

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeines

Histamin wird im Allgemeinen mit Heuschnupfen und anderen allergischen Reaktionen in Verbindung gebracht. Histamin hat aber neben seiner Rolle als Entzündungsmediator auch eine besondere Bedeutung als Neurotransmitter im zentralen und peripheren Nervensystem bei der Regulation von physiologischen und pathophysiologischen Prozessen.

## 1.2 Histamin

Die Geschichte des Histamins begann im Jahre 1907, als *Windaus* und *Vogt* die Synthese von Histamin gelang.<sup>1</sup> Ein paar Jahre später konnte es im Mutterkorn, *Secale Cornutum*, nachgewiesen und isoliert werden. Gleichzeitig gelang es durch bakterielle Decarboxylierung von L-Histidin größere Mengen zu gewinnen.<sup>2</sup> Bei der Injektion dieses Stoffes traten allergieähnliche Effekte wie erhöhte Kapillarpermeabilität und spastische Kontraktionen der glatten Muskulatur auf, die auf die Ausschüttung von sogenannten Mediatoren aus Gewebemastzellen zurückzuführen sind. Histamin stellt neben weiteren Stoffen, z.B. Prostaglandinen, Leukotrienen oder PAF (Plättchen aktivierender Faktor), einen solchen Mediator dar. Damit begann die Suche nach Verbindungen, die diese unerwünschten Reaktionen unterdrücken. 1937 stellten *Bovet* und *Staub* erstmals sogenannte „Antihistaminika“ vor.<sup>3</sup> Diphenhydramin und Mepyramin waren schließlich die ersten „Antihistaminika“, die in der Therapie angewendet wurden.<sup>4</sup> Als Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten werden sie lokal und systemisch gegen allergische Reaktionen, Juckreiz oder Verbrennungen eingesetzt. Die gleichzeitige sedierende Wirkung, basierend auf ihrer ZNS-Gängigkeit, wird bei der Therapie leichter Schlafstörungen ausgenutzt. Für Antiallergika ist dieser Effekt allerdings unerwünscht, weshalb in der Folge moderne H<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. Loratadin oder Terfenadin, entwickelt wurden, die rein periphere Wirkung aufweisen.

Einige durch Histamin vermittelte periphere Effekte, wie z.B. Magensäuresekretion, die Stimulation des spontan schlagenden rechten Herzvorhofs des Meerschweinchens oder die Relaxation der Uterusmuskulatur, konnten jedoch durch diese Liganden nicht erklärt werden, weshalb *Ash* und *Schild* die Existenz zweier Histaminrezeptoren, H<sub>1</sub> und H<sub>2</sub>, postulierten.<sup>5</sup> Die Existenz eines zweiten Rezeptorsubtyps konnte mit der Einführung von Burimamid 1972 endgültig bewiesen werden. Es war der erste Ligand, der selektiv die Effekte an Herz und Magen antagonisierte, bei denen die klassischen Antihistaminika versagten.<sup>6</sup> Histamin-

H<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten, wie z.B. Ranitidin oder Famotidin, finden heutzutage als Ulkustherapeutika und bei Sodbrennen breite Anwendung.

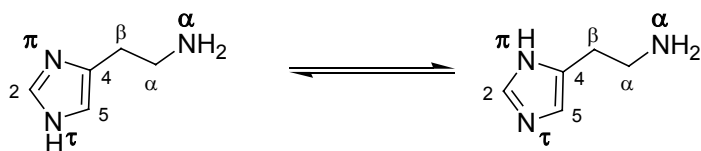
1983 hatten *Schwartz et al.* an Hirnschnitten der Ratte gezeigt, daß Histamin seine eigene Freisetzung inhibiert. Der dafür verantwortlich gemachte Rezeptor zeigte einige Eigenschaften, in denen er sich von dem H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptor unterschied. Für seine Aktivierung waren kleinere Histaminkonzentrationen notwendig als für H<sub>1</sub>- oder H<sub>2</sub>-Rezeptoren. Der H<sub>2</sub>-Rezeptoragonist Impromidin und der H<sub>2</sub>-Rezeptorantagonist Burimamid waren an diesem Rezeptor potentere Antagonisten als Agonisten bzw. Antagonisten am H<sub>2</sub>-Rezeptor. Die Ergebnisse sprachen für die Existenz eines weiteren Histaminrezeptorsubtyps, der die Bezeichnung „H<sub>3</sub>“ erhielt.<sup>7</sup> Mit der Entdeckung des ersten selektiven Agonisten *R(-)- $\alpha$ -Methylhistamin* und des ersten selektiven Antagonisten *Thioperamid* konnte seine Existenz abschließend bewiesen werden.<sup>8</sup> Im Gegensatz zu den postsynaptisch lokalisierten H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren sind die H<sub>3</sub>-Rezeptoren auf histaminergen Neuronen präsynaptisch zu finden. Sie fungieren als Autorezeptoren und regulieren die Histaminfreisetzung und Histaminsynthese über einen negativen Rückkopplungsmechanismus.<sup>9,10</sup> Als Heterorezeptoren modulieren sie die Freisetzung anderer Neurotransmitter (siehe Kap. 1.5).

Nach der erfolgreichen Klonierung des humanen Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors 1999 durch *Lovenberg et al.*<sup>11</sup> gelang im Jahr 2000 *Oda et al.* die Identifikation eines vierten Histaminrezeptorsubtyps.<sup>12</sup> Die Suche nach H<sub>3</sub>-Rezeptor-ähnlichen Fragmenten in Protein-Datenbanken führte zur Klonierung und Charakterisierung des humanen H<sub>4</sub>-Rezeptors, der eine Homologie in der Aminosäuresequenz von 37 - 43 % zum H<sub>3</sub>-Rezeptor (29 % H<sub>1</sub>-Rezeptor, 31 % H<sub>2</sub>-Rezeptor) zeigt.<sup>12-16</sup> Der H<sub>4</sub>-Rezeptor umfaßt 390 Aminosäuren. Sein Gen auf Chromosom 18 besteht, wie der H<sub>3</sub>-Rezeptor, aus 3 Exons, die durch 2 Introns unterbrochen sind.<sup>17</sup> Er kommt überwiegend im Knochenmark und auf immunkompetenten Zellen in der Peripherie vor. Damit konnte auch die von *Raible* 1994 postulierte Existenz eines neuen Histaminrezeptors auf der Oberfläche von Eosinophilen bestätigt werden.<sup>18</sup> Im gleichen Jahr entdeckten *Corbel et al.* einen „Histamin-Uptake“ in hämatopoietischen Zellen des Knochenmarks, der nach heutigem Kenntnisstand auf die Bindung von Histamin an den H<sub>4</sub>-Rezeptor zurückzuführen ist.<sup>19</sup> Das Vorkommen des H<sub>4</sub>-Rezeptorsubtyps im zentralen Nervensystem ist noch nicht abschließend geklärt. Trotz der relativ hohen Ähnlichkeit des H<sub>4</sub>-Rezeptors mit dem H<sub>3</sub>-Rezeptor (58 % in den transmembranären Domänen) ergeben sich teilweise deutliche Unterschiede im pharmakologischen Verhalten einiger selektiver H<sub>3</sub>-

Rezeptorliganden. Damit sind viele neue Ansatzpunkte für zukünftige Studien geschaffen worden, die weitere Erkenntnisse über die Funktion des Histamins liefern werden.

### 1.3 Chemische Struktur

Histamin, das 2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethanamin nach IUPAC, besteht aus einem Imidazolring, der an 4-Position über eine Dimethylenkette mit einer primären Aminogruppe verknüpft ist. Nach *Black* und *Ganellin* wird der Imidazolstickstoff in Nachbarschaft zur Seitenkette als  $N^\pi$  (pros, griech. nahe bei), der zur Seitenkette weiter entfernte Stickstoff wegen der beiden möglichen tautomeren Formen als  $N^\tau$  (tele, griech. entfernt) und der Stickstoff der primären Aminogruppe als  $N^\alpha$  bezeichnet (Abb. 1-1).<sup>20</sup>



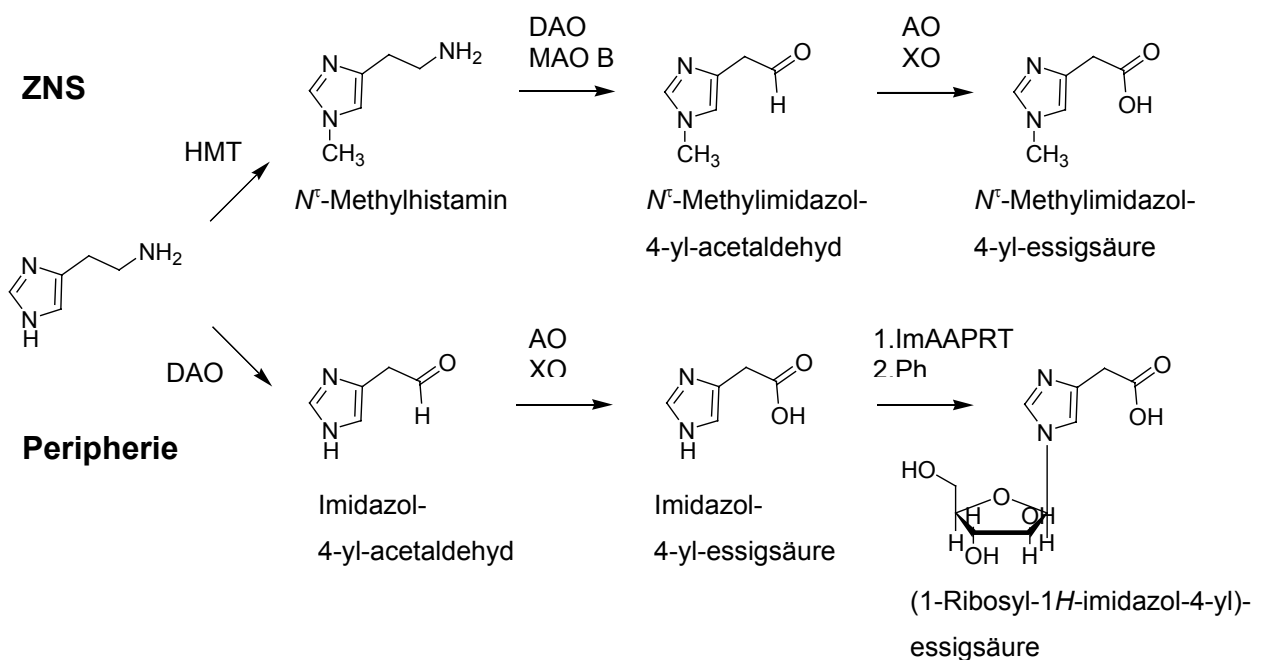
**Abb. 1-1** Prototrope Formen von Histamin; Nomenklatur nach *Black* und *Ganellin*<sup>20</sup>.

