

# 1. Einleitung

## 1.1. Ergoline

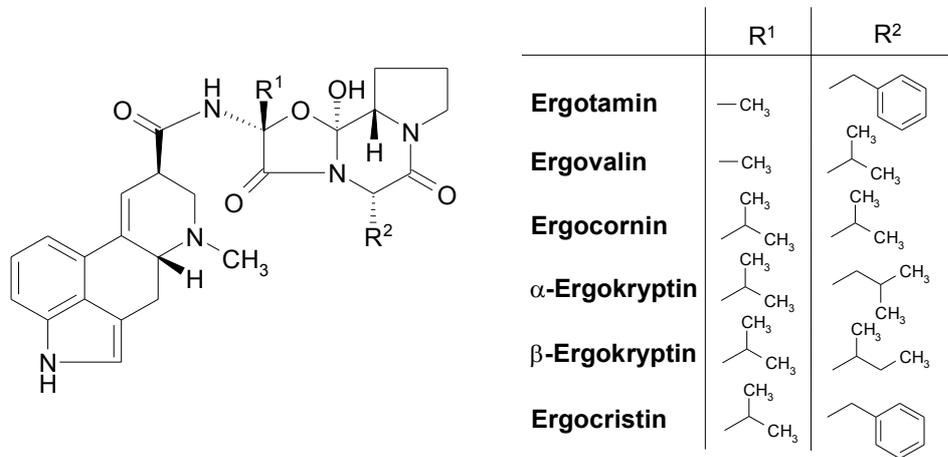
Der Konsum von mutterkornverseuchtem Getreide führte im Mittelalter mehrfach zu epidemieartigen Vergiftungen, die durch Seh- und Gangstörungen, durch konvulsive Anfälle (*Ergotismus convulsivus*) oder durch Durchblutungsstörungen bis hin zu nekrotischen Gewebeveränderungen (*E. gangraenosus*) gekennzeichnet waren. Die therapeutische Anwendung des Mutterkorns in der Geburtskunde wurde in der Literatur erstmalig im 16. Jahrhundert dokumentiert, sein Einsatz in der Therapie der Migräne ist seit Mitte des 19. Jahrhunderts bekannt (Koehler & Isler, 2002). Alkaloide vom Ergolin-Typ, wie Ergotamin, Ergocristin, Ergokryptin, Ergocornin und Ergometrin, konnten als pharmakologisch und toxikologisch wirksame Inhaltsstoffe des Mutterkorns identifiziert werden. Der klassischen Lehrbuchmeinung nach besitzen diese Ergoline agonistische, partialagonistische oder antagonistische Eigenschaften an 5-HT-Rezeptoren, Dopamin-Rezeptoren und Adrenozeptoren (Mutschler *et al.*, 2001). Dieses Verhalten der Ergoline wurde mit einer Strukturanalogie des Ergolingrundgerüsts mit den biogenen Rezeptoragonisten 5-HT, Dopamin und (Nor-)Adrenalin erklärt (Hänsel, 2004). Aufgrund der Heterogenität dieser Rezeptoren stellt die klassische Lehrbuchmeinung aber eine starke Simplifizierung der Pharmakologie der Ergoline dar.

### 1.1.1. Natürlich vorkommende Ergoline

Aus chemischer Sicht sind Ergoline (im weiteren Sinne) Verbindungen mit einem tetrazyklischen Ergolin- oder Ergolenringsystem. Sie werden in vier Hauptgruppen eingeteilt: (1) Lysergsäuren, wie D-Lysergsäure, (2) einfache Lysergsäureamide, wie z.B. Ergometrin, (3) Ergopeptine, wie z.B. Ergotamin, die Kondensationsprodukte aus Lysergsäure und trizyklischen Peptiden sind und (4) Clavine, wie z.B. Lysergol, die sich von den zuvor genannten Gruppen durch eine niedrigere Oxidationsstufe des Substituenten in 8-Position unterscheiden. Darüber hinaus sind biologisch aktive 6,7-Secoergoline bekannt (z.B. Chanoclavin), die eine biogenetische Vorstufe der tetrazyklischen Ergoline darstellen (Berde & Stürmer, 1978).

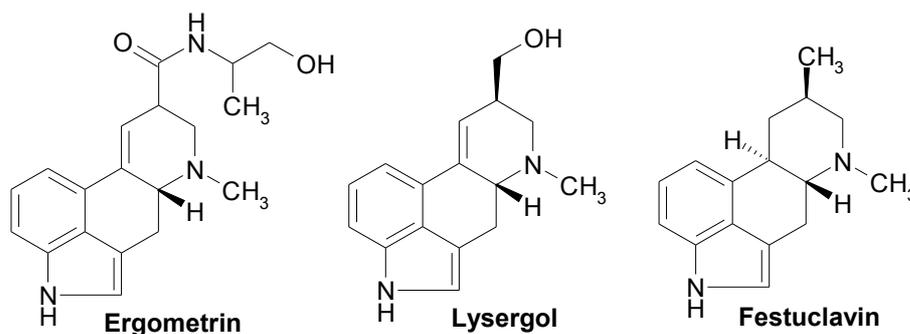
Alkaloide mit einem Ergolin-Grundgerüst kommen besonders zahlreich innerhalb der Klasse der Ascomyceten und dort nahezu ausschließlich innerhalb der Familie der *Clavicipitaceae* vor. Der endophytische Pilz *Claviceps purpurea*, der bevorzugt Roggen befällt, produziert insbesondere Lysergsäureamide (z.B. Ergometrin) und Ergopeptine (z.B. Ergotamin,  $\alpha$ -Ergokryptin,  $\beta$ -Ergokryptin, Ergocristin und Ergocornin). Therapeutisch wurden und werden sie zur Stillung postpartaler Blutungen (Ergometrin) und zur Behandlung der Migräne (Ergotamin) eingesetzt. Auch

*Balansia*- und *Epichloe-/Neotyphodium*-Arten gelten als Produzenten von Ergopeptinen (z.B. Ergovalin, Ergovalinin, Ergosin und Ergonin) und sind von veterinär-toxikologischer Bedeutung (*Fescue toxicosis*; Schardl, 2001). Die therapeutisch ebenfalls genutzten  $\Delta^{9,10}$ -Dihydroergopeptine sind in der Natur selten und konnten bisher nur bei *Sphacelia sorghi* nachgewiesen werden (Mantle & Waight, 1968).



**Abb. 1.** Ergoline vom Ergopeptin-Typ

Deutlich größer ist die Verbreitung von Clavinen in der Natur. Die  $\Delta^{8,9}$ -Ergolene Agroclavin und Elymoclavin sind die Hauptalkaloide von *C. fusiformis*, während diese bei *C. purpurea* und *C. paspali* lediglich Zwischenprodukte bei der Produktion höherer Ergoline darstellen (Floss, 1976). *Claviceps*-Arten bilden darüber hinaus auch die  $\Delta^{9,10}$ -Ergolene Lysergol, Lysergin und Lysergen sowie die Ergoline Festuclavin, Pyroclavin und Dihydrolysergol-I (Buchta & Cvak, 1999). Darüber hinaus gelten Vertreter der Gattungen *Balansia*, *Dicyma*, *Epichloe*, *Neotyphodium*, *Hypomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus* und *Aspergillus* als Produzenten von Clavinalkaloiden. Außer in Ascomyceten konnten Clavine und einfache Lysergsäureamide auch im Pflanzenreich in der Familie der Convolvulaceen (u.a. in den Gattungen *Turbina*, *Ipomoea*, *Argyreia*, *Stictocardia* und *Cuscuta*) nachgewiesen werden (Heacock, 1975).



**Abb. 2.** Ergoline vom Amid- und Clavin-Typ

### 1.1.2. Partialsynthetische Ergoline

Da zahlreiche Ergoline durch eine hohe biologische Aktivität gekennzeichnet sind und eine hohe Affinität zu  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren sowie zu Dopamin- und Serotonin-Rezeptoren besitzen (Tfelt-Hansen *et al.*, 2000), war und ist diese Naturstoffklasse interessant für partialsynthetische Modifikationen. Die durch Reduktion der Doppelbindung in 9,10-Position des Ergolingrundgerüsts gewonnenen Dihydroergopeptide Dihydroergocristin, Dihydroergocornin, Dihydro- $\alpha$ -ergokryptin und Dihydro- $\beta$ -ergokryptin (= Dihydroergotoxin) sowie Dihydroergotamin zeigen im Vergleich zu ihren genuinen Mutterverbindungen eine verstärkte adrenolytische Wirksamkeit und finden einerseits in der Therapie der altersbedingten Hypertonie und andererseits in der Migräneprophylaxe Anwendung.

