

Charakterisierung vaskulärer α_1 -Adrenozeptoren und 5-HT-Rezeptoren als Zielstrukturen natürlicher und partialsynthetischer Ergoline

**Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)**

**eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

**Sven Jähnichen
aus Dresden**

April 2005

1. Gutachter: Prof. Dr. H.H. Pertz

2. Gutachter: Prof. Dr. P. Surmann

Disputation am 27.06.2005

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H.H. Pertz am Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin angefertigt.

Herrn Prof. Dr. H.H. Pertz danke ich an dieser Stelle sehr herzlich für die Überlassung dieses interessanten Themas und der praktischen Einführung in Methoden der experimentellen Pharmakologie. Ebenso möchte ich mich für seine wissenschaftlichen Anregungen und Ratschläge, seine Bereitschaft zur Diskussion und seine Präsenz zu meiner Unterstützung bedanken. Frau Prof. Dr. E. Glusa (Friedrich-Schiller-Universität Jena, Erfurt) sei für die fruchtbare Kooperation und die Nutzung ihres Labors für pharmakologische und biochemische Untersuchungen gedankt. Herrn Dr. M. Eltze (ALTANA, Konstanz) danke ich für die Einführung in die experimentell-pharmakologischen Methoden zur Charakterisierung α -Adrenozeptor-vermittelter Effekte. Bei Herrn Dr. M. Flieger (Akademie věd České republiky, Prag, Tschechien) möchte ich mich für die Bereitstellung natürlich vorkommender und partialsynthetischer Ergoline bedanken, die zentrale Untersuchungsobjekte dieser Arbeit waren. Für die theoretische Einführung und praktische Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Molekularbiologie möchte ich mich bei Herrn O.A. Radtke bedanken. Meinen Kollegen Dr. D. Strassner, A. Moritz und T. Görnemann danke ich für die gute Zusammenarbeit, deren Diskussionsbereitschaft und das Korrekturlesen dieser Arbeit. Ebenso sei der finanziellen Unterstützung dieser Arbeit durch Herrn Dr. R. Horowski (NeuroBiotec, Berlin) und Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Schunack gedankt.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Ergoline.....	1
1.1.1.	Natürlich vorkommende Ergoline.....	1
1.1.2.	Partialsynthetische Ergoline.....	3
1.2.	Adrenozeptoren und ihre vaskuläre Funktion.....	5
1.2.1.	α_1 -Adrenozeptoren.....	6
1.2.1.1.	α_{1A} -Adrenozeptoren.....	8
1.2.1.2.	α_{1B} -Adrenozeptoren.....	9
1.2.1.3.	α_{1D} -Adrenozeptoren.....	10
1.2.1.4.	α_{1L} -Adrenozeptoren.....	11
1.3.	5-HT-Rezeptoren und ihre vaskuläre Funktion.....	12
1.3.1.	5-HT ₁ -Rezeptoren.....	12
1.3.1.1.	5-HT _{1A} -Rezeptoren.....	13
1.3.1.2.	5-HT _{1B} -Rezeptoren.....	14
1.3.1.3.	5-HT _{1D} -Rezeptoren.....	16
1.3.1.4.	5-ht _{1E} -Rezeptoren.....	17
1.3.1.5.	5-HT _{1F} -Rezeptoren.....	17
1.3.2.	5-HT ₂ -Rezeptoren.....	17
1.3.2.1.	5-HT _{2A} -Rezeptoren.....	18
1.3.2.2.	5-HT _{2B} -Rezeptoren.....	19
1.3.2.3.	5-HT _{2C} -Rezeptoren.....	20
1.3.3.	5-HT ₃ -Rezeptoren.....	21
1.3.4.	5-HT ₄ -Rezeptoren.....	21
1.3.5.	5-ht ₅ -Rezeptoren.....	22
1.3.6.	5-ht ₆ -Rezeptoren.....	22
1.3.7.	5-HT ₇ -Rezeptoren.....	23
1.4.	Zielsetzung.....	25
2.	Material und Methoden.....	26
2.1.	Material.....	26
2.1.1.	Reagenzien.....	26
2.1.1.1.	Chemikalien und Biochemikalien.....	26
2.1.1.2.	Kits.....	28
2.1.1.3.	Nähr- und Pufferlösungen für Untersuchungen an isolierten Organen.....	28
2.1.1.4.	Oligonukleotide.....	28

