

# **1 Einleitung**



## 1.1 Histamin

### 1.1.1 Allgemeines

Das biogene Amin Histamin ist in der Natur ubiquitär verbreitet. Im Säugetier-Organismus ist Histamin in beinahe allen Geweben nachzuweisen; Variationen des Histamin-Gehalts sind nicht nur abhängig vom Gewebe, sondern auch von der Spezies.

Die entscheidende Rolle des Histamins bei der Entstehung allergischer Reaktionen -von leichten Hautreaktionen bis hin zum Status asthmaticus- ist zweifelsfrei erwiesen. Zudem ist Histamin neben einer Vielzahl anderer Mediatoren wie Dopamin, Serotonin, Prostaglandinen, Interleukinen, lysosomalen Enzymen und Komplementfaktoren an der Pathogenese entzündlicher Reaktionen beteiligt.

Seit mit der Entdeckung der zentralen Histamin-Synthese und der zytochemischen Visualisierung histaminerger Neurone die Neurotransmitter-Funktion des Histamins bewiesen werden konnte, haben sich die Untersuchungen auf diesem Gebiet intensiviert. Aufgrund der weiten Verbreitung histaminerger Neurone im Gehirn, wie sie auch für Neurone anderer aminergere Neurotransmitter charakteristisch ist, wird ihnen eine entscheidende Rolle bei der zentralen Regulation zahlreicher Prozesse, die das Überleben sichern, zugeschrieben.

### 1.1.2 Historischer Überblick

Nicht lange nachdem *Windaus* und *Vogt*<sup>1</sup> im Jahr 1906 erstmals die Synthese von Histamin als „chemische Kuriosität“ beschrieben, gelang *Barger* und *Dale*<sup>2</sup> die Isolierung dieses biogenenamins aus *Secale cornutum*. Im gleichen Jahr konnte *Ackermann*<sup>3</sup> nachweisen, daß Histamin ein Abbauprodukt der Aminosäure L-Histidin darstellt. In der Folgezeit erkannten *Dale* und *Laidlaw*<sup>4,5</sup> das vielfältige pharmakologische Potential dieser Substanz, insbesondere die starke Beeinflussung des Blutdrucks, der Herzfrequenz und der Kontraktion der glatten Muskulatur. Wenig später konnte mit der Isolierung von Histamin aus Leber- und Lungengewebe bewiesen werden, daß Histamin als natürlicher Körperbestandteil in zahlreichen Geweben vorhanden ist (histos, griech. Gewebe). Damit wurde die große Bedeutung von Histamin für zahlreiche physiologische und pathophysiologische Prozesse offensichtlich.

Im Jahr 1936 gelang es *Straub* und *Bovet* erstmals, Verbindungen zu synthetisieren, die eine Schutzfunktion gegenüber Histamin-vermittelten Bronchospasmen zeigten.<sup>6</sup> Diese ersten Substanzen, Piperoxan und Thymoxyethyldiethanamin, wiesen jedoch zu starke Toxizität auf, um therapeutisch einsetzbar zu sein. Aber bereits 1942 konnten mit Phenbenzamin (Antergan<sup>®</sup>) und Mepyramin (Pirylamin<sup>®</sup>) die ersten Arzneistoffe erfolgreich in die Therapie eingeführt werden.<sup>7</sup> In den folgenden Jahren wurden zahllose Vertreter dieser als „Antihistaminika“ bezeichneten Substanzklasse synthetisiert. Viele dieser älteren, sogenannten „klassischen Antihistaminika“ oder auch „Antihistaminika der 1. Generation“ wie Diphenhydramin (Dibondrin<sup>®</sup>) oder Pheniramin (Avil<sup>®</sup>) sind heute noch bei leichten allergischen Reaktionen, Urtikaria und Verbrennungen indiziert. Aufgrund ihrer hohen Lipophilie sind diese Substanzen in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überschreiten und durch Interaktionen mit zentralen H<sub>1</sub>-Rezeptoren sedierende Effekte auszuüben, weshalb sie heute zusätzlich als Sedativa Verwendung finden. Um diese bei der Behandlung allergischer Reaktionen unerwünschte Nebenwirkung zu umgehen, wurden vermehrt modernere Substanzen der 2. und 3. Generation wie Cetirizin (Zyrtec<sup>®</sup>), Loratadin (Lisino<sup>®</sup>) oder Fexofenadin (Telfast<sup>®</sup>) entwickelt, die aufgrund ihrer deutlich geringeren Lipophilie nur noch bedingt in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.

Schon bald nach Einführung der ersten Antihistaminika wurde deutlich, daß einige Histamin-vermittelte Effekte, wie Magensaftsekretion, Vasodilatation oder positiv chronotrope Wirkungen am Herzen, durch diese Verbindungen nicht oder nur partiell inhibiert werden konnten. Diese Erkenntnisse veranlaßten *Ash* und *Schild* 1966, die Existenz zweier Histamin-Rezeptoren, H<sub>1</sub> und H<sub>2</sub>, zu postulieren.<sup>8</sup> Diese Hypothese wurde 1972 von *Black et al.* mit der Entwicklung von Burimamid, dem ersten potenten Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonisten, der die Histamin-vermittelten Effekte an Herz und Magen antagonisierte, bestätigt.<sup>9</sup> Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonisten finden als Ulkustherapeutika und bei Sodbrennen breite Verwendung.

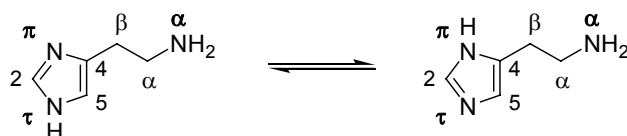
Im Jahre 1983 beschrieben *Arrang et al.* nach umfangreichen neurochemischen Untersuchungen die Existenz eines weiteren Histamin-Rezeptorsubtyps, des H<sub>3</sub>-Rezeptors. Anders als H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptoren ist der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor auf histaminergen Neuronen präsynaptisch lokalisiert und reguliert als Autorezeptor über einen negativen Rückkopplungsmechanismus die Synthese und Freisetzung von Histamin.<sup>10,11</sup> Daneben moduliert er als Heterorezeptor die Ausschüttung anderer Neurotransmitter.

Mit Entwicklung erster selektiver Liganden, des H<sub>3</sub>-Agonisten *R*-(-)- $\alpha$ -Methylhistamin und des H<sub>3</sub>-Antagonisten Thioperamid, konnte der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors genauer charakterisiert werden.<sup>12</sup> Dabei stellte sich heraus, daß das von *Black et al.* als H<sub>2</sub>-Antihistaminikum entwickelte Burimamid eine 100-fach höhere Affinität zum Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor aufweist. Durch die Entdeckung der zentralen Lokalisation von H<sub>3</sub>-Rezeptoren<sup>13,14</sup> und die Klonierung des Rezeptorgens durch *Lovenberg et al.* im Jahr 1999<sup>15</sup> konnte seine Existenz abschließend bewiesen werden.

Die lange diskutierte Existenz eines weiteren Histamin-Rezeptors, des Histamin-H<sub>4</sub>-Rezeptors,<sup>16,17</sup> wurde im Jahr 2000 durch *Oda et al.* durch Klonierung des Rezeptorgens bestätigt.<sup>18</sup> Er ist überwiegend auf Zellen des Knochenmarks und auf immunkompetenten Zellen in der Peripherie lokalisiert.<sup>16,17</sup> Ein Vorkommen des Histamin-H<sub>4</sub>-Rezeptors im zentralen Nervensystem ist noch nicht abschließend geklärt. Auch über seine Funktion und Wirkweise ist bislang wenig bekannt.

### 1.1.3 Chemische Konstitution

Histamin, oder nach systematischer Nomenklatur 2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethanamin, gehört zur Gruppe der von aromatischen Aminosäuren abgeleiteten biogenen Amine. Es besteht aus einem Imidazol-Ring, der an C-4 über eine Ethylen-Seitenkette mit einem primären Amin-Stickstoff verknüpft ist. Die Benennung der Stickstoff-Atome des Histamins erfolgt nach *Black* und *Ganellin* (Abb. 1.1-1). Der der Ethanamin-Seitenkette benachbarte Imidazol-Stickstoff wird als *N* <sup>$\pi$</sup>  (pros, griech. nahe bei), der entferntere als *N* <sup>$\tau$</sup>  (tele, griech. entfernt) und der primäre Amin-Stickstoff als *N* <sup>$\alpha$</sup>  bezeichnet.<sup>19</sup>



**Abb. 1.1-1** Prototrope Formen des Histamins; Nomenklatur nach *Black* und *Ganellin*<sup>19</sup>

In saurer Lösung kann eine Protonierung sowohl am primären *N* <sup>$\alpha$</sup> -Amin-Stickstoff als auch am *N* <sup>$\pi$</sup> -Stickstoff des Imidazols, das formal ein cyclisches Amidin darstellt, erfolgen.

Unter physiologischen Bedingungen (pH 7.4) erfolgt eine Protonierung überwiegend am stärker basischen  $N^{\alpha}$ -Stickstoff ( $pK_a = 9.4$ );<sup>20</sup> die Basizität der Amidin-Struktur ist durch ihre Einbindung in ein aromatisches System stark herabgesetzt ( $pK_a = 5.8$ ). In wässriger Lösung sind jedoch geringe Mengen an Dikation ( $\sim 2\%$ ) und freier Base ( $\sim 1\%$ ) nachweisbar.<sup>21</sup>

Aufgrund der zwei Bindungsmöglichkeiten für das Amidin-Proton ( $N^{\pi}$  und  $N^{\tau}$ ) läßt sich für den Imidazol-Ring eine  $N^{\pi}$ - $N^{\tau}$ - $H$ -Tautomerie formulieren. Das Tautomeren-Gleichgewicht liegt in wässriger Lösung sowohl für das Monokation als auch für die freie Base überwiegend auf Seiten des  $N^{\tau}$ - $H$ -Tautomers ( $\sim 80\%$ ).<sup>22,23</sup> Dieses gilt auch als biologisch aktive Form des Histamins am  $H_1$ - und  $H_2$ -Rezeptor,<sup>21,24</sup> obwohl kristallographische Untersuchungen der Histamin-Base eine Bevorzugung des  $N^{\pi}$ - $H$ -Tautomers zeigen.<sup>25</sup>

### 1.1.4 Biosynthese

Der Histamin-Gehalt in verschiedenen Organen und Zelltypen variiert sehr stark. Hohe Histamin-Konzentrationen sind unter anderem in den Gewebemastzellen der Haut, der Mukosa der Bronchien und des Gastrointestinaltrakts sowie in den basophilen Granulozyten des Blutes zu finden. In diesen Zelltypen liegt Histamin in inaktiver Form an das saure Mucopolysaccharid Heparin und ein basisches Protein gebunden vor. Ferner sind erhöhte Konzentrationen in bestimmten Neuronen des Gehirns zu finden. Unter physiologischen Bedingungen sind in Blut und anderen Körperflüssigkeiten nur geringe Mengen freies Histamin nachweisbar, in der Cerebrospinalflüssigkeit dagegen sind signifikant höhere Konzentrationen meßbar.<sup>26</sup>

Aufgrund seiner Polarität und Basizität sowie fehlender Transportmechanismen ist Histamin nicht in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Daher muß neuronales Histamin lokal in den Zellkörpern des hinteren Hypothalamus synthetisiert werden.

