

## Zusammenfassung

Sirtuine (SirT1-SirT7) sind die human Homologe der NAD<sup>+</sup>-abhängigen Histondeacetylase Sir2 aus der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Seit der Beobachtung, dass die Überexprimierung von Sir2 in Hefen einen lebensverlängernden Einfluss hat, ist das Interesse an der Erforschung der Sirtuine enorm gewachsen. Jedes Sirtuin besitzt eine konservierte katalytische Domäne von etwa 275 Aminosäuren, sowie N-terminale und/oder C-terminale Sequenzen, die sich in ihrer Länge unterscheiden. Sirtuine sind vielversprechende Ansatzpunkte für die Behandlung zahlreicher Krankheiten, wie zum Beispiel Krebs, Stoffwechselkrankheiten, Diabetes und Alterung. Obwohl bereits einige Sirtuin-Inhibitoren und -Aktivatoren bekannt sind, ist der Mechanismus der Inhibition ungeklärt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, neue Sirtuin-Inhibitoren zu identifizieren und deren *in vivo* Potential als Chemotherapeutika zu untersuchen. Dazu wurde ein fluoreszenz-basierter Assay etabliert, bei dem ein Methyl-Aminocoumarin-Acetyllysine (MAL) als Substrat verwendet wurde, der für High-throughput Screening geeignet ist. Für die Identifizierung von SirT1-Modulatoren wurden zwei Bibliotheken (500 und 18.000 Substanzen) gescreent, wobei 14 potentielle Inhibitoren, sowie 12 potentielle Aktivatoren identifiziert wurden. Von diesen Inhibitoren zeigten 9 auch Inhibition von SirT1-abhängiger Deacetylierung eines acetylierten p53-Peptids. Des weiteren konnten zwei dieser Substanzen auch SirT2 inhibieren. Beide SirT2 Inhibitoren waren auch in der Lage, die p53 Deacetylierung zu inhibieren. Weiterhin haben wir beobachtet, dass die ersten 220 Aminosäuren der N-terminalen Region von SirT1 einen Einfluss auf die Wirkung eines Inhibitors, der in dieser Arbeit identifiziert wurde, haben. Die potentiellen Aktivatoren zeigten keine Steigerung der SirT1 Aktivität bei der Deacetylierung des p53-Peptids. Erstaunlicherweise zeigte einer von ihnen starke Inhibition von SirT1 im p53 Deacetylierungs Assay (Hill 2012), sowie des  $\gamma$ Sir2 aus *S. cerevisiae* und von SirT2 mit MAL als Substrat. Im weiteren wurde das Potential der identifizierten Inhibitoren als Zytostatika mit unterschiedlichen *in vivo* Experimenten unter Verwendung der Lungenkrebszelllinien A549 und H1299 untersucht. Drei von ihnen, die der Lage waren, die Zellvitalität sowie die Zellteilung dosisabhängigen zu inhibieren wurden weiter untersucht. Interessanterweise verursachten sie einen zusätzlichen Anstieg der Apoptose nach kombinierter Behandlung mit dem Chemotherapeutikum Etoposide. Wir konnten zeigen, dass dieser Inhibitor-induzierte zusätzliche Anstieg der Apoptose zum Teil p53 abhängig war. Somit haben wir insgesamt einen SirT1-Inhibitor und zwei SirT2-Inhibitoren identifiziert, die

ein Antiproliferationspotential aufweisen und für Krebstherapien weiterentwickelt werden können.