

Neue Gehirnlipide mit schlafinduzierender Wirkung

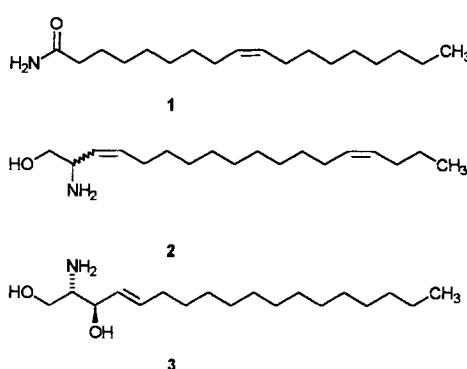
Thomas Kolter und Konrad Sandhoff*

Auf der Suche nach endogenen Faktoren mit schlafinduzierender Wirkung isolierten Lerner et al. eine Substanz aus der Cerebrospinalflüssigkeit von Katzen, die man 22 Stunden am Einschlafen gehindert hatte^[1]. In einer weiteren Arbeit wurde die unbekannte Verbindung als das Amid **1** einer ω -9-ungesättigten Fettsäure mit (*Z*)-konfigurierter Doppelbindung charakterisiert^[2]. Die Substanz, die sich in normal behandelten Katzen nicht nachweisen ließ, wurde durch Umkehrphasen-HPLC in Mengen von 0.1 bis 5 pmol aus jeweils 100 μ L Cerebrospinalflüssigkeit isoliert. Die massenspektrometrische Analyse ergab *m/z* 304.2614 für das $[M + Na]^+$ -Ion, was am besten zur Summenformel $C_{18}H_{35}NO$ paßt, die zwei Doppelbindungsäquivalenten entspricht. Der leichte Verlust eines neutralen 17-Da-Fragmentes aus dem $[M + H]^+$ -Ion entspricht der Abspaltung einer primären Aminogruppe in Form von Ammoniak. Auf der Basis dieser und weiterer spektroskopischer Befunde (UV, 1H -NMR) wurden zunächst Strukturvorschläge gemacht^[1], nach denen es sich bei der unbekannten Substanz um ein „Cerebrodien“, z. B. **2**, handeln sollte. Die postulierte Struktur legte eine biosynthetische Herkunft aus Sphingosin **3** oder ande-

bei Versuchstieren durch intraventrikuläre Injektion von 10 nmol (2.8 μ g) der synthetischen Verbindung **1** Schlaf induziert werden konnte. Die Variation von Doppelbindungsgeometrie, -position, und Alkylkettenlänge führte jeweils zu einer Abnahme von Intensität und Dauer der festgestellten Wirkung. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß **1** durch Hirnmembranen schnell zu Ölsäure abgebaut werden kann.

Maßgeblich für das Vorgehen von Lerner et al. war die zu Anfang dieses Jahrhunderts von Henri Piéron^[5] formulierte Vorstellung, daß es eine schlafinduzierende Substanz gibt, die im Laufe des Tages entsteht, akkumuliert und während des Schlafs abgebaut wird. Zur Verifikation dieser Hypothese sammelte Piéron Cerebrospinalflüssigkeit von Hunden, die mehrere Tage am Einschlafen gehindert worden waren, und injizierte die Flüssigkeit in die Ventrikel der Gehirne anderer Hunde, die daraufhin zwischen zwei und sechs Stunden schliefen.