Die Biosynthese von Histamin erfolgt aus der für den Menschen essentiellen Aminosäure L-Histidin, die über einen aktiven Transportmechanismus ins ZNS aufgenommen werden kann, durch Decarboxylierung. Die Reaktion wird durch die spezifische L-Histidin-Decarboxylase (HDC, E.C.4.1.1.22), ein pyridoxal-5'-phosphat-abhängiges Enzym, katalysiert.<sup>27</sup> In geringerem Maße findet eine Decarboxylierung unter Katalyse der unspezifischen, ubiquitär vorkommenden aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase (DOPA-Decarboxylase) statt.

Die Speicherung des Histamins erfolgt in peripheren Geweben überwiegend in Granula von Mastzellen und basophilen Granulozyten, im Zentralnervensystem (ZNS) außerdem in Synaptosomen histaminergere Neurone.

Die neuronale Synthese und Freisetzung von Histamin kann durch Stimulation präsynaptischer  $H_3$ -Autorezeptoren sowie präsynaptischer  $M_1$ -<sup>28,29</sup> und  $\alpha_2$ -Heterorezeptoren<sup>30,31</sup> inhibiert werden. Eine Synthesehemmung erfolgt auch durch die L-Histidin-Decarboxylase-Inhibitoren (S)- $\alpha$ -(Fluormethyl)histidin und (S)- $\alpha$ -Methylhistidin.<sup>32</sup>

Die Freisetzung von Histamin kann durch endogene oder exogene Stimuli ausgelöst werden. Als exogene Stimuli sind Verletzungen, Traumen und Toxine zu nennen. Zudem können zahlreiche basische Verbindungen, darunter viele Arzneistoffe mit Amin- oder Amid-Strukturen, wie Antibiotika, Alkaloide oder Polypeptide, aber auch Opioide, Tubocurarin, Barbiturate und Plasmaexpander, eine direkte Histamin-Ausschüttung induzieren.<sup>33</sup>

*In-vitro* kann eine Histamin-Liberation auch durch Einwirkung von Kalium-Ionen oder Depolarisationsgiften sowie durch elektrische Reizung induziert werden.<sup>34-36</sup>

### 1.1.5 Histaminerge Signaltransduktion

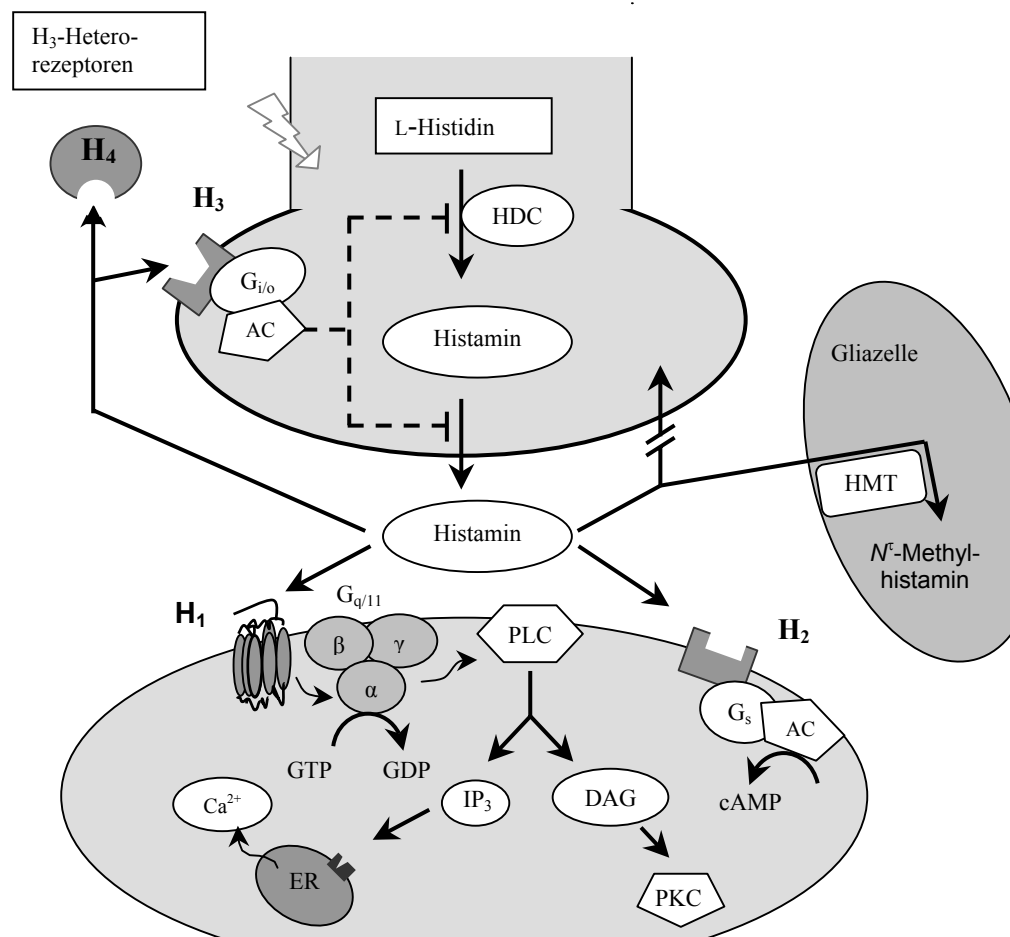
Im Axolemm histaminergere Nervenendigungen öffnet ein eintreffendes Aktionspotential spannungsabhängige Calciumkanäle vom N- und P-Typ. Die einströmenden Calcium-Ionen bewirken in einer elektrosekretorischen Kopplung eine Verschmelzung der Vesikel mit der Axonmembran und damit eine Liberation von Histamin in den synaptischen Spalt. Dort löst es durch Interaktionen mit postsynaptisch lokalisierten  $H_1$ - und  $H_2$ -Rezeptoren spezifische Kaskaden von intrazellulären Reaktionen aus, die in einer Vielzahl von Effekten resultieren.

Histamin-Rezeptoren gehören wie viele andere Neurotransmitter-Rezeptoren zur großen Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Im Ruhezustand stellen G-Proteine Heterotrimere aus je einer  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit dar, von denen zahlreiche Isoformen existieren. Derzeit sind etwa 20 verschiedene  $\alpha$ -, 7  $\beta$ - und 11  $\gamma$ -Untereinheiten bekannt.

G-Proteine werden je nach Verwandtschaftsgrad ihrer  $\alpha$ -Untereinheit in die Familien  $G_s$ ,  $G_{i/o}$  und  $G_{q/11}$  eingeteilt. Das Vorkommen dieser Subtypen ist relativ receptorspezifisch und führt zur Aktivierung unterschiedlicher Effektorsysteme.

Eine Aktivierung  $G_s$ -gekoppelter Rezeptoren stimuliert die Adenylylcyclase,  $G_{i/o}$ -gekoppelte Rezeptoren dagegen inhibieren die Adenylylcyclase und Calcium-Kanäle und stimulieren Kalium-Kanäle.

Eine Aktivierung des  $G_{q/11}$ -Subtyps bewirkt eine Stimulation der phosphatidylinosit-spezifischen Phospholipase C- $\beta$  (PLC).<sup>37</sup> Da bei diesem G-Protein-Subtyp die Anwesenheit von Calcium zur Auslösung von Effekten erforderlich ist, werden  $G_{q/11}$ -gekoppelte Rezeptoren auch als „Calcium-mobilisierende Rezeptoren“ bezeichnet. Nach Aktivierung des Rezeptors ist eine zweistufige Erhöhung des Calcium-Spiegels zu beobachten. Zunächst erfolgt unabhängig von der Anwesenheit von extrazellulärem Calcium ein Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration. Der erzielte Calcium-Spiegel wird dann durch Einstrom von extrazellulärem Calcium aufrechterhalten.<sup>38,39</sup>



AC = Adenylylcyclase, cAMP = cyclisches 3',5'-Adenosinmonophosphat, DAG = 1,2-Diacylglycerol, ER = Endoplasmatisches Retikulum, G = G-Protein, HDC = L-Histidin-Decarboxylase, HMT = Histamin-N<sup>methyl</sup>-Transferase, IP<sub>3</sub> = Inositol-1,4,5-trisphosphat, PKC = Proteinkinase C, PLC = phosphatidyl-inosit-spezifische Phospholipase C- $\beta$ .

**Abb. 1.1-2** Signaltransduktion histaminergen Neurone



Der Histamin- $H_1$ -Rezeptor gehört zur Gruppe der  $G_{q/11}$ -Protein-gekoppelten Rezeptoren.<sup>33,38</sup> Anbindung von Histamin oder  $H_1$ -Agonisten bewirkt über eine Konformationsänderung die Abspaltung der aktivierten  $\alpha$ -GTP-Untereinheit aus dem Heterotrimer. Die dadurch aktivierte Phospholipase C- $\beta$  (PLC) spaltet das membranständige Phospholipid Phosphatidylinosit-4,5-bisphosphat ( $PIP_2$ ) in die *second messenger* Inositol-1,4,5-trisphosphat ( $IP_3$ ) und 1,2-Diacylglycerol (DAG). Beide Botenstoffe sind in der Lage, unabhängig voneinander komplexe Reaktionsmechanismen in der Zelle auszulösen. Je nach Art der Zielzelle können die ausgelösten Effekte sehr unterschiedlicher Natur sein.

$IP_3$  diffundiert ins Cytosol und reagiert dort in erster Linie mit  $IP_3$ -abhängigen Calcium-Kanälen des endoplasmatischen Retikulums (ER). Als Folge kommt es zu einem Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration, der über einen positiven Rückkopplungsmechanismus zusätzlich verstärkt wird. Über einen weiteren, noch nicht abschließend geklärten Mechanismus erfolgt zudem ein Einstrom von extrazellulärem Calcium.<sup>37,40</sup>

Diese massive Erhöhung der intrazellulären Calcium-Konzentration ist für zahlreiche weitere Reaktionen verantwortlich. Hierzu gehören unter anderem die Calcium-Calmodulin-abhängige Aktivierung der NO-Synthase im Endothel,<sup>38,41</sup> der Myosinkinase in der glatten Muskulatur<sup>33,38</sup> und einer Proteinkinase, die den Glykogenabbau stimuliert.<sup>42,43</sup> Zudem bewirkt der hohe intrazelluläre Calcium-Spiegel eine Aktivierung der Phospholipase  $A_2$ , die zur lokalen Synthese von EDRF (endothelium-derived relaxing factor) und von Prostaglandinen, vornehmlich Prostacyclin ( $PGI_2$ ), in der glatten Muskulatur führt.<sup>33</sup>

Der zweite *second messenger*, DAG, aktiviert die Proteinkinase C (PKC), eine Calcium-abhängige Serin-Threonin-Proteinkinase, die bei vielen zellulären Reaktionen, wie der Regulation von Ionenkanälen oder der Transkription bestimmter Gene, eine entscheidende Rolle spielt. Die PKC ist nachweislich an der Stimulation der Zellproliferation in Atemwegen,<sup>44</sup> glatter Gefäßmuskulatur,<sup>45</sup> T-Lymphozyten<sup>46</sup> und histaminergen Neuronen des Hypothalamus<sup>47</sup> beteiligt. Als Mechanismus wird eine Aktivierung der MAP-Kinase (mitogen-activating protein kinase), einer zentralen Proteinkinase, vermutet, die über Phosphorylierung bestimmter Transkriptionsfaktoren eine kurze DNA-Sequenz, das *serum response element* (SRE) aktiviert.<sup>48,49</sup> Zur Zeit sind zwölf Isoformen der PKC bekannt, die nach Ähnlichkeit ihrer Aminosäure-Sequenz und ihrer Empfindlichkeit gegen Calcium-Ionen und DAG in vier Familien unterteilt werden.<sup>49,50</sup> Untersuchungen weisen darauf hin, daß bei

der Signalübertragung vom Histamin- $H_1$ -Rezeptor zum Zellkern die Calcium- und DAG-sensitive Isoform  $PKC_\alpha$  eine bedeutende Rolle spielt.<sup>49</sup> Zudem wird vermutet, daß diese Isoform in einem negativen Rückkopplungsmechanismus die Zahl der Histamin- $H_1$ -Rezeptoren reguliert.<sup>49</sup>