2.1.2.	Apparative Ausstattung.....	29
2.2.	Tiere.....	30
2.3.	Methoden.....	31
2.3.1.	Versuche an isolierten Organen.....	31
2.3.1.1.	Allgemeine Durchführung.....	31
2.3.1.2.	Rattensamenleiter (α_{1A} -Adrenozeptoren).....	31
2.3.1.3.	Rattenschwanzarterie (α_1 -Adrenozeptoren).....	32
2.3.1.4.	Meerschweinchenmilz (α_{1B} -Adrenozeptoren).....	34
2.3.1.5.	Rattenaorta (α_{1D} -Adrenozeptoren).....	34
2.3.1.6.	Meerschweinchenbeckenschlagader (5-HT ₁ -ähnliche Rezeptoren).....	35
2.3.1.7.	Rattenschwanzarterie (5-HT _{2A} -Rezeptoren).....	36
2.3.1.8.	Schweinekoronararterie (5-HT _{2A} -Rezeptoren).....	37
2.3.1.9.	Schweinepulmonalarterie (5-HT _{2B} -Rezeptoren).....	39
2.3.1.10.	Pulmonalarterien des Läuferschweins (relaxierende 5-HT-Rezeptoren).....	40
2.3.1.11.	Auswaschexperimente.....	41
2.3.2.	Biochemische Methoden.....	41
2.3.2.1.	Second-messenger-Bestimmung.....	41
2.3.2.2.	Proteinbestimmung.....	42
2.3.3.	Molekularbiologische Methoden.....	42
2.3.3.1.	RNA-Isolierung.....	42
2.3.3.2.	Reverse Transkription (RT).....	43
2.3.3.3.	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	43
2.3.3.4.	Elektrophorese.....	43
2.4.	Datenanalyse und Statistik.....	44
2.4.1.	Pharmakologische Parameter.....	44
2.4.2.	Statistik.....	49
2.4.2.1.	Datenpräsentation.....	49
2.4.2.2.	Datenanalyse mittels nichtlinearer Regression.....	50
2.4.2.3.	Korrelationsanalyse, Lineare Regression.....	50
2.4.2.4.	Statistische Beurteilung.....	51
3.	Ergebnisse und Diskussion.....	53
3.1.	Adrenozeptoren.....	53
3.1.1.	Identifizierung der α_1 -Adrenozeptoren der Rattenschwanzarterie.....	53
3.1.1.1.	Effekte von Noradrenalin.....	54
3.1.1.2.	Experimente nach α_{1A} -Adrenozeptorblockade.....	55

3.1.1.3.	Experimente nach α_{1B} -Adrenozeptorinaktivierung.....	61
3.1.1.4.	Physiologische Bedeutung.....	66
3.2.	5-HT-Rezeptoren.....	69
3.2.1.	5-HT ₁ -ähnliche Rezeptoren der Meerschweinchenbeckenschlagader.....	69
3.2.1.1.	Rezeptoridentifizierung mit Hilfe der RT-PCR.....	70
3.2.1.2.	Rolle des Endothels.....	70
3.2.1.3.	Rezeptorcharakterisierung mit Hilfe von Triptanen.....	71
3.2.1.4.	Rezeptoridentifizierung mit Hilfe von Antagonisten.....	76
3.2.2.	5-HT-Rezeptoren der Pulmonalarterien des Läufer Schweins.....	79
3.2.2.1.	Endothelabhängige Effekte.....	79
3.2.2.2.	Endothelunabhängige Effekte.....	82
3.2.2.3.	Second-Messenger-Untersuchungen.....	87
3.2.2.4.	Molekularbiologische Untersuchungen.....	88
3.2.2.5.	Altersphysiologische Untersuchungen.....	89
3.2.2.6.	Die Pulmonalarterie des Läufer Schweins als vaskulärer Bioassay.....	91
3.3.	Ergoline.....	92
3.3.1.	Natürlich vorkommende Ergoline und ihre Dihydroderivate.....	92
3.3.1.1.	Effekte an α_1 -Adrenozeptoren.....	92
3.3.1.2.	Effekte an 5-HT-Rezeptoren.....	99
3.3.1.3.	Auswaschexperimente.....	107
3.3.2.	8 α -Aminoergoline.....	111
3.3.2.1.	Effekte an α_1 -Adrenozeptoren.....	111
3.3.2.2.	Effekte an 5-HT-Rezeptoren.....	113
3.3.3.	1-Allyl-substituierte Ergoline.....	116
3.3.3.1.	Effekte an α_1 -Adrenozeptoren.....	116
3.3.3.2.	Effekte an 5-HT-Rezeptoren.....	121
3.3.3.3.	Auswaschexperimente.....	130
3.3.3.4.	Bewertung des pharmakologischen Profils.....	132
3.3.4.	6'-Desoxoergoline.....	136
3.3.4.1.	Effekte an vaskulären α_1 -Adrenozeptoren.....	136
3.3.4.2.	Effekte an vaskulären 5-HT-Rezeptoren.....	138
3.3.4.3.	Bewertung des pharmakologischen Profils.....	140
4.	Zusammenfassung.....	142
5.	Summary.....	145
6.	Literaturverzeichnis.....	148

7.	Anhang.....	178
7.1.	Publikationsverzeichnis.....	178
7.1.1.	Originalarbeiten und Patente.....	178
7.1.2.	Poster und Vorträge.....	178
7.2.	Lebenslauf.....	180