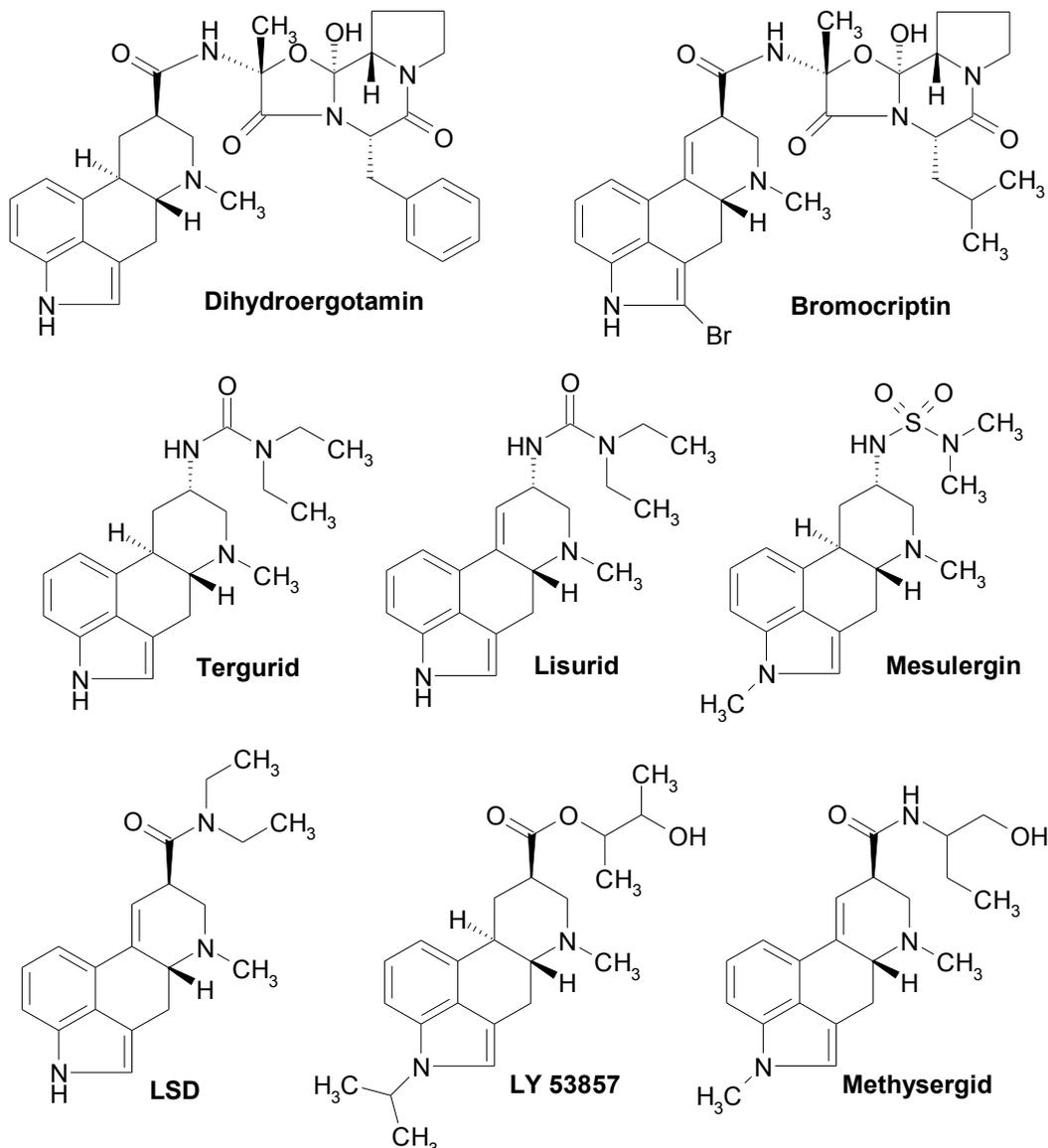


Abb. 3. Partialsynthetische Ergoline

Eine Verstärkung der Dopamin-Rezeptor-agonistischen Wirkkomponente der Ergoline konnte u.a. durch eine Halogenierung in 2-Position des Ergolingrundgerüsts erreicht werden (z.B. Bromocriptin und Lergotril). Bromocriptin wird zum primären und sekundären Abstillen, zur Behandlung der Prolaktin-bedingten Amenorrhoe und in der Therapie der Akromegalie eingesetzt. Für seine Wirksamkeit bei diesen Indikationen ist eine Stimulation von D<sub>2</sub>-Rezeptoren der Hypophyse und damit eine Hemmung der Prolaktin-, Follitropin-, Lutropin- und Somatotropin-Freisetzung verantwortlich. Außerdem hat sich Bromocriptin in der Therapie des *Morbus Parkinson* etabliert (Flückiger & Wagner, 1968; Flückiger *et al.*, 1985). Ein Agonismus an den Isoformen des D<sub>2</sub>-Rezeptors scheint dabei ebenfalls für dessen Parkinson-Wirksamkeit verantwortlich zu sein (Newman-Tancredi *et al.*, 2002a), während die Wirkqualität am D<sub>1</sub>-Rezeptor von untergeordneter Bedeutung ist. Auch einige der ursprünglich zur Prophylaxe der Migräne entwickelten 8 $\alpha$ -Aminoergoline (z.B. Lisurid und Tergurid) sind hochpotente Prolaktinhemmer und Parkinsontherapeutika (Podvalová & Dlabac, 1970; Horowski, 1985). Lisurid und Tergurid zeigen ebenfalls eine hohe Affinität zu  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Adrenozeptoren sowie zu zahlreichen 5-HT-Rezeptoren (Millan *et al.*, 2002). Das 8-(*R*)-Diastereomer des Lisurids konnte kürzlich als der derzeit potenteste Agonist an humanen H<sub>1</sub>-Rezeptoren identifiziert werden (Bakker *et al.*, 2004). Das 8 $\alpha$ -Aminoergolin Mesulergin hat sich als wichtiges Werkzeug in der experimentellen Pharmakologie etabliert (siehe unten). Ein Austausch der Methylgruppe am N-6 durch länger-kettige Substituenten (Propyl- oder Allyl-) führt zu einer erhöhten Selektivität der Liganden zu Dopamin-Rezeptoren (Pergolid bzw. Cabergolin). Die in der Parkinson-Therapie in Kombination mit L-DOPA verwendeten Ergoline (Bromocriptin, Pergolid, Cabergolin, Lisurid und Tergurid) zeichnen sich durch eine höhere Affinität zu D<sub>2</sub>- und D<sub>3</sub>-Rezeptoren als zu D<sub>1</sub>-, D<sub>4</sub>- und D<sub>5</sub>-Rezeptoren aus (Millan *et al.*, 2002).

Eine Substitution des Protons am N-1 des Ergolingrundgerüsts durch eine Alkylgruppe (Methyl-, Ethyl- oder Isopropyl-) führt bei zahlreichen, aber nicht bei allen Ergolinen in Nagetiermodellen zu einer gesteigerten antiserotoninergen Wirksamkeit bei gleichzeitiger Verringerung adrenolytischer Nebeneffekte (z.B. Amesergid, Sergolexol und LY 53857; Cohen *et al.*, 1985a,b, 1988). Das N-1-methylierte Methysergid war lange Zeit als wirksames Migräneprophylaktikum auf dem Markt.

Eine Modifikation des Substituenten an der Carbonylfunktion der Lysergsäure bzw. seines Amids (Ergin) war bis in die späten 1980er Jahre vorrangiges Ziel für partialsynthetische Veränderungen. *Albert Hofmanns* LSD wurde durch seine ausgesprochen halluzinogene Wirkung bekannt und fand Anwendung als pharmakologische Modellsubstanz zur Auslösung von Psychosen (Hofmann, 2001).

Neuere partialsynthetische Veränderungen schließen Modifikationen des trizyklischen Peptidsubstituenten und des Ergolingrundgerüsts ein. Eine Deletion oder ein Austausch des

Pyrrolidinrings im Peptidteil durch einen Piperidinring führt bei Ergotamin zu einem Wirkungsverlust (Rutschmann & Stadler, 1978). Dass die Intaktheit des Pyrrolidinrings dennoch nicht essentiell für die biologische Aktivität von Ergolinen ist, konnte anhand eines aus Submerskulturen von *Dicyma spec.* isolierten Ergolins mit einem bizyklischen Peptidrest gezeigt werden, das als selektiver 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonist identifiziert wurde (Vazquez *et al.*, 2003). Die Synthese von 5(10→9)*Abeo*-Ergolinen, wie PNU 160542, führt überraschenderweise ebenfalls zu hochpotenten und selektiven 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten ( $pEC_{50} = 10,7$ ; Mantegani *et al.*, 1999).

## 1.2. Adrenozeptoren und ihre vaskuläre Funktion

Adrenalin und Noradrenalin vermitteln ihre Hormon- und Neurotransmittereffekte über eine Aktivierung membrangebundener, G-Protein-gekoppelter Rezeptoren, den Adrenozeptoren. Die Entdeckung der Heterogenität der Adrenozeptoren ist eng an die Inhaltsstoffe des Mutterkorns geknüpft. 1906 berichtete *Dale*, dass ein Extrakt aus dem Mutterkorn die Gefäß kontrahierende Wirkung des Adrenalins imitiert, aber im Gegensatz zu diesem keine kardiale Wirksamkeit besitzt. Er führte diese Effekte auf „unterschiedliche aktive Prinzipien“ zurück. Die Beobachtung *Dales* und weitere Entdeckungen mit Hilfe „sympathomimetischer Agonisten“ veranlassten *Ahlquist* (1948) drei Jahrzehnte später zu einer Unterteilung der Adrenozeptoren in den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Typ. Eine weitere grundlegende Heterogenität der Adrenozeptoren innerhalb der Gruppe der  $\alpha$ -Adrenozeptoren führte zur Unterscheidung der vorwiegend postsynaptisch vorkommenden  $\alpha_1$ - von den überwiegend präsynaptisch vorkommenden  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren (Starke, 1972; Langer, 1974; Starke *et al.*, 1974; 1975a,b). Diese Dreiteilung in der Klassifizierung der Adrenozeptoren ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  und  $\beta$ ) konnte durch Erkenntnisse über den bevorzugten Signaltransduktionsweg und durch phylogenetische Untersuchungen bestätigt werden (Bylund *et al.*, 1994; Hieble *et al.*, 1995a,b; Fredriksson *et al.*, 2003). Von  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -, und  $\beta$ -Adrenozeptoren konnten bis heute mit Hilfe pharmakologischer und molekularbiologischer Methoden je drei Subtypen identifiziert werden:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1D}$ ,  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  und  $\beta_3$  (Bylund *et al.*, 1994; Hieble *et al.*, 1995a,b; Zhong & Minneman, 1999; Hieble, 2000). Ihre Klone werden in der Literatur durch Verwendung kleiner Buchstaben gekennzeichnet (z.B.  $\alpha_{1a}$ ; Bylund *et al.*, 1994; Hieble *et al.*, 1995a). Darüber hinaus wird die Existenz eines vierten  $\alpha_1$ -Adrenozeptors ( $\alpha_{1L}$ ) und eines vierten  $\beta$ -Adrenozeptors ( $\beta_4$ ) diskutiert. Beide Rezeptoren zeigen von anderen Subtypen ihrer jeweiligen Familie abweichende pharmakologische Eigenschaften, konnten aber nicht auf genomischer Ebene nachgewiesen werden (Hieble, 2000). Ein vierter pharmakologisch einzigartiger  $\alpha_2$ -Adrenozeptor ( $\alpha_{2D}$ ) konnte als eine bei Nagetieren (z.B. Ratte, Meerschweinchen und Maus) vorkommende *Species*-Variante des  $\alpha_{2A}$ -Adrenozeptors identifiziert werden (Ali *et al.*, 1998).

Physiologisch sind Adrenozeptoren insbesondere im Zentralnervensystem und im sympathisch innervierten peripheren Gewebe, wie dem Herz-Kreislauf-System, von Bedeutung. So führt eine selektive Aktivierung kardialer  $\beta_1$ -Adrenozeptoren zu einer positiven Inotropie, Tachykardie, Dromotropie und Bathmotropie, verbunden mit einem Anstieg des arteriellen Blutdrucks. Der hypertensive Effekt wird durch Aktivierung von  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren (ferner auch  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren) verstärkt, die in der glatten Muskulatur dezentraler kleiner Arterien und Venen dominieren. Gleichzeitig führt eine Stimulation von glattmuskulären  $\beta_2$ -Adrenozeptoren einiger größerer Blutgefäße zu deren Dilatation und somit zu einer Zentralisierung des Blutflusses. Auch eine Aktivierung endothelialer  $\alpha_2$ - und  $\beta$ -Adrenozeptoren, verbunden mit einer Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO), kann an der Relaxation dieser Blutgefäße beteiligt sein (Hieble, 2000; Guimaraes & Moura, 2001).

### 1.2.1. $\alpha_1$ -Adrenozeptoren

$\alpha_1$ -Adrenozeptoren sind  $G_{q/11}$ -Protein-gekoppelte Rezeptoren, deren Stimulation zu einer Aktivierung der Phospholipase C und zu einer damit verbundenen Freisetzung von  $Ca^{2+}$ -Ionen aus intrazellulären Speichern führt. Die Aminosäuresequenz der  $\alpha_1$ -Adrenozeptorsubtypen zeigt eine hohe, ca. 50 – 60%ige Analogie. Übereinstimmend weist die genomische Struktur aller  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren ein Intron nach der transmembranären Domäne 6 auf (Graham *et al.*, 1996). Die Bindungsstelle der physiologischen Agonisten Adrenalin und Noradrenalin im Rezeptormolekül konnte mit Hilfe von Punkt-

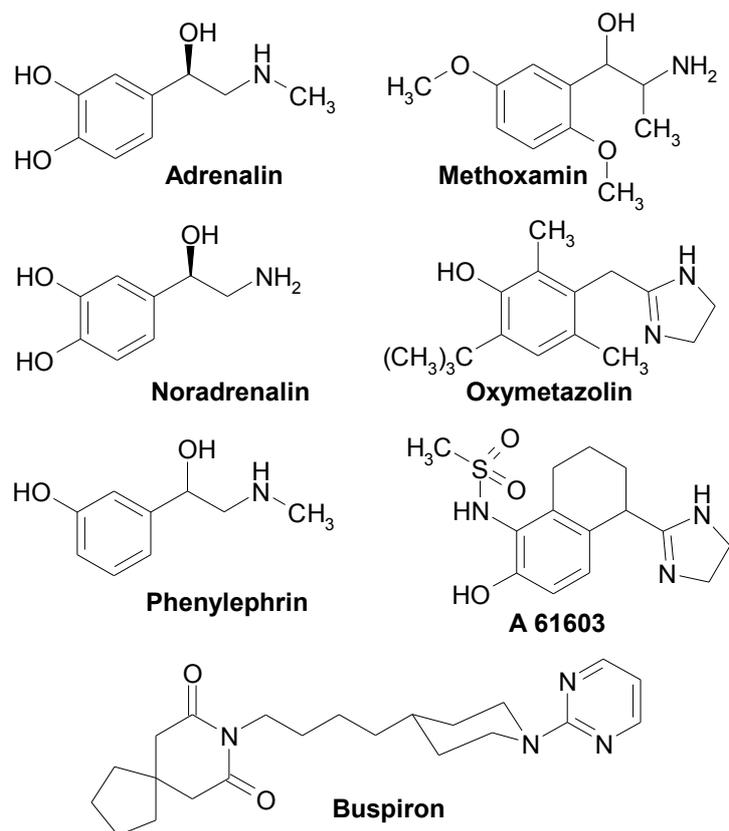


Abb. 4.  $\alpha_1$ -Adrenozeptoragonisten

mutationen und *Molecular modeling* identifiziert werden und unterscheidet sich partiell von der Bindungstasche von Adrenalin im  $\beta_2$ -Adrenozeptor (Porter *et al.*, 1996; Hwa & Perez, 1996; Chen *et al.*, 1999; Waugh *et al.*, 2000; Piascik & Perez, 2001). Pharmakologisch können  $\alpha_1$ -

Adrenozeptoren von  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren mit Hilfe von Phenylephrin, Brimonidin und Clonidin unterschieden werden. Phenylephrin zeigt eine hohe agonistische Potenz an  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren, während Brimonidin und Clonidin bevorzugt  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren aktivieren.  $\alpha_1$ -Adrenozeptoragonisten, wie Phenylephrin, Oxedrin und Midodrin, werden in der Therapie der Hypotonie und der Stressinkontinenz eingesetzt. Darüber hinaus zeigen die Antagonisten Prazosin und Corynanthin im Vergleich zu Yohimbin und Rauwolscin eine erhöhte Affinität zum  $\alpha_1$ -Adrenozeptor gegenüber  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren. Einige  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-selektive Antagonisten, wie z.B. Prazosin, Doxazosin, Terazosin und Alfuzosin, aber auch Urapidil (siehe Kapitel 1.3.1.1.), haben sich als antihypertensive Arzneistoffe etabliert (Hieble, 2000).

