einem PBS-Puffer (KH₂PO₄ 10 mM; Na₂HPO₄ 62 mM; NaCl 250 mM; pH 7.4) in einem endgültigen Reaktionsansatz von 0.25 ml in Eppendorf-Cups (2.0 ml) durchgeführt. Es wurden für die Inhibierungsexperimente jeweils 20 µl des Proteinhomogenates und 10 µl der zu untersuchenden Substanz in entsprechender Konzentration bzw. 5 µl der zu untersuchenden Substanz und 5 µl 10 % Methanol in PBS vorgelegt und mit Zugabe von 10 µl Arachidonsäure wurde die Reaktion gestartet.

	Protein	AA	Inhibitor	MeOH 10%	PBS
Leerwert	-	10 µl	-	10 µl	230 µl
Inhibitor 10	20 µl	10 µl	10 µl	-	210 µl
Inhibitor 5	20 µl	10 µl	5 µl	5 µl	210 µl

Arachidonsäure wurde für die Inhibierungsexperimente in einer Konzentration von 30 mM verwendet. Die Inkubation bei 37°C in einem Heizblock wurde nach einer Dauer von 5 Minuten durch Zugabe von 50 µl 1% Ameisensäure beendet. PGE₂ wurde sofort durch Flüssigextraktion isoliert und die Konzentration per LC-MS bestimmt.

III. Literaturverzeichnis

- Abbate, R., Gori, A. M., Pinto, S., Attanasio, M., Paniccia, R., Coppo, M., Castellani, S., Giusti, B., Boddi, M., and Neri Serneri, G. G. (1990). Cyclooxygenase and lipoxygenase metabolite synthesis by polymorphonuclear neutrophils: in vitro effect of dipyron. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 41, 89-93.
- Adams, S. S., Bresloff, P., and Mason, C. G. (1976). Pharmacological differences between the optical isomers of ibuprofen: evidence for metabolic inversion of the (-)-isomer. *J Pharm Pharmacol* 28, 256-257.
- Ahluwalia, J., Yaqoob, M., Urban, L., Bevan, S., and Nagy, I. (2003). Activation of capsaicin-sensitive primary sensory neurones induces anandamide production and release. *J Neurochem* 84, 585-591.
- Ates, M., Hamza, M., Seidel, K., Kotalla, C. E., Ledent, C., and Guhring, H. (2003). Intrathecally applied flurbiprofen produces an endocannabinoid-dependent antinociception in the rat formalin test. *Eur J Neurosci* 17, 597-604.
- Begg, M., Baydoun, A., Parsons, M. E., and Molleman, A. (2001). Signal transduction of cannabinoid CB1 receptors in a smooth muscle cell line. *J Physiol* 531, 95-104.
- Beirith, A., Santos, A. R., Rodrigues, A. L., Creczynski-Pasa, T. B., and Calixto, J. B. (1998). Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *Eur J Pharmacol* 345, 233-245.
- Beltramo, M., Stella, N., Calignano, A., Lin, S. Y., Makriyannis, A., and Piomelli, D. (1997). Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science* 277, 1094-1097.
- Bevan, S., Hothi, S., Hughes, G., James, I. F., Rang, H. P., Shah, K., Walpole, C. S., and Yeats, J. C. (1992). Capsazepine: a competitive antagonist of the sensory neurone excitant capsaicin. *Br J Pharmacol* 107, 544-552.
- Bisogno, T., Howell, F., Williams, G., Minassi, A., Cascio, M. G., Ligresti, A., Matias, I., Schiano-Moriello, A., Paul, P., Williams, E. J., *et al.* (2003). Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. *J Cell Biol* 163, 463-468.
- Bisogno, T., Melck, D., Bobrov, M., Gretskaya, N. M., Bezuglov, V. V., De Petrocellis, L., and Di Marzo, V. (2000). N-acyl-dopamines: novel synthetic

CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo. *Biochem J* 351 Pt 3, 817-824.

Boger, D. L., Miyauchi, H., Du, W., Hardouin, C., Fecik, R. A., Cheng, H., Hwang, I., Hedrick, M. P., Leung, D., Acevedo, O., *et al.* (2005). Discovery of a potent, selective, and efficacious class of reversible alpha-ketoheterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase effective as analgesics. *J Med Chem* 48, 1849-1856.