Beide basischen funktionellen Gruppen können unter sauren Bedingungen protoniert werden, wobei die primäre Aminogruppe mit einem  $pK_{s1}$  von 9.4 die höchste Basizität besitzt. Die Basizität des Imidazolrings, der formal als zyklisches Amidin betrachtet werden kann, ist als Bestandteil eines aromatischen Systems mit 6  $\pi$ -Elektronen geringer ( $pK_{s2} = 5.8$ ). Unter physiologischen Bedingungen bei  $pH = 7.4$  wird überwiegend der  $N^\alpha$ -Stickstoff protoniert. Für den Imidazolring lässt sich eine  $N^\tau$ - $N^\pi$ -*H*-Tautomerie aufgrund der zwei Bindungsmöglichkeiten ( $N^\tau$  und  $N^\pi$ ) des Amidinprotons formulieren. In wässriger Lösung liegt dieses Tautomerie-Gleichgewicht zu ca. 80 % auf Seiten des  $N^\tau$ -*H*-Tautomers.<sup>21</sup> Als biologisch aktive Form des Histamins für den  $H_1$ - und  $H_2$ -Rezeptor gilt das  $N^\tau$ -*H*-Tautomer des Imidazols,<sup>22,23</sup> obwohl kristallographische Untersuchungen der Histaminbase eine Bevorzugung des  $N^\pi$ -*H*-Tautomers zeigten.<sup>23</sup>

### 1.4 Biosynthese, Speicherung und Metabolisierung von Histamin

Wie die meisten Transmitter wird Histamin in den Nervenenden aus einer physiologischen Vorstufe gebildet. Die Aminosäure L-Histidin wird überwiegend durch die spezifische L-Histidindecaboxylase (HDC, E.C.4.1.1.22) oder durch die unspezifische DOPA-

Decarboxylase (E.C.4.1.1.26) zum biogenen Amin Histamin decarboxyliert.<sup>24</sup> Anschließend wird es in Vesikeln von Gewebemastzellen, basophilen Granulocysten oder histaminergen Neuronen gespeichert. Über präsynaptische  $M_1$ -<sup>25</sup> und  $\alpha_2$ -Heterorezeptoren<sup>26</sup> sowie  $H_3$ -Autorezeptoren oder durch direkte Hemmung der HDC durch (*S*)- $\alpha$ -(Fluormethyl)histidin oder (*S*)- $\alpha$ -Methylhistidin<sup>27</sup> kann die Freisetzung oder Synthese inhibiert werden. Durch Depolarisation der Zellmembran wird Histamin in den synaptischen Spalt freigesetzt und löst postsynaptisch verschiedene Reize aus. Eine Wiederaufnahme aus dem synaptischen Spalt, wie er für andere Neurotransmitter, z.B. Noradrenalin oder Serotonin, bekannt ist, wurde bisher nicht beobachtet. Jedoch ist in Studien eine Aufnahme von [<sup>3</sup>H]-Histamin in serotonerge und noradrenerge Neurone gezeigt worden.<sup>28</sup> Bei der Metabolisierung des Histamins können beim Menschen zwei Wege unterschieden werden. Histamin wird im ZNS und in geringem Ausmaß auch in der Peripherie in die den synaptischen Spalt umgebenden Gliazellen aufgenommen und dort durch die Histamin-*N*<sup>c</sup>-Methyltransferase (HMT, E.C.2.1.1.8) am *N*<sup>c</sup>-Stickstoff methyliert.<sup>24</sup> Dieses Enzym ist hochselektiv für Histamin.<sup>29</sup> Durch die Methylierung verliert Histamin seine Affinität zu den Histaminrezeptorsubtypen.<sup>8</sup>



HMT = Histamin-*N*<sup>c</sup>-Methyltransferase; DAO = Diaminoxidase; MAO B = Monoaminoxidase B; AO = Aldehydoxidase; XO = Xanthinoxidase; ImAAPRT = Imidazolessigsäurephosphoribosyltransferase; Ph = Phosphatase.

**Abb. 1-2** Metabolisierungswege des Histamins.

Im nächsten Schritt wird das  $N^{\epsilon}$ -Methylhistamin durch eine Monoaminoxidase Typ B (MAO B, E.C.1.4.3.4) oder eine Diaminoxidase (DAO, E.C.1.4.3.6) zum Aldehyd oxidativ desaminiert. Der entstehende  $N^{\epsilon}$ -Methylimidazol-4-yl-acetaldehyd wird im Anschluß durch eine Aldehydoxidase (AO, E.C.1.2.1.3) oder eine Xanthinoxidase (XO, E.C. 1.1.3.22) in  $N^{\epsilon}$ -Methylimidazol-4-yl-essigsäure umgewandelt.<sup>30</sup>

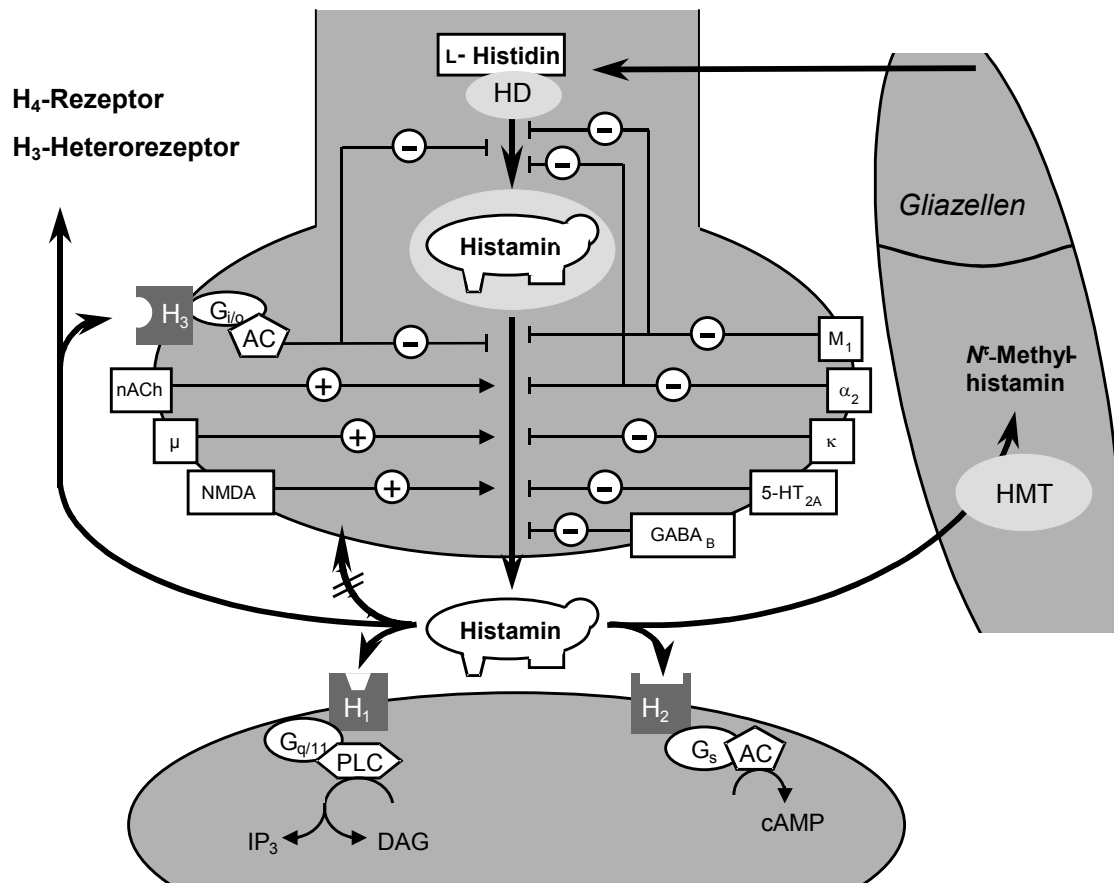
Der zweite Weg ist der in der Peripherie überwiegende. Er verläuft über eine direkte Desaminierung des Histamins zum 2-(1*H*-Imidazol-4-yl)acetaldehyd durch die Diaminoxidase. Anschließend wird der Aldehyd durch eine Aldehydoxidase oder eine Xanthinoxidase zur Säure oxidiert. Im letzten Schritt wird der  $N^{\epsilon}$ -Stickstoff durch die Imidazolessigsäurephosphoribosyltransferase (ImAAPRT) und eine Phosphatase (Ph) ribosyliert. Die entstehende (1-Ribosyl-1*H*-imidazol-4-yl)essigsäure sowie die  $N^{\epsilon}$ -Methylimidazol-4-yl-essigsäure werden im Urin ausgeschieden (Abb. 1-2).

Bei anderen Spezies findet die Metabolisierung auf beiden Wegen in ähnlichem Ausmaß wie beim Menschen statt.