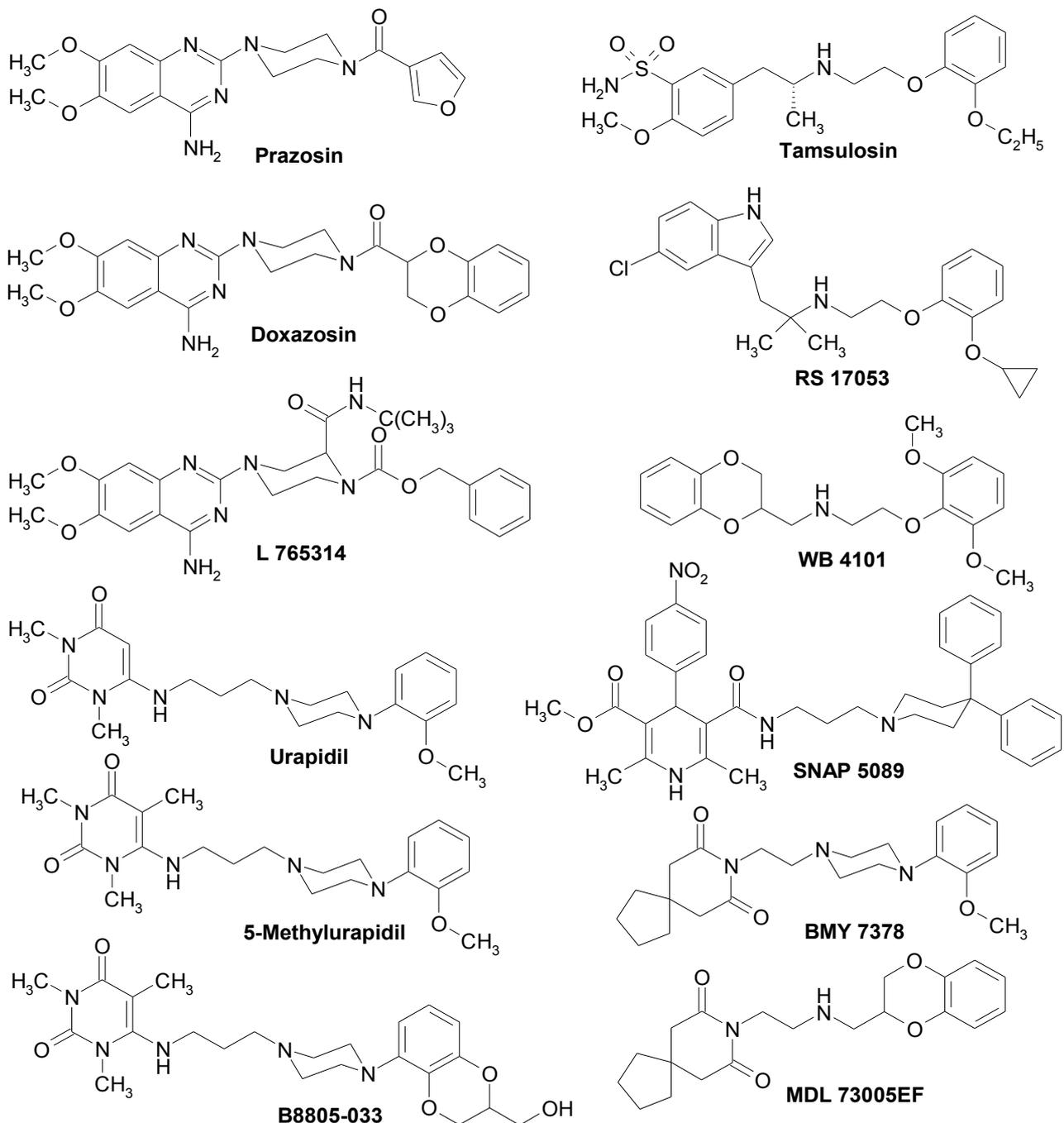


Abb. 5.  $\alpha_1$ -Adrenozeptorantagonisten

In Blutgefäßen konnten mit Hilfe molekularbiologischer (z.B. RT-PCR) und immunohistochemischer Methoden alle drei genomisch eigenständigen  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren nachgewiesen werden. Das Expressionsmuster dieser Rezeptoren variiert jedoch von Blutgefäß zu Blutgefäß (Guarino *et al.*, 1996; Xu *et al.*, 1997; Rudner *et al.*, 1999; Hrometz *et al.*, 1999). Funktionell-pharmakologische Studien bestätigten diese Ergebnisse. Alle  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren können an den vaskulären Effekten von Adrenalin und Noradrenalin beteiligt sein, wobei anscheinend, je nach Blutgefäß, jeweils ein  $\alpha_1$ -Adrenozeptorsubtyp eine dominierende Rolle einnimmt (Piascik & Perez, 2001).

Ergopeptine, wie Ergotamin, Dihydroergotamin, Dihydro- $\alpha$ -ergokryptin und Dihydroergocristin, zeigen eine hohe Affinität zu  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren. In funktionellen Studien an glattmuskulären  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren zeigten diese Substanzen in Abhängigkeit vom Gewebe überwiegend antagonistische Effekte. Darüber hinaus besitzen Ergopeptine eine hohe Affinität zu  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren, welche die Affinität zu  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren nochmals übertrifft (Roquebert *et al.*, 1984; Roquebert & Demichel, 1987; Roquebert & Grenie, 1986, 1987; Valdivia *et al.*, 2004). Auch die in der Therapie des *Morbus Parkinson* verwendeten 8 $\alpha$ -Aminoergoline Lisurid und Tergurid sowie das Ergopeptin Bromocriptin, nicht aber das Clavinderivat Pergolid, besitzen eine beachtliche Affinität zu  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren (Millan *et al.*, 2002; Newman-Tancredi *et al.*, 2002a). Clavine (z.B. Lysergol, Lysergen und Pyroclavin) und einfache Lysergsäureamide (z.B. Ergometrin und Methylergometrin) konnten hingegen als wenig potente Antagonisten an  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren identifiziert werden (Pertz, 1996). Diese Substanzen und 1-alkylierte Ergoline, wie Methysergid, LY 53857 und Mesulergin sind daher wichtige pharmakologische Werkzeuge zur Unterscheidung von  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren von 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren. Über die pharmakologischen Eigenschaften von Ergolinen an den einzelnen  $\alpha_1$ -Adrenozeptorsubtypen (A, B und D) ist jedoch nur wenig bekannt.

### 1.2.1.1. $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren

Vom  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor sind derzeit mindestens vier verschiedene pharmakologisch intakte Splicevarianten bekannt, die sich jedoch weder in ihrer Verteilung im kardiovaskulären System, noch funktionell unterscheiden (Hirasawa *et al.*, 1995; Chang *et al.*, 1998a; Daniels *et al.*, 1999). An diese  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren können außer G-Proteine der G<sub>q/11</sub>-Familie möglicherweise auch G<sub>i/o</sub>-Proteine binden (Petitcolin *et al.*, 2001). Darüber hinaus konnte die Expression von  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptorfragmenten nachgewiesen werden, die nicht zur Ligandenbindung befähigt sind und deren Funktion unklar ist (Coge *et al.*, 1999). Pharmakologisch wurden  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren initial durch eine hohe antagonistische Potenz von WB 4101, (+)-Niguldipin und 5-Methylurapidil sowie durch eine Resistenz gegenüber dem Alkylierungsreagenz Chloroethylclonidin charakterisiert

(Morrow & Creese, 1986; Han *et al.*, 1987; Gross *et al.*, 1988; Boer *et al.*, 1989). Darüber hinaus aktivieren Monoamine, wie Methoxamin, aber auch Imidazoline, wie Oxymetazolin, Cirazolin und insbesondere A-61601, diesen Subtyp (Tsujiimoto *et al.*, 1989; Horie *et al.*, 1995; Knepper *et al.*, 1995). Überraschenderweise interagieren die agonistisch wirksamen Imidazoline nicht mit der Noradrenalin-Bindungsstelle, sondern mit einer Antagonisten-Bindungsstelle (Waugh *et al.*, 2001).

Die *Species* übergreifende Identifizierung kontraktile  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren in Prostata, Samenleiter und Harnleiter (Eltze & Boer, 1992; Aboud *et al.*, 1993; Burt *et al.*, 1995, 1998; Nishi *et al.*, 1998; Honner & Docherty, 1999; Amobi *et al.*, 1999, 2002) führte seit Beginn der 1990er Jahre zu einer Suche nach  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor-selektiven Antagonisten für eine nebenwirkungsärmere Therapie urogenitaler Beschwerden. Nach Doxazosin, Terazosin und Alfuzosin hat sich insbesondere auch das moderat selektive Tamsulosin ( $\alpha_{1A} \geq \alpha_{1D} > \alpha_{1B}$ ) in der symptomatischen Therapie der benignen Prostatahyperplasie etabliert (Kawabe, 1995; O'Leary, 2001). Neuere Antagonisten, wie RS-17053, SNAP 5089, SNAP 6383, Silodosin, Rec 15/2739 und B8805-033, zeigen eine deutlich höhere Selektivität für den  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor (Ford *et al.*, 1996; Wetzel *et al.*, 1995; Chang *et al.*, 2000; Shibata *et al.*, 1995; Leonardi *et al.*, 1997; Eltze *et al.*, 2001a). Einige dieser neueren Liganden, wie z.B. SNAP 6383, Silodosin und Rec 15/2739 wurden kürzlich in der Therapie der benignen Prostatahyperplasie klinisch erprobt.

$\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren werden in großer Menge in allen Blutgefäßen exprimiert (Guarino *et al.*, 1996; Rudner *et al.*, 1999). Ihre mRNA nimmt ca. 90% der gesamten  $\alpha_1$ -Adrenozeptor-mRNA ein (Zhong & Minneman, 1999). Wie Experimente an isolierten Organen zeigten, scheinen sie insbesondere in kleineren Blutgefäßen, wie den Widerstandsgefäßen der Haut und der Muskulatur, auch funktionell die dominierenden  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren zu sein (Jarajapu *et al.*, 2001a,b). Umso mehr überrascht, dass Tamsulosin im Vergleich zum nicht subtypselektiven Terazosin weniger hypotensive Nebenwirkungen besitzt (Lee & Lee, 1997; Schäfers *et al.*, 1999).