DAG stimuliert außerdem die Liberation von Arachidonsäure, dem Grundbaustein der Prostaglandin-Synthese. Der Mechanismus der Freisetzung ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch läßt die partielle Pertussis-Toxin-Sensitivität der Freisetzung auf die Beteiligung eines  $G_{i/o}$ -gekoppelten Signalwegs schließen.<sup>51-53</sup> Im Zusammenspiel mit der durch die hohe Calcium-Konzentration mobilisierten Phospholipase  $A_2$  erfolgt vermehrte Synthese von Prostaglandinen.<sup>27</sup>

Vermutlich reguliert DAG über einen Protein-kinase C-vermittelten Mechanismus auch den Einstrom von extrazellulärem Calcium.<sup>37,40</sup> Die unter Einfluß beider *second messenger* vermehrt synthetisierten Prostaglandine scheinen modulatorisch in den Einstrom von extrazellulärem Calcium einzugreifen, da dieser durch COX-Inhibitoren unterbunden werden kann.<sup>54</sup>

Neuere Studien haben gezeigt, daß  $G_{q/11}$ -Protein-gekoppelte Rezeptoren neben dem Phospholipase C-Weg auch andere Signalwege einschließlich dem MAP-Kinase-Weg und der Proteinkinase B aktivieren können. Da diese durch Stimulation von  $H_1$ -Rezeptoren induzierte Aktivität unabhängig von der intrazellulären Calcium-Konzentration und der PKC, jedoch sensitiv gegen Pertussis-Toxin ist, scheint eine Aktivierung über ein  $G_{i/o}$ -Protein wahrscheinlich. Vermutlich wird dieser Signalweg durch die  $\beta\gamma$ -Untereinheit des aktivierten  $G_{q/11}$ -Proteins aktiviert.<sup>55</sup>

Eine Bindung von Histamin an den  $H_2$ -Rezeptor resultiert in einer  $G_s$ -Protein-gekoppelten Aktivierung der Adenylylcyclase und damit einer vermehrten Bildung von cyclischem 3',5'-Adenosinmonophosphat (cAMP), welches wiederum bestimmte Proteinkinasen stimuliert.<sup>56,57</sup>

Im Gegensatz zu den postsynaptischen Histamin- $H_1$ - und - $H_2$ -Rezeptoren ist der  $H_3$ -Rezeptor auf histaminergen Neuronen präsynaptisch lokalisiert. Als Autorezeptor übt er über einen negativen Feedback-Mechanismus eine regulatorische Funktion auf Histamin-Synthese und

-Freisetzung aus. Als Heterorezeptor erfüllt der Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor eine inhibitorische Funktion bei der Freisetzung von Neurotransmittern insbesondere aus noradrenergen,<sup>58</sup> dopaminergen<sup>59,60</sup> und serotonergen<sup>61</sup> Neuronen.

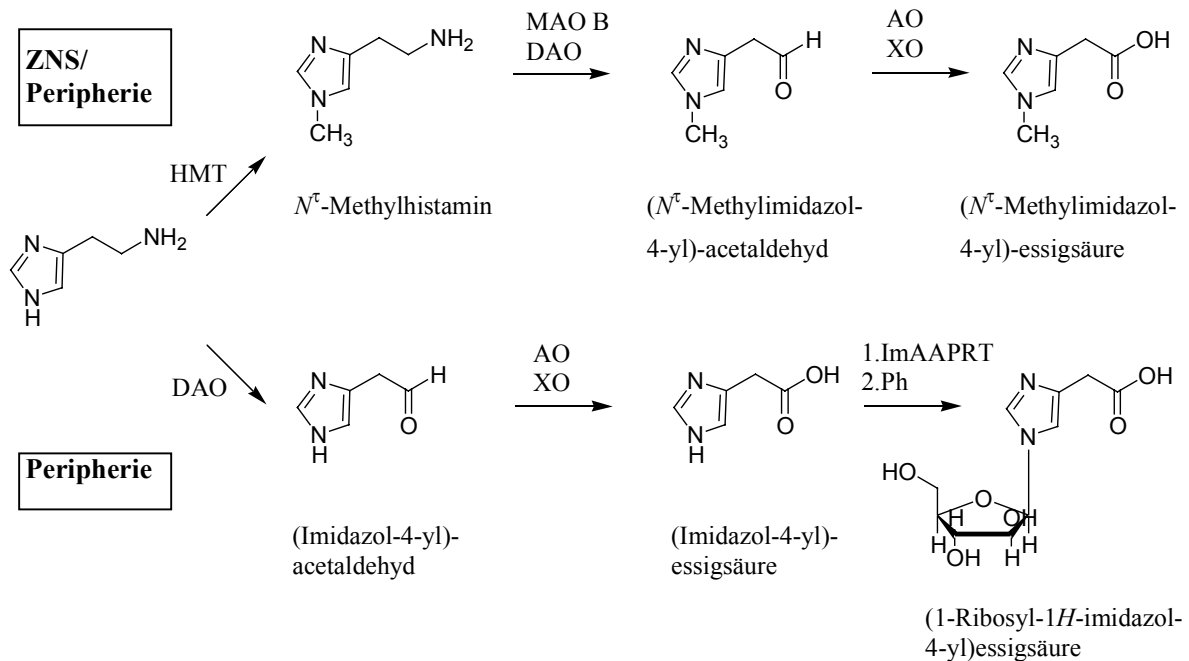
Nach erfolgreicher Klonierung des H<sub>3</sub>-Rezeptors konnte der Signaltransduktionsweg des Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptors abschließend geklärt werden. Der H<sub>3</sub>-Rezeptors inhibiert über eine Kopplung an ein G<sub>i/o</sub>-Protein die Adenylylcyclase und bewirkt damit eine Abnahme der Forskolin-induzierten cAMP-Konzentration.<sup>15,62,63</sup> Auch die Sensitivität gegen Pertussis-Toxin spricht für eine Kopplung an ein G<sub>i/o</sub>-Protein.<sup>64</sup>

Der Signaltransduktionsweg des Histamin-H<sub>4</sub>-Rezeptors ist bislang nicht eindeutig geklärt. In einigen Studien wurde eine Pertussis-Toxin-sensitive Abnahme der Forskolin-induzierten cAMP-Akkumulation beobachtet, die auf eine Kopplung an ein G<sub>i/o</sub>-Protein hinweist.<sup>18,65-67</sup> Andere Untersuchungen konnten allerdings weder dieses Ergebnis noch eine Signaltransduktion über den MAP-Kinase-Weg<sup>68</sup> bestätigen.<sup>69</sup>

### 1.1.6 Metabolisierung

Nach seiner Freisetzung wird Histamin schnell inaktiviert, um eine Dauererregung histaminergener Neurone zu verhindern. Ein Reuptake in histaminerge Nervenendigungen und nachfolgendes Recycling, wie es von anderen Neurotransmittern wie Serotonin oder Noradrenalin bekannt ist, konnte bei Histamin nicht beobachtet werden. Studien zeigten jedoch eine Aufnahme von [<sup>3</sup>H]Histamin in serotonerge, dopaminerge und noradrenerge Neurone.<sup>27,70</sup>

Die Inaktivierung erfolgt auf enzymatischem Weg nach Aufnahme in benachbarte Gliazellen. Für die Verstoffwechslung stehen generell zwei verschiedene Metabolisierungswege zur Verfügung, deren Ausmaß je nach Spezies und Organlokalisierung variiert (Abb. 1.1-3).



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

### Abb. 1.1-3 Metabolisierungswege des Histamins

Beim Menschen wird Histamin im ZNS und in geringem Ausmaß auch in der Peripherie durch die Histamin-*N*<sup>ε</sup>-Methyltransferase (HMT, E.C.2.1.1.8), einem für Histamin hochselektiven Enzym,<sup>71</sup> am *N*<sup>ε</sup>-Stickstoff methyliert.<sup>27</sup> Als Cofaktor für diese Reaktion dient S-Adenosyl-L-methionin (SAM). Durch die Methylierung verliert Histamin seine Affinität zu seinen Rezeptoren.<sup>12</sup> Im nächsten Schritt erfolgt eine oxidative Desaminierung des *N*<sup>ε</sup>-Methylhistamins durch eine Monoaminoxidase Typ B (MAO B, E.C.1.4.3.4) oder eine Diaminoxidase (DAO, E.C.1.4.3.6). Der entstandene (*N*<sup>ε</sup>-Methylimidazol-4-yl)acetaldehyd wird anschließend durch eine Aldehydoxidase (AO, E.C.1.2.1.3) oder eine Xanthinoxidase (XO, E.C.1.1.3.22) zu (*N*<sup>ε</sup>-Methylimidazol-4-yl)essigsäure oxidiert.<sup>35</sup>

In der Peripherie wird Histamin überwiegend durch direkte Desaminierung unter Katalyse einer Diaminoxidase zu (Imidazol-4-yl)acetaldehyd metabolisiert. Dieses Intermediat wird schnell durch eine Aldehydoxidase oder eine Xanthinoxidase zu (Imidazol-4-yl)essigsäure oxidiert. Dieser Metabolit besitzt nicht nur biologische Aktivität als potenter GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Agonist, sondern auch als GABA<sub>C</sub>-Antagonist, wobei er zu diesem Rezeptorsubtyp höhere Affinität als  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) selbst zeigt. Im letzten Schritt wird der *N*<sup>ε</sup>-Stickstoff durch die Imidazolessigsäurephosphoribosyltransferase

(ImAAPRT) und eine Phosphatase (Ph) ribosyliert. Die entstehende (1-Ribosyl-1*H*-imidazol-4-yl)essigsäure sowie die übrigen Abbauprodukte des Histamins werden im Urin ausgeschieden.

Eine vermehrte renale Exkretion von Histamin oder seinen Metaboliten *N*<sup>t</sup>-Methylhistamin und (*N*<sup>t</sup>-Methylimidazol-4-yl)essigsäure kann ein wichtiger Hinweis auf pathophysiologische Prozesse sein, da diese ausschließlich aus der Inaktivierung von Histamin resultieren. Eine Zunahme dieser Metabolite im Urin wird unter anderem bei akuten allergischen Reaktionen, Karzinoid-Syndrom oder großflächigen Verbrennungen beobachtet.<sup>38,72</sup> (Imidazol-4-yl)-essigsäure und seine Metabolite dagegen können auch auf Histamin-unabhängigen Wegen, z. B. durch Transaminierung von L-Histidin, entstehen und daher nicht zur Diagnostik herangezogen werden.<sup>72</sup>

### 1.1.7 Histamin-Wirkungen

Histaminerge Wirkungen im Organismus werden überwiegend durch Interaktionen des biogenen Amins mit den Histamin-Rezeptorsubtypen vermittelt. Die erzielten Effekte weisen dabei starke Abhängigkeit von Spezies und Gewebe auf. Die wichtigsten durch Histamin induzierten, physiologischen Effekte sind in Tabelle **1.1.1** zusammengefaßt.