Bracey, M. H., Hanson, M. A., Masuda, K. R., Stevens, R. C., and Cravatt, B. F. (2002). Structural adaptations in a membrane enzyme that terminates endocannabinoid signaling. *Science* 298, 1793-1796.

Breivogel, C. S., Griffin, G., Di Marzo, V., and Martin, B. R. (2001). Evidence for a new G protein-coupled cannabinoid receptor in mouse brain. *Mol Pharmacol* 60, 155-163.

Brune, K., Beck, W. S., Geisslinger, G., Menzel-Soglowek, S., Peskar, B. M., and Peskar, B. A. (1991). Aspirin-like drugs may block pain independently of prostaglandin synthesis inhibition. *Experientia* 47, 257-261.

Brune, K., Geisslinger, G., and Menzel-Soglowek, S. (1992). Pure enantiomers of 2-arylpropionic acids: tools in pain research and improved drugs in rheumatology. *J Clin Pharmacol* 32, 944-952.

Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D., and Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816-824.

Chandrasekharan, N. V., Dai, H., Roos, K. L., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., and Simmons, D. L. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 13926-13931.

Chandrasekharan, N. V., and Simmons, D. L. (2004). The cyclooxygenases. *Genome Biol* 5, 241.

Chu, C. J., Huang, S. M., De Petrocellis, L., Bisogno, T., Ewing, S. A., Miller, J. D., Zipkin, R. E., Daddario, N., Appendino, G., Di Marzo, V., and Walker, J. M. (2003). N-oleoyldopamine, a novel endogenous capsaicin-like lipid that produces hyperalgesia. *J Biol Chem* 278, 13633-13639.

Cohen, O., Zylber-Katz, E., Caraco, Y., Granit, L., and Levy, M. (1998). Cerebrospinal fluid and plasma concentrations of dipyron metabolites after a single oral dose of dipyron. *Eur J Clin Pharmacol* 54, 549-553.

- Compton, D. R., Johnson, M. R., Melvin, L. S., and Martin, B. R. (1992). Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. *J Pharmacol Exp Ther* 260, 201-209.
- Costa, B., Giagnoni, G., Franke, C., Trovato, A. E., and Colleoni, M. (2004). Vanilloid TRPV1 receptor mediates the antihyperalgesic effect of the nonpsychoactive cannabinoid, cannabidiol, in a rat model of acute inflammation. *Br J Pharmacol* 143, 247-250.
- Cravatt, B. F., Giang, D. K., Mayfield, S. P., Boger, D. L., Lerner, R. A., and Gilula, N. B. (1996). Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 384, 83-87.
- Davies, N. M. (1995). Clinical pharmacokinetics of flurbiprofen and its enantiomers. *Clin Pharmacokinet* 28, 100-114.
- De Petrocellis, L., Cascio, M. G., and Di Marzo, V. (2004). The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol* 141, 765-774.
- Dembinska-Kiec, A., Zmuda, A., and Krupinska, J. (1976). Inhibition of prostaglandin synthetase by aspirin-like drugs in different microsomal preparations. *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* 1, 99-103.
- Devane, W. A., Dysarz, F. A., 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S., and Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 34, 605-613.
- Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., and Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258, 1946-1949.
- Di Marzo, V., Bifulco, M., and De Petrocellis, L. (2004). The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* 3, 771-784.
- Di Marzo, V., Blumberg, P. M., and Szallasi, A. (2002). Endovanilloid signaling in pain. *Curr Opin Neurobiol* 12, 372-379.
- Di Marzo, V., Breivogel, C. S., Tao, Q., Bridgen, D. T., Razdan, R. K., Zimmer, A. M., Zimmer, A., and Martin, B. R. (2000). Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB(1) cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB(1), non-CB(2) receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem* 75, 2434-2444.