### **1.5 Histaminerge Signalübertragung**

Nach einer Depolarisation der Axonmembran, die sich *in-vitro* durch Kaliumionen, Depolarisationsgifte oder elektrische Stimulation induzieren läßt,<sup>31,32</sup> kommt es zu einer Verschmelzung der Vesikel mit der Zellmembran und damit zu einer Freisetzung von Histamin in den synaptischen Spalt. Auf postsynaptischer Seite löst es einen Effekt über  $H_1$ - oder  $H_2$ -Rezeptoren aus. Aktivierung des  $G_q$ -Protein gekoppelten Histamin- $H_1$ -Rezeptors führt zur Stimulation der Phospholipase C und damit zu einer Synthese der *second messenger* Inositol-1,4,5-trisphosphat ( $IP_3$ ) und 1,2-Diacylglycerol (DAG). Als Folge kommt es zu einem Anstieg der intrazellulären Calciumionenkonzentration, der zusammen mit DAG die Proteinkinase C aktiviert und zu typischen Folgereaktionen in der Zelle führt.<sup>33</sup> Bindet Histamin an den  $H_2$ -Rezeptor, resultiert daraus eine  $G_s$ -Protein gekoppelte Aktivierung der Adenylylcyclase und damit eine vermehrte Bildung von zyklischem 3',5'-Adenosinmonophosphat (cAMP), welches wiederum bestimmte Proteinkinasen aktiviert.<sup>34,35</sup> Durch Stimulation des inhibitorischen Histamin- $H_3$ -Autorezeptors kommt es über einen negativen Feedbackmechanismus zur Hemmung sowohl der Synthese als auch der Freisetzung des Histamins in den synaptischen Spalt. Neben der Autoinhibition über  $H_3$ -Rezeptoren konnte zusätzlich eine Beeinflussung der Histaminfreisetzung durch andere Neurotransmitter nachgewiesen werden. Eine Inhibierung wird über  $M_1$ -,<sup>36,37</sup>  $\alpha_2$ -,<sup>26,36</sup>  $\kappa$ -

Opioid-,<sup>38</sup> GABA<sub>B</sub>-<sup>39</sup> und 5HT<sub>2A</sub>-Heterorezeptoren<sup>40</sup> ausgelöst. Diskutiert wird auch ein Einfluß von Galanin-<sup>41</sup> und D<sub>3</sub>-Rezeptoren.<sup>42</sup> Über eine Stimulation von NMDA-,<sup>43</sup> Nicotin-,<sup>44</sup>  $\mu$ -Opioid-<sup>45,46</sup> und vermutlich D<sub>2</sub>-Rezeptoren<sup>42</sup> dagegen wurde eine vermehrte Freisetzung erreicht.



$\alpha_2$  =  $\alpha_2$ -Adrenozeptor, AC = Adenylylcyclase, cAMP = zyklisches 3',5'-Adenosinmonophosphat, DAG = 1,2-Diacylglycerol, G = G-Protein, GABA<sub>B</sub> =  $\gamma$ -Aminobuttersäure<sub>B</sub>-Rezeptor, HD = L-Histidin-decarboxylase, HMT = Histamin-N<sup>f</sup>-Methyltransferase, 5-HT<sub>2A</sub> = Serotonin-5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor, IP<sub>3</sub> = Inositol-1,4,5-trisphosphat,  $\kappa$  =  $\kappa$ -Opioidrezeptor, M<sub>1</sub> = Muskarin-M<sub>1</sub>-Rezeptor,  $\mu$  =  $\mu$ -Opioidrezeptor, nACh = Nicotinrezeptor, NMDA = N-Methyl-D-aspartatrezeptor, PLC = Phospholipase C.

**Abb. 1-3** Signalübertragung an histaminergen Neuronen.

Als Heterorezeptor erfüllt der H<sub>3</sub>-Rezeptor eine inhibitorische Funktion bei der Freisetzung von Neurotransmittern aus noradrenergen<sup>47,48</sup>, dopaminergen<sup>49,50</sup>, serotonergen<sup>51</sup> und peptidergen<sup>52-54</sup> Neuronen im ZNS und in der Peripherie. Auch auf cholinergen<sup>55,56</sup> Neuronen konnten inhibitorische H<sub>3</sub>-Rezeptoren nachgewiesen werden, die sich aber vermutlich nicht präsynaptisch befinden.<sup>56</sup>

In der Hypophyse wird über Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren der negative Feedbackmechanismus der durch Histamin ausgelösten Freisetzung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH), luteinisierenden Hormons (LH), von  $\beta$ -Endorphin, Prolactin und Vasopressin gesteuert.<sup>57</sup>

Dem H<sub>3</sub>-Rezeptor scheint unter Streßbedingungen besondere Bedeutung zuzukommen.<sup>58</sup>

Anhand von [<sup>35</sup>S]-GTP $\gamma$ S-Bindungsstudien an Membranen aus der Hirnrinde von Ratten konnte gezeigt werden, daß der H<sub>3</sub>-Rezeptor der großen Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren angehört.<sup>59</sup> Er zeigt jedoch nur eine Homologie von 31 % zu allen anderen Rezeptoren dieser Familie.<sup>60</sup> Aufgrund der Sensitivität zu Pertussis-Toxin ist eine Kopplung an ein G<sub>i/o</sub>-Protein sehr wahrscheinlich. Dafür spricht, daß Histamin über den H<sub>3</sub>-Rezeptor eine Hemmung der Adenylylcyclase und damit eine Abnahme der Forskolin-induzierten cAMP-Konzentration bewirkt.<sup>11,61,62</sup> Im Rattenhirn konnte jüngst die Regulation der Histaminsynthese durch H<sub>3</sub>-Autorezeptoren über einen Adenylylcyclase-Proteinkinase A-Mechanismus gezeigt werden.<sup>63</sup> In einer Zelllinie aus Magentumorgewebe konnte andererseits eine Hemmung der Phospholipase C nachgewiesen werden.<sup>64</sup> In Geweben aus Rattenhirn<sup>65</sup> und Meerschweinchenherz<sup>66</sup> bzw. -dünndarm<sup>67</sup> wurde ferner eine Kopplung mit Calcium-Kanälen vom N-Typ beobachtet.

Der Signaltransduktionsweg des H<sub>4</sub>-Rezeptors ist bislang nicht eindeutig geklärt. Einige Arbeitsgruppen konnten eine Pertussistoxin sensitive Abnahme der forskolin induzierten cAMP-Akkumulation beobachten.<sup>12,13,15,68</sup> Andere Untersuchungen konnten allerdings weder dieses Ergebnis noch eine Signaltransduktion über den Map-Kinase-Weg<sup>16</sup> bestätigen.<sup>14</sup>

## **1.6 Histaminwirkungen**

Histamin wird im Gehirn und in der Peripherie in Vesikeln von Neuronen und in Mast- und Endothelzellen gespeichert.<sup>69</sup> Höchste Histaminkonzentrationen sind in Haut, Lunge, Herz, Gastrointestinaltrakt und Blutgefäßen zu finden. In Mast- und Endothelzellen sowie in basophilen Granulocyten liegt Histamin zu 50 % an das saure Mucopolysaccharid Heparin gebunden vor. Wird Histamin durch entsprechende Stimuli, z.B. Neurondepolarisation oder Histaminliberatoren (z.B. Tubocurarin), freigesetzt, werden über die vorher erwähnten Rezeptorsubtypen unterschiedliche Effekte ausgelöst, die physiologisch von Bedeutung sind. Die wichtigsten peripheren Effekte sind in Tabelle 1-1 aufgeführt.

Im ZNS werden die Sekretion von Hormonen, der Schlaf/Wach-Rhythmus, Gedächtnis- und Lernprozesse, Nahrungsaufnahme und Übelkeit durch Histamin moduliert.<sup>24,70</sup> Eine genaue



Zuordnung dieser zentralen Funktionen zu den einzelnen Histaminrezeptorsubtypen wird in vielen Fällen noch diskutiert. Auch die Aufgabe des seit kurzer Zeit bekannten H<sub>4</sub>-Rezeptors muß noch geklärt werden.

**Tab. 1-1** Rezeptorvermittelte Effekte von Histamin.

H <sub>1</sub> -Rezeptor	H <sub>2</sub> -Rezeptor	H <sub>3</sub> -Rezeptor	H <sub>4</sub> -Rezeptor
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhöhte Kapillarpermeabilität</li> <li>• Konstriktion großer Blutgefäße (&gt;80 µm)</li> <li>• Dilatation kleiner Blutgefäße (&lt;80 µm)</li> <li>• Kontraktion glatter Muskulatur (Bronchien, Darm, Uterus)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimulation der Magensäuresekretion</li> <li>• Steigerung der Herzfrequenz</li> <li>• Zunahme der Kontraktionskraft des Herzens</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemmung der neuronalen Histaminsynthese</li> <li>• Hemmung der neuronalen Histaminfreisetzung</li> <li>• Modulation der Freisetzung anderer Neurotransmitter</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Immunsystem</li> </ul>

Aus den bisherigen Erfahrungen resultiert der sowohl lokale wie auch systemische therapeutische Einsatz von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten bei allergischen Reaktionen, der Einsatz ZNS-gängiger H<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten bei leichten Schlafstörungen und als Antiemetika und die Anwendung von H<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten in der Ulkustherapie und bei Sodbrennen.

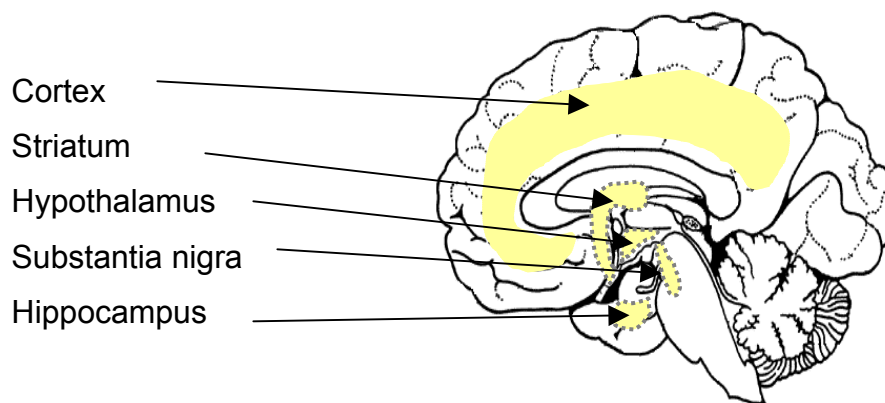
### **1.7 Der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor**

Der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor wurde im Jahre 1983 durch *Arrang* et al. in Cortexgewebe der Ratte entdeckt<sup>7</sup> und als Autorezeptor identifiziert, der die Freisetzung und Synthese von Histamin inhibiert. Damit begann ein neues Kapitel in der Histaminforschung. Als bald konnte er auch als Heterorezeptor nachgewiesen werden. In dieser Funktion ist er an der Regulation der Freisetzung von vielen anderen Neurotransmittern, wie zum Beispiel Acetylcholin, Noradrenalin oder Serotonin, beteiligt<sup>71</sup>. Der H<sub>3</sub>-Rezeptor konnte in der Zwischenzeit in vielen Geweben verschiedener Spezies identifiziert werden. Vorläufiger Höhepunkt der H<sub>3</sub>-Forschung war die Klonierung des humanen Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors 1999 durch *Lovenberg* et al.<sup>11</sup>. Kurze Zeit später gelang auch die Klonierung des Ratten-<sup>72</sup> und Meerschweinchen-H<sub>3</sub>-

Rezeptors.<sup>73</sup> Ebenso wurden verschiedene Isoformen des H<sub>3</sub>-Rezeptors<sup>62,74,75</sup> und eine konstitutive Aktivität *in-vitro* und *in-vivo* entdeckt.<sup>61,76,77</sup>

### 1.7.1 Vorkommen

Alle histaminergen Perikarya finden sich im hinteren Hypothalamus und werden als tuberomamillärer Kern (Nukleus) zusammengefaßt. Dieser besteht beim Menschen aus ca. 64 000 Neuronen.<sup>78</sup> Nervenfasern strahlen daraus in 2 Wegen, lateral und periventrikulär, in das Telencephalon, in die Hirnrinde und darüber hinaus in folgende Hirnbereiche: Bulbus olfactorius, Hippocampus, Putamen caudatus, Nucleus accumbens, Globus pallidus und den amygdaloiden Komplex. Außerdem gibt es einen absteigenden Weg in das Mesencephalon und den Hirnstamm, dort in den Nucleus des Nervus trigeminus, in die Substantia nigra, den Locus coeruleus, die Raphe-Kerne, die Spinal-Schnur und geringfügig in das Cerebellum.



