

Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
aus der Klinik und Hochschulambulanz für Psychiatrie und  
Psychotherapie, Sektion Klinische Neurobiologie  
Leiter: Prof. Dr. Hans Rommelspacher  
Direktorin: Prof. Dr. Isabella Heuser

HEMMUNG DER MONOAMINOXIDASE DURCH DIE IM  
TABAKRAUCH VORKOMMENDEN TRYPTOPHANDERIVATE  
HARMAN UND NORHARMAN: EINE MÖGLICHE ERKLÄRUNG  
FÜR DIE VERMINDERTE INZIDENZ DER PARKINSON'SCHEN  
KRANKHEIT BEI RAUCHERN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der  
medizinischen Doktorwürde  
Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Mignon Lesly Meier-Henco  
aus Hannover

Referent: Prof. Dr. Hans Rommelspacher

Korreferent: Privatdozent Dr. Jürgen Gallinat

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 30.10.2007

Veröffentlichungen:

The levels of norharman are high enough after smoking to affect monoamineoxidase B in platelets. Rommelspacher H, Meier-Henco M, Smolka M, Kloft C. European Journal of Pharmacology (2002) 115–125

Manuskript: „Smoking causes a short-term reduction of 5-Hydroxytryptamine levels in human blood.“ In Vorbereitung.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen</b>	<b>1</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>3</b>
1.1. Aminoxidasen	4
1.1.1. Monoaminoxidase (MAO)	4
1.1.2. Semicarbazid-sensitive Aminoxidasen (SSAO)	9
1.2. Thrombozyten als Modell für neuronale Synapsen	10
1.3. $\beta$ -Carbolin-Alkaloide	10
1.4. 5-Hydroxytryptamin (5-HT, Serotonin)	12
1.5. 5-HT- und Dopamininteraktionen	14
1.6. Nikotinabbau im menschlichen Organismus	15
1.7. Zielsetzung	15
1.8. Hypothesen und Fragestellungen	15
<b>2. Materialien und Methoden</b>	<b>17</b>
2.1. Chemikalien	17
2.2. Geräte und Zubehör	18
2.2.1. Geräte	18
2.2.2. Chromatographie und Säulenmaterial	18
2.2.3. Zubehör	19
2.3. Probanden	19
2.3.1. Teilnahmebedingungen und Probandendaten	19
2.4. Versuchsablauf und Studiendesign	20
2.5. Blutaufarbeitung	23
2.6. Bestimmung von Harman und Norharman	23
2.6.1. Bestimmung von Harman und Norharman im Blutplasma	23
2.6.2. Bestimmung von Harman und Norharman in den Thrombozyten	25
2.7. Bestimmung der Monoaminoxidase B in den Thrombozyten	26
2.8. Bestimmung der Hemmkonstante $K_i$ von Norharman	28
2.9. Der Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten	28
2.10. Proteinbestimmung	29
2.11. Bestimmung von 5-Hydroxytryptamin	29
2.11.1. Bestimmung von 5-Hydroxytryptamin im Blutplasma	29
2.11.2. Bestimmung von 5-Hydroxytryptamin in den Thrombozyten	30
2.12. Bestimmung von Cotinin im Blutplasma	30
2.13. Graphiken	31
2.14. Pharmakokinetische Datenanalyse	31
2.15. Statistische Auswertung	32
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>34</b>
3.1. In vitro Untersuchungen	34
3.1.1. Bestimmung der Hemmkonstante $K_i$ von Norharman	34
3.1.2. Der Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten	35
3.2. Ex vivo Untersuchungen	37
3.2.1. Demographische Daten	37
3.2.2. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman	38
3.2.2.1. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman im Blutplasma	38
3.2.2.2. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman in den Thrombozyten	40
3.2.2.3. Pharmakokinetik von Norharman in Plasma und Thrombozyten	42