Neben diesen vorwiegend peripheren Autacoid-Funktionen übt Histamin im zentralen Nervensystem eine bedeutende Funktion als Neurotransmitter aus. Die Beteiligung von Histamin-H<sub>1</sub>- und -H<sub>2</sub>-Rezeptoren an zahlreichen zentral gesteuerten Regulationsprozessen des Organismus gilt als gesichert (vgl. Kap. **1.2.3**).

**Tab. 1.1.1** Rezeptorsubtyp-spezifische Histamin-Wirkungen

<u>Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor</u>	<u>Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptor</u>	<u>Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor</u>
<u>glatte Muskulatur:</u> (vaskulär) ▶ Konstriktion großer Gefäße (> 80 $\mu\text{m}$ ) ▶ Dilatation kleiner Gefäße (< 80 $\mu\text{m}$ ) ▶ erhöhte Kapillarpermeabilität	<u>glatte Muskulatur:</u> (vaskulär) ▶ Dilatation der Koronargefäße  <u>glatte Muskulatur:</u> (extravaskulär) ▶ Relaxation der -Bronchialgefäße -Uterusmuskulatur	▶ Inhibierung der neuronalen Histamin-Synthese ▶ Inhibierung der neuronalen Histamin-Freisetzung ▶ Heterorezeptor-Funktion
<u>glatte Muskulatur:</u> (extravaskulär) ▶ Konstriktion der -Bronchialgefäße -Darmmuskulatur -Uterusmuskulatur	<u>Magen:</u> ▶ Stimulation der Magensäuresekretion	
<u>Herz:</u> ▶ negativ inotrop ▶ negativ dromotrop	<u>Herz:</u> ▶ positiv inotrop ▶ positiv chronotrop ▶ positiv bathmotrop	

## 1.2 Der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor

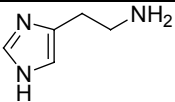
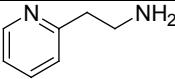
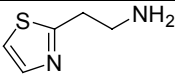
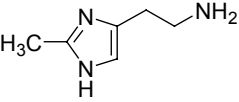
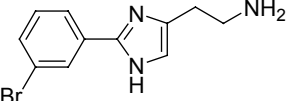
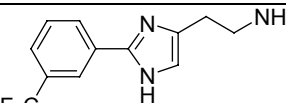
### 1.2.1 Entwicklung der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten

Seit der Entdeckung von Histamin und seiner Bedeutung bei physiologischen und pathologischen Prozessen wurden zahlreiche selektive, hochpotente Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten synthetisiert, um diese Effekte positiv zu beeinflussen. Während eine ähnlich rasante Entwicklung auch für Liganden des H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptors zu beobachten war, wurde die Entwicklung von potenten Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten aufgrund des mangelnden therapeutischen Nutzens lange vernachlässigt.

Mit der Entdeckung der Neurotransmitter-Funktion von Histamin im ZNS und seiner Bedeutung bei zentralen Regulationsprozessen hat sich die Suche nach potenten und selektiven Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten intensiviert.

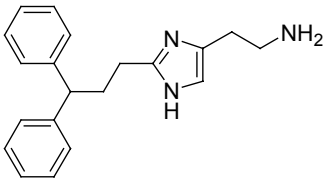
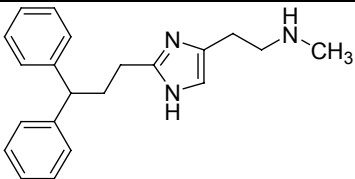
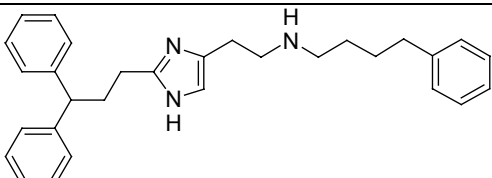
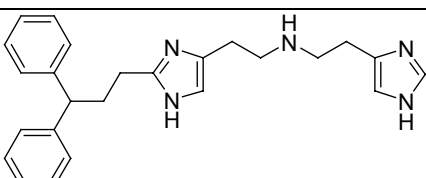
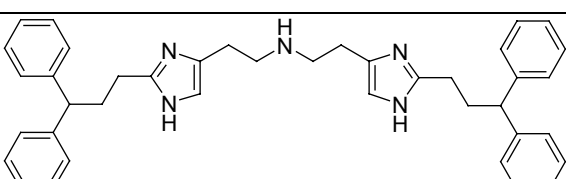
Selektive H<sub>1</sub>-Agonisten könnten wertvolle Hilfsmittel bei der pharmakologischen Untersuchung zentral vermittelter Histamin-Effekte und bei der Diagnostik allergischer Erkrankungen wie der Überreizung der Atemwege bei Asthma-Patienten<sup>73</sup> oder allergischen Hautreaktionen<sup>74</sup> darstellen.

**Tab. 1.2.1** Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten: Struktur und Selektivität

Verbindung	<u>H<sub>1</sub>-Rezeptor</u>		<u>H<sub>2</sub>-Rezeptor</u>	<u>H<sub>3</sub>-Rezeptor</u>
	pD <sub>2</sub>	rel. Pot.	pD' <sub>2</sub>	pA <sub>2</sub>
 Histamin ( <b>HA</b> )	6.70	100 %	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
 2-(Pyridin-2-yl)ethanamin ( <b>2-PEA</b> )	5.44	5.6 %	2.5 <sup>a</sup>	< 0.06 <sup>a</sup>
 2-(Thiazol-2-yl)ethanamin ( <b>2-TEA</b> )	6.11	26 %	2.2 <sup>a</sup>	< 0.008 <sup>a</sup>
 2-Methylhistamin	5.93	17 %	4 <sup>a</sup>	< 0.08 <sup>a</sup>
 2-(3-Bromphenyl)histamin	6.90	112 %	3.4	5.2
 2-(3-Trifluormethylphenyl)histamin	6.96	128 %	3.5	5.4

<sup>a</sup> rel. Pot., <sup>b</sup> pK<sub>i</sub>, <sup>c</sup> pEC<sub>50</sub>.

**Tab. 1.2.1** Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten: Struktur und Selektivität (Fortsetzung)

Verbindung	<u>H<sub>1</sub>-Rezeptor</u>		<u>H<sub>2</sub>-Rezeptor</u>	<u>H<sub>3</sub>-Rezeptor</u>
	pD <sub>2</sub>	rel. Pot.	pD' <sub>2</sub>	pA <sub>2</sub>
 Histaprodifen ( <b>HP</b> )	6.74	111 %	4.46	< 5.8
 Methylhistaprodifen ( <b>1</b> )	7.24	343 %	4.90	< 5.8
 <i>N</i> <sup>α</sup> -(4-Phenylbutyl)histaprodifen ( <b>2</b> )	7.72	1035 %	n.d.	n.d.
 Suprahistaprodifen ( <b>3</b> )	8.26	3630 %	5.0 <sup>c</sup>	< 6.0
 Bis-Histaprodifen ( <b>Bis-HP</b> )	7.93	1679 %	n.d.	n.d.

<sup>a</sup> rel. Pot.. <sup>b</sup> p*k*<sub>i</sub>. <sup>c</sup> pEC<sub>50</sub>.

Schon relativ kurz nach Entdeckung des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors wurde versucht, durch Modifikation der Histamin-Struktur potente Verbindungen darzustellen. Erste Versuche zielten auf einen Austausch des Imidazol-Rings durch andere Heterocyclen. Bereits 1941 entwickelten *Walter et al.* eine Reihe von Pyridylalkanaminen, aus der 2-(Pyridin-2-yl)ethanamin (2-PEA) als erster Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonist hervorging.<sup>75</sup> Die Tatsache, daß die *meta*- und *para*-ständigen Stellungsisomere des 2-(Pyridin-2-yl)ethanamins keine



Wirksamkeit am H<sub>1</sub>-Rezeptor aufwiesen, führte zu der These, daß ein basisches Zentrum mit einem freien Elektronenpaar in Nachbarschaft zur Ethanamin-Seitenkette essentiell für eine H<sub>1</sub>-Rezeptor-agonistische Wirkung ist.<sup>21,76</sup>

In der Folge entstanden zahlreiche weitere heterocyclische Verbindungen, darunter 2-(Thiazol-2-yl)ethanamin (2-TEA). Trotz ihrer mäßigen Aktivität und Selektivität werden sowohl 2-(Pyridin-2-yl)ethanamin als auch 2-TEA heute noch als Standard-H<sub>1</sub>-Agonisten für pharmakologische Untersuchungen eingesetzt.<sup>77-79</sup>

Die Ethanamin-Seitenkette bildete einen weiteren Angriffspunkt für Modifikationen. Kettenverlängerung um eine CH<sub>2</sub>-Einheit zu Homohistamin wie auch Kettenverkürzung zu Norhistamin resultierten in massivem Wirkungsverlust.<sup>80</sup>

Eine N<sup>α</sup>-Methylierung bewirkte einen Wirkungsverlust am H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptor;<sup>81</sup> die Affinität zum H<sub>3</sub>-Rezeptor dagegen war im Vergleich zu Histamin deutlich gesteigert. Bei Einführung stärker raumerfüllender Alkyl-Substituenten am N<sup>α</sup>-Stickstoff nahm die Aktivität am H<sub>1</sub>-Rezeptor kontinuierlich ab.<sup>34</sup> Bei Substitution mit längeren Phenylalkyl-Resten mit 4 – 5 CH<sub>2</sub>-Einheiten konnte jedoch eine Zunahme der H<sub>1</sub>-Aktivität beobachtet werden.<sup>82,83</sup>

Eine Methylierung der Seitenkette in α- oder β-Position erwies sich ebenfalls als ungeeignet zur Erzeugung H<sub>1</sub>-agonistischer Aktivität. Weder bei racemischen Gemischen dieser chiralen Verbindungen noch bei ihren Enantiomeren konnte eine Aktivität am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor beobachtet werden. Statt dessen erwies sich (*R*)-α-Methylhistamin als hochpotenter Histamin-H<sub>3</sub>-Rezeptor-Agonist.<sup>80</sup>

Versuche, den Imidazol-Ring des Histamins zu methylieren, deckten wichtige Voraussetzungen für die Entwicklung selektiver Liganden der Histamin-Rezeptorsubtypen auf. Eine Methylierung an C-2 des Imidazol-Rings erhöhte die Selektivität zum Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor, während C-5-Substitution zu H<sub>2</sub>-Rezeptor-Selektivität führte. Bei Methylierung der Imidazol-Stickstoffe kam es zu völligem Wirkungsverlust.<sup>80</sup> Verbindungen mit kleinen Alkyl-Substituenten wie 2-Methylhistamin zeigten moderate Aktivität, jedoch erhöhte Selektivität am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor.<sup>84,85</sup> Bei Einführung längererkettiger Alkyl-Substituenten zeichnet sich als Trend eine Aktivitätsabnahme bei gleichzeitiger leichter Zunahme der Selektivität ab. Die Einführung stark polarer Substituenten in Position 2 des Imidazol-Rings führte zu inaktiven Verbindungen bzw. signifikanter agonistischer Aktivität am Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptor.<sup>80,86</sup>