**Abb. 1-4** Überwiegende Lokalisation von H<sub>3</sub>-Rezeptoren im ZNS.

Die Dichte von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren ist im ZNS wesentlich höher als in peripheren Geweben und beträgt ungefähr 30 fmol/mg Protein. Sie ist damit nur etwa ein Drittel so hoch wie die von H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren (~100 fmol/mg Protein).<sup>8</sup> Allerdings besitzt Histamin eine höhere Affinität zum präsynaptischen Histamin-H<sub>3</sub>- ( $pD_2 = 7.2$ ) als zu den postsynaptischen H<sub>1</sub>- ( $pD_2 = 6.9$ ) und H<sub>2</sub>-Rezeptoren ( $pD_2 = 6.0$ ).<sup>7</sup> Während der H<sub>3</sub>-Rezeptor in der Peripherie in der Lunge, im Herzen und im Magen vorkommt, ist er im ZNS vor allem im Hypothalamus, Nucleus olfactorius anterior, Nucleus accumbens, Striatum, in Substantia nigra und im Cortex (Schichten I, II, V und VI) zu finden. Weitere Bindungsstellen befinden sich außerdem im Nucleus pontis, Gyrus dentatus und im Bulbus olfactorius. Dabei ist er nicht auf histaminerge Neuronen beschränkt, sondern auch auf Neuronen anderer

Neurotransmitter zu finden, was seine modulatorische Funktion als Heterorezeptor unterstreicht.

### 1.7.2 Klonierung und Genorganisation

Die Klonierung des humanen H<sub>3</sub>-Rezeptors gelang 1999 *Lovenberg et al.*<sup>11</sup> Daß es trotz der heutigen modernen Methoden so lange gedauert hat, läßt sich mit der geringen Homologie der Aminosäuresequenz zum H<sub>1</sub>- bzw. H<sub>2</sub>- Rezeptor von 22 % bzw. 21.4 % erklären.<sup>11</sup> Da in der Vergangenheit der humane H<sub>3</sub>-Rezeptor aus menschlichem Hirngewebe nur bedingt zur Verfügung stand, ist dieser Erfolg umso wichtiger einzustufen, da damit nicht nur vermutete Speziesunterschiede im pharmakologischen Verhalten von H<sub>3</sub>-Rezeptorliganden konkretisiert werden konnten, sondern auch die Entwicklung von wirksamen Arzneistoffen zielgerichteter gestaltet werden kann. Die kodierenden Genregionen von Ratte und Mensch weisen große Ähnlichkeit auf. Das Gen für den humanen H<sub>3</sub>-Rezeptor ist in der telomeren Region des q-Arms von Chromosom 20 lokalisiert. Das Gen besteht aus 3 Exons, die, für G-Protein gekoppelte Rezeptoren unüblich, durch zwei Introns in der Region der transmembranären Domäne 2 (TM2) und des intrazellulären Loops 2 (IL2) unterbrochen sind.<sup>79</sup>

### 1.7.3 Struktur des H<sub>3</sub>-Rezeptors

Die Aminosäuresequenzen des 445 Aminosäuren (AA) umfassenden H<sub>3</sub>-Rezeptors (H3R) zeigen bei Mensch und Meerschweinchen eine Übereinstimmung von 94 %, <sup>73</sup> bei Mensch und Ratte von 93 %. In den sieben transmembranären Domänen unterscheiden sich der Ratten- und humane H<sub>3</sub>-Rezeptor in nur 5 AA, was einer Übereinstimmung von 97 % entspricht.<sup>72</sup> Die große Bedeutung dieser Abweichung für das Bindungsverhalten von Liganden wird durch das unterschiedliche pharmakologische Verhalten der Standard H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten unterstrichen.<sup>80,81</sup> Thioperamid und Ciproxifan zeigten 10fach höhere Potenz am Ratten- als am humanen H<sub>3</sub>-Rezeptor. Als Ursache wurden die beiden Aminosäuren Alanin<sup>119</sup> und Valin<sup>122</sup> in TM3 gefunden<sup>82</sup>. Diese befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft zu der Aminosäure Asp<sup>114</sup>, die für die Bindung der Aminfunktion des Histamins an seine Rezeptoren verantwortlich gemacht wird. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang auch, daß der Meerschweinchen-H<sub>3</sub>-Rezeptor (Threonin<sup>119</sup>, Valin<sup>122</sup>) sich in jeweils einer Aminosäure vom humanen (Threonin<sup>119</sup>, Alanin<sup>122</sup>) und Ratten-Rezeptor (Alanin<sup>119</sup>, Valin<sup>122</sup>) unterscheidet.<sup>73</sup>

### 1.7.4 Isoformen

Verschiedene Isoformen des H<sub>3</sub>-Rezeptors in verschiedenen Spezies konnten durch cDNA Klonierung identifiziert werden. Im Meerschweinchen wurden zwei Rezeptorvarianten gefunden, die H<sub>3S</sub> und H<sub>3L</sub> benannt wurden. H<sub>3S</sub> (S = short) bezeichnet die Isoform mit der kürzeren Aminosäuresequenz. Sie entsteht durch Ausschneiden eines 30 Aminosäure großen Stücks im IL3 aus der längeren 445 AA umfassenden Isoform H<sub>3L</sub> (L = long).<sup>73</sup> Die H<sub>3L</sub>-Isoform überwiegt im ZNS. Auch in der Ratte und im Menschen konnte neben einer ebenfalls 445 AA langen Isoform durch Pseudo-Intron Retention/Deletion eines 32 AA großen Fragments im IL3 eine weitere Variante identifiziert werden.<sup>79</sup> Beide erhielten entsprechend ihrer Aminosäureanzahl die Bezeichnung H<sub>3(445)</sub> und H<sub>3(413)</sub>. Daneben wurden in der Ratte zwei weitere Isoformen, H<sub>3(410)</sub> und H<sub>3(397)</sub> beschrieben, die eine unterschiedliche Gewebeexpression aufwiesen. In peripheren Geweben konnte bislang nur die lange H<sub>3(445)</sub>-Isoform nachgewiesen werden.<sup>74</sup> Im ZNS überwiegt die lange Form ebenso, jedoch wird in den verschiedenen Hirnregionen ein sehr unterschiedliches Expressionsmuster gefunden. H<sub>3(445)</sub> findet sich ausschließlich im Cerebellum, im Striatum ist H<sub>3(397)</sub> vorherrschend. Es bleibt zu klären, ob ein alternativer Splicing-Mechanismus für dieses Muster verantwortlich ist oder ob die Isoformen in den unterschiedlichen Hirnarealen verschieden exprimiert werden und ob sie unterschiedliche Funktionen erfüllen. In funktionellen Studien zeigten die Isoformen Ähnlichkeit in ihrem pharmakologischen Profil.<sup>61</sup>

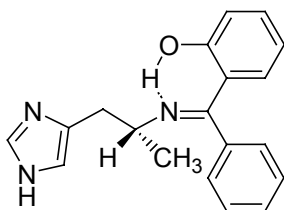
Bei der Betrachtung der Aminosäuresequenz des rekombinanten H<sub>3R</sub> der Ratte ergab sich ein weiterer interessanter Sachverhalt. Im Carboxy-Terminus von IL3 zeigte eine Sequenz von 8 AA eine Übereinstimmung in 6 AA zu einer Mutante des β<sub>2</sub>-Rezeptors, die im Unterschied zum nativen β<sub>2</sub>-Rezeptor konstitutive Aktivität aufweist. An zwei Isoformen des Ratten-Rezeptors (H<sub>3(445)</sub> und H<sub>3(413)</sub>) konnte für den Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor konstitutive Aktivität nachgewiesen werden. Sie ist durch die geringfügig höhere konstitutive Aktivität der H<sub>3(445)</sub>-Isoform vermutlich im ZNS ausgeprägter. Weiterhin konnte auch für den humanen Rezeptor unter physiologischen Bedingungen *in-vitro* und bei der Maus sogar *in-vivo* konstitutive Aktivität nachgewiesen werden.<sup>76</sup>

### 1.7.5 Liganden des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors

Seit der Entdeckung des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors wurden große Fortschritte in der Entwicklung H<sub>3</sub>-Rezeptor selektiver Liganden gemacht. Zahlreiche potente und selektive Agonisten und Antagonisten sind derzeit verfügbar.<sup>83,84</sup> Durch die Einführung einer

Methylgruppe am  $\alpha$ -C-Atom der Ethylaminseitenkette des Histamins gelangte man zu dem potenten  $H_3$ -Rezeptoragonisten (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin. Durch seine frühe Verfügbarkeit wurden mit ihm und seinem *S*-Enantiomer bislang viele  $H_3$ -Rezeptor vermittelte pharmakologische Effekte *in-vitro* und auch *in-vivo* charakterisiert. In seiner Wirkung ist (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin am  $H_3$ -Rezeptor 15mal stärker aktiv als Histamin. Das *S*-Enantiomer erreicht hingegen nur etwa 13 % der Histaminaktivität. Einen Nachteil von (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin stellt seine geringe Plasmahalbwertszeit dar. Durch eine hohe Affinität zur Histamin-*N*<sup>f</sup>-Methyltransferase und der daraus resultierenden Methylierung des Imidazolrings wird die Verbindung schnell unwirksam.<sup>85</sup> Mit der Entwicklung von (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin-Prodrugs, wie z.B. BP 2.94, wurde dieses Problem weitgehend umgangen (Abb. 1-5).<sup>86</sup> Die in diesem Prodrug verwendete Azomethingruppe verhindert die *N*-Methylierung und führt gleichzeitig zu hoher oraler Bioverfügbarkeit.