### 1.2.1.2. $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren

$\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren können pharmakologisch mit Hilfe des Alkylierungsreagenzes Chloroethylclonidin, welches bevorzugt diesen Subtyp inaktiviert, charakterisiert werden (Han *et al.*, 1987; Minneman *et al.*, 1988; Michel *et al.*, 1993; Xiao & Jeffries, 1998). Mit L-765314 ist lediglich ein einziger kompetitiver Antagonist beschrieben, der sowohl an rekombinanten als auch an nativen  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren eine nennenswerte Selektivität zu Gunsten des Subtyps B zeigt (Patane *et al.*, 1998; Eltze *et al.*, 2002). Weitere selektive  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoragonisten sind derzeit nicht bekannt. Neben einer Kopplung des  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptors mit G-Proteinen der  $G_{q/11}$ -Familie konnte auch eine Bindung von  $G_{i/o}$ -Proteinen nachgewiesen werden. Ebenso konnte eine

Stimulation mitogenaktivierter Proteinkinasen (MAP-Kinasen) nach Aktivierung von  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren beobachtet werden (Garcia-Sainz *et al.*, 1999; Koshimizu *et al.*, 2002).

Im Gegensatz zum  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor ist die vaskuläre Funktion des  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptors noch weitgehend unklar. Obwohl seine mRNA in allen Blutgefäßen exprimiert wird und das Rezeptorprotein an der Oberfläche glatter Muskelzellen nachgewiesen werden kann, nimmt der  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptor anscheinend keine dominierende Rolle bei der Kontraktion von Blutgefäßen ein (Hrometz *et al.*, 1999). Jedoch kann nach selektiver Blockade (Antagonisten) oder Ausschaltung (knockout) anderer  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren der  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptor zumindest partiell deren Funktion übernehmen (Tanoue *et al.*, 2002; Daly *et al.*, 2002; Jähnichen *et al.*, 2004). Ungeachtet dessen führt eine chronische Stimulation von  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren zu mitogenen Effekten in Kardiomyocyten und in arteriellen glatten Muskelzellen. Daraus wurde geschlossen, dass dieser Subtyp physiologisch an Zellwachstum und Angiogenese sowie pathophysiologisch an der kardialen und arteriellen Hypertrophie beteiligt sein könnte (Milano *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 1995; Zuscik *et al.*, 2001; O'Connell *et al.*, 2003).

Der pharmakologische Nachweis kontraktiler  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren in den arteriovenösen Anastomosen der *Carotis* des Schweins, einem vaskulären Migränemodell, lässt diesen Rezeptor als mögliche Zielstruktur zur Entwicklung neuer Migränetherapeutika erscheinen (Willems *et al.*, 2001, 2003).

### 1.2.1.3. $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptoren

Der  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptor konnte zuerst als kontraktiler Adrenozeptor der Rattenaorta identifiziert werden (Kenny *et al.*, 1995; Piascik *et al.*, 1995; Buckner *et al.*, 1996). Ebenso konnte er bei Nagetieren in anderen großen Arterien, wie z.B. in der *A. carotis*, *A. iliaca* und *Aa. pulmonales* der Ratte nachgewiesen werden (Villalobos-Molina & Ibarra, 1996; Piascik *et al.*, 1994, 1997; Hussain & Marshall, 1997; Oriowo *et al.*, 2003). Pharmakologisch lassen sich  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptoren u.a. mit Hilfe von Chloroethylclonidin charakterisieren, das überwiegend reversibel an diesen Rezeptor bindet (Villalobos-Molina *et al.*, 1997; Xiao & Jeffries, 1998). Zahlreiche, vom 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten Buspiron abgeleitete Verbindungen, wie z.B. BMY 7378, MDL 73005EF und Rec 26D/038, sind als selektive Antagonisten identifiziert worden (Saussy *et al.*, 1996; Goetz *et al.*, 1995; Leonardi *et al.*, 2004). Buspiron selbst fungiert als Agonist an  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptoren, nicht aber an  $\alpha_{1A}$ - und  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren (Eltze *et al.*, 1999). Ebenso zeigen die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin eine erhöhte Affinität und agonistische Potenz an  $\alpha_{1D}$ - gegenüber  $\alpha_{1A}$ - und  $\alpha_{1B}$ -Adrenozeptoren.

Während die Rolle des  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptors als kontraktiler Rezeptor in den Windkesselgefäßen der Nagetiere unstrittig ist (Hosoda *et al.*, 2005), gilt seine Funktion beim Menschen als nicht gesichert.

Das Scheitern des Nachweises einer  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptor-vermittelten Funktion in Blutgefäßen des Menschen wird mit der nahezu ausschließlich intrazellulären Lokalisation des humanen Rezeptors erklärt (Hrometz *et al.*, 1999; Chalothorn *et al.*, 2002; Hague *et al.*, 2004). Ungeachtet dessen wird eine Beteiligung des  $\alpha_{1D}$ -Rezeptors an der Wirksamkeit von Tamsulosin in der symptomatischen Therapie der benignen Prostatahyperplasie diskutiert (Michel & de la Rosette, 2004).

#### 1.2.1.4. $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptoren

Die Beobachtung, dass Prazosin eine erniedrigte Affinität ( $pK_B < 9,0$ ) zu einer in einigen Blutgefäßen (z.B. Kaninchenpulmonalarterien, Kaninchenaorta und Meerschweinchenaorta) vorkommenden  $\alpha_1$ -Adrenozeptorsubpopulation besitzt, führte zu der Postulierung eines vierten  $\alpha_1$ -Adrenozeptorsubtyps, dem  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor (Flavahan & Vanhoutte, 1986; Muramatsu *et al.*, 1990; Hieble & Ruffolo, 1996). Pharmakologisch ähnelt dieser Subtyp weitgehend dem  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor: A-61603 und Ro 115-1240 aktivieren den  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor, während Tamsulosin, B8805-033, SNAP 6383 und Silodosin potente Antagonisten sind (Kava *et al.*, 1998; Amobi *et al.*, 2003; Blue *et al.*, 2004; Eltze *et al.*, 2001a; Chang *et al.*, 2000; Yamagishi *et al.*, 1996). RS-17053 zeigt hingegen eine bis Faktor 100 geringere Affinität zum  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor als zum  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptor (Ford *et al.*, 1996).  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren, welche die pharmakologischen Eigenschaften des L-Subtyps zeigen, konnten insbesondere im Urogenitaltrakt nachgewiesen werden (Van der Graaf *et al.*, 1997; Nishi *et al.*, 1998; Martin *et al.*, 1997; Taniguchi *et al.*, 1997; Kava *et al.*, 1998; Pennefather *et al.*, 1999; Ford *et al.*, 1996; Amobi *et al.*, 1999; 2002). Im kardiovaskulären System, wie an den kleinen Mesenterialarterien (Ratte) und in der Ohrarterie (Kaninchen), kommen diese Rezeptoren hingegen nur vereinzelt vor (Stam *et al.*, 1999; Hiraizumi-Hiraoka *et al.*, 2004). Urogenitale  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptoren stellen daher eine Zielstruktur zur Entwicklung neuer nebenwirkungsärmerer Therapeutika zur Behandlung der benignen Prostatahyperplasie und der Stressinkontinenz dar.

Ein eigenständiges genomisches Korrelat für den  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor ist nicht bekannt. Ebenso konnte er nicht als eine Splicevariante anderer  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren identifiziert werden (Daniels *et al.*, 1999; Ramsay *et al.*, 2004). Andererseits ließ sich in Zellkulturversuchen demonstrieren, dass rekombinante  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptoren unter bestimmten Versuchsbedingungen die pharmakologischen Eigenschaften von  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptoren zeigen können (Daniels *et al.*, 1999). Daher wird angenommen, dass der  $\alpha_{1L}$ -Adrenozeptor eine gewebespezifische Konformationsvariante des  $\alpha_{1A}$ -Adrenozeptors darstellt (Ford *et al.*, 1997).

### 1.3. 5-HT-Rezeptoren und ihre vaskuläre Funktion

Derzeit sind 14 verschiedene 5-HT-Rezeptoren bei Säugetieren bekannt. Sie zeigen eine ausgesprochene phylogenetische Heterogenität (Vernier *et al.*, 1995; Hoyer & Martin, 1997; Fredriksson *et al.*, 2003). Während der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor ein Ionenkanal ist, stellen alle anderen 5-HT-Rezeptoren G-Protein-gekoppelte Rezeptoren der Rhodopsin-Familie dar. Die Klassifizierung der 14 5-HT-Rezeptoren in 7 Unterfamilien (5-HT<sub>1</sub> – 5-HT<sub>7</sub>) erfolgt erstens auf Grund ihrer physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften (Funktion, Ligandenbindung), zweitens anhand ihrer molekularen Struktur (Aminosäuresequenz, Genlokalisierung) und drittens anhand ihres Signaltransduktionsmechanismus. Natürlich vorkommende Mutterkornalkaloide und ihre partial-synthetischen Derivate spielten eine wichtige Rolle bei der Charakterisierung von 5-HT-Rezeptoren. Sie zeigen eine hohe Affinität zu nahezu allen 5-HT-Rezeptorsubtypen mit Ausnahme des 5-HT<sub>3</sub>- und des 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptors. Sind nicht alle der oben genannten Klassifizierungskriterien ausreichend untersucht (z.B. Identifizierung des Gens, aber nicht der Funktion), so sieht die IUPHAR-Nomenklatur die Verwendung von Kleinbuchstaben in der Rezeptorbezeichnung vor (z.B. 5-HT<sub>5A</sub>; Humphrey *et al.*, 1993; Hoyer *et al.*, 1994).

In Blutgefäßen konnten insbesondere 5-HT<sub>1B</sub>-, 5-HT<sub>2A</sub>-, 5-HT<sub>2B</sub>- und 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptoren identifiziert werden (Ullmer *et al.*, 1995). Je nach Blutgefäß führen diese Rezeptoren zu einer direkten Vasokonstriktion (5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> und 5-HT<sub>2B</sub>), einer direkten Vasorelaxation (5-HT<sub>7</sub>) oder einer indirekten Relaxation des Blutgefäßes durch Freisetzung von NO aus dem Endothel (5-HT<sub>1B</sub> und 5-HT<sub>2B</sub>) (Hoyer *et al.*, 1994, 2002; Watts & Cohen, 1999).

#### 1.3.1. 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren

5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren (Subtypen A, B, D, E und F) sind übereinstimmend G<sub>i/o</sub>-Protein-gekoppelte Rezeptoren, deren Stimulation zu einer Inhibition der Adenylcyclase führt. Ihre Untereinheiten zu mindestens 40% homologen Rezeptorproteine werden durch intronfreie Genabschnitte kodiert. Phylogenetisch sind sie einerseits mit 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren, 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptoren und  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren, aber andererseits auch mit D<sub>2</sub>-Rezeptoren und  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren verwandt (Fredriksson *et al.*, 2003). An 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren bindet 5-HT mit hoher Affinität. Das ursprüngliche Klassifizierungs-

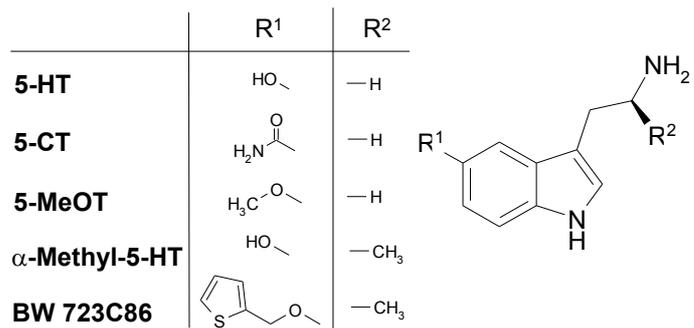


Abb. 6. 5-HT-Rezeptoragonisten 5-HT und 5-Carboxamidotryptamin (5-CT), 5-Methoxytryptamin (5-MeOT),  $\alpha$ -Methyl-5-HT und BW 723C86.

kriterium der hohen Affinität für 5-Carboxamidotryptamin (Bradley *et al.*, 1986) musste hingegen fallen gelassen werden, da die Anfang der 1990er Jahre entdeckten 5-HT<sub>1E</sub> und 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoren eine verhältnismäßig niedrige Affinität zu diesen Liganden zeigen.