3.2.2.4. Korrelation der Norharmankonzentration in Thrombozyten und Blutplasma zu den vier gemeinsamen Messzeitpunkten	43
3.2.3. Zeitverlauf der Konzentration von Harman	44
3.2.3.1. Zeitverlauf der Konzentration von Harman im Blutplasma	44
3.2.3.2. Zeitverlauf der Konzentration von Harman in den Thrombozyten	45
3.2.3.3. Pharmakokinetik von Harman in Plasma und Thrombozyten	46
3.2.4. Zeitverlauf der MAO-B Aktivität in den Thrombozyten	48
3.2.4.1. Einfluss des Rauchens auf die maximale Umsatzgeschwindigkeit der MAO-B ( $V_{max}$ )	48
3.2.4.2. Einfluss des Rauchens auf die Michaeliskonstante $K_m$	49
3.2.5. Zeitverlauf der Konzentration von 5-Hydroxytryptamin	51
3.2.5.1. Zeitverlauf der Konzentration von 5-Hydroxytryptamin im Blutplasma	51
3.2.5.2. Zeitverlauf der Konzentration von 5-Hydroxytryptamin in den Thrombozyten	52
3.2.5.3. Korrelation der 5-Hydroxytryptaminkonzentration in Thrombozyten und Blutplasma zu den gemeinsamen Messzeitpunkten	54
3.2.6. Konzentration von Cotinin im Blutplasma	55
<b>4. Diskussion</b>	<b>56</b>
4.1. Stellungnahme zu den Methoden	56
4.2. Stellungnahme zum Studiendesign	56
4.3. Konzentration von Cotinin im Blutplasma	56
4.4. Bestimmung der Hemmkonstante $K_i$ von Norharman in vitro und der Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten ex vivo	57
4.5. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman	57
4.5.1. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman im Blutplasma	57
4.5.2. Zeitverlauf der Konzentration von Norharman in den Thrombozyten	58
4.5.3. Korrelation der Norharmankonzentration in Thrombozyten und Blutplasma zu den vier gemeinsamen Messzeitpunkten	60
4.6. Zeitverlauf der Konzentration von Harman	61
4.6.1. Zeitverlauf der Konzentration von Harman im Blutplasma	61
4.6.2. Zeitverlauf der Konzentration von Harman in den Thrombozyten	61
4.7. Einfluss des Rauchens auf die MAO-B Aktivität in den Thrombozyten während der Beobachtungszeit	61
4.8. Einfluss des Rauchens auf 5-Hydroxytryptamin	66
4.8.1. Einfluss des Rauchens auf die Konzentration von 5-Hydroxytryptamin im Blutplasma und den Thrombozyten	69
4.8.2. Korrelation der 5-Hydroxytryptaminkonzentrationen in Plasma und Thrombozyten	71
<b>5. Fazit</b>	<b>73</b>
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>76</b>
<b>7. Methodikanhang</b>	<b>79</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>80</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>90</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>90</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>93</b>

## Abkürzungen

4-HQ	4-Hydroxyquinoline (4-Hydroxychinolin)
5-HIAA	5-Hydroxyindole acetic acid (5-Hydroxyindol Essigsäure)
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HTT	5-Hydroxytryptamin Transporter
AMG	Arzneimittelgesetz
APOEe4-Allel	ApolipoproteinE, Allel e4
BMI	body mass index
°C	Grad Celsius
cDNA	complementary desoxyribonucleic acid (komplementäre Desoxyribonukleinsäure)
Cl	chemisches Zeichen für Chlor
Cu	chemisches Zeichen für Kupfer
DAT	Dopamin Transporter
df	degrees of freedom (Freiheitsgrade)
DNA	desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EC	enzyme commission number
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMT	extraneuronal monoamine transporter (extraneuronaler Monoamintransporter)
FAD	Flavin-Adenin Dinukleotid
Fe	chemisches Zeichen für Eisen
FEE	Fluoreszenzeinheiten
FRG	Federal Republic of Germany
g	gravity, Formelzeichen für Erdbeschleunigung
h	hour
H <sub>2</sub> O	Wasser
HCl	Salzsäure
HClO <sub>4</sub>	Perchlorsäure
HEK	human embryonic kidney cells (humane embryonale Nierenzellen)
HPLC	high performance liquid chromatography (Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie)
HWZ	Halbwertszeit
IC <sub>50</sub>	halbmaximale Inhibitorkonzentration
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Dikaliumhydrogenphosphat
K <sub>d</sub>	Dissoziationskonstante
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrogenphosphat
KHK	koronare Herzkrankheit
K <sub>i</sub>	Hemmkonstante
K <sub>m</sub>	Substratkonzentration bei halbmaximaler Geschwindigkeit einer Reaktion