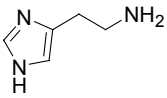
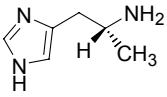
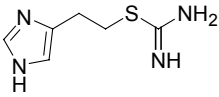
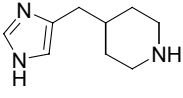
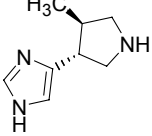
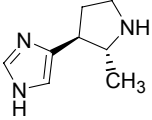
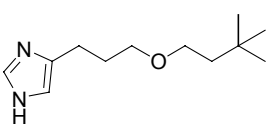
Eine weitere Entwicklung stellt Imetit dar.<sup>87,88</sup> Die Amin-Funktion des Histamins wurde hier durch eine Isothioharnstoffgruppe ersetzt. Obwohl Imetit mit 60mal stärkerer agonistischer Aktivität als Histamin potenter als (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin ist, verhinderte die potentielle Lebertoxizität der Isothioharnstoffgruppe eine weitere Verwendung. Bei der Verbindung SK&F 91606 wurde diese kritische funktionelle Gruppe durch eine Amidin-Funktion ersetzt, wodurch erneut leichte Aktivitätssteigerung erzielt wurde (Tab. 1-3).<sup>89</sup>



**Abb. 1-5** Prodrug von (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin: BP 2.94.

Eine stärkere agonistische Wirkqualität im Vergleich zu Histamin bleibt auch erhalten, wenn, wie im Falle von Immepip<sup>90</sup> und Sch50971<sup>91,92</sup> gezeigt, die Flexibilität der Seitenkette durch Inkorporation der Aminfunktion in ein gesättigtes Ringsystem herabgesetzt wird. In diesem Zusammenhang ist auch Immepyr als erstes Histamin-Analogon mit zyklisierter Seitenkette zu nennen, welches wie die zuvor beschriebenen Substanzen *In-vivo*-Aktivität aufweist.<sup>93</sup> Die in Tabelle 1-2 aufgeführten Beispiele machen die Empfindlichkeit der Histamin- $H_1$ -,  $H_2$ - und speziell der  $H_3$ -Rezeptoren gegenüber sterischen Veränderungen in der Molekülstruktur ihrer Liganden deutlich. Sie unterstreichen die engen sterischen Grenzen, die für eine agonistische

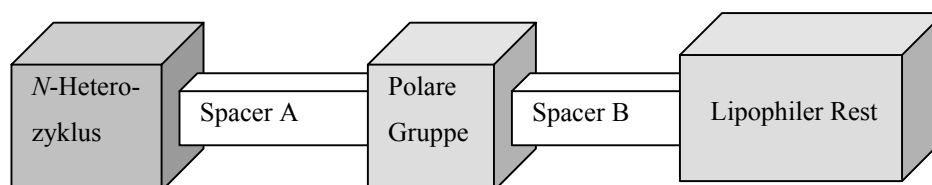
**Tab. 1-2** Agonisten des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors.

Verbindung	H <sub>1</sub> -Rezeptor <sup>a</sup> rel. Akt. <sup>d</sup> (%)	H <sub>2</sub> -Rezeptor <sup>b</sup> rel. Akt. <sup>d</sup> (%)	H <sub>3</sub> -Rezeptor <sup>c</sup> rel. Akt. <sup>d</sup> (%)	H <sub>3</sub> -Rezeptor K <sub>i</sub> Human (nM) <sup>e</sup>
				K <sub>i</sub> Ratte (nM) <sup>f</sup>
Histamin				13
	100 (pD <sub>2</sub> = 6.85)	100 (pD <sub>2</sub> = 5.95)	100 (pD <sub>2</sub> = 7.21)	20
(R)-α-Methylhistamin				2.7
	0.49	1.02	1550	3.6
Imetit				0.1 <sup>h</sup>
	<0.1	<0.3 (i.a. <sup>g</sup> = 0.6)	6200	
Immepip				
	1 <sup>i</sup>	<0.3 <sup>k</sup>	620 <sup>l</sup>	
Sch50971				5
	<0.1	<0.14	190 <sup>m</sup>	
Immepyr [2R,3S]				2.8 <sup>n</sup> (pD <sub>2</sub> = 7.1) <sup>n</sup>
	Unwirksam bei 10 μM <sup>n</sup>			
FUB 407				11
	Unwirksam bei 10 μM <sup>o</sup>			10 <sup>o</sup>

<sup>a</sup> Meerschweinchen-Ileum; <sup>b</sup> Meerschweinchen-Atrium; <sup>c</sup> Schnitte des Rattencortex; <sup>d</sup> rel. Akt. = relative Aktivität in Prozent; <sup>e</sup> Bindungsstudie mit [<sup>125</sup>I]-Iodoproxyfan;<sup>82</sup> <sup>f</sup> Synaptosomen des zentralen Rattencortex;<sup>82</sup> <sup>g</sup> i.a. = intrinsische Aktivität (Histamin: i.a. = 1.0); <sup>h</sup> Lit.<sup>88</sup>; <sup>i</sup> Bindungsstudie mit [<sup>3</sup>H]-Mepyramin; <sup>k</sup> Bindungsstudie mit [<sup>125</sup>I]-Iodaminopotentin; <sup>l</sup> Meerschweinchen-Jejunum, pD<sub>2</sub> = 8.0; <sup>m</sup> Meerschweinchen-Ileum, pD<sub>2</sub> = 7.5. <sup>n</sup> Meerschweinchen-Ileum;<sup>93</sup> <sup>o</sup> Antagonismus;<sup>94</sup>

Aktivität am H<sub>3</sub>-Rezeptor gesetzt sind. Die Einführung einer Methylgruppe in die Ethylseitenkette des Histamins ist mit einer stereoselektiven Steigerung der agonistischen Aktivität am Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor und einer deutlichen Abschwächung der Affinität zu H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren verbunden. Eine Verlängerung der Ethylseitenkette führte zu den bereits am H<sub>3</sub>-Rezeptor antagonistisch wirkenden Verbindungen Homohistamin und Impentamin.<sup>95</sup> Ebenso läßt sich der Imidazolring nicht durch andere heterozyklische Systeme, wie Piperidin oder Pyrrolidin, unter Erhalt der H<sub>3</sub>-Rezeptor agonistischen Wirkung austauschen. Im Gegensatz zum Imidazolring ist eine basische Amin-Funktion in der Seitenkette für eine agonistische Aktivität nicht essentiell. FUB 407 repräsentiert einen neuartigen Vertreter von H<sub>3</sub>-Agonisten mit einer Ether-Funktion, der *in-vitro* partiellen (intrinsische Aktivität, i.a. = 0.55), *in-vivo* aber vollen Agonismus (ED<sub>50</sub> = 0.29 mg/kg, i.a. = 1.0) zeigt.<sup>94</sup>

Parallel zu den ersten Erkenntnissen über Struktur-Wirkungsbeziehungen bei H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten, konnten die ersten antagonistisch wirksamen Verbindungen identifiziert werden (Tab 1-3). Mit Burimamid wurde ein erster Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonist gefunden. Ursprünglich als H<sub>2</sub>-Rezeptorantagonist entwickelt, zeigte die Verbindung am H<sub>3</sub>-Rezeptor etwa 100mal höhere Potenz. Sie war der Ausgangspunkt für die Entwicklung einer Vielzahl von Thio- und Isothioharnstoffderivaten, die nicht nur potente, sondern auch selektive H<sub>3</sub>-Antagonisten ergaben. Wie bei Imetit verhinderte die Hepatotoxizität der Thioharnstoffgruppe eine praktische Anwendbarkeit als Arzneistoff. Aus dieser Gruppe hat sich Thioperamid als Referenzantagonist in der pharmakologischen Forschung etabliert.<sup>8</sup> Ein weiterer Vertreter dieser Reihe ist Clobenpropit.<sup>96</sup> Es gehört aufgrund seiner subnanomolaren *In-vitro*-Aktivität zu den stärksten Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten, zeigt *in-vivo* aber nur schwache Wirkung, was seinen therapeutischen Nutzen zusätzlich einschränkt. Jüngste Ergebnisse haben gezeigt, daß Clobenpropit am Ratten- und humanen H<sub>3</sub>-Rezeptor gleiche Aktivität besitzt. Thioperamid hingegen ist am humanen Rezeptor 10fach schwächer wirksam.<sup>72</sup>



**Abb. 1-6** Generelles Aufbauschema für Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten.

Im Laufe der Zeit entwickelten viele Arbeitsgruppen weitere Klassen von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten, die sich strukturell voneinander unterscheiden. Die große

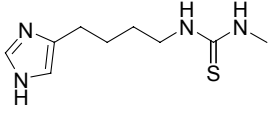
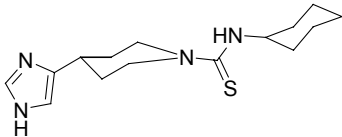
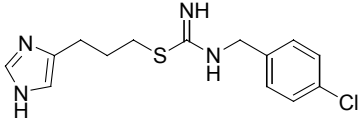
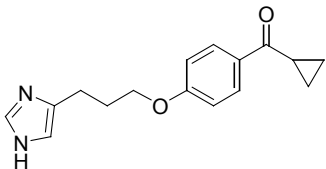
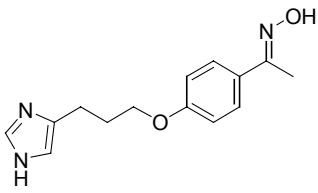
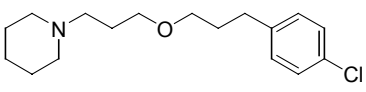
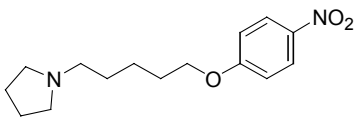
Variabilität insbesondere in der Wahl der polaren Gruppe oder des lipophilen Restes führte schließlich zur Formulierung eines generellen Aufbauschemas (Abb. 1-6).<sup>84</sup>

Besondere Bedeutung erlangten 3-(1*H*-Imidazol-4-yl)propylether. Unter ihnen heben sich Ciproxifan und Imoproxifan durch hohe *In-vitro*- und außerordentlich hohe *In-vivo*-Potenz bei gleichzeitig hoher Selektivität ab.<sup>97,98</sup> Ciproxifan wies als einer der ersten Antagonisten in der Maus einen ED<sub>50</sub>-Wert unter 1 mg/kg p.o. auf. Imoproxifan war mit einer ED<sub>50</sub> von 0.034 mg/kg nach peroraler Gabe sogar noch erheblich potenter.