### 1.3.1.1. 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor konnte durch die Selektivität des Aminotetralins 8-OH-DPAT und einer Reihe weiterer 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten als einer der ersten 5-HT-Rezeptoren charakterisiert werden (Arvidsson *et al.*, 1981; Gozlan *et al.*, 1983; Middlemiss & Fozard, 1983). Er ist in besonders hoher Dichte im limbischen System, im Hippocampus (überwiegend postsynaptisch) und in den *Nuclei raphe* (überwiegend präsynaptisch) zu finden. In diesen Organen spielt er eine Rolle bei der Regulation der Körpertemperatur sowie des Ess- und Bewegungsverhaltens (Hillegaart, 1991; Millan *et al.*, 1993). Darüber hinaus besitzen 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten, wie z.B. Buspiron, eine anxiolytische und antidepressive Wirkung (Tunnicliff, 1991).

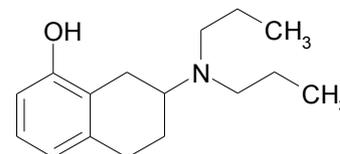


Abb. 7. Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT

In der Peripherie beeinflusst der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor insbesondere im Magen-Darm-Trakt als inhibitorischer Heterorezeptor die gastrointestinale Motilität (Kalkman *et al.*, 1986; Galligan, 1992). In Blutgefäßen konnte dieser Rezeptor mit Hilfe molekularbiologischer und pharmakologischer Methoden nur in Einzelfällen nachgewiesen werden. An der *A. basilaris* des Kaninchens wurde anhand von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten ein signifikanter Zusammenhang zwischen Affinität dieser Liganden zum 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor und der durch sie induzierten Vasokonstriktion demonstriert (Eltze *et al.*, 2001a). Die blutdrucksenkenden Effekte von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten werden hingegen nicht einer direkten Interaktion mit vaskulären Rezeptoren zugeschrieben, sondern einer zentralen Hemmung des Sympathikustonus (McCall & Clement, 1994). Diese zentrale Hemmung wird als ein Bestandteil der antihypertensiven Wirksamkeit des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten und  $\alpha_1$ -Adrenozeptorantagonisten Urapidil angesehen (Van Zwieten, 1989; Kolassa *et al.*, 1989a,b).

Auch das *Abeo*-Ergolin PNU 160542 und das biogene *N*-[(2*R*,5*S*,8*aS*)-8-Benzyl-dihydro-8*a*-hydroxymethyl-5-isobutyl-2-methyl-3,6-dioxo-2*H*,5*H*,7*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrazin-2-yl]lysergsäureamid konnten als selektive 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten identifiziert werden (Mantegani *et al.*, 1999; Vazquez *et al.*, 2003). Eine klinische Weiterentwicklung beider Substanzen ist jedoch nicht geplant. Bromocriptin, Lisurid, Methysergid, Dihydroergotamin, Ergotamin und Metergolin besitzen ebenfalls eine hohe Affinität zu 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren (Pertz & Eich, 1999; Millan *et al.*, 2002). Auch ein Teil der zentral stimulierenden Effekte von LSD wird auf eine Aktivierung von 5-HT<sub>1A</sub>-

Rezeptoren zurückgeführt (Benneyworth *et al.*, 2005).

### 1.3.1.2. 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor wurde früher u.a. mit dem 5-HT<sub>1D</sub>-, dem 5-HT<sub>1F</sub>- und dem 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor auf Grund pharmakologischer Analogien unter der Bezeichnung „5-HT<sub>1</sub>-ähnlich“ zusammengefasst (Bradley *et al.*, 1986; Saxena *et al.*, 1998). Der humane 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor zeigt eine 63%ige Homologie zum humanen 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptor, mit dem er eine eigene Subfamilie innerhalb der 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren bildet („5-HT<sub>1B/1D</sub>“) (Hartig *et al.*, 1992). Darüber hinaus ist dieser Rezeptor für speciesabhängige Unterschiede in der Aminosäuresequenz und in der Pharmakologie bekannt. In Punktmutationsstudien konnte demonstriert werden, dass neben Unterschieden in der Größe des Rezeptors (386 Aminosäuren bei Ratte und Maus vs. 390 Aminosäuren beim Menschen) insbesondere die in Position 355 des humanen 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptors vorkommende Aminosäure Threonin (Nagetiere: Asparagin) für ausgeprägte speciesabhängige Affinitätsunterschiede der Liganden zum Rezeptor verantwortlich ist (Oksenberg *et al.*, 1992). Diese Problematik erschwerte lange Zeit die Charakterisierung dieses Rezeptors und die Entwicklung subtypelektiver Liganden.

Der 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor kann als präsynaptischer Heterorezeptor auf glutamatergen, cholinergen, noradrenergen, dopaminergen und gabaergen Neuronen gefunden werden. Eine wichtigere Funktion besitzt er als präsynaptischer Autorezeptor in den Basalganglien, im *Striatum* und im frontalen *Cortex* (Pauwels, 1997). Die 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren des Zentralnervensystems scheinen u.a.

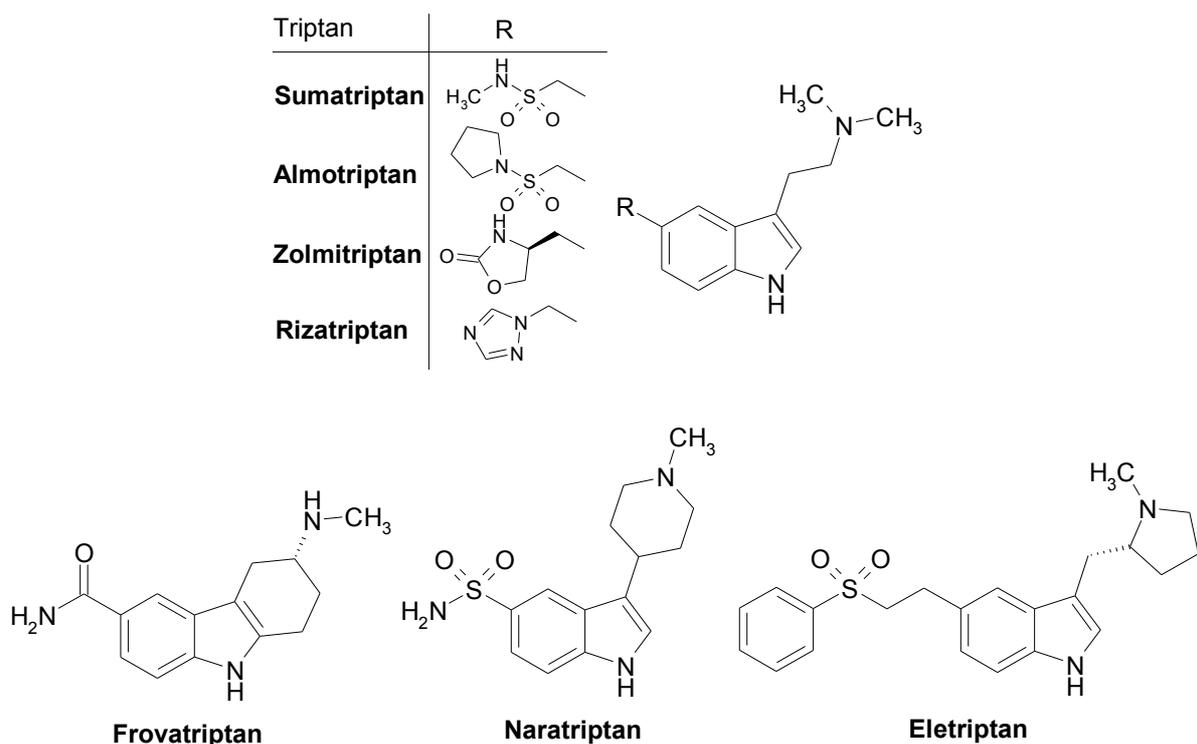


Abb. 8. Triptane als 5-HT<sub>1B/1D</sub>-Rezeptoragonisten

an der Regulation des Bewegungsverhaltens, des Essverhaltens und der Körpertemperatur beteiligt zu sein (Grean & Heal, 1985; Skingle *et al.*, 1996). Außer im Zentralnervensystem kann der 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor und seine mRNA in der glatten Muskulatur fast aller Blutgefäße nachgewiesen werden (Ullmer *et al.*, 1995; Bouchelet *et al.*, 1996, 2000; Ishida *et al.*, 1999; Morecroft *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 1999a,b; Razzaque *et al.*, 2002; Van den Broek *et al.*, 2002). Der glattmuskuläre 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor, der eine dominierende Rolle bei der Kontraktion der *Vena saphena* des Hundes und des Kaninchens sowie der *A. basilaris* des Menschen besitzt (Feniuk *et al.*, 1985; Tadipatri *et al.*, 1992; Choppin & O'Connor, 1993; Van Heuven-Nolsen *et al.*, 1990; Parsons *et al.*, 1989), ist neben dem 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor der wichtigste kontraktile 5-HT-Rezeptor (Hoyer *et al.*, 1994). Eine Aktivierung endothelialer 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren, wie sie z.B. in der Schweinekoronararterie und in der *V. jugularis* des Meerschweinchens beobachtet werden konnte, führt hingegen über eine Freisetzung von NO zu einer Relaxation der glatten Muskulatur (Schoeffter & Hoyer 1990; Gupta 1992).

Der 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor ist darüber hinaus eine beliebte Zielstruktur zur Behandlung des akuten Migräneanfalls. Obwohl dessen Pathogenese nicht vollständig aufgeklärt ist, wird die Antimigräne-wirksamkeit von 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoragonisten aus der Gruppe der Ergoline (z.B. Ergotamin und Dihydroergotamin) und der Triptane (z.B. Sumatriptan) mit ihren vaskulären und neuronalen Effekten erklärt. So führen diese Liganden über eine Aktivierung von 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren einerseits zu einer Konstriktion der beim Migräneanfall pathologisch dilatierten Kranialgefäße (Longmore *et al.*, 1997; Nilsson *et al.*, 1999a; van den Broek *et al.*, 2002), andererseits hemmen sie unter Beteiligung anderer 5-HT-Rezeptoren (insbesondere 5-HT<sub>1D</sub> und 5-HT<sub>1F</sub>) die Induktion der trigeminal-neuronalen Entzündung und die Transmission in den trigeminalen *Nucleus caudalis* (Moskowitz & Cutrer, 1993; Rebeck *et al.*, 1994; Goadsby, 2000). Die 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor-agonistischen Effekte von Triptanen werden jedoch auch mit peripheren Nebenwirkungen, wie z.B. der *Angina-pectoris*-artigen

Symptomatik durch Konstriktion der Herzkranzgefäße, in Verbindung gebracht (Parsons *et al.*, 1998; MaassenVanDenBrink *et al.*, 1998, 2000; Bou *et al.*, 2001; van den Broek *et al.*, 2002).