- Dinh, T. P., Carpenter, D., Leslie, F. M., Freund, T. F., Katona, I., Sensi, S. L., Kathuria, S., and Piomelli, D. (2002). Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 10819-10824.
- Fowler, C. J. (2004). Possible involvement of the endocannabinoid system in the actions of three clinically used drugs. *Trends Pharmacol Sci* 25, 59-61.
- Fowler, C. J., Holt, S., Nilsson, O., Jonsson, K. O., Tiger, G., and Jacobsson, S. O. (2005). The endocannabinoid signaling system: pharmacological and therapeutic aspects. *Pharmacol Biochem Behav* 81, 248-262.
- Fowler, C. J., Janson, U., Johnson, R. M., Wahlstrom, G., Stenstrom, A., Norstrom, K., and Tiger, G. (1999). Inhibition of anandamide hydrolysis by the enantiomers of ibuprofen, ketorolac, and flurbiprofen. *Arch Biochem Biophys* 362, 191-196.
- Fowler, C. J., Tiger, G., and Stenstrom, A. (1997). Ibuprofen inhibits rat brain deamidation of anandamide at pharmacologically relevant concentrations. Mode of inhibition and structure-activity relationship. *J Pharmacol Exp Ther* 283, 729-734.
- Galve-Roperh, I., Sanchez, C., Cortes, M. L., del Pulgar, T. G., Izquierdo, M., and Guzman, M. (2000). Anti-tumoral action of cannabinoids: involvement of sustained ceramide accumulation and extracellular signal-regulated kinase activation. *Nat Med* 6, 313-319.
- Geisslinger, G., Ferreira, S. H., Menzel, S., Schlott, D., and Brune, K. (1994). Antinociceptive actions of R(-)-flurbiprofen--a non-cyclooxygenase inhibiting 2-arylpropionic acid--in rats. *Life Sci* 54, PL173-177.
- Geisslinger, G., Muth-Selbach, U., Coste, O., Vetter, G., Schrodter, A., Schaible, H. G., Brune, K., and Tegeder, I. (2000). Inhibition of noxious stimulus-induced spinal prostaglandin E2 release by flurbiprofen enantiomers: a microdialysis study. *J Neurochem* 74, 2094-2100.
- Glass, M., and Felder, C. C. (1997). Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. *J Neurosci* 17, 5327-5333.
- Glass, M., and Northup, J. K. (1999). Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol Pharmacol* 56, 1362-1369.
- Graham, F. L., Smiley, J., Russell, W. C., and Nairn, R. (1977). Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. *J Gen Virol* 36, 59-74.

- Guo, J., and Ikeda, S. R. (2004). Endocannabinoids modulate N-type calcium channels and G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channels via CB1 cannabinoid receptors heterologously expressed in mammalian neurons. *Mol Pharmacol* 65, 665-674.
- Hanus, L., Abu-Lafi, S., Fride, E., Breuer, A., Vogel, Z., Shalev, D. E., Kustanovich, I., and Mechoulam, R. (2001). 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 3662-3665.
- Hersh, E. V., Lally, E. T., and Moore, P. A. (2005). Update on cyclooxygenase inhibitors: has a third COX isoform entered the fray? *Curr Med Res Opin* 21, 1217-1226.
- Hillard, C. J., Edgemond, W. S., Jarrahan, A., and Campbell, W. B. (1997). Accumulation of N-arachidonylethanolamine (anandamide) into cerebellar granule cells occurs via facilitated diffusion. *J Neurochem* 69, 631-638.
- Hillard, C. J., and Jarrahan, A. (2000). The movement of N-arachidonylethanolamine (anandamide) across cellular membranes. *Chem Phys Lipids* 108, 123-134.
- Hoegestaett, E., and Zygmunt, P. (2003). Congeners of acetaminophen and related compounds as substrates for fatty acid conjugation and their use in treatment of pain, fever and inflammation. In *PCT Int. Appl. (Wo, (Swed.))*, pp. 33 pp.
- Hoegestaett, E. D., Jonsson, B. A., Ermund, A., Andersson, D. A., Bjork, H., Alexander, J. P., Cravatt, B. F., Basbaum, A. I., and Zygmunt, P. M. (2005). Conversion of acetaminophen to the bioactive N-acylphenolamine AM404 via fatty acid amide hydrolase-dependent arachidonic acid conjugation in the nervous system. *J Biol Chem* 280, 31405-31412.
- Hohmann, A. G., Farthing, J. N., Zvonok, A. M., and Makriyannis, A. (2004). Selective activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses hyperalgesia evoked by intradermal capsaicin. *J Pharmacol Exp Ther* 308, 446-453.
- Hollister, L. E. (1986). Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev* 38, 1-20.
- Huang, S. M., Bisogno, T., Trevisani, M., Al-Hayani, A., De Petrocellis, L., Fezza, F., Tognetto, M., Petros, T. J., Krey, J. F., Chu, C. J., *et al.* (2002). An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 8400-8405.
- Hwang, S. W., Cho, H., Kwak, J., Lee, S. Y., Kang, C. J., Jung, J., Cho, S., Min, K. H., Suh, Y. G., Kim, D., and Oh, U. (2000). Direct activation of capsaicin

receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 6155-6160.