Von vielen imidazolhaltigen Arzneistoffen ist bekannt, daß sie über Cytochrom-P450-abhängige und andere Enzyme metabolisiert werden.<sup>99,100</sup> Für die Standard H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten Thioperamid, Clobenpropit und Ciproxifan konnte unlängst die Bindung an humanes CYP450 bewiesen werden.<sup>101</sup> Im Hinblick auf mögliche unerwünschte Interaktionen mit anderen Arzneistoffen wurden viele Versuche unternommen, den Imidazolring durch andere Heterozyklen, wie z.B. Pyrazine oder Pyridazine, zu ersetzen.<sup>102-105</sup> Die Verbindungen konnten aber in ihren Aktivitäten nicht überzeugen. Ein Durchbruch gelang, als *Ganellin* et al. aliphatische und gesättigte Aminstrukturen, insbesondere Piperidin- und Pyrrolidinringe in der Klasse der Phenoxy-alkylimidazole verwendete.<sup>106</sup> Als ein Beispiel ist UCL 1972 zu nennen. Weitere Forschungen ergaben, daß der Austausch des Imidazolrings durch stickstoffhaltige Alizyklen nur bei bestimmten Verbindungsklassen zu äquipotenten oder höher potenten Liganden führt.<sup>107</sup> Der Imidazolersatz bei FUB 181 ( $K_i$  (Ratte) = 13 nM, ED<sub>50</sub> = 0.8 mg/kg p.o.)<sup>108</sup> resultierte schließlich erfolgreich in FUB 649, aber auch das Piperidin-Analogon von Ciproxifan, UCL 2190 ( $pK_i$  = 8.4, ED<sub>50</sub> = 0.18 mg/kg p.o.), ist ein potenter H<sub>3</sub>-Antagonist.<sup>107,109</sup> Seit der Klonierung des humanen Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors hat die Entwicklung einer neuen Generation von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten begonnen.<sup>11</sup> Nach der Entdeckung von konstitutiver Aktivität beim H<sub>3</sub>-Rezeptor wurden einige Antagonisten, wie zum Beispiel Ciproxifan, im Tiermodell als inverse Agonisten identifiziert.<sup>61,77</sup> Mit Proxyfan wurde ein unter bestimmten Testbedingungen neutraler Antagonist gefunden, der sich aber auch als partieller Agonist/inverser Agonist verhalten kann.<sup>61</sup> Nachdem durch die Klonierung des H<sub>3</sub>-Rezeptors teilweise große Speziesunterschiede im pharmakologischen Verhalten mancher Referenzsubstanzen aufgedeckt wurden, müssen die bisher aufgestellten Theorien zu Struktur-Wirkungsbeziehungen an neue Erkenntnisse angepaßt werden.<sup>61,72,81</sup>

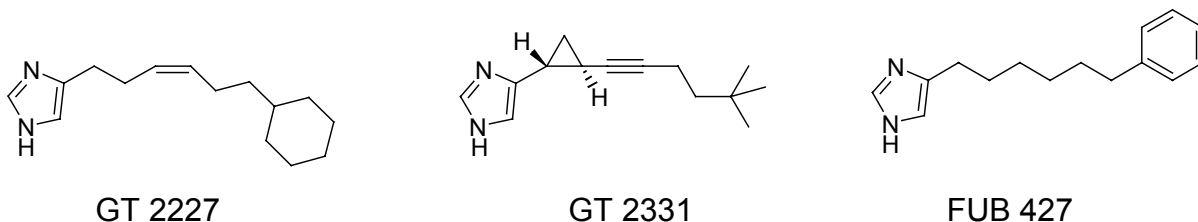


**Tab. 1-3** Antagonisten des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors.

Verbindung	H <sub>1</sub> -Rezeptor <sup>a</sup>	H <sub>2</sub> -Rezeptor <sup>b</sup>	H <sub>3</sub> -Rezeptor		
	pD' <sub>2</sub> bzw. pA <sub>2</sub>	pD' <sub>2</sub> bzw. pA <sub>2</sub>	pK <sub>i</sub> <sup>c</sup>	ED <sub>50</sub> <sup>d</sup>	K <sub>i</sub> (human) <sup>e</sup>
Burimamid 	3.5	5.1	7.2		77 <sup>f</sup>
Thioperamid 	<4	<5	8.4	1	60
Clobenpropit 	<5	<5	8.85	≈25	2.4
Ciproxifan 	4.57	4.91	8.41	0.14	46
Imoproxifan 	4.6	4.5	9.6	0.034	
FUB 649 	5.8	5.1	7.8	1.6	
UCL 1972 			7.41	1.1	

<sup>a</sup> Meerschweinchen-Ileum; <sup>b</sup> Meerschweinchen-Atrium; <sup>c</sup> Synaptosomen des zentralen Rattencortex; <sup>d</sup> p.o. Applikation an Mäuse (mg/kg); <sup>e</sup> Bindungsstudie mit [<sup>125</sup>I]-Iodoproxyfan;<sup>82</sup> <sup>f</sup> Bindungsstudie mit [<sup>3</sup>H]-N<sup>α</sup>-Methylhistamin an Membranen aus SK-N-MC-Zellen.<sup>77</sup>

Mittlerweile wurden aber auch einige potente Verbindungen identifiziert, die dem generellen Aufbauschema widersprechen (Abb. 1-7).<sup>110</sup>



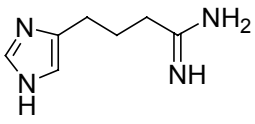
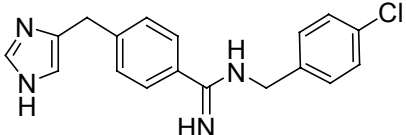
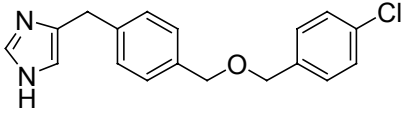
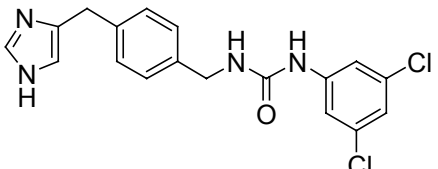
**Abb. 1-7** Neuere Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten.

Während die Doppelbindung in GT 2227 oder die Dreifachbindung in GT 2331 noch als polare Funktion angesehen werden kann, fehlt sie bei FUB 427 völlig. FUB 427 zeichnet sich durch einen  $pK_i$  (Meerschweinchen) von 7.1 und eine hohe *In-vivo*-Potenz ( $ED_{50} = 1$  mg/kg) aus.<sup>110</sup> Auch GT 2227 ( $pK_i = 8.4$ , Rattencortex) und GT 2331 ( $pK_i = 9.9$ , Rattencortex,  $ED_{50} = 0.08$  mg/kg i.p.) stellen hoch potente Antagonisten dar.<sup>111</sup> In letzter Zeit ist GT 2331 unter dem Namen Cipralisant in den Fokus der Aufmerksamkeit gerückt, nachdem bekannt wurde, daß es sich in Phase II der klinischen Testung gegen Hyperaktivität bei Kindern (ADHD) befindet.<sup>112</sup> Außerdem soll es in Phase II gegen Narkolepsie getestet werden, da Cipralisant die Anzahl und Schwere von kataleptischen Anfällen in narkoleptischen Hunden verringerte.<sup>113</sup> Eine potentielle therapeutische Anwendbarkeit von H<sub>3</sub>-Antagonisten konnte somit zum erstenmal verifiziert werden.

Eine bislang unerwähnte, aber für die vorliegende Arbeit wichtige Gruppe von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten stellen Verbindungen dar, die von Schering-Plough in den letzten Jahren entwickelt wurden. Die wichtigsten Vertreter der auf dem 4-Benzyl-(1*H*-imidazol-4-yl)-Grundgerüst basierenden Verbindungen sind in Tabelle 1-4 aufgeführt. Ausgehend von dem potenten und selektiven H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten SK&F 91606 entwickelten sie durch Einführung eines Phenylrings in den Spacer und verschiedener lipophiler Substituenten an der Amidin-Funktion eine Reihe neuer H<sub>3</sub>-Antagonisten, von denen das Beispiel A einen der potentesten darstellt.<sup>114</sup> Obwohl die Verbindung *in-vivo* am Meerschweinchen nach intravenöser Gabe sehr gut wirksam war, zeigte sie in der Ratte nach peroraler Gabe keinerlei Aktivität. In der Zwischenzeit wurden mehrere Patente über diese Substanzklasse veröffentlicht, in denen jedoch nur wenig über deren pharmakologische Aktivität berichtet wird.<sup>115-117</sup> Als Beispiel sei Beispiel B herausgegriffen, da es aufgrund seiner Ähnlichkeit mit den 4-(3-Benzoxypropyl)-1*H*-imidazolen (Proxifane) bzw. entfernter mit den 4-(3-Phenoxypropyl)-1*H*-imidazolen (Proxifane) zum Vergleich herangezogen werden konnte. Mit Beispiel C gelang es Schering-Plough schließlich, einen H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten dieses Typs

zu entwickeln, der nicht nur *in-vitro* sehr potent ist, sondern auch bei oraler Gabe in Ratte und Affe Wirksamkeit und hohe Rezeptorselektivität aufweist.<sup>118</sup>

**Tab. 1-4** Schering-Plough Verbindungen.

Verbindungen	H <sub>3</sub> -Rezeptor <i>in-vitro</i>	H <sub>3</sub> -Rezeptor <i>in-vivo</i>
SK&F 91606 	$K_i = 1.2 \text{ nM}$	
Beispiel A 	$K_i = 16 \text{ nM}^a$	$ED_{50} = 0.3 \text{ mg/kg i.v.}^b$
Beispiel B 	6-87 % Inhibierung bei $2 \mu\text{g/mL}^a$	
Beispiel C 	$K_i = 4 \text{ nM}^a$	Dosis (Ratte) = 10 mg/kg : AUC ( $\mu\text{gh/mL}$ ) = 18.1 Dosis (Affe) = 3 mg/kg : AUC ( $\mu\text{gh/mL}$ ) = 12.6

<sup>a</sup> Bindungsstudie mit [<sup>3</sup>H]-(R)- $\alpha$ -Methylhistamin oder [<sup>3</sup>H]-N <sup>$\alpha$</sup> -Methylhistamin mit Membranen aus Meerschweinchenhirn; <sup>b</sup> Meerschweinchen.