Ausgehend von Sumatriptan wurden eine Reihe neuer Migränetherapeu-

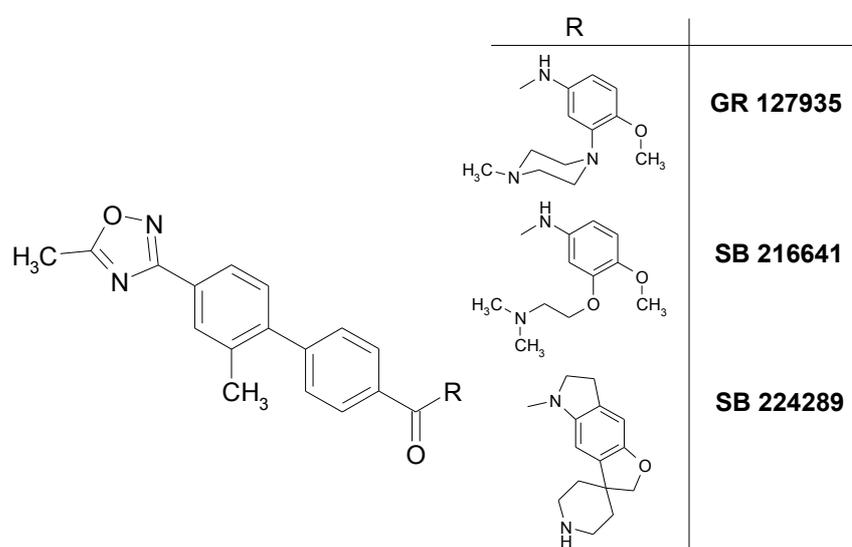


Abb. 9. Nichtselektive und selektive 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptorantagonisten

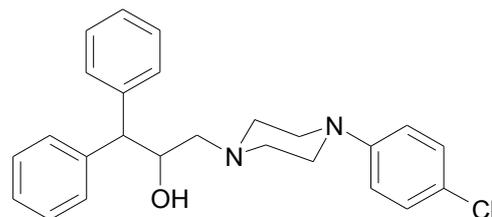
tika, die sogenannten „Triptane der 2. Generation“, wie Almotriptan, Avitriptan, Eletriptan, Donitriptan, Frovatriptan, Naratriptan, Rizatriptan und Zolmitriptan, entwickelt. Sie unterscheiden sich zwar pharmakokinetisch vom Sumatriptan, doch ihre Selektivität gegenüber dem 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptor ist unverändert. Als Liganden mit einer moderaten Selektivität für den 5-HT<sub>1B</sub>-Subtyp stehen heute lediglich Antagonisten abgeleitet vom nichtselektiven 5-HT<sub>1B/1D</sub>-Rezeptorliganden GR 127935 zur Verfügung (SB 216641 und SB 224289; Price *et al.*, 1997; Gaster *et al.*, 1998).

Die Ergoline Ergotamin und Dihydroergotamin sind potente Agonisten *in vitro* an 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren der Rattensaphenave, der Hundesaphenave und der Hundekoronararterie (Cohen & Schenck, 2000; Müller-Schweinitzer, 1990; Valentin *et al.*, 1998) sowie *in vivo* an 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren der Halsschlagader des Hundes und der arteriovenösen Anastomosen der Halsschlagadern des Schweins (Villalón *et al.*, 1999; Valdivia *et al.*, 2004; den Boer *et al.*, 1991; DeVries *et al.*, 1998). Ergometrin, Methylergometrin und insbesondere Lysergol konnten *in vitro* ebenfalls als potente Agonisten an vaskulären 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren identifiziert werden (Pertz, 1993).

### 1.3.1.3. 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptor, der im Vergleich zu seinem nächsten Verwandten, dem 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptor nur in geringer Menge exprimiert wird, kommt als präsynaptischer Autorezeptor im Zentralnervensystem vor (insbesondere in den Basalganglien des *Globus pallidus* und der *Substantia nigra* sowie in den *Nuclei raphe*). Als präsynaptischer Heterorezeptor konnte er darüber hinaus beispielsweise auf noradrenergen Neuronen des menschlichen Vorhofes nachgewiesen werden. In geringer Konzentration wurde dieser Rezeptor außerdem in einigen Blutgefäßen mit Hilfe molekularbiologischer und immunochemischer Methoden detektiert (Branchek *et al.* 1995; Verheggen *et al.*, 1998; Morecroft *et al.*, 1999; Murdoch *et al.*, 2003). Eine funktionelle Beteiligung an vasokonstriktiven Effekten konnte bisher nur an der Kaninchenpulmonalarterie demonstriert werden (Murdoch *et al.*, 2003). Da nach Aktivierung des 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptors im Gegensatz zur Aktivierung des 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptors somit keine nennenswerten kardiovaskulären Nebenwirkungen zu erwarten sind, wurden kürzlich selektive 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoragonisten wie Alniditan, PNU 109291 und PNU 142633 zur Behandlung der Migräne klinisch erprobt (Diener *et al.*, 2001; Gomez-Mancilla *et al.*, 2001).

Mit BRL 15572 steht darüber hinaus ein 5-HT-Rezeptorantagonist zur Verfügung, der eine 60fach höhere Affinität zu humanen 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptoren im Vergleich zu seiner Affinität zu humanen 5-HT<sub>1B</sub>-



**Abb. 10.** Der selektive 5-HT<sub>1D</sub>-Rezeptorantagonist BRL 15572

Rezeptoren besitzt (Price *et al.*, 1997). Diese Subtypselektivität scheint jedoch speciesabhängig zu sein und konnte beispielsweise nicht beim Schwein beobachtet werden (Bhalla *et al.*, 2000).

#### 1.3.1.4. 5-ht<sub>1E</sub>-Rezeptoren

Der 1993 erstmalig klonierte 5-ht<sub>1E</sub>-Rezeptor hebt sich von anderen 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren durch eine vergleichsweise niedrige Rezeptoraffinität von 5-Carboxamidotryptamin ab. Die mRNA dieses Rezeptors konnte im *Cortex*, im *Striatum* und im Hypothalamus nachgewiesen werden (Bruinvels *et al.*, 1994). Seine Funktion ist weitgehend unbekannt.

#### 1.3.1.5. 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptor konnte molekularbiologisch im Zentralnervensystem (Hippocampus, *Cortex*, *Striatum*, Thalamus und Hypothalamus), im *Mesenterium* und im Uterus nachgewiesen werden. In Blutgefäßen wird dieser Rezeptor nicht oder nur in geringer Konzentration exprimiert (Ullmer *et al.*, 1995; Bouchelet *et al.*, 1996, 2000; Ishida *et al.*, 1999; Nilsson *et al.*, 1999b). Für den 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptor sind keine kardiovaskulären Funktionen bekannt. Hingegen führt eine Aktivierung zentraler 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoren zu einer Hemmung der neurogenen Freisetzung entzündlicher Peptide aus der *Dura mater* (Johnson *et al.*, 1997). Dieser Rezeptor stellt damit eine mögliche Zielstruktur für die Entwicklung von Migränetherapeutika ohne kardiovaskuläre Nebenwirkungen dar. Tatsächlich fungieren zahlreiche migränewirksame Ergoline (z.B. Dihydroergotamin) und Triptane (z.B. Sumatriptan) als potente, volle Agonisten am 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptor, während das nahezu migräneunwirksame 5-HT<sub>1B/1D</sub>-Rezeptor-selektive Triptan Donitriptan nur eine sehr geringe Affinität zum 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptor zeigt (John *et al.*, 1999). Neue selektive 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoragonisten, wie z.B. die 5-Aminotryptamine LY 334370 und LY 344864, wurden kürzlich klinisch getestet (Goldstein *et al.*, 2001).

### 1.3.2. 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren

Die 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorsubtypen A, B und C sind G<sub>q/11</sub>-Protein-gekoppelte Rezeptoren, deren Stimulation über eine Aktivierung der Phospholipase C zu einem intrazellulären Anstieg der *Second messenger* Inositoltrisphosphat (IP<sub>3</sub>) und Diacylglycerol (DAG) führt. Ihre DNAs zeigen eine mindestens 42%ige Homologie und sind durch das Vorkommen von Introns gekennzeichnet. Pharmakologisch ist eine hohe agonistische Potenz von  $\alpha$ -Methyl-5-HT und eine niedrige agonistische Potenz von 5-Carboxamidotryptamin charakteristisch für 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren.

### 1.3.2.1. 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor ist nahezu ubiquitär im Organismus verbreitet. Er konnte beispielsweise im Zentralnervensystem, im Magen-Darm-Trakt, im Herz-Kreislauf-System und sogar auf den Thrombozyten nachgewiesen werden. Auf molekularer Ebene besteht der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor des Menschen, der Maus und der Ratte aus 471 Aminosäuren. Beobachtete Speciesunterschiede in der Pharmakologie 1-alkylierter Ergoline (z.B. Mesulergin und Methysergid) konnten durch einen Austausch der Aminosäure Serin S242 des Menschen gegen Alanin A242 der Nagetiere erklärt werden (Kao *et al.*, 1992; Johnson *et al.*, 1994; Ebersole *et al.*, 2003).

Im Gehirn kommt der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor als postsynaptischer Rezeptor auf Neuronen in der Hirnrinde vor. Darüber hinaus fungiert er als präsynaptischer Heterorezeptor auf gabaergen, glutamatergen und cholinergen Neuronen im Hirnstamm und im *Cortex*. Eine Aktivierung zentraler 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren durch 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoragonisten, wie LSD und 2,5-Dimethoxy-4-bromamphetamin (DOB), verursacht Halluzinationen beim Menschen und Verhaltensveränderungen bei Nagetieren (Aghajanian & Marek, 1999; Nichols, 2004; Benneyworth *et al.*, 2005).

Andererseits zeigen 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. MDL 100907, Ritanserin, Clozapin, Olanzapin und Risperidon, eine antipsychotische Wirksamkeit und haben sich in der Therapie der Schizophrenie bewährt. Antipsychotika mit einer Selektivität für 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren gegenüber D<sub>2</sub>-Rezeptoren zeigen eine partielle Wirksamkeit auf die Negativsymptomatik der Schizophrenie (Apathie, Affektverflachung, emotionaler Rückzug). Sie werden daher als „atypisch“ bezeichnet (Meltzer & Nash, 1991; Schmidt *et al.*, 1995; Meltzer, 1999; de Angelis, 2002).

Therapeutische Anwendung hat auch die Hemmung der Blutgerinnung durch Hemmung von 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche gefunden (Sarpogrelat). Im Gastrointestinaltrakt konnte dieser Rezeptor ebenfalls nachgewiesen werden. Hier führt er, wie am Meerschweinchen gezeigt wurde, zu einer Kontraktion der Längsmuskulatur des *Ileums* (Engel *et al.*, 1984). Auch die uterotone Wirkung von Ergometrin und Methylergometrin wird entgegen der allgemeinen Lehrmeinung, nicht mehr auf einen direkten, rezeptorunabhängigen Mechanismus, sondern ebenfalls auf eine Aktivierung von 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren zurückgeführt (Hollingworth *et al.*, 1988).

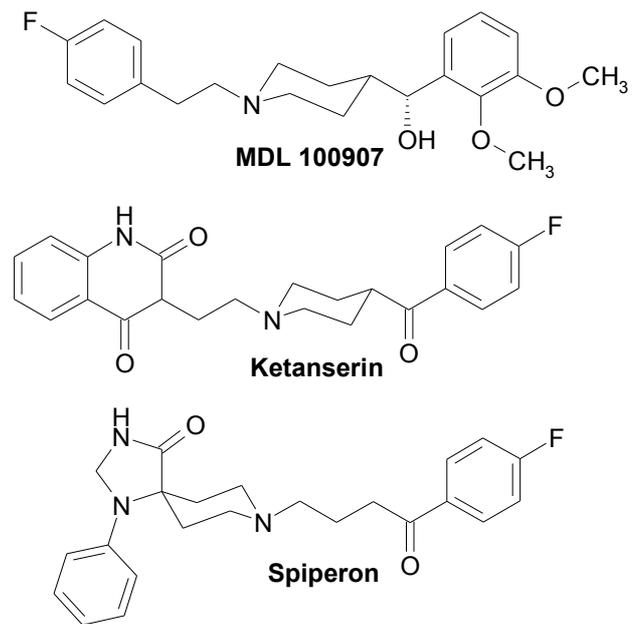


Abb. 11. 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorantagonisten

Die in der *Tunica media* nahezu aller Blutgefäße vorkommenden 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren sind hauptverantwortlich für die durch 5-HT induzierte Vasokonstriktion, verbunden mit einem intermediären Anstieg des Blutdrucks (Saxena & Lawang, 1985; Watts & Cohen, 1999). Als pharmakologische Modelle haben sich insbesondere die Aorta, die Jugularvene und die Schwanzarterie der Ratte bewährt (Cohen *et al.*, 1981, 1983; Van Neuten *et al.*, 1981; Bradley *et al.*, 1985; Leff & Martin, 1986). Auch die kontraktile Effekte von Ergotamin in peripheren Blutgefäßen werden zu wesentlichen Teilen durch Aktivierung von 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren vermittelt. *In vitro* führen 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. Ketanserin, sowie die Ergoline LY 53857, Amesergid und Sergolexol zu einer Antagonisierung der 5-HT-induzierten Vasokonstriktion. *In vivo* hingegen erwiesen sich bis auf Ketanserin alle 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptorantagonisten bezüglich einer Blutdrucksenkung als unwirksam (Cohen *et al.*, 1985a,b, 1988, 1992; Foreman *et al.*, 1992). Für die antihypertensive Wirksamkeit von Ketanserin wird auch seine hohe Affinität zu  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren verantwortlich gemacht (Kalkman *et al.*, 1983; Reimann & Frohlich, 1983; McCall & Clement, 1994).

