

**Aus der Medizinischen Klinik IV, Bereich Endokrinologie des
Universitätsklinikums Benjamin Franklin
der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. med. A. F. H. Pfeiffer,
vormals: Prof. Dr. med. W. Oelkers**

**Suche nach einem selektiven Inhibitor der
11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase-1**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangen der medizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität**

vorgelegt von Claudia Großmann aus Berlin

Referent: Prof. Dr. W. Oelkers
Korreferent: Prof. Dr. A. F. H. Pfeiffer

**Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin
der
Freien Universität Berlin**

Promoviert am: 13.09.2002

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung	6
1.1. Reaktionen / Substrate der 11 β -HSD	6
1.2. Vorkommen / Enzymkinetik der 11 β -HSD-1 und -2	8
1.3. Aufbau und Struktur der 11 β -HSD-1 und -2	9
1.4. Funktion der 11 β -HSDs in den Organen	10
1.4.1. 11 β -HSD-1 in der Leber und dem Fettgewebe	10
1.4.2. 11 β -HSD-2 in der Niere	12
1.4.3. 11 β -HSD-1 und -2 in weiteren Organen	13
1.5. Regulierung der 11 β -HSD durch Hormone	14
1.6. Erkrankungen mit 11 β -HSD-Aktivitätsverminderung	16
1.6.1. "Syndrome of Apparent Mineralocorticoid Excess" (SAME)	16
1.6.2. Lakritze-Abusus	17
1.6.3. 11-Oxoreduktase-Defekt (Apparent Cortisone Reductase Deficiency)	17
1.6.4. Ektopes ACTH-Syndrom	17
1.6.5. Essentielle Hypertonie	18
1.7. Inhibition der 11 β -HSDs	18
1.8. Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit	23
2. Materialien	25
2.1. Substrate, Cosubstrate und Inhibitoren	25
2.2. Chemikalien und Materialien für Mikrosomen- und [1,2,4,6,7 3 H]-Oxo-Dexamethason-Herstellung, Proteinbestimmung, Inkubation, Analytik und Tracerreinigung	25
2.3. Geräte	26
2.4. Gewebe	27
3. Methoden	28
3.1. Mikrosomenherstellung	28

3.1.1.	Vorbereitung der Mikrosomenpräparation: Pufferherstellung	28
3.1.2.	Gewebehomogenisierung und -fraktionierung	29
3.2.	Proteinbestimmung	30
3.3.	Herstellung und Reinigung der ³ H-markierten Substrate	32
3.4.	Herstellung der Substrat-, Cosubstrat- und Inhibitorlösungen	34
3.5.	Inkubation der Mikrosomen	37
3.5.1	Ermitteln der Reaktionsbedingungen	37
3.5.1.1.	Zeitkinetiken für die 11 β -HSD-1 katalysierten Reaktionen	38
3.5.1.2.	Zeitkinetiken für die 11 β -HSD-2 katalysierten Reaktionen	40
3.5.2.	Zusammenfassung der Versuchsbedingungen	41
3.5.3.	Untersuchung der Inhibition	42
3.6.	Umsatzbestimmung: Analytik	42
3.7.	Auswertung und Statistik	43
4.	Ergebnisse	44
4.1.	Oxidationsreaktion der 11 β -HSD-1 (humane Lebermikrosomen)	44
4.1.1.	Inhibitionsversuche mit Glycyrrhetinsäure und Carbenoxolon	44
4.1.2.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und 11-OH-Progesteron-Derivaten	45
4.1.3.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und DOC-Metaboliten	48
4.1.4.	Inhibitionsversuche mit Gallensäuren, Metopiron und Ketokonazol	50
4.2.	Reduktionreaktion der 11 β -HSD-1 (humane Lebermikrosomen)	52
4.2.1.	Inhibitionsversuche mit Glycyrrhetinsäure und Carbenoxolon	52
4.2.2.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und 11-OH-Progesteron-Derivaten	53
4.2.3.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und DOC-Metaboliten	55
4.2.4.	Inhibitionsversuche mit Gallensäuren, Metopiron und Ketokonazol	57
4.3.	Oxidationsreaktion der 11 β -HSD-2 (humane Nierenmikrosomen)	59
4.3.1.	Inhibitionsversuche mit Glycyrrhetinsäure und Carbenoxolon	59
4.3.2.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und 11-OH-Progesteron-Derivaten	60
4.3.3.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und DOC-Metaboliten	63

4.3.4.	Inhibitionsversuche mit Gallensäuren, Metopiron und Ketokonazol	65
4.4.	Reduktionsreaktion der 11 β -HSD-2 (humane Nierenmikrosomen)	67
4.4.1.	Inhibitionsversuche mit Glycyrrhetinsäure und Carbenoxolon	67
4.4.2.	Inhibitorversuche mit Progesteron und 11-OH-Progesteron-Derivaten	68
4.4.3.	Inhibitionsversuche mit Progesteron und DOC-Metaboliten	70
4.4.4.	Inhibitionsversuche mit Gallensäuren, Metopiron und Ketokonazol	72
4.5.	Zusammenfassung der Ergebnisse der Inhibitionsversuche der 11 β -HSD-1- und -2-Oxidations- und -Reduktionreaktionen	74
5.	Diskussion	78
5.1.	Diskussion der Methodik	78
5.1.1.	Wahl der Versuchsbedingungen	78
5.1.2.	Wahl der Analytik	80
5.2.	Diskussion der Ergebnisse	80
5.2.1.	Hemmung durch Glycyrrhetinsäure und Carbenoxolon	80
5.2.2.	Hemmung durch endogene Progesteron-Derivate	84
5.2.3.	Hemmung durch Metopiron, Ketokonazol und die Gallensäuren Lithocholsäure und Chenodeoxycholsäure	89
5.2.3.1.	Metopiron	89
5.2.3.2.	Ketokonazol	90
5.2.3.3.	Gallensäuren	90
6.	Zusammenfassung	93
7.	Literaturangaben	96
8.	Tabellarischer Lebenslauf	116
9.	Danksagung	117