Imming, P., and Jung, M.-H. (1995). Pentafluorophenyl esters of dicarboxylic acids. *Arch Pharm (Weinheim, Germany)* 328, 87-91.

Julius, D., and Basbaum, A. I. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413, 203-210.

Kurahashi, Y., Ueda, N., Suzuki, H., Suzuki, M., and Yamamoto, S. (1997). Reversible hydrolysis and synthesis of anandamide demonstrated by recombinant rat fatty-acid amide hydrolase. *Biochem Biophys Res Commun* 237, 512-515.

Laneuville, O., Breuer, D. K., Dewitt, D. L., Hla, T., Funk, C. D., and Smith, W. L. (1994). Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 271, 927-934.

Lichtman, A. H., Shelton, C. C., Advani, T., and Cravatt, B. F. (2004). Mice lacking fatty acid amide hydrolase exhibit a cannabinoid receptor-mediated phenotypic hypoalgesia. *Pain* 109, 319-327.

Lorenzetti, B. B., and Ferreira, S. H. (1985). Mode of analgesic action of dipyron: direct antagonism of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Pharmacol* 114, 375-381.

Luong, C., Miller, A., Barnett, J., Chow, J., Ramesha, C., and Browner, M. F. (1996). Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat Struct Biol* 3, 927-933.

Mackie, K., and Hille, B. (1992). Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 3825-3829.

Maejima, T., Hashimoto, K., Yoshida, T., Aiba, A., and Kano, M. (2001). Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors. *Neuron* 31, 463-475.

Martin, B. R., Compton, D. R., Thomas, B. F., Prescott, W. R., Little, P. J., Razdan, R. K., Johnson, M. R., Melvin, L. S., Mechoulam, R., and Ward, S. J. (1991). Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. *Pharmacol Biochem Behav* 40, 471-478.

Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., and Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346, 561-564.

- Mazario, J., and Herrero, J. F. (1999). Antinociceptive effects of metamizol (dipyrone) in rat single motor units. *Neurosci Lett* 274, 179-182.
- McAllister, S. D., and Glass, M. (2002). CB(1) and CB(2) receptor-mediated signalling: a focus on endocannabinoids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 66, 161-171.
- Mechoulam, R. (1986). The pharmacohistory of cannabis sativa. In *Cannabinoids as Therapeutic Agents.*, R. Mechoulam, ed. (Boca Raton, Florida, CRC Press).
- Mechoulam, R., and Gaoni, Y. (1965). Hashish. IV. The isolation and structure of cannabinolic, cannabidiolic and cannabigerolic acids. *Tetrahedron* 21, 1223-1229.
- Melvin, L. S., and Johnson, M. R. (1987). Structure-activity relationships of tricyclic and nonclassical bicyclic cannabinoids. *NIDA Res Monogr* 79, 31-47.
- Mendell, L. M. (1966). Physiological properties of unmyelinated fiber projection to the spinal cord. *Exp Neurol* 16, 316-332.
- Millqvist-Fureby, A., Virto, C., Adlercreutz, P., and Mattiasson, B. (1996). Acyl group migrations in 2-monoolein. *Biocatalysis and Biotransformation* 14, 89-111.
- Molina-Holgado, F., Molina-Holgado, E., Guaza, C., and Rothwell, N. J. (2002). Role of CB1 and CB2 receptors in the inhibitory effects of cannabinoids on lipopolysaccharide-induced nitric oxide release in astrocyte cultures. *J Neurosci Res* 67, 829-836.
- Munro, S., Thomas, K. L., and Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365, 61-65.
- Nelson, E. K. (1919). The constitution of capsaicin, the pungent principal of capsicum. *J Am Chem Soc* 41, 1115-1121.
- Neupert, W., Brugger, R., Euchenhofer, C., Brune, K., and Geisslinger, G. (1997). Effects of ibuprofen enantiomers and its coenzyme A thioesters on human prostaglandin endoperoxide synthases. *Br J Pharmacol* 122, 487-492.
- Newton, R., Kuitert, L. M., Bergmann, M., Adcock, I. M., and Barnes, P. J. (1997). Evidence for involvement of NF-kappaB in the transcriptional control of COX-2 gene expression by IL-1beta. *Biochem Biophys Res Commun* 237, 28-32.