## 1.8 Pharmakologische Bedeutung des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors

Im zentralen Nervensystem werden viele physiologische Prozesse über H<sub>3</sub>-Rezeptoren moduliert. Über H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren werden die Freisetzung von Acetylcholin im Enterorhinalkortex,<sup>55</sup> Dopamin im Striatum,<sup>49</sup> Noradrenalin<sup>47</sup>, Serotonin<sup>51</sup> in der Hirnrinde und die Sekretion von Hypophysenhormonen<sup>119</sup> inhibiert. Im Striatum wird dagegen die Enkephalinkonzentration erhöht.<sup>120</sup>

Aus diesen Effekten lassen sich regulatorische Einflüsse auf den Schlaf-/Wachrhythmus,<sup>121,122</sup> auf die Nahrungs- und Wasseraufnahme,<sup>55,123</sup> Darmmotilität,<sup>124</sup> aber auch auf Schmerzempfindung<sup>125</sup> und körperliche Agilität<sup>126,127</sup> ableiten.

Aber auch in vielen peripheren Organen wird die Neurotransmission über Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren gesteuert. Im Magen wird die Magensäuresekretion über H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren gehemmt.<sup>128</sup> Im Darm führt die Stimulierung des H<sub>3</sub>-Heterorezeptors auf cholinergen und NANC-Neuronen zu einer verminderten Muskelkontraktion.<sup>129,130</sup> Wahrscheinlich führt eine Aktivierung des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors über eine Senkung der Noradrenalin-Freisetzung zu einem negativ chronotropen Effekt, aus dem eine Blutdrucksenkung resultiert.<sup>131,132</sup> Gleichzeitig kommt es so zu einer Gefäßrelaxation, die vermutlich zusätzlich durch Freisetzung von Prostacyclin und Stickstoffmonoxid aus den Endothelzellen der Blutgefäße verursacht wird.<sup>133</sup> In den Bronchien wird über H<sub>3</sub>-Rezeptoren die Ausschüttung von Histamin, Acetylcholin und Neuropeptiden vermindert und damit einer Bronchokonstruktion entgegengesteuert.<sup>8,134-137</sup> Für (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin wurde ein Mukosa-protektiver Effekt beschrieben.<sup>130</sup>

## **1.9 Therapeutische Einsatzgebiete für Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorliganden**

Aus den in Kap. 1.8 beschriebenen H<sub>3</sub>-Rezeptor vermittelten Effekten lassen sich zahlreiche therapeutische Anwendungsgebiete für Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorliganden ableiten.

### **1.9.1 Hyperkinetisches Syndrom (ADHD)**

ADHD ist eine bei Kindern auftretende Störung des Lern- und Konzentrationsvermögen, die einhergeht mit erhöhter Unruhe und Aktivität. Als Ursache wird ein gestörtes Gleichgewicht im Monoaminstoffwechsel von z.B. Acetylcholin, Noradrenalin und Dopamin diskutiert.<sup>138,139</sup> Da Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren auf dieses Gleichgewicht modulierend einwirken, werden H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten als mögliche neue Therapeutika gegen ADHD angesehen. Die Anwendung von H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten bietet im Gegensatz zu Methylphenidat (Ritalin<sup>®</sup>) den Vorteil, keine psychostimulierende Wirkung zu besitzen. Damit könnten die bekannten unerwünschten Nebenwirkungen und die Abhängigkeitsgefahr vermieden werden. Im Tierversuch konnte eine deutliche Verbesserung der Lern- und Erinnerungsfähigkeit nachgewiesen werden. Im Elektroenzephalogramm wurde durch Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten ein wachmachender Effekt und eine Zunahme der Wachsamkeit beobachtet.

### 1.9.2 Dementielle Erkrankungen

Vom im Tierversuch beobachteten positiven Einfluß von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten auf Gedächtnis, Konzentrationsfähigkeit und Lernen leitet sich der postulierte Nutzen bei der Behandlung der Alterssenilität und anderer dementieller Erkrankungen ab.<sup>140,141</sup> Speziell bei Morbus Alzheimer stellen H<sub>3</sub>-Antagonisten möglicherweise eine sinnvolle Ergänzung der bisher durchgeführten Therapieregime dar. Im Hippocampus, Hypothalamus und Temporalcortex von Alzheimerpatienten beobachtete man im Vergleich zu gleichaltrigen Gesunden erniedrigte Histaminspiegel.<sup>142,143</sup> Die charakteristischen Neurofibrillen mit typischen Plaqueablagerungen sind mit histaminergen Neuronen des hinteren Hypothalamus kolokalisiert.<sup>78</sup> Ein Therapieansatz besteht in der Erhöhung der AcetylcholinKonzentration im ZNS durch die histaminerge Innervation des cholinergen Systems.<sup>144-146</sup> Im Nucleus basalis des Vorderhirns der Ratte zeigte sich bei künstlichen Erniedrigungen der kortikalen Acetylcholinspiegel und -freisetzung eine Anhäufung des Amyloid Precursor Proteins (APP), aus dem das schlecht lösliche Beta-Amyloid, ein Hauptbestandteil der Plaques, freigesetzt wird. Durch muskarinerge Agonisten konnte *in-vitro* eine Senkung der Bildung von möglichen Amyloid-Ausgangsverbindungen erreicht werden.<sup>147,148</sup> Über eine Normalisierung der APP-Bildung durch Regulation von Synthese und Freisetzung der APP's könnte langfristig das Voranschreiten des geistigen Verfalls der Patienten verzögert werden. Die bislang in der Therapie verwendeten Acetylcholinesterase-Inhibitoren, z.B. Tacrin, zeigten einen positiven Effekt auf die kognitiven Leistungen von Alzheimerpatienten. Ihr Nutzen wird aber durch ihre zum Teil erheblichen Nebenwirkungen, ihre Lebertoxizität und durch die Therapieresistenz einiger Patienten geschmälert. Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten könnten durch Blockade der H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren auf cholinergen Neuronen über eine Erhöhung der Acetylcholinspiegel die fortschreitende und irreversible Gewebedegeneration vermindern und die Lebensqualität von Alzheimerpatienten erhöhen.

### 1.9.3 Epilepsie

Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten werden auch als potentielle Antiepileptika oder Co-Therapeutika von Antiepileptika, insbesondere für Kinder, angesehen, da man vermutet, daß endogenes Histamin durch seinen modulatorischen Einfluß auf die Neurotransmission einen antikonvulsiven Effekt ausübt. Einige Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten führten bei erwachsenen Epileptikern aber auch bei Kindern im Vorschulalter zu Krämpfen.<sup>149</sup> Durch

verschiedene Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten konnte die Anfälligkeit für elektrisch ausgelöste Krämpfe bei Mäusen vermindert werden.<sup>150-152</sup> Die zusätzliche Gabe von H<sub>3</sub>-Agonisten oder des H<sub>1</sub>-Antagonisten Mepyramin setzte den spasmolytischen Effekt wieder herab. In einer jüngst veröffentlichten Studie konnte die gleichzeitige Gabe von Thioperamid und verschiedenen Antiepileptika in jeweils subeffektiven Dosen das Auftreten von Krämpfen, hervorgerufen durch Elektroschocks oder Pentylentetrazol, in Mäusen verhindern. Darüber hinaus führte die Gabe von verschiedenen Antiepileptika zu unterschiedlichen Histaminspiegeln in verschiedenen Hirnregionen.<sup>153</sup> Damit bestätigten sich die mit Thioperamid in vorangegangenen Untersuchungen erzielten Ergebnisse. Unter gleichen Testbedingungen zeigte Clobenpropit keinen Effekt.<sup>154</sup>

#### **1.9.4 Schizophrenie**

Aus der moderaten antagonistischen Aktivität des atypischen Neuroleptikums Clozapin am Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor der Ratte leitete man eine partielle antischizophrene Wirkung ab.<sup>155</sup> Nachdem andere Neuroleptika jedoch keine Affinität zum H<sub>3</sub>-Rezeptor aufwiesen und Clozapin am humanen Rezeptor unwirksam ist,<sup>11</sup> scheint die These widerlegt. Trotzdem bleibt eine mögliche Beteiligung von Histamin am Krankheitsbild bestehen, da in der Zerebrospinalflüssigkeit schizophrener Patienten erhöhte Konzentrationen an N<sup>c</sup>-Methylhistamin gefunden wurden<sup>156</sup> und die Dichte von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren im ZNS verringert ist.<sup>157</sup>

#### **1.9.5 Depression**

1981 wurde erstmals eine Beteiligung des histaminergen Systems an der Wirkung von Antidepressiva vorgeschlagen.<sup>158</sup> *Ghi* et al. zeigten, daß das tricyclische Antidepressivum Amitriptylin der streß-induzierten Abnahme der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptordichte in der Hirnrinde der Ratte entgegenwirkt. Bei ungestreßten Tieren führte Amitriptylin zu einer Zunahme der Rezeptorzahl.<sup>159,160</sup> *Lamberti* et al. stellten eine positive Aktivität von Thioperamid bei der Maus im erzwungenen Schwimmtest, einem Tiermodell der Depression, fest.<sup>161</sup> Um eine Fehlinterpretation durch eine Zunahme der Bewegungsaktivität, ausgelöst durch Thioperamid, ebenso auszuschließen, wie einen Effekt über 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren<sup>162</sup>, haben *Pérez-García* et al. neue Studien durchgeführt. In einem experimentellen Tiermodell der Angst konnten sie keine anxiolytische Wirkung von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten feststellen. Thioperamid und

Clobenpropit zeigten aber im Experiment eine positive antidepressive Aktivität in Konzentrationen, bei denen die Bewegungsaktivität unbeeinflusst blieb.<sup>163</sup>

Diese Ergebnisse stärken die Annahme, daß die modulatorische Wirkung von Histamin-H<sub>3</sub>-Auto- und H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren auf die cerebrale Konzentration von Noradrenalin, Serotonin und Histamin bei der Behandlung der Depression eingesetzt werden kann.