Neben kleinen Alkyl-Substituenten führte auch die Einführung aromatischer Substituenten in 2-Position zu selektiven Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten.<sup>87</sup> Weitere Verbesserungen konnten durch Substitution des Phenyl-Rings, vornehmlich durch elektronenziehende Substituenten in *meta*-Position, erzielt werden. Mit 2-(3-Trifluormethylphenyl)histamin und seinem 3-Brom-Analogon gingen aus dieser Substanzklasse die ersten selektiven Verbindungen hervor, die die Aktivität von Histamin am H<sub>1</sub>-Rezeptor leicht überschreiten (128 % bzw. 112 % der Histamin-Wirkung am Meerschweinchen-Ileum).<sup>88</sup> Überraschend konnte die Aktivität dieser Verbindungen durch *N*<sup>α</sup>-Methylierung weiter gesteigert werden.<sup>89,90</sup>

Versuche, durch raumerfüllende Substituenten mit flexiblen Seitenketten ähnlich den H<sub>2</sub>-Antihistaminika eine Verbesserung zu erreichen, führten zunächst zu mäßig aktiven Verbindungen.<sup>91</sup>

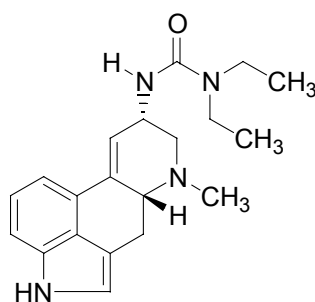
Der Durchbruch auf dem Gebiet der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten gelang schließlich mit der Entdeckung von Histaprodifen (2-(2-(3,3-Diphenylpropyl)imidazol-4-yl)ethanamin), einer ursprünglich als G-Protein-Aktivator entwickelten Substanz,<sup>92</sup> die im Screening durch ihre hohe Aktivität am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor (111 % der Histamin-Wirkung) auffiel.

Im Gegensatz zu den bisher bekannten H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten besitzt Histaprodifen eine raumerfüllende Diphenylpropyl-Gruppe in 2-Position des Imidazolrings, die Ähnlichkeiten mit strukturellen Elementen aufweist, wie sie bei H<sub>1</sub>-Antihistaminika der 1. und 2. Generation wie Chlorpheniramin oder Diphenhydramin zu finden sind. Analog zu den bei den 2-Phenylhistaminen erzielten Ergebnissen konnte die Aktivität des Histaprodifens durch Methylierung des *N*<sup>α</sup>-Stickstoffs weiter erhöht werden. Methylhistaprodifen (**1**) ist wie Histaprodifen ein voller Agonist am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor, jedoch zeigt es ca. 3-fach höhere Aktivität am Meerschweinchen-Ileum (343 % der Histamin-Wirkung).<sup>93</sup>

Modifizierung des Substituenten in 2-Position durch Verlängerung oder Verkürzung des Propyl-Spacers, Einführung von Heteroatomen in die Seitenkette oder Austausch eines Phenylrings durch Heteroaromaten führte zu drastischem Aktivitätsverlust bzw. antagonistischer Wirkung.<sup>92</sup> Im Gegensatz zur Klasse der 2-Phenylhistamine wirkte sich hier die Substitution eines Phenyl-Rings in *meta*-Position negativ auf die Aktivität aus,<sup>83</sup> so daß ein unsubstituierter Diphenylpropyl-Rest als essentielles Strukturelement der Histaprodifene angenommen werden muß.

Basierend auf früheren Ergebnissen, die bei Einführung längerer Phenylalkyl-Substituenten in  $N^\alpha$ -Position eine erhöhte  $H_1$ -agonistische Potenz zeigten,<sup>82,83</sup> entstanden in der Folge zahlreiche  $N^\alpha$ -substituierte Histaprodifene. Neben anderen potenten Verbindungen wie  $N^\alpha$ -(4-Phenylbutyl)histaprodifen (**2**) tat sich unter diesen Verbindungen vor allem  $N^\alpha$ -2-((1*H*-Imidazol-4-yl)ethyl)histaprodifen (Suprahistaprodifen, **3**) durch seine herausragende Aktivität hervor. Mit einer Potenz von 3600 % verglichen mit Histamin und einer intrinsischen Aktivität von 96 % stellt diese Verbindung, die formal ein Amalgam aus Histaprodifen und einem zusätzlichen Histamin ist, den potentesten bisher bekannten Histamin- $H_1$ -Rezeptor-Agonisten im Meerschweinchen-Ileum-Assay dar.<sup>94</sup> Für diesen drastischen Anstieg der Aktivität existieren verschiedene Erklärungsversuche, unter anderem die sogenannte „bivalent ligand approach“ (Kap. 3.2.1.2.2).

Überraschend wurde vor kurzem Lisurid, ein halbsynthetisches Ergot-Derivat, das als dopaminerges Agonist bei der Therapie von Parkinson und Hyperprolaktinämie eingesetzt wird, als hochaffiner Agonist des Histamin- $H_1$ -Rezeptors identifiziert ( $pK_i = 7.5$ ).<sup>95</sup> In einem funktionellen, zellbasierten Modell des humanen  $H_1$ -Rezeptors zeigte diese Verbindung die höchste bisher publizierte Potenz;<sup>96</sup> die Übertragbarkeit dieses Effekts auf native,  $H_1$ -exprimierende Gewebe ist jedoch noch nicht abschließend untersucht. Als problematisch ist auch die hohe Affinität des Lisurid zu anderen Monoamin-Rezeptoren anzusehen.<sup>97-100</sup>



**Abb. 1.2-1** Chemische Struktur des Lisurids

### 1.2.2 Strukturaufklärung und Klonierung

Bereits zu Beginn der 80er Jahre wurde zum Zweck der genaueren biochemischen Charakterisierung des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors versucht, das Rezeptorprotein aus Ratten- und Meerschweinchenhirn zu extrahieren.<sup>101,102</sup> Nachdem es gelungen war, den H<sub>1</sub>-Rezeptor zu solubilisieren, konnte ein Rezeptorkomplex mit einem Molekulargewicht von 430 - 630 kDa gewonnen werden.<sup>102</sup> Die Isolierung des gereinigten Rezeptorproteins aus diesem Komplex mißlang, jedoch konnte mit Hilfe der Affinitätschromatographie der Glykoprotein-Charakter des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors nachgewiesen werden.<sup>43,103</sup>

Die Sequenzaufklärung des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors gelang 1991 mit der Klonierung des H<sub>1</sub>-Rezeptor-Gens aus bovinem Nebennierenmark in *Xenopus*-Oocyten.<sup>104</sup> Das bovine Rezeptorprotein besteht aus 491 Aminosäuren und weist ein Molekulargewicht von 56 kDa auf. Mit Hilfe der bekannten cDNA des bovinen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors konnte wenig später auch der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor von Ratte,<sup>105</sup> Meerschweinchen,<sup>106</sup> Maus<sup>107</sup> und Mensch<sup>108-110</sup> kloniert werden. Die klonierten Gene kodieren jeweils für Proteine mit 486 (Ratte), 488 (Meerschweinchen), 489 (Maus) bzw. 487 (Mensch) Aminosäuren, welche in Analogie zum bovinen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor ein relatives Gewicht von annähernd 56 kDa aufweisen. Eine Ausnahme bildet der aus Meerschweinchen-Herz isolierte H<sub>1</sub>-Rezeptor, der trotz gleicher pharmakologischer Eigenschaften ein signifikant höheres Molekulargewicht besitzt.<sup>111</sup>

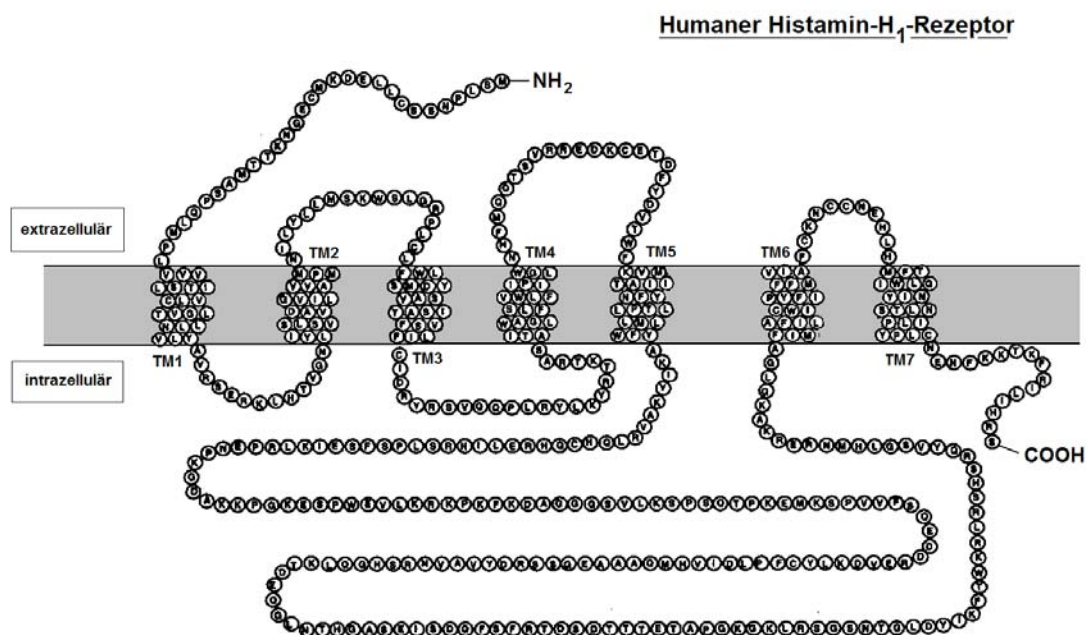
Die kodierende Gen-Region des humanen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors sowie die Promoter-Region sind auf Chromosom 3 p25 lokalisiert.<sup>111-113</sup>

Die Aminosäure-Sequenzen der H<sub>1</sub>-Rezeptoren der verschiedenen Spezies sind innerhalb der transmembranären Domänen relativ ähnlich. Die höchste Sequenzhomologie zum humanen Rezeptorprotein weist der bovine H<sub>1</sub>-Rezeptor mit nahezu 90 % Übereinstimmung auf, die geringste -mit immerhin noch 83 % Übereinstimmung- der H<sub>1</sub>-Rezeptor des Meerschweinchens.<sup>111</sup>

Wie alle G-Protein-gekoppelten Rezeptoren besitzt der Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor eine heptahelikale Struktur (Abb. 1.2-2). Ein markantes Merkmal des H<sub>1</sub>-Rezeptors ist dabei die sehr große dritte intrazelluläre Schleife, die aus 212 Aminosäuren besteht, und der mit 17 Aminosäuren relativ kurze intrazelluläre C-Terminus.<sup>38,111</sup>

Spezies-Unterschiede treten vor allem im Bereich der dritten intrazellulären Schleife, bei der es sich vermutlich um die Bindungsstelle des G-Proteins handelt, sowie im Bereich des extrazellulären N-Terminus auf.<sup>114,115</sup>

Beim Vergleich der Aminosäure-Sequenzen von Histamin-H<sub>1</sub>- und -H<sub>2</sub>-Rezeptor fällt die relativ hohe Übereinstimmung im Bereich der transmembranären Domänen (TM) TM3 und TM5 auf. Dies läßt vermuten, daß in diesem Bereich die Histamin-Bindungsstelle lokalisiert ist.<sup>114,115</sup>