- Ohno-Shosaku, T., Shosaku, J., Tsubokawa, H., and Kano, M. (2002). Cooperative endocannabinoid production by neuronal depolarization and group I metabotropic glutamate receptor activation. *Eur J Neurosci* *15*, 953-961.
- Okamoto, Y., Morishita, J., Tsuboi, K., Tonai, T., and Ueda, N. (2004). Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. *J Biol Chem* *279*, 5298-5305.
- O'Shaughnessy, W. (1838-1840). On the preparations of the Indian hemp, or gunjah (*Cannabis indica*) ; Their effects on the animal system in health, and their utility in the treatment of tetanus and other convulsive diseases. *Trans Med Soc Bengal*, 421-461.
- Pacheco, M., Childers, S. R., Arnold, R., Casiano, F., and Ward, S. J. (1991). Aminoalkylindoles: actions on specific G-protein-linked receptors. *J Pharmacol Exp Ther* *257*, 170-183.
- Patapoutian, A., Peier, A. M., Story, G. M., and Viswanath, V. (2003). ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* *4*, 529-539.
- Patrignani, P., Tacconelli, S., Sciulli, M. G., and Capone, M. L. (2005). New insights into COX-2 biology and inhibition. *Brain Res Brain Res Rev* *48*, 352-359.
- Pertwee, R. G. (1999). Evidence for the presence of CB1 cannabinoid receptors on peripheral neurones and for the existence of neuronal non-CB1 cannabinoid receptors. *Life Sci* *65*, 597-605.
- Pertwee, R. G. (2001). Cannabinoid receptor ligands. *Tocris Review* No16.
- Picot, D., Loll, P. J., and Garavito, R. M. (1994). The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. *Nature* *367*, 243-249.
- Porter, A. C., Sauer, J. M., Knierman, M. D., Becker, G. W., Borna, M. J., Bao, J., Nomikos, G. G., Carter, P., Bymaster, F. P., Leese, A. B., and Felder, C. C. (2002). Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* *301*, 1020-1024.
- Razdan, R. K. (1986). Structure-activity relationships in cannabinoids. *Pharmacol Rev* *38*, 75-149.
- Reichel, C., Bang, H., Brune, K., Geisslinger, G., and Menzel, S. (1995). 2-Arylpropionyl-CoA epimerase: partial peptide sequences and tissue localization. *Biochem Pharmacol* *50*, 1803-1806.

- Reichel, C., Brugger, R., Bang, H., Geisslinger, G., and Brune, K. (1997). Molecular cloning and expression of a 2-arylpropionyl-coenzyme A epimerase: a key enzyme in the inversion metabolism of ibuprofen. *Mol Pharmacol* *51*, 576-582.
- Rogosch, T. (2003) Profen- und Arylessigsäure-Derivate als Strukturanaloga endogener Cannabinoide, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg.
- Ross, R. A., Craib, S. J., Stevenson, L. A., Pertwee, R. G., Henderson, A., Toole, J., and Ellington, H. C. (2002). Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide. *J Pharmacol Exp Ther* *301*, 900-907.
- Rudy, A. C., Bradley, J. D., Ryan, S. I., Kalasinski, L. A., Xiaotao, Q., and Hall, S. D. (1992). Variability in the disposition of ibuprofen enantiomers in osteoarthritis patients. *Ther Drug Monit* *14*, 464-470.
- Schaible, H. G., Neugebauer, V., Geisslinger, G., and Beck, U. (1998). The effects of S- and R-flurbiprofen on the inflammation-evoked intraspinal release of immunoreactive substance P--a study with antibody microprobes. *Brain Res* *798*, 287-293.
- Scheuren, N., Bang, H., Munster, T., Brune, K., and Pahl, A. (1998). Modulation of transcription factor NF-kappaB by enantiomers of the nonsteroidal drug ibuprofen. *Br J Pharmacol* *123*, 645-652.
- Schmid, P. C., Reddy, P. V., Natarajan, V., and Schmid, H. H. (1983). Metabolism of N-acylethanolamine phospholipids by a mammalian phosphodiesterase of the phospholipase D type. *J Biol Chem* *258*, 9302-9306.
- Scholz, J., and Woolf, C. J. (2002). Can we conquer pain? *Nat Neurosci* *5 Suppl*, 1062-1067.
- Schwab, J. M., Schluesener, H. J., and Laufer, S. (2003). COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol? *Lancet* *361*, 981-982.
- Shimada, S. G., Otterness, I. G., and Stitt, J. T. (1994). A study of the mechanism of action of the mild analgesic dipyrone. *Agents Actions* *41*, 188-192.
- Still, W. C., Kahn, M., and Mitra, A. (1978). Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. *J Org Chem* *43*, 2923-2925.
- Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., Yamashita, A., and Waku, K. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: a possible

endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 215, 89-97.