In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche Faktoren mit schlaffördernden Eigenschaften entdeckt^[6], darunter beispielsweise das delta sleep inducing peptide^[7], das aus dem Blut schlafender Kaninchen isoliert wurde und nach intraventrikulärer Infusion in Kaninchenhirn schlafähnliche Zustände hervorrief (δ -slow wave sleep). Prostaglandin D_2 ^[8, 9] ist eine weitere Verbindung, die weitgehend den folgenden Anforderungen^[10] genügt, die an eine Schlafsubstanz zu stellen sind: 1) Sie muß Schlaf induzieren; 2) der induzierte Schlaf muß dem natürlichen entsprechen; 3) ihre Wirkung muß konzentrationsabhängig sein; 4) dem Schlaf muß ein angemessener Wachzustand folgen; 5) sie muß im Gehirn vorkommen; 6) Bindungsstellen für sie sollten im Zentralnervensystem vorhanden sein; 7) Rezeptorantagonisten sollten ihre Wirkung herabsetzen; 8) ihre direkte Applikation in Regionen des Gehirns, in denen ihr Rezeptor vorkommt, sollte Schlaf induzieren; 9) die Konzentration der Substanz sollte sich mit dem circadianen Rhythmus des Schlafes ändern; 10) die Inhibierung ihrer Biosynthese sollte den Schlaf beeinträchtigen; 11) ihre Stoffwechselwege sollten identifiziert werden; 12) die Enzyme des Stoffwechsels sollten in den entsprechenden Hirnregionen vorhanden sein; 13) sie sollte sich mit andauerndem Wachzustand akkumulieren; 14) ihre Konzentration sollte beim Schlafen abnehmen und 15) sie sollte in mehreren Spezies vorhanden sein. Weitere Substanzen^[16, 12], die als schlaffördernde Faktoren diskutiert werden, sind beispielsweise Interleukin 1, Interferon α 2, Lipopolysaccharide, Muramylpeptid, Serotonin, der Tumor-Nekrosis-Faktor und das vasoaktive intestinale Peptid. Der Zusammenhang zwischen den offenbar als Neurotransmitter und Neuromodulatoren wirkenden Substanzen und dem Phänomen Schlaf ist dabei weitgehend ungeklärt.



ren Sphingolipiden nahe und erregte Aufsehen^[3], nicht zuletzt, weil mehrere Intermediate des Sphingolipidstoffwechsels zur Zeit als potentielle Signalmoleküle diskutiert werden^[4].

Die endgültige Zuordnung der Struktur **1** zu den unbekannten Verbindungen gelang durch den Vergleich ihrer spektroskopischen Daten mit denen synthetisierter Substanzen^[2]. Die Position der Doppelbindung wurde nach Ozonolyse bestimmt und die Konfiguration IR- und 1H -NMR-spektroskopisch aufgeklärt. Darüber hinaus konnte in einem Funktionstest gezeigt werden, daß

* Prof. Dr. K. Sandhoff, Dr. T. Kolter
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn
Telefax: Int. + 228/737778

Der Schlaf ist einer von mehreren circadianen Rhythmen, die – genetisch gesteuert – mit dem Wechsel von Tag und Nacht als der wichtigsten Umweltbedingung synchronisiert werden^[1,1]. Man unterscheidet mehrere Phasen des Schlafs, die in vorhersehbarer Weise aufeinander folgen und offenbar von unterschiedlichen neurochemischen Systemen kontrolliert werden^[1,2]. Dabei werden die einzelnen Stadien des Schlafes (und anderer circadianer Prozesse) bei pharmakologischen Eingriffen von den Wirkstoffen unterschiedlich beeinflußt^[1,3].

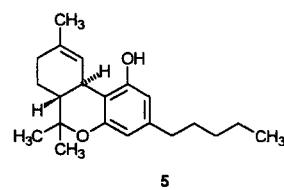
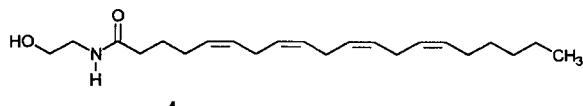
Während eines typischen Nachtschlafes wechseln beim erwachsenen Menschen zwei Schlafperioden in regelmäßigen Abständen, die sich elektrophysiologisch (slow wave sleep) oder durch das Auftreten oder Fehlen von schnellen Augenbewegungen (rapid eye movement, REM-Schlaf) unterscheiden. Slow wave sleep und REM-Schlaf wechseln vier- bis sechsmal pro Nacht, wobei die Dauer des REM-Schlafes zunimmt, Dauer und Tiefe des slow wave sleep hingegen abnehmen^[1,2].