**Abb. 1.2-2** Schematische Darstellung des humanen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptorproteins

Einige Aminosäuren liegen innerhalb des geklonten humanen H<sub>1</sub>-Rezeptors hochkonserviert vor. Neben verschiedenen Aminosäuren der Histamin-Bindungsstelle (Kap. 1.2.2.1) gehören hierzu Asn<sup>5</sup> und Asn<sup>18</sup>, die mögliche N-terminale Glykosylierungsstellen darstellen,<sup>116</sup> sowie die potentiellen Disulfidbrückenbildner Cys<sup>100</sup>, Cys<sup>180</sup>, Cys<sup>441</sup> und Cys<sup>444</sup> in der ersten bis dritten extrazellulären Schleife.<sup>117</sup> Eine Vielzahl hochkonservierter Serin- und Threoninreste in der zweiten und dritten intrazellulären Schleife und im C-Terminus kommt als Angriffspunkt für die Proteinkinase C-induzierte Phosphorylierung und Desensibilisierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors in Betracht.<sup>118</sup>

Der Position Trp<sup>161</sup> des Meerschweinchen-H<sub>1</sub>-Rezeptors bzw. der analogen Position des humanen Rezeptors, die bei 96 % aller G-Protein-gekoppelten Rezeptoren vorkommt, wird eine essentielle Rolle für die funktionelle Konformation des G-Proteins zugeschrieben.<sup>119</sup>

### 1.2.2.1 Histamin-Bindung

Die transmembranären Domänen G-Protein-gekoppelter Rezeptoren sind zu einer Tasche angeordnet, in die biogene Amine wie Histamin aufgrund ihrer geringen Größe vollständig eingelagert werden können.

Eine zentrale Rolle für die Histamin-Bindung spielen die Aminosäure Asp<sup>107</sup> (TM3), die bei aminergen Rezeptoren ubiquitär verbreitet ist, sowie die Aminosäuren Thr<sup>194</sup>, Lys<sup>191</sup> und Asn<sup>198,92,114,115,119,120</sup>. Asp<sup>107</sup> interagiert mit dem protonierten *N*<sup>α</sup>-Atom des Histamins über eine starke Wasserstoffbrücke; die Bindung wird durch eine zusätzliche Wechselwirkung mit der Carbonyl-Sauerstoff-Funktion von Lys<sup>104</sup> verstärkt. Auch zwischen dem *N*<sup>ε</sup>-H des Imidazol-Rings und dem Carbonyl-Sauerstoff der Asn<sup>198</sup>-Seitenkette in TM5 kann sich eine stabile Wasserstoffbrücke ausbilden, wobei diese Wechselwirkung durch Tyr<sup>431</sup> zusätzlich stabilisiert wird. Die Alkyl-Kette des Histamins liegt dadurch in gestreckter Konformation vor. Der *N*<sup>ε</sup>-Stickstoff des Histamins interagiert mit Lys<sup>191</sup> in TM5, wodurch diese Stickstoff-Funktion zur extrazellulären Seite des Rezeptors ausgerichtet ist. Lys<sup>191</sup> kommt ausschließlich bei Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren vor; damit bildet diese Aminosäure einen spezifischen Angriffspunkt für selektive H<sub>1</sub>-Rezeptor-Liganden. Unter anderem geht die Carboxylat-Funktion zwitterionischer Antihistaminika wie Acrivastin oder Triprolidin Wechselwirkungen mit dieser Aminosäure ein.<sup>119</sup>

Bindungsstudien weisen darauf hin, daß der Rezeptor-Ligand-Komplex zusätzlich über hydrophobe Wechselwirkungen des Imidazol-Rings mit Tyr<sup>108</sup> und Phe<sup>435</sup> stabilisiert wird.

Aufgrund der dichten Orientierung des *N*<sup>α</sup>-Stickstoffs an TM3 und der 2-Position des Imidazol-Rings an TM5 wirkt sich eine Substitution des Histamins in diesen Positionen negativ auf die Aktivität der Verbindungen aus.

### 1.2.2.2 Bindungsmodell für Histaprodifene

Zum besseren Verständnis der Struktur-Wirkungsbeziehungen wurden die Interaktionen von Histaprodifen, Methylhistaprodifen und Dimethylhistaprodifen innerhalb der transmembranären Domänen des humanen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors durch molekulare Dynamik-Simulation untersucht und mit Histamin verglichen (zur Struktur der Verbindungen siehe Kap. 1.2.1, Tab. 1.2.1). Hierbei wurden entscheidende Unterschiede im Bindungsmodus ermittelt.<sup>92</sup>

Die Orientierung des Imidazol-Rings unterscheidet sich maßgeblich von der des Histamins. Bedingt durch den raumerfüllenden Substituenten in 2-Position sind die Imidazol-Stickstoffe der Histaprodifene entgegengesetzt angeordnet, so daß der  $N^\pi$ -Stickstoff zur intrazellulären Seite des Rezeptors gerichtet ist. Aufgrund dieser Orientierung sind keine Interaktionen mit Lys<sup>191</sup> möglich; statt dessen wird  $N^\pi$  über Wechselwirkungen mit Tyr<sup>431</sup> stabilisiert. Lys→Ala-Mutationsstudien bestätigten diese Ergebnisse.<sup>121</sup> Die Bindung des  $N^c$ -H erfolgt analog der Histamin-Bindung über Asp<sup>198</sup>, jedoch erfolgt eine Stabilisierung über Tyr<sup>108</sup>.

Der 3,3-Diphenylpropyl-Rest ist analog zu den aromatischen Resten der H<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten<sup>119</sup> tief in eine hydrophobe Tasche im Bereich der transmembranären Domänen TM3 – TM6 eingelagert. Die beiden Phenyl-Ringe des Histaprodifens füllen die lipophile Tasche des Rezeptors vollständig aus, so daß raumerfüllende Substituenten nur schwer toleriert werden. Bei kürzerkettigen Homologen können aufgrund des zu geringen Abstands zwischen dem Zentrum des Imidazol-Rings und den Phenyl-Substituenten diese nicht vollständig in die lipophile Tasche eingelagert werden, während bei längerkettigen Derivaten eine Faltung der Alkyl-Kette die Interaktionen des Imidazol-Rings mit dem Rezeptor stört.

Wegen des veränderten Bindungsmodus des Imidazol-Rings weist auch die protonierte  $N^\alpha$ -Funktion eine leicht veränderte Position zum Rezeptorprotein auf. Der protonierte Stickstoff liegt näher an der zentralen Bindungstasche aus TM3, TM6 und TM7. Er interagiert weiterhin mit Asp<sup>107</sup>, jedoch ist keine zusätzliche Stabilisierung durch Wasserstoffbrücken möglich. Der Austausch eines  $N^\alpha$ -Protons durch eine Methyl-Gruppe ermöglicht hier eine zusätzliche Stabilisierung des Rezeptor-Ligand-Komplexes durch hydrophobe Wechselwirkungen, ohne die Bindung zu Asp<sup>107</sup> zu stören. Diese äußert sich in einer Zunahme der agonistischen Aktivität.

Wird auch das zweite Proton der  $N^\alpha$ -Funktion durch andere Substituenten ersetzt, scheint eine Neuorientierung der Asp<sup>107</sup>-Seitenkette zwischen TM3 und TM7, in eine der Bindung von H<sub>1</sub>-Antagonisten ähnliche Position, zu erfolgen, die die verminderte Aktivität dieser  $N^\alpha$ -disubstituierten Verbindungen erklärt.<sup>92</sup>

Da die Asp<sup>107</sup>-Seitenkette je nach Art des Liganden eine konformative Änderung eingeht, wird eine essentielle Rolle dieser Aminosäure für die Art der Rezeptorstimulation postuliert.<sup>122</sup>

### 1.2.3 Zentrale Effekte histaminerger H<sub>1</sub>-Rezeptoren

Nachdem bereits im Jahr 1919 das Vorkommen von Histamin im Gehirn entdeckt wurde,<sup>123</sup> gelang in den 40er Jahren der Nachweis der zentralen Histamin-Synthese.<sup>124</sup> Mit der Entwicklung von [<sup>3</sup>H]Mepyramin als einem ersten Radioliganden für histochemische Untersuchungen der H<sub>1</sub>-Rezeptorverteilung im Gehirn wurde der Grundstein für die Erforschung physiologischer und pathophysiologischer H<sub>1</sub>-vermittelter histaminerger Effekte gelegt. Die wenig später entwickelten PET-Radioliganden [<sup>11</sup>C]Mepyramin und [<sup>11</sup>C]Doxepin ermöglichten zudem eine Visualisierung zentraler Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren *in vivo*.<sup>43,111</sup>

Während sich die Lokalisation von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren in der Peripherie weitgehend auf Zellen der glatten Muskulatur, Endothelzellen und Herzmuskelzellen beschränkt (Kap. 1.1.7), konnten zentrale H<sub>1</sub>-Rezeptoren in nahezu allen Regionen des Gehirns visualisiert werden.

Die Zellkörper histaminerger Neurone liegen im tuberomamillären Nucleus des hinteren Hypothalamus. Von dort strahlen afferente und efferente Nervenbahnen in weite Regionen des Gehirns aus. Die Zahl und die regionale Verteilung der zentralen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren unterliegt starken spezies-spezifischen Variationen, jedoch liegt die Durchschnittsdichte in einem ähnlichen Bereich wie die Dichten anderer Neurotransmitter-Rezeptoren (ca. 100 fmol/mg Membranprotein).<sup>27,43</sup> Die höchste Rezeptordichte im menschlichen Hirn ist im Neocortex und im limbischen System zu finden.<sup>27,43</sup> Hohe Dichten finden sich auch im Hippocampus, Nucleus accumbens, Striatum sowie im Thalamus und Hypothalamus.<sup>111,125</sup> Cerebellum und Basalganglien weisen eine deutlich geringere histaminerge Innervierung auf.<sup>111</sup> Im Meerschweinchen-Gehirn dagegen besitzt das Cerebellum die höchste Konzentration histaminerger Neurone.<sup>27</sup>

Die Effekte, die durch Aktivierung zentraler Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren ausgelöst werden, sind sehr unterschiedlicher Natur und spezifisch für einzelne Hirnareale. So bewirkt eine Aktivierung histaminerger H<sub>1</sub>-Rezeptoren im Hippocampus durch Hyperpolarisation eine Abnahme der Erregbarkeit der Neurone,<sup>111</sup> im Thalamus, Cortex und Hirnstamm dagegen durch Hemmung der Kalium-Leitfähigkeit eine Steigerung der Erregbarkeit bestimmter Neurone.<sup>111</sup>

Während der letzten zwei Jahrzehnte wurde die Beteiligung zentraler Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren an einer Vielzahl neuronaler Regulationsprozesse beschrieben. Da zentral vermittelten Effekten ein komplexes Zusammenwirken diverser Neurotransmitter und



Rezeptorsubtypen zugrunde liegt, ist die Beurteilung der Rolle einzelner Rezeptoren oft schwierig.