### 1.3.2.2. 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptor zeichnet sich im Gegensatz zu anderen 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren durch eine höhere agonistische Potenz von 5-HT,  $\alpha$ -Methyl-5-HT und 5-Methoxytryptamin aus. Auch Ergotamin und Dihydroergotamin konnten als 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoragonisten identifiziert werden (Glusa & Roos, 1996). Die mRNA dieses Rezeptors wurde im Gastrointestinaltrakt, im Herz, in Blutgefäßen und in der Niere diverser *Species* detektiert. Die Bedeutung des 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptors im Zentralnervensystem wird kontrovers diskutiert (Mengod *et al.*, 1999). Immunohistochemisch konnte dieser Rezeptor im Zentralnervensystem in Kernen des *Cerebellums*, im lateralen *Septum*, im Hypothalamus und in den medialen *Amygdala* lediglich in geringer Konzentration detektiert werden (Duxon *et al.*, 1997a). Dennoch wird eine Aktivierung zentralnervöser 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren durch selektive 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoragonisten wie BW 723C86 mit anxiolytischen Effekten und einer Appetitsteigerung in Verbindung gebracht (Duxon *et al.*, 1997b; Kennett *et al.*, 1997a). Die seit den 1950er Jahren bekannte 5-HT-induzierte Kontraktion des Rattenfundus wird ebenfalls durch diesen, ursprünglich als 5-HT<sub>2F</sub>-Rezeptor bezeichneten Subtyp vermittelt (Vane, 1957; Kursar *et al.*, 1992; Wainscott *et al.*, 1993).

In Blutgefäßen konnte der 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptor sowohl auf glatten Muskelzellen als auch auf Endothelzellen nachgewiesen werden (Ullmer *et al.*, 1995). Kontraktile glattmuskuläre 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren scheinen bei der Mineralocorticoid-induzierten Hypertension eine Rolle zu spielen (Watts *et al.*, 1995; Watts, 1998; Banes & Watts, 2002). Eine chronische Stimulation

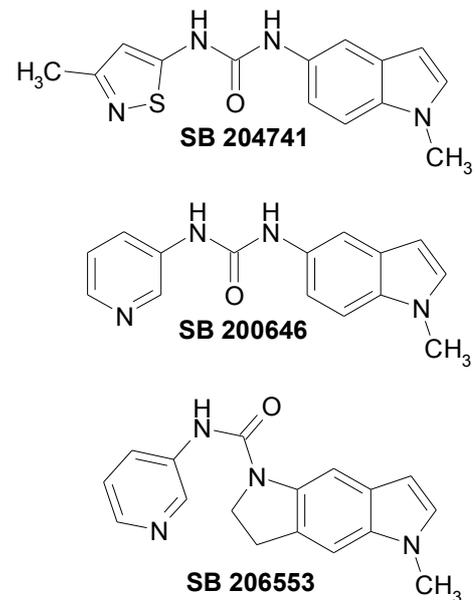
glattmuskulärer und kardialer 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren wird über eine Aktivierung von MAP-Kinasen mit fibrotischen Veränderungen im Gefäß- und Herzmuskel in Verbindung gebracht. Dieser Mechanismus erklärt die durch einige Antiparkinsonmittel (z.B. Pergolid) induzierten Herzklappenschäden und die unter der Therapie mit Appetitzüglern (z.B. Dexfenfluramin und Aminorex) auftretende Pulmonale Hypertonie (Fitzgerald *et al.*, 2000; Rothman *et al.*, 2000; Launay *et al.*, 2002; Nebigil *et al.*, 2003; Setola *et al.*, 2003; van Camp *et al.*, 2004; Horvath *et al.*, 2004).

Eine Aktivierung endothelialer 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptoren ist in einigen Blutgefäßen für eine schnelle Vasorelaxation über eine Freisetzung von NO aus dem Endothel verantwortlich. Für die Freisetzung von NO wird ein Phospholipase-C-unabhängiger Mechanismus diskutiert (Ullmer *et al.*, 1996). Der 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptor konnte außer in den Pulmonalarterien des Schweins und der *V. jugularis* der Ratte auch im Endothel meningealer Blutgefäße des Menschen detektiert werden (Glusa & Roos, 1996; Glusa & Pertz, 2000; Ellis *et al.*, 1995; Schmuck *et al.*, 1996). Somit stellt der 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptor eine mögliche Zielstruktur in der Migräneprophylaxe für bewährte (z.B. Methysergid, Lisurid und Pizotifen) und potenziell neue Arzneistoffe (z.B. SB 200646, SB 204741 und SB 206553; Forbes *et al.*, 1993, 1995a,b) dar (Schmuck *et al.*, 1996; Hoyer *et al.*, 2002).

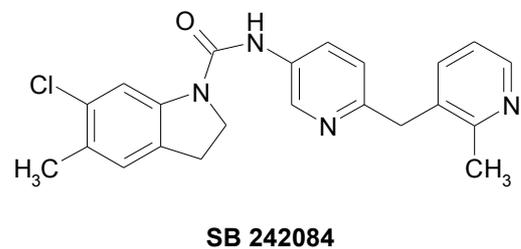
### 1.3.2.3. 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren

Das 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptorgen zeichnet sich durch eine komplexe Exon-Intron-Struktur aus. Auch mRNA-editierte Varianten wurde beschrieben (Burns *et al.*, 1997; Fitzgerald *et al.*, 1999; Hoyer *et al.*, 2002). Der 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor kommt nahezu ausschließlich als postsynaptischer Rezeptor im Zentralnervensystem vor (insbesondere im *Plexus choroideus*, im

limbischen System, in den Thalamus-Kernen, in den Basalganglien und in der *Substantia nigra*; Mengod *et al.*, 1999). Eine Stimulation des 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptors wird mit einem reduzierten Bewegungsverhalten, Angst, peniler Erektion und verminderter Nahrungsaufnahme assoziiert



**Abb. 12.** Selektive und nichtselektive 5-HT<sub>2B</sub>-Rezeptorantagonisten



**Abb. 13.** Der selektive 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptorantagonist SB 242084

(Millan *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1998; Mehta *et al.*, 2001; Vickers *et al.*, 2001). Selektive 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. SB 242084 und RS 102221, zeigten anxiolytische und Appetitsteigernde Effekte in diversen Tiermodellen (Bromidge *et al.*, 1997; Kennett *et al.*, 1997b; Bonhaus *et al.*, 1997). Kardiovaskuläre Funktionen dieses Rezeptors sind nicht bekannt.

Neben Ergotamin und Dihydroergotamin (Brown *et al.*, 1991; Schaerlinger *et al.*, 2000) ist auch LSD ein potenter Agonist am 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor. Im Gegensatz zu 5-HT führt LSD bevorzugt zu einer Aktivierung der Phospholipase A<sub>2</sub>, nicht aber zu einer Veränderung des Calciuminfluxes (Liganden-gesteuerter Agonismus; Kenakin, 1995; Berg *et al.*, 1998; Backstrom *et al.*, 1999).

### 1.3.3. 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor ist im Gegensatz zu allen anderen 5-HT-Rezeptoren ein ligandengesteuerter Ionenkanal. Am Aufbau dieses pentameren Natrium- und Kaliumkanals sind sowohl 5-HT<sub>3A</sub>- als auch 5-HT<sub>3B</sub>-Untereinheiten beteiligt (Dubin *et al.*, 1999; Hanna *et al.*, 2000). Eine mögliche dritte Untereinheit (5-HT<sub>3C</sub>) konnte zwar kloniert werden, jedoch ist nicht bekannt, ob diese am Aufbau eines intakten Rezeptors beteiligt ist (Dubin *et al.*, 2001).

Der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor kommt ausschließlich neuronal vor. Im Zentralnervensystem kann er u.a. in weiten Teilen des Hirnstamms (*Area postrema*, *Nucleus dorsalis nervi vagi*, *Nucleus solitarius*, *Nucleus spinalis nervi trigemini*), im limbischen System (*Hippocampus*, *Amygdala* und *Habenulae*), im Thalamus und im cerebralen *Cortex* nachgewiesen werden (Mengod *et al.*, 1999). Eine Aktivierung der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren in der *Area postrema* führt zu einer Auslösung des Brechreflexes. 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. Ondansetron und Granisetron, haben sich in der Therapie des Zytostatika-induzierten Erbrechens bewährt. Daneben sind zentrale 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren über eine Hemmung kardiovagaler Neurone an der initialen Bradykardie und Hypotonie nach intravaskulärer Applikation von 5-HT beteiligt (*Bezold-Jarisch-Reflex*; Kalkman *et al.*, 1984; Saxena & Lawang, 1985; Sévoz *et al.*, 1996; Pires *et al.*, 1998; Aviado & Aviado, 2001).

In der Peripherie kommt der 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor als prä- und postsynaptischer Rezeptor im autonomen und sensorischen Nervensystem vor. So ist dieser Rezeptor an der gastrointestinalen Motilität und Sekretion beteiligt (De Ponti & Tonini, 2001).

### 1.3.4. 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren

Der 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptor ist ein G<sub>s</sub>-Protein-gekoppelter Rezeptor, von dem mindestens 8 Splicevarianten (5-HT<sub>4(a-i)</sub>) bekannt sind, die sich in ihrer C-terminalen Sequenz unterscheiden (Hoyer *et al.*, 2002;

Brattelid *et al.*, 2004). An allen Splicevarianten ist 5-Methoxytryptamin ein potenter Agonist, der zu einem intrazellulären Anstieg von cAMP führt. Diese Rezeptoren können sowohl im Zentralnervensystem (insbesondere im mesolimbischen und nigrostriatalen System; Mengod *et al.*, 1999) als auch im peripheren Gewebe nachgewiesen werden. Im Gastrointestinaltrakt führt er einerseits als präsynaptischer Heterorezeptor zu einer Ausschüttung von Acetylcholin und einer vermehrten Peristaltik und andererseits zu einer Kontraktion von Ösophagus und Colon, wie an Ratte und Meerschweinchen demonstriert werden konnte (Craig & Clarke, 1990, 1991; Baxter *et al.*, 1991; Elswood *et al.*, 1991). 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoragonisten und -partialagonisten, wie Cisaprid und Tegaserod, wurden daher als Prokinetika und zur Therapie des Reizdarmsyndroms eingesetzt. Eine Aktivierung kardialer 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren wird mit positiver Inotropie, Tachykardie und Arrhythmien in Verbindung gebracht, die zu einer Markrücknahme dieser Substanzen führten.

5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren konnten darüber hinaus in intakten Blutgefäßen des Schweins und in kultivierten humanen Endothelzellen nachgewiesen werden (Ullmer *et al.*, 1995). Vaskuläre, 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptorvermittelte Effekte sind nicht bekannt.