KOH	Kaliumhydroxid
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumphosphat
Kyn	Kynuramin
MAO	Monoaminoxidase
MDMA	Methylendioxyamphetamin
µg	Mikrogramm
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
µMol	Mikromol pro Liter
Mn	chemisches Zeichen für Mangan
MPTP	1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6 Tetrahydropyridin
mRNA	messenger ribonucleid acid (Boten-Ribonukleinsäure)
MTHF	Methylentetrahydrofolat
MW	Mittelwert
Na	chemisches Zeichen für Natrium
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	Dinatriumhydrogenphosphat-Trihydrat
NADH	Nikotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Natriumdihydrogenphosphat
NET	Norepinephrintransporter (Noradrenalin Transporter)
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
OCT	organic cation transporter (Transporter für organische Kationen)
OH-	Hydroxylgruppe
p	Signifikanzniveau
PET	Positronenemissionstomographie
pg	Pikogramm
pH	Potenz (pondus hydrogenii, negativer Logarithmus der Wasserstoffionen-konzentration)
PMT-Gain	photo multiplier tubes-gain
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
SEM	Standard error of the mean (Standardabweichung des Mittelwerts)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSAO	Semicarbazidsensitive Aminoxidase
S <sub>x</sub>	Steigung der Eichgraden
Thr	Thrombozyten
UpM	Umdrehungen pro Minute
V <sub>max</sub>	maximale Umsatzgeschwindigkeit eines Enzyms

## Abbildungsverzeichnis

Entstehungswege einiger $\beta$ -Carboline.	11
Bestimmung der Hemmkonstante $K_i$ von Norharman in vitro mit humanen Thrombozyten als Enzymquelle.	34
Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten	35
Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten ( $V_{max}$ und $K_m$ im Balkendiagramm).	37
Zeitverlauf der Konzentration von Norharman im Blutplasma .	39
Zeitverlauf der Konzentration von Norharman in den Thrombozyten von Rauchern .	41
Zeitverlauf der Konzentrationen von Harman im Blutplasma .	44
Zeitverlauf der Konzentration von Harman in den Thrombozyten von Rauchern .	46
$V_{max}$ der Monoaminoxidase aus Thrombozyten .	49
$K_m$ -Wert der Monoaminoxidase aus den Thrombozyten	50
Zeitverlauf der Konzentration von 5-HT im Blutplasma	51
Zeitverlauf der Konzentration von 5-HT in den Thrombozyten	53

## Tabellenverzeichnis

Studiendesign A	21
Studiendesign B	22
Einfluss von Norharman auf die Aktivität der MAO-B in den Thrombozyten	36
Pharmakokinetik von Norharman in Plasma und Thrombozyten	43
Korrelation der Norharmankonzentration in Thrombozyten und Blutplasma	43
Pharmakokinetik von Harman in Plasma und Thrombozyten	47
Korrelation der 5-Hydroxytryptaminkonzentrationen in Thrombozyten und Blutplasma	55
Cotininkorrelationen	55
Verdünnungsschema des Standards	79

## Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H. Rommelspacher für die sehr gute Betreuung dieser Arbeit. Mein besonderer Dank gilt Fr. Prof. Ch. Kloft für die Durchführung der pharmakokinetischen Datenanalysen von Harman und Norharman.

## Erklärung

„Ich, Mignon Lesly Meier-Henco, erkläre, das ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Hemmung der Monoaminoxidase durch die im Tabakrauch vorkommenden Tryptophanderivate Harman und Norharman: Eine mögliche Erklärung für die verminderte Inzidenz der Parkinson’schen Krankheit bei Rauchern“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

30.10.2007

## **Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen verzichte ich in der hier vorliegenden elektronischen Version der Dissertation auf die Wiedergabe meines Lebenslaufes.

Mignon Meier-Henco