### 1.2.3.1 Schlaf-Wachzustand

Histamin-H<sub>1</sub>- und -H<sub>2</sub>-Rezeptoren spielen eine zentrale Rolle bei der Regulierung des Schlaf-Wach-Rhythmus. Eine Aktivierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors fördert den Wachzustand.<sup>27,126</sup> Daneben beeinflussen Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren auch die Schlafdauer und die Zahl der Unterbrechungen.<sup>27</sup>

Die Vermittlung dieser Effekte erfolgt vermutlich durch direkte corticale Projektion sowie durch tonische Kontrolle Schlaf-generierender Mechanismen; in diesem Zusammenhang scheinen auch die circadianen Variationen in zentralem Histamin-Gehalt und -Umsatzrate von Bedeutung zu sein.<sup>127-129</sup>

### 1.2.3.2 Schmerzempfindung

Schmerz stellt einen wichtigen Mechanismus zur Erhaltung bzw. Wiederherstellung der Unversehrtheit des Organismus dar. An der Modulierung der Schmerzempfindung sind sowohl H<sub>1</sub>- als auch H<sub>2</sub>-Rezeptoren beteiligt. Zudem wird eine Beteiligung von  $\mu$ -Opioid-Rezeptoren postuliert.<sup>128</sup>

Eine Aktivierung des H<sub>1</sub>-Rezeptors bewirkt eine erhöhte Sensitivität gegenüber noxischen Stimuli. Zugleich wurde eine Abnahme der spontanen Beweglichkeit und Neugier sowie ein vermehrtes Ruhebedürfnis beobachtet, die die Regenerierung des Organismus fördern sollen.<sup>130,131</sup> Auch die nach Einwirkung einer Noxe einsetzende kurzfristige Analgesie, eine weitere wichtige Schutzfunktion des Organismus, wird vornehmlich durch H<sub>1</sub>-Rezeptoren vermittelt.<sup>27</sup> Das histaminerge System ist zudem verantwortlich für die streßinduzierte Herabsetzung der Schmerzempfindung.<sup>27,132</sup> Die signifikant geringere Schmerzempfindung bei H<sub>1</sub>-Rezeptor-knockout-Mäusen unterstreicht die Bedeutung des H<sub>1</sub>-Rezeptors.<sup>133</sup>

Neuere Studien weisen darauf hin, das neuronales Histamin via H<sub>1</sub>-Rezeptoren auch die Entstehung von Migräne induzieren kann.<sup>134</sup> Zudem wurde ein Vorkommen von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren auf trigeminalen Neuronen beschrieben.<sup>135</sup>

### 1.2.3.3 Beeinflussung des Verhaltens

Zahlreiche Verhaltensweisen stehen unter dem Einfluß histaminerger Aktivität. Die Aktivierung der einzelnen Histamin-Rezeptorsubtypen und somit das Ergebnis ist häufig abhängig von der freigesetzten Histamin-Menge.<sup>27</sup> So wird Aggressivität durch Aktivierung von H<sub>1</sub>-Rezeptoren vermindert, H<sub>2</sub>-Rezeptor-Aktivierung dagegen verstärkt aggressive Verhaltensweisen;<sup>128</sup> Angstzustände werden unter H<sub>1</sub>-Vermittlung verstärkt und durch H<sub>2</sub>-Rezeptor-Aktivierung reduziert.<sup>136</sup>

Auch die motorische Aktivität wird durch das histaminerge System beeinflusst. Zentrale Administration von Histamin äußert sich in einer biphasischen Veränderung der spontanen Beweglichkeit. Die final beobachtete Hyperaktivität wird über H<sub>1</sub>-Rezeptoren vermittelt.<sup>27</sup>

#### 1.2.3.3.1 Nahrungs- und Wasseraufnahme

Die Regulation der Nahrungs- und Wasseraufnahme unterliegt ebenfalls der Kontrolle des histaminergen Systems. Bindung von Histamin an seine zentralen H<sub>1</sub>-Rezeptoren bewirkt verminderte Nahrungsaufnahme sowie vermehrte Wasseraufnahme und Diurese.<sup>128</sup>

Nahrungsaufnahme äußert sich in einer Erhöhung des extrazellulären Histamin-Spiegels im Hypothalamus, die modulatorisch auf den Sättigungszustand wirkt.<sup>137</sup> Aufgrund der Appetitminderung unter Einfluß von H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten wird eine H<sub>1</sub>-vermittelte Wirkung von Histamin als physiologisches Anorektikum vermutet.<sup>128,138</sup> Zugleich wurde unter Histamin-Einfluß eine Abnahme der Fettmasse und des Blutzuckerspiegels beobachtet.

Die Auswirkungen von H<sub>1</sub>-Agonisten auf die Homöostase sind weniger stark ausgeprägt und beruhen überwiegend auf H<sub>2</sub>- und H<sub>3</sub>-Rezeptor-vermittelten Effekten.<sup>139</sup>

Der Einfluß von Histamin auf Nahrungs- und Wasseraufnahme unterliegt starken diurnalen Unterschieden,<sup>140</sup> die auf eine circadiane Rhythmik der Aktivität histaminerger Neurone schließen lassen.

### 1.2.3.3.2 Lernen und Erinnerung

Der Verlust cholinergischer Neurone, der in geringerem Ausmaß auch bei normalen Alterungsprozessen auftritt, ist das deutlichste neurochemische Merkmal degenerativer Erkrankungen wie Morbus Alzheimer. Gleichzeitig sind Abnormitäten bei anderen Neurotransmitter-Systemen wie Histamin, Dopamin oder GABA zu beobachten, die additiv oder synergistisch mit dem Acetylcholin-Mangel wirken.<sup>141</sup> In PET-Studien mit [<sup>11</sup>C]Mepyramin wurde zudem ein Verlust histaminergischer Neurone bei Alzheimer-Patienten nachgewiesen.<sup>142</sup> Dies weist auf eine zentrale Bedeutung von Histamin bei der Kontrolle von Lernen und Erinnerung hin.<sup>72,128,143</sup>

Die positive Beeinflussung der Gedächtnisfunktionen durch zentrales Histamin beruht auf einer vermehrten, spontanen Acetylcholin-Freisetzung infolge einer Aktivierung von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren auf cholinergen Neuronen in Striatum, Hippocampus und Nucleus basalis.<sup>143-147</sup> NMDA-Rezeptoren greifen via Aktivierung der Glycin-Bindungsstelle positiv modulatorisch in die histaminerge Neurotransmission ein.<sup>146</sup>

Eine Hemmung der Histamin-Synthese hat eine drastische Verschlechterung des Kurzzeitgedächtnisses zur Folge.<sup>148</sup>

Eine Beteiligung von H<sub>2</sub>-Rezeptoren an diesen Prozessen ist unwahrscheinlich, da diese Hirnareale nur eine geringe H<sub>2</sub>-Rezeptordichte aufweisen.<sup>147</sup>

### 1.2.3.4 Depressive Zustände

Depressionen werden im Allgemeinen mit den Monoaminen Serotonin, Noradrenalin und Dopamin in Verbindung gebracht. Die Rolle des histaminergen Systems bei depressiven Zuständen dagegen ist kaum untersucht. Auffällig ist jedoch, daß fast 10 % der Patienten bei der Behandlung mit klassischen Antidepressiva chronisch depressiv bleiben. In Tierversuchen führt eine vermehrte Stimulierung von Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren durch Histamin oder H<sub>1</sub>-Agonisten zu antidepressiven Effekten. Daneben erzielen auch andere Faktoren, die den Histamin-Spiegel erhöhen können, wie HMT-Inhibitoren und H<sub>3</sub>-Rezeptor-Antagonisten sowie Elektroschocks, positive Ergebnisse. Da sich kurzfristiger Schlafentzug ebenfalls positiv auf depressive Zustände auswirkt, kann eine enge Verknüpfung zwischen

H<sub>1</sub>-vermittelter Regulierung des Schlaf-Wachzustands und antidepressiven Effekten vermutet werden.<sup>149</sup>

### **1.2.3.5 Neuroendokrines System**

Im Zusammenwirken mit anderen Neurotransmittern ist Histamin maßgeblich an der Regulation der Ausschüttung verschiedener Hormone beteiligt. Eine Aktivierung histaminerger Neurone des Hypothalamus durch zentrales Histamin stimuliert über die Freisetzung der entsprechenden Releasing-Hormone, z.B. ACTH-RH, Gonadotropin-RH oder Corticotropin-RH indirekt die Ausschüttung der Adenohypophysen-Hormone Corticotropin (ACTH, Adrenocorticotropes Hormon) und  $\beta$ -Endorphin, LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikel-stimulierendes Hormon), Prolaktin und anderen.<sup>27,150</sup> Daneben fördert Histamin die Bildung der Neurohypophysen-Hormone Vasopressin und Oxytocin.<sup>27,150</sup> Zudem reguliert das histaminerge System in einer negativen Rückkopplungsschleife die Funktionen der Hypothalamus-Hypophysen-Adrenocortex-Achse.<sup>128</sup>

#### **1.2.3.5.1 Regulation der Homöostase**

Das Hypophysenhinterlappen-Hormon Vasopressin (Adiuretin) spielt eine bedeutende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase. Unter physiologischen Bedingungen reguliert es über Permeabilitätsänderungen die Rückresorption von Wasser in der Niere (Antidiurese). Bei Dehydrierung besitzt es zusätzlich eine vasokonstriktorische, blutdrucksteigernde Wirkung. Neben physiologischen Stimuli können auch Schmerzen oder Streß eine Sekretion von Vasopressin auslösen.

Seine Ausschüttung erfolgt unter Aktivierung histaminerger, adrenerger und noradrenerger Neurone.<sup>38,72,128</sup> Histamin stimuliert unter anderem die Bildung von c-fos, einem Indikator früher neuronaler Aktivität, und mRNA für dieses Hormon. Die Vasopressin-Freisetzung durch H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptor-Agonisten bleibt durch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Antagonisten unbeeinflusst; die adrenerge und noradrenerge Stimulation hingegen ist durch H<sub>1</sub>- und H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonisten sowie durch H<sub>3</sub>-Rezeptor-Agonisten inhibierbar. Dies deutet darauf hin, daß die Aktivität (nor)adrenerger Neurone direkt über histaminerge Neurone reguliert wird.<sup>151</sup>

### 1.2.3.5.2 Antiinflammatorische Effekte

Die Ausschüttung von Corticotropin (ACTH) beinhaltet ebenfalls das Zusammenwirken einer Vielfalt von Neurotransmitter-Systemen. Sie kann bei akutem oder chronischem Streß durch den vermehrten Histamin-Umsatz über  $H_1$ -Rezeptoren induziert werden. Daneben kann die Freisetzung auch durch  $H_2$ -, Opioid-,  $\alpha_1$ - und  $\alpha_2$ -Rezeptoren ausgelöst werden.

ACTH stimuliert die Synthese und Sekretion von Glucocorticoiden der Nebennierenrinde, welche durch Blockade der Bildung von Zytokinen und anderen proinflammatorischen Mediatoren entzündlichen Prozessen entgegenwirken. Daneben moduliert es auch den Mineralocorticoid- und Androgen-Spiegel sowie den Cholesterol- und Ascorbinsäure-Gehalt der Nebennierenrinde und steigert durch Aktivierung der Adenylylcyclase die Lipolyse.