Szallasi, A., Biro, T., Modarres, S., Garlaschelli, L., Petersen, M., Klusch, A., Vidari, G., Jonassohn, M., De Rosa, S., Sterner, O., *et al.* (1998). Dialdehyde sesquiterpenes and other terpenoids as vanilloids. *Eur J Pharmacol* 356, 81-89.

Szallasi, A., Biro, T., Szabo, T., Modarres, S., Petersen, M., Klusch, A., Blumberg, P. M., Krause, J. E., and Sterner, O. (1999). A non-pungent triprenyl phenol of fungal origin, scutigeral, stimulates rat dorsal root ganglion neurons via interaction at vanilloid receptors. *Br J Pharmacol* 126, 1351-1358.

Szallasi, A., and Blumberg, P. M. (1989). Resiniferatoxin, a phorbol-related diterpene, acts as an ultrapotent analog of capsaicin, the irritant constituent in red pepper. *Neuroscience* 30, 515-520.

Szallasi, A., and Blumberg, P. M. (1990). Resiniferatoxin and its analogs provide novel insights into the pharmacology of the vanilloid (capsaicin) receptor. *Life Sci* 47, 1399-1408.

Szallasi, A., and Blumberg, P. M. (1999). Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev* 51, 159-212.

Szallasi, A., Jonassohn, M., Acs, G., Biro, T., Acs, P., Blumberg, P. M., and Sterner, O. (1996). The stimulation of capsaicin-sensitive neurones in a vanilloid receptor-mediated fashion by pungent terpenoids possessing an unsaturated 1,4-dialdehyde moiety. *Br J Pharmacol* 119, 283-290.

Tan, S. C., Patel, B. K., Jackson, S. H., Swift, C. G., and Hutt, A. J. (2002). Stereoselectivity of ibuprofen metabolism and pharmacokinetics following the administration of the racemate to healthy volunteers. *Xenobiotica* 32, 683-697.

Thresh, L. T. (1846). Isolation of capsaicin. *Pharm J* 6, 941.

Tomek, S. (1955). New considerations on mechanism of action of pyrazolone derivatives. *Arzneimittelforschung* 5, 53-60.

Tominaga, M., and Caterina, M. J. (2004). Thermosensation and pain. *J Neurobiol* 61, 3-12.

Tominaga, M., Caterina, M. J., Malmberg, A. B., Rosen, T. A., Gilbert, H., Skinner, K., Raumann, B. E., Basbaum, A. I., and Julius, D. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 21, 531-543.

Twitchell, W., Brown, S., and Mackie, K. (1997). Cannabinoids inhibit N- and P/Q-type calcium channels in cultured rat hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 78, 43-50.

Ueda, H., Kobayashi, T., Kishimoto, M., Tsutsumi, T., and Okuyama, H. (1993). A possible pathway of phosphoinositide metabolism through EDTA-insensitive phospholipase A1 followed by lysophosphoinositide-specific phospholipase C in rat brain. *J Neurochem* 61, 1874-1881.

Weithmann, K. U., and Alpermann, H. G. (1985). Biochemical and pharmacological effects of dipyrone and its metabolites in model systems related to arachidonic acid cascade. *Arzneimittelforschung* 35, 947-952.

Willoughby, K. A., Moore, S. F., Martin, B. R., and Ellis, E. F. (1997). The biodisposition and metabolism of anandamide in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 282, 243-247.

Wilson, R. I., and Nicoll, R. A. (2002). Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 296, 678-682.

Zhang, J., Hoffert, C., Vu, H. K., Groblewski, T., Ahmad, S., and O'Donnell, D. (2003). Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci* 17, 2750-2754.

Zygmunt, P. M., Petersson, J., Andersson, D. A., Chuang, H., Sorgard, M., Di Marzo, V., Julius, D., and Hogestatt, E. D. (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 400, 452-457.