### **1.3.5. 5-ht<sub>5</sub>-Rezeptoren**

Die beiden 5-ht<sub>5</sub>-Rezeptorsubtypen 5-ht<sub>5A</sub> und 5-ht<sub>5B</sub> zeigen eine sehr hohe phylogenetische Verwandtschaft und eine mindestens 70%ige Homologie in ihrer Aminosäuresequenz. Der G<sub>i/o</sub>-Protein-gekoppelte 5-ht<sub>5A</sub>-Rezeptor, der die Pharmakologie 5-HT<sub>1</sub>-ähnlicher Rezeptoren zeigt, konnte im limbischen System, im Hypothalamus, und im Kleinhirn nachgewiesen werden (Mengod *et al.*, 1999). Seine Funktion ist praktisch unbekannt. Möglicherweise ist er als präsynaptischer Autorezeptor an der circadianen Rhythmik und als präsynaptischer Heterorezeptor an der sympathischen Regulation des Herzrhythmus beteiligt (Sprouse *et al.*, 2004; Sánchez-López *et al.*, 2003). Einige Ergoline, wie Methysergid und Ergotamin, zeigen eine hohe Affinität zu diesem Rezeptor (Erlander *et al.*, 1993; Rees *et al.*, 1994).

Das 5-ht<sub>5B</sub>-Rezeptorgen des Menschen ist im Gegensatz zu dem der Ratte und der Maus ein Pseudogen, das bedingt durch ein Stoppcodon kein funktionelles Protein codieren kann (Matthes *et al.*, 1993; Grailhe *et al.*, 2001).

### **1.3.6. 5-ht<sub>6</sub>-Rezeptoren**

Wie auch der 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptor besitzt der 5-ht<sub>6</sub>-Rezeptor nur eine entfernte Verwandtschaft zu den anderen G-Protein-gekoppelten 5-HT-Rezeptoren (Fredriksson *et al.*, 2003; Ruat *et al.*, 1993a). Er konnte bisher nur im Zentralnervensystem (insbesondere in *Striatum*, *Amygdala*, Hippocampus,

*Bulbus olfactorius*, sowie im *Cortex* und im Kleinhirn) nachgewiesen werden und spielt keine Rolle im Herz-Kreislauf-System (Mengod *et al.*, 1999). Über seine Funktion ist ebenfalls nur wenig bekannt; möglicherweise steuert er zentrale cholinerge Prozesse. Experimente mit *Antisense*-Oligonukleotiden und selektiven Antagonisten, wie SB 357134 und Ro 04-6790, deuten auf eine Beteiligung des 5-HT<sub>6</sub>-Rezeptors bei Lernprozessen hin (Stean *et al.*, 2002; Woolley *et al.*, 2001; Meneses, 2001) und machen ihn zu einer möglichen Zielstruktur für die Entwicklung neuer antidementiver Arzneistoffe (Branchek & Blackburn, 2000). Darüber hinaus zeigen zahlreiche Antipsychotika eine nennenswerte Affinität zu diesem Rezeptor (Roth *et al.*, 1994).

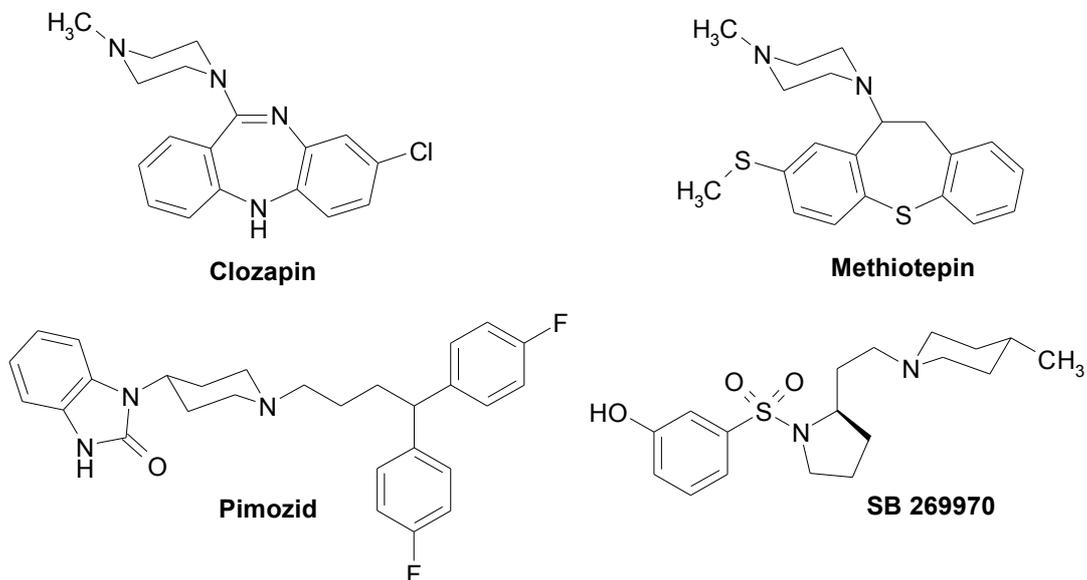
### 1.3.7. 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptoren

Eine Stimulation des 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptors führt zu einer Aktivierung der Adenylylcyclase (Bard *et al.*, 1993; Plassat *et al.*, 1993; Shen *et al.*, 1993; Ruat *et al.*, 1993b; Lovenberg *et al.*, 1993). Phylogenetisch ist dieser Rezeptor einerseits mit dem 5-h<sub>5A</sub>-Rezeptor und andererseits mit den 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptorsubtypen verwandt (Fredriksson *et al.*, 2003; Hoyer & Martin, 1997). Der 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor wird durch ein Gen mit zwei Intronabschnitten kodiert (Bard *et al.*, 1993; Shen *et al.*, 1993). Unterschiedliches *Splicing* führt zu vier verschiedenen Isoformen (5-HT<sub>7(a,b,d)</sub> beim Menschen und 5-HT<sub>7(a,b,c)</sub> bei der Ratte), die sich in ihren C-terminalen Proteinsequenzen unterscheiden (Heidmann *et al.*, 1997). Diese Splicevarianten zeigen jedoch keine signifikanten Unterschiede in ihrer Pharmakologie und der Signaltransduktion (Jasper *et al.*, 1997; Heidmann *et al.*, 1998).

Im Zentralnervensystem konnte dieser Rezeptor molekularbiologisch und autoradiographisch unter Verwendung von [<sup>3</sup>H]5-Carboxamidotryptamin in hoher Dichte im Thalamus, im Hypothalamus und in Strukturen des limbischen Systems nachgewiesen werden (Mengod *et al.*, 1999). Durch sein zentralnervöses Vorkommen und auf Grund der Tatsache, dass zahlreiche Antidepressiva und Neuroleptika (einschl. Clozapin, Pimozid, Spiperon und Methiothepin) eine hohe Affinität zum 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor zeigen, wird er als mögliche Zielstruktur für die Entwicklung neuer antipsychotisch wirksamer Arzneistoffe diskutiert (Roth *et al.*, 1994; Lucchelli *et al.*, 2000; Hoyer *et al.*, 2002). Darüber hinaus sind zentrale 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptoren an der Regulation der Körpertemperatur sowie an der Steuerung des Lernens, des Tag-Nacht-Rhythmus und der Schlafphasen beteiligt (Hedlund & Sutcliffe, 2004).

Die mRNA des 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptors konnte ebenso nahezu im gesamten kardiovaskulären System nachgewiesen werden (Bard *et al.*, 1993; Plassat *et al.*, 1993; Shen *et al.*, 1993; Ullmer *et al.*, 1995; Ishine *et al.*, 2000; Bhalla *et al.*, 2002b). Der 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor, ursprünglich als 5-HT<sub>1</sub>-ähnlicher Rezeptor bezeichnet, wird hier mit einer langsamen, aber lang anhaltenden, endothelunabhängigen Vasorelaxation nach intravaskulärer Applikation von 5-Carboxamidotryptamin in Verbindung

gebracht (Kalkman *et al.*, 1984; Saxena & Lawang, 1985; DeVries *et al.*, 1997; Terrón, 1997; Saxena *et al.*, 1998). 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor-vermittelte, vasorelaxierende Effekte konnten auch in der Aorta des Weißbüschelaffen (Dyer *et al.*, 1998), in der *V. femoralis* und den *Aa. pulmonales* des Kaninchens (Morecroft & MacLean, 1998), in der *A. coronaria*, der *A. cerebralis* und der *A. carotis* des Hundes (Terrón, 1996; Terrón & Falcón-Neri, 1999; Villalón *et al.*, 1997; Centurión *et al.*, 2000), in der *A. meningealis* der Katze (Lambert *et al.*, 2004), in der *V. pialis* des Schweins (Ishine *et al.*, 2000) und in der *V. jugularis* des Langschwanzmakaken (Leung *et al.*, 1996) nachgewiesen werden. Darüber hinaus ist er an der Relaxation des *Myometriums* und der Eileiter des Schweins (Kitazawa *et al.*, 1998, 2000; Inoue *et al.*, 2003), an der Relaxation des Hundemagens (Janssen *et al.*, 2004) und an der Hemmung der Substanz-P-induzierten Kontraktion des Meerschweinchenileums beteiligt (Carter *et al.*, 1995; Lucchelli *et al.*, 2000). Das Meerschweinchenileum hat sich als funktioneller *In-vitro-Assay* zur Charakterisierung 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor-vermittelter Effekte bewährt. Das Vorkommen des 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptors in zentralen Blutgefäßen wird auch mit der migräneprophylaktischen Wirkung einiger 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor-antagonistisch wirksamer Ergoline, wie z.B. Methysergid, Dihydroergotamin und Lisurid, assoziiert. Neue, selektivere 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptorantagonisten wie SB 258719, SB 269970 und DR 4004 könnten daher ebenfalls potenzielle Arzneistoffe in der Migräneprophylaxe darstellen (Forbes *et al.*, 1998; Lovell *et al.*, 2000; Villalón *et al.*, 2003).



**Abb. 14.** Nichtselektive und selektive 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptorantagonisten

## 1.4. Zielsetzung

Ergoline zeichnen sich durch eine hohe Aktivität im Herz-Kreislauf-System aus. Diese Aktivität ist von human-toxikologischer (*Ergotismus gangraenosus*) und veterinär-toxikologischer Bedeutung (*Fescue toxicosis*). Darüber hinaus können die vaskulären Effekte zahlreicher Ergoline zur Therapie und Prophylaxe der Migräne (z.B. Ergotamin, Dihydroergotamin, Lisurid und Methysergid) und der altersbedingten Hypertonie (z.B. Dihydroergotoxin) genutzt werden. Bekannt ist ebenfalls, dass ein wesentlicher Teil dieser Effekte durch eine Aktivierung oder Hemmung vaskulärer  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren und 5-HT-Rezeptoren vermittelt wird. Weitgehend unbekannt ist hingegen das Interaktionspotential der Ergoline mit den einzelnen vaskulären Subtypen dieser Rezeptoren.

Für die pharmakologischen Untersuchungen stand initial ein 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptormodell an der Rattenschwanzarterie und ein  $\alpha_{1D}$ -Adrenozeptormodell an der Rattenaorta zur Verfügung. Testsysteme für andere in Blutgefäßen vorkommende  $\alpha_1$ -Adrenozeptoren ( $\alpha_{1A}$  und  $\alpha_{1B}$ ) und 5-HT-Rezeptoren (5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> und 5-HT<sub>7</sub>) sollten daher etabliert oder neu entwickelt werden.

Unter Verwendung dieser neuen Methoden sollten exemplarisch einige biogene Ergoline (Ergotamin,  $\alpha$ -Ergokryptin, Ergocristin, Lysergol und Festuclavin) und einige therapeutisch genutzte partialsynthetische Ergoline (Dihydroergotamin, Lisurid und Tergurid) auf ihr Interaktionspotential mit vaskulären  $\alpha_1$ -Adrenozeptor- und 5-HT-Rezeptorsubtypen untersucht werden. Ebenso sollten neue partialsynthetische Ergoline, wie 1-Allylergoline und 6'-Desoxoergopeptine, die als potenzielle Migränetherapeutika bzw. Antihypertensiva synthetisiert wurden, pharmakologisch untersucht werden.