Im Zusammenspiel mit dem endogenen Opioid  $\beta$ -Endorphin, dessen Ausschüttung ebenfalls durch Corticotropin-RH stimuliert wird, wurde auch eine Inhibierung der Magensaftsekretion über Induktion des Vagus-Nervs beobachtet.<sup>152</sup>

Die Rolle des histaminergen Systems bei der Aktivierung dieses Hormon-Systems spiegelt sich in der gestörten circadianen Rhythmik bei Hemmung der Histamin-Synthese wider.<sup>128</sup>

### 1.2.3.5.3 Antikonvulsive Effekte

Zahlreiche Studien haben eine Beteiligung des histaminergen Systems an der Pathophysiologie konvulsiver Erkrankungen gezeigt.<sup>153-156</sup> Eine Erhöhung des zentralen Histamin-Spiegels sowie Gabe von  $H_1$ -Agonisten übte antikonvulsive Effekte aus; unter Therapie mit  $H_1$ -Antihistaminika dagegen wurde vereinzelt eine erhöhte Krampfneigung beobachtet. Die Abhängigkeit des Effekts von der Calcium-Konzentration bekräftigt die Vermittlung über  $H_1$ -Rezeptoren.

Eine Aktivierung des histaminergen Systems resultiert in einer vermehrten Ausschüttung des Release-Inhibiting-Hormons Somatostatin (SS) aus dem Hypothalamus. Dieses im ZNS weit verbreitete Tetradecapeptid ist an der Regulierung zahlreicher zentraler Effekte wie Aufwachen, höherer Nervenaktivitäten und der Regulierung des cortikalen Histamin-Spiegels beteiligt. Zudem wirkt es als zentrales Antikonvulsivum.

Bei Stimulation von Histamin- $H_1$ -Rezeptoren erfolgt eine Erhöhung der Aktivität des Somatostatin-Rezeptor-Effektor-Systems im Frontoparietalen Cortex durch Up-Regulation der Zahl der SS-Rezeptoren und ihrer Dissoziationskonstante bei gleichzeitiger Erniedrigung

ihrer Affinität für SS. Dieser  $H_1$ -vermittelte Anstieg der SS-Rezeptordichte weist auf einen positiven Feedback-Mechanismus hin, der die modulatorischen Eigenschaften des SS verstärkt.<sup>27</sup>

Bemerkenswert ist auch die signifikante Abnahme von SS-Gehalt und -Rezeptorzahl bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer, die bei der Untersuchung der Pathophysiologie dieser Erkrankungen von Interesse sein dürfte.<sup>157</sup>

#### **1.2.3.5.4 Funktion der Keimdrüsen**

Die Synthese und Freisetzung der glandotropen Hormone LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikel-stimulierendes Hormon) wird durch das Hypothalamus-Hormon Gonadotropin-RH kontrolliert. Diese regulieren die lokale Hormonproduktion der Gonaden. Bei der Frau induzieren sie die Synthese von Estrogenen und Gestagenen, die Follikelreifung, Ovulation und Schwangerschaft unterstützen, beim Mann die Testosteron-Synthese und die Spermio-genese.

Histaminergen Neuronen wird eine wichtige Rolle bei der Kontrolle dieser Hormon-Spiegel zugeschrieben. Eine Erhöhung des Estrogen-Spiegels äußert sich in einer vermehrten Ausschüttung von Gonadotropin-RH und nachfolgend in einem starken Anstieg des LH-Spiegels.<sup>27,158</sup> Dieser positive Feedback-Mechanismus verläuft indirekt über eine vermehrte Ausschüttung von Histamin aus Estrogen-sensitiven histaminergen Neuronen des tuberomammillären Nucleus. Dieses stimuliert über  $H_1$ -Rezeptoren die Ausschüttung des Releasing Hormons aus dem Hypothalamus. Eine direkte Stimulierung Gonadotropin-RH-produzierender Neurone kann aufgrund des Fehlens von Estrogen-Rezeptoren ausgeschlossen werden.<sup>159</sup>

#### **1.2.3.6 Regulierung des kardiovaskulären Systems**

Auch die zentrale Regulation des Blutdrucks steht unter der Kontrolle des histaminergen Systems.<sup>72</sup> Bei intracerebroventriculärer Injektion von Histamin ist eine Erhöhung des Blutdrucks und eine Beeinflussung der Herzfrequenz zu beobachten. Diese Effekte können nicht durch systemische Histamin-Wirkungen erklärt werden, da in diesem Fall eine hypotensive Wirkung zu erwarten wäre.<sup>27</sup> Die regulatorische Wirkung beruht vermutlich auf

einer Aktivierung des sympathischen Systems über zentrale Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren.<sup>128</sup> Daneben wird auch eine modulatorische Rolle des cerebralen, catecholaminergen Systems<sup>160</sup> und von endogenem Vasopressin (Kap. 1.2.3.5.1)<sup>161</sup> in diesem Prozeß postuliert.<sup>27</sup> Eine eventuelle Beteiligung von Histamin-H<sub>2</sub>-Rezeptoren ist noch nicht abschließend geklärt.

### 1.2.3.7 Thermoregulation und Regulation der Atemfrequenz

Dem histaminergen System wird zudem eine entscheidende Rolle bei der zentralen Thermoregulation zugeschrieben. Histaminerge Neurone und der präoptische Bereich, der Sitz des Thermoregulationszentrums, sind eng miteinander verknüpft.<sup>162</sup> Die Regulierung der Körpertemperatur erfolgt in einem komplexen Mechanismus, an dem sowohl H<sub>1</sub>- als auch H<sub>2</sub>-Rezeptoren beteiligt sind. Die Art der Antwort basiert auf der Menge an freigesetztem Histamin.<sup>128,163</sup> Abhängig von der aktivierten Hirnregion, der Umgebungstemperatur und der Spezies können Hypothermie oder Hyperthermie ausgelöst werden.<sup>128</sup>

In engem Zusammenhang mit der Thermoregulation steht die Regulation der Atemfrequenz. Die genaue Beziehung zwischen zentralem Histamin und Respirationssystem ist noch nicht abschließend geklärt, jedoch ist bei erhöhter Körpertemperatur ein Anstieg des Histamingehalts im Hypothalamus zu beobachten.<sup>162</sup> Die Atemfrequenz wird vermutlich durch die dadurch aktivierten, wärme-sensitiven Neurone im Thermoregulationszentrum reguliert.<sup>162</sup> Bei Temperaturerhöhung erfolgt unter H<sub>1</sub>-Rezeptor-Vermittlung eine Erhöhung der Atemfrequenz unter Verkürzung der Expirationszeit.<sup>164</sup>

### 1.2.3.8 Circadiane Rhythmik

Circadiane Unterschiede in der Aktivität der Neurone des Hypothalamus spielen eine bedeutende Rolle für die Funktion peripherer Organe, die über das autonome Nervensystem innerviert sind, sowie für die Rhythmik der Hormon-Freisetzung im Hypothalamus. Die Hell-/Dunkel-Adaption dieser circadianen Rhythmen ist essentiell für das Überleben.

In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise, daß das histaminerge System zusammen mit Catecholaminen an der Kontrolle der circadianen Rhythmik des EEG's beteiligt ist. Die diurnalen Frequenzen der Histamin-Fluktuation weisen Ähnlichkeiten mit dem circadianen Rhythmus im EEG auf.<sup>165</sup> An diesem Regulationsmechanismus scheinen alle Histamin-

Rezeptorsubtypen beteiligt zu sein; die Unwirksamkeit von H<sub>1</sub>-Agonisten bei gleichzeitigem Einfluß von H<sub>1</sub>-Antagonisten auf die Dauer eines EEG-Cyclus weisen auf eine dauerhafte Aktivierung der H<sub>1</sub>-Rezeptoren hin.<sup>165</sup>

Die Faktoren, die über eine Aktivierung der intrazellulären, biologischen Uhr die circadiane Rhythmik verändern können, sind abhängig von der Tageszeit. Die Tageszeit bestimmt auch die Richtung, Intensität und Dauer der Phasenverschiebung circadianer Rhythmen.

Histamin nimmt bei der Aktivierung der biologischen Uhr eine wichtige Vermittlerfunktion ein. Bei nächtlicher Histamin-Gabe erfolgt eine permanente, lichtabhängige, tagsüber dagegen eine transiente, lichtunabhängige Verschiebung. Permanente und transiente Verschiebung beruhen auf zwei verschiedenen, durch Histamin modulierten Mechanismen. Licht-Effekte in der Dunkelphase stimulieren NMDA-Rezeptoren, die eine vermehrte Histamin-Ausschüttung auslösen. Über eine H<sub>1</sub>-vermittelte Signalkaskade erfolgt eine gesteigerte, lichtinduzierte mRNA-Synthese. In der Lichtphase dagegen wird die Freisetzung von Histamin durch GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren moduliert.<sup>166</sup>

Ein zusätzlicher modulatorischer Effekt durch Variation der Dichte histaminerger Rezeptoren während des Hell-/Dunkel-Cyclus, wie er bei vielen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren bekannt ist, wird ebenfalls nicht ausgeschlossen.<sup>166</sup>

Neben neuronalem Histamin ist im ZNS auch extraneuronales Histamin vorhanden. Dieses wird wie in der Peripherie in Mastzellen gespeichert und übt lokale Funktionen aus.

So reguliert extraneuronales Histamin über seine H<sub>1</sub>-Rezeptoren den Tonus der Hirngefäße und deren Permeabilität.<sup>167</sup>

Zudem kommt Histamin eine bedeutende Rolle bei der Regulation des Energiehaushalts des Gehirns zu, indem es neben anderen Neurotransmittern den Abbau von Glykogen, welches den einzigen größeren Energiespeicher des Gehirns bildet, in Glia- und Nervenzellen moduliert. Auch hier wird eine Vermittlung über Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptoren vermutet.<sup>27,42,43,56</sup>



### 1.3 Zielsetzung der Arbeit

Schon seit langem sind potente und selektive Antagonisten des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors bekannt. Auch bei der Synthese selektiver Liganden des Histamin-H<sub>2</sub>- und -H<sub>3</sub>-Rezeptors wurden in den letzten Jahren immense Fortschritte erzielt. Bis heute konnten dagegen nur wenige ähnlich potente und selektive H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten entwickelt werden.

Obwohl ein therapeutischer Einsatz dieser Substanzen aufgrund der zu erwartenden schweren Nebenwirkungen unwahrscheinlich ist, besteht in der pharmakologischen Grundlagenforschung ein großer Bedarf an potenten und selektiven H<sub>1</sub>-Rezeptor-Agonisten. Als pharmakologische Modellsubstanzen dienen diese Verbindungen vor allem der Aufdeckung und Charakterisierung physiologischer und pathophysiologischer, Histamin-vermittelter Effekte. Daneben ist auch ein Einsatz selektiver Agonisten bei der Diagnostik allergischer Erkrankungen denkbar.<sup>73,74</sup>

Zentrales Ziel dieser Arbeit war daher die Synthese neuer, potenter Agonisten des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors, deren Optimierung auf Basis pharmakologischer Screening-Untersuchungen und die Aufstellung von Struktur-Wirkungsbeziehungen. Als Leitstrukturen sollten potente Verbindungen aus der Klasse der N<sup>α</sup>-substituierten Histaprodifene verwendet werden.

Die neu synthetisierten Verbindungen sollten in ihrer Aktivität am Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptor durch pharmakologische Aktivitätsbestimmung am isolierten Meerschweinchen-Ileum charakterisiert werden. Ausgesuchte Verbindungen sollten zudem Aktivitätsbestimmungen in anderen funktionellen Testmodellen des Histamin-H<sub>1</sub>-Rezeptors sowie Untersuchungen zur Rezeptorselektivität unterzogen werden.