IV. Anhang

1. *Verzeichnis der Abkürzungen:*

12-HPETE	12-Hydroperoxy-5Z,8Z,10E,14Z-eicosatetraensäure
15-HPETE	15-Hydroperoxy-5Z,8Z,11Z,13E-eicosatetraensäure
2-AG	2-Arachidonylglycerol
AA	Arachidonsäure
AA-5HT	Arachidonyl-Serotonin
AA-AP	N-Arachidonyl-aminophenazon
AA-MAP	N-Arachidonyl-methylaminophenazon
AAP	N-Acetyl-aminophenazon
Abb	Abbildung
AC	Adenylatzyklase
AcOH	Essigsäure
AP	Aminophenazon
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
B _{max}	Maximale Bindungskapazität
BSA	Rinder Serum Albumin
cAMP	cyclisches Adenosin-3', 5'-monophosphat
CB	Cannabinoid-Rezeptor
cDNA	copy DNA
cGMP	cyclisches Guanosin-3', 5'-monophosphat
CGRP	calcitonin gene-related peptide
COX	Cyclooxygenase
cpm	counts per minute
CREB	cAMP-Reaktionselement-Bindungsprotein
DAG	Diacylglycerol

DAGL	Diacylglycerol-Lipase
dc	dünnschichtchromatographisch
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCU	Dicyclohexylharnstoff
DD	Diclofenac-dopamid
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DV	Diclofenac-vanillylamid
Δ^9 -THC	(-)-trans- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol
EC	Endocannabinoid
ECS	endogenes Cannabinoid System
EDTA	N,N,N',N'-Ethyldiamintetraessigsäure
EMT	Endocannabinoid Membran Transporter
EtOAc	Ethylacetat
FAAH	Fatty acid amidohydrolase (Fettsäure Amidhydrolase)
FAP	N-Formyl-Aminophenazon
FLUO-3 AM	1-[Amino-5-(2,7-dichlor-6-acetomethoxy-3-oxo-3 <i>H</i> -xanthen-9-yl)phenoxy]-2-(2'-amino-5'-methylphenoxy)ethan-N,N,N',N'-essigsäure pentaacetoxy-methyl ester
g	Erdbeschleunigung; 9,81 m/s ²
HEK	human embryonic kidney cells
hVR1	humaner Vanilloid Rezeptor 1
ID	Indometacin-dopamin
IEA	Indometacin-ethanolamid
I κ B	Inhibitor κ B
iNOS	induzierbare NO-Synthetase
IV	Indometacin-vanillyamin
K _i	Verdrängungskonstante

LM	Lösungsmittel
MAGL	Monoacylglycerol-Lipase
MAP	N-Methyl-aminophenazon
MAPK	Mitogen-aktivierte Protein-Kinase
MeOH	Methanol
NADA	N-Arachidonyl-dopamin
NAPE	N-Arachidonyl-phosphatidyl-ethanolamin
NAPE-PLD	N-Acyl-phosphatidyl-ethanolamin spezifische PLD
NAT	N-Acyltransferase
NF- κ B	nucleärer Faktor κ B
NKA	Neurokinin A
NSAR	Nichtsteroidales Antirheumatikum
OLDA	N-Oleooyl-dopamin
PBS	Phosphatgepufferte Saline
PG	Prostaglandin
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGI ₂	Prostacyclin
PI	Phosphatidylinositol
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PLA	Phospholipase A
PLC	Phospholipase C
PLD	Phospholipase D
PMSF	Phenylmethansulfonylfluorid
PPAR- α	peroxisome proliferator-activated receptor- α
RFD	R-Flurbiprofen-dopamid
RFV	R-Flurbiprofen-vanillylamid
RID	R-Ibuprofen-dopamid
RIEA	R-Ibuprofen-ethanolamid

RIV	R-Ibuprofen-vanillylamid
RND	R-Naproxen-dopamid
RNV	R-Naproxen-vanillylamid
rpm	rounds per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
RTX	Resiniferatoxin
SFD	S-Flurbiprofen-Dopamin
SFV	S-Flurbiprofen-vanillylamin
SID	S -Ibuprofen-dopamin
SIEA	S-Ibuprofen-ethanolamid
SIV	S-Ibuprofen-vanillyamin
SND	S-Naproxen-dopamin
SNV	S-Naproxen-vanillylamin
t-BuOMe	tert. Butylmethylether
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
TRP	transient receptor potential
TX	Thromboxan
VR1/TRPV1	Vanilloid-Rezeptor 1
ZNS	zentrales Nervensystem

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Marburg/Lahn, im Oktober 2005