### 1.9.6 Adipositas

Die Homöostase des Energiehaushalts und damit auch des Körpergewichts wird im Hypothalamus durch Histamin reguliert.<sup>164</sup> Blockade von H<sub>1</sub>-Rezeptoren im Hypothalamus führt zu einer erhöhten Nahrungsaufnahme. Aktivierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors führt zu einem gegenteiligen Effekt. Die Histaminfreisetzung wird durch Leptin gesteigert und ist ein Signaltransduktionsweg des Leptins, der über eine Down-Regulation der *ob*-Genexpression einen negativen Feedback-Mechanismus bewirkt.<sup>165,166</sup> Im Tierversuch konnte durch Gabe von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten ein erniedrigtes Freßverhalten erreicht werden. In einem genetischen Modell des Übergewichts, der adipösen Zucker-Ratte, wurde ferner eine Dysfunktion in der histaminergen Neurotransmission gefunden.<sup>167</sup> Im gleichen Tiermodell konnte Ciproxifan die aufgenommene Futtermenge signifikant senken. Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten könnten somit als zentral eingreifende Therapeutika einen weiteren wichtigen Beitrag in der Behandlung der Adipositas finden.

### 1.9.7 Schlaf-/Wachrhythmus, Narkolepsie

Histaminerge Neuronen im tuberomammilären Kern des hinteren Hypothalamus projizieren in die Hirnrinde. Da bekannt ist, daß dieses Gebiet physiologisch an der Regulation des Biorhythmus beteiligt ist, konnten auch viele Beweise gesammelt werden, daß Histamin an der Modulation des Schlaf-/Wachzyklus beteiligt ist. Durch Läsion dieses Hirnareals ließ sich im Tierversuch Schlaf induzieren.<sup>122</sup> Studien haben gezeigt, daß die Aktivität dieser Nervenzellen während der Wachphase am höchsten ist und sich durch Gabe von Hypnotika deutlich abschwächt.<sup>168</sup> *In-vivo* wurde ein circadianer Rhythmus bei der Histaminfreisetzung aus dem Hypothalamus der Ratte festgestellt.<sup>169</sup>

Unterstützt wird diese These durch den sedierenden Effekt von ZNS gängigen H<sub>1</sub>-Antihistaminika, der sie zu weit verbreiteten Therapeutika gegen Schlafstörungen gemacht hat. Gabe von Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten, wie (*R*)- $\alpha$ -Methylhistamin und BP 2.94, führte zu einem verlängerten Schlafintervall bei der Ratte und Katze.<sup>121,170</sup> Umgekehrt konnte

durch Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten, wie Ciproxifan, die Wachphase oder die körperliche Aktivität bei Katzen verlängert werden.<sup>97,126</sup> Die Anhebung zerebraler Histaminspiegel durch H<sub>3</sub>-Antagonisten gilt deshalb als mögliche Therapie der Narkolepsie.

### 1.9.8 Myokardischämie

Pathologische Zustände des Herzens, wie z.B. Herzinsuffizienz, Myokardischämie und Herzinfarkt, sind charakterisiert durch eine vermehrte Freisetzung positiv inotrop und chronotrop wirkender Neurotransmitter, wie Noradrenalin und CGRP (Calcitonin-Gen-Related Peptide), aus sensorischen Nerven.<sup>171</sup> Durch CGRP kommt es zu einer Degranulation der histaminhaltigen Mastzellen.<sup>172</sup> Über einen negativen Rückkopplungsmechanismus hemmt Histamin via H<sub>3</sub>-Heterorezeptoren die Freisetzung von Noradrenalin<sup>173-176</sup> oder CGRP aus sympathischen Nervenendigungen.<sup>171</sup>

Ein Hinweis auf die pathophysiologisch regulierte Freisetzung von Histamin und dessen modulierende Wirkung gaben Tierexperimente, in denen nur bei induzierter Ischämie Thioperamid, ein H<sub>3</sub>-Rezeptorantagonist, die Noradrenalinfreisetzung verdoppeln konnte.<sup>171</sup> Unter physiologischen Bedingungen trat dieser Effekt jedoch nicht auf.<sup>177</sup> Daraus leitet sich die modulierende Bedeutung des Histamins im kardiovaskulären System ab. Gabe eines Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten könnte eventuell in der frühen Phase des Herzinfarktes oder bei Myokardischämie therapeutisch genutzt werden, indem eine pathophysiologisch überschießende Reaktion durch Noradrenalin und CGRP vermindert würde.<sup>178</sup>

### 1.9.9 Migräne

Bei der Pathogenese von Migräne und Cluster-Kopfschmerzen spielen neurogene Entzündungsprozesse und Plasmaexsudation aus Blutkapillaren in der Dura mater eine bedeutende Rolle.<sup>179</sup> Der in der Migränetherapie eingesetzte 5-HT<sub>1B/D/F</sub>-Agonist Sumatriptan (Imigran<sup>®</sup>) verhindert den Entzündungsprozeß.<sup>180</sup> Eine Aktivierung von  $\alpha_2$ -Adrenozeptoren und H<sub>3</sub>-Rezeptoren führt zu einer Blockade der Plasmaexsudation.<sup>52</sup> Gleichzeitig führt eine Stimulation von H<sub>3</sub>-Rezeptoren zu einer Freisetzung von analgetisch wirkenden Enkephalinen.<sup>120</sup> Aus diesem Wirkspektrum heraus wird für Agonisten des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors ein neuer Therapieansatz gegen Migräne abgeleitet.



### 1.9.10 Asthma bronchiale

Über Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoren wird die cholinerge und peptiderge Neurotransmission in der Lunge reguliert.<sup>53,134,181</sup> Durch die Gabe eines H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten könnte daher der überschießende inflammatorische Prozeß gemildert werden. Auch kann dadurch möglicherweise die Histaminfreisetzung aus Mastzellen in der Lunge, die über H<sub>3</sub>-Rezeptorhaltige peptiderge sensorische C-Fasern reguliert wird, normalisiert werden.<sup>182,183</sup> Neben der Therapie des Asthma bronchiale könnten Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten auch bei anderen chronisch obstruktiven Atemwegserkrankungen Verwendung finden.

### 1.9.11 Ulkustherapie

Ein weiteres therapeutisches Einsatzgebiet für Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten in der Peripherie wird für die Behandlung peptischer Ulcera diskutiert. Durch sie wurde ein gastroprotektiver Effekt auf durch Ethanol<sup>184,185</sup> oder nichtsteroidale Antirheumatika<sup>186</sup> induzierte Läsionen der Magenschleimhaut bei Ratten beobachtet. Zurückgeführt wird diese Wirkung auf die Hemmung der Freisetzung von Histamin aus ECL-Zellen und der Freisetzung von Acetylcholin und Substanz P aus prä- und postganglionären cholinergen und NANC-Neuronen.<sup>130,187</sup> Inwieweit die nachgewiesene Inhibierung der Somatostatinfreisetzung aus D-Zellen von humanem Pankreasgewebe relevant ist, bleibt abzuwarten.<sup>188,189</sup> In Folge der Aktivierung von H<sub>3</sub>-Rezeptoren kommt es somit zu einer verminderten Magensäuresekretion aus Parietalzellen, welches sich positiv auf die Abheilung vorhandener Ulcera auswirkt.<sup>190</sup>

Zusätzlich werden einige andere therapeutische Einsatzgebiete, wie z.B. bei entzündlichen Darmerkrankungen oder bei der Kontrolle der Intestinalmotilität<sup>191</sup>, postuliert. Inwieweit sich die hohen Erwartungen eines therapeutischen Einsatzes von H<sub>3</sub>-Rezeptorliganden bestätigen lassen, muß durch weitergehende Studien gezeigt werden. Gerade durch die in letzter Zeit gewaltigen Fortschritte im Verständnis der Molekularpharmakologie und -biologie insbesondere des humanen H<sub>3</sub>-Rezeptors machen die Entwicklung neuer selektiver und potenter Liganden notwendig.

### **1.10 Zielsetzung der Arbeit**

Die derzeit bekannten Liganden des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors sind ganz überwiegend Derivate des 4-monosubstituierten Imidazols. Wegen der Bindung dieses Strukturelementes an das Cytochrom-P450-Enzymsystem und der dadurch verursachten Interaktion mit Arzneistoffen, die über das gleiche Isoenzym metabolisiert werden, sind solche Substanzen nicht unproblematisch.

Es sollten daher *N*-substituierte Piperidine und deren Analoga mit Strukturen verknüpft werden, die für Histamin-H<sub>3</sub>-Antagonisten charakteristisch sind. Wirksame Substanzen sollten unter dem Gesichtspunkt hoher Potenz und Selektivität optimiert werden. Dabei sollte insbesondere auch der Frage nachgegangen werden, ob auch potente, oral bioverfügbare H<sub>3</sub>-Rezeptoragonisten ohne Imidazolstruktur realisierbar sind.

Es sollte am Grundkörper der Einfluß verschiedener funktioneller Gruppen untersucht werden, weiterhin der Einfluß auf die Molekülgeometrie durch stellungsisomere *ortho*- und *meta*-substituierte *N*-Benzylpiperidine. Der Piperidinring sollte durch verschiedene andere gesättigte stickstoffhaltige Heterozyklen und sekundäre Amine variiert werden.

Struktur-Wirkungsbeziehungen sollten herausgearbeitet und anhand der Wirkstärke und Selektivität der Verbindungen optimiert werden.