Der slow wave sleep ist gekennzeichnet durch immer größere Wellenlängen und zunehmende Amplituden im Elektroenzephalogramm (EEG). Der schlafende durchläuft beim slow wave sleep bis zu vier Stadien, die durch abnehmende Herzfrequenz, fallenden Blutdruck und tieferen Schlaf gekennzeichnet sind. Nach etwa 45 Minuten werden diese Stadien in umgekehrter Reihenfolge durchlaufen. Nach insgesamt etwa 90 Minuten treten abrupte physiologische Veränderungen auf, das EEG wird dem im Wachzustand ähnlich, ist ihm aber nicht identisch. Für diesen Zustand werden die Bezeichnungen REM-Schlaf, paradoxer Schlaf, aktiver Schlaf oder desynchronisierter Schlaf verwendet. Die aktiven EEG-Muster sind mit einem Abfall der Muskelspannung gekoppelt, und es treten schnelle Augenbewegungen auf. Nach dem Kriterium der Weckbarkeit durch äußere Einflüsse ist der REM-Schlaf der tiefste Schlaf; ein spontanes Erwachen ist hingegen hier am leichtesten möglich. Nach dem Erwachen aus dem REM-Schlaf erinnert man sich an Träume viel leichter als nach dem Erwachen aus dem slow wave sleep. Bestimmte Alpträume hingegen scheinen bevorzugt im dritten und vierten Stadium des slow wave sleep, im Delta-Schlaf, aufzutreten^[1,2].

Barbiturate und Alkohol unterdrücken den REM-Schlaf, während beispielsweise Benzodiazepine das vierte und tiefste Stadium des slow wave sleep stärker beeinträchtigen als den REM-Schlaf. Ebenso erfolglos wie die bisherige Suche nach einer universellen Schlafsubstanz verlief die Suche nach einem Schlafzentrum im Gehirn^[1,2]. Durch die Erregung von Nervenzellen an unterschiedlichen anatomischen Orten konnte Schlaf ausgelöst werden. Die jeweilige selektive Zerstörung dieser Zellen führte bei Versuchstieren zu Schlaflosigkeit. Für die Induktion und Aufrechterhaltung des slow wave sleep scheinen Neuronen des Stammhirns erforderlich zu sein, die Serotonin als Transmittersubstanz verwenden. Durch Injektion von Serotonin in diese Bereiche wird Schlaf induziert, durch die Gabe von *para*-Chlorphenylalanin, das die Biosynthese von Serotonin inhibiert, wird wie erwartet Schlaflosigkeit hervorgerufen. Dennoch normalisiert sich nach einer Woche täglicher Injektion des Inhibitors trotz niedriger Serotonininspiegel das Schlafverhalten, und die Schlafhäufigkeit sowie -dauer erreichten 70 % der normalen Werte.

Kommen wir zurück auf die recht einfache Verbindung **1**, die in dem komplexen Phänomen Schlaf eine noch zu klärende Rol-

le spielt. Dazu muß ihr Stoffwechsel untersucht werden, wie er reguliert ist und ob er den Hirnregionen zugeordnet werden kann, die für die Entstehung und Aufrechterhaltung von Schlaf wichtig sind (vgl. Lit.^[1,2]). Die Tatsache, daß kürzlich ein weiteres langketiges Säureamid mit biologischer Funktion aus Hirngewebe isoliert wurde, ist ein weiterer Grund, den Blick auf diese recht einfache Stoffklasse zu richten. Anandamid **4**, das Ethanolamid von Arachidonsäure, wurde in einem Screening-Prozeß als ein endogener Ligand des Cannabinoid-Rezeptors identifiziert ($K_i = 52 \text{ nM}$)^[1,4]. In Funktionstests ruft es die gleichen physiologischen Antworten und Verhaltensweisen hervor wie Δ^9 -Tetrahydrocannabinol **5**, der Inhaltsstoff von Haschisch und Marihuana. Hirnmembranen können **4** aus Ethanolamin und



Arachidonsäure synthetisieren^[1,5], wobei die Vorstufen Phospholipase-D- oder -A2-katalysiert aus Phospholipiden der Plasmamembranen entstehen sollten. Ob mehr als eine Parallele zwischen den Strukturen von **1** und **4** besteht, ist noch zu klären. Bleibt darüber hinaus abzuwarten, ob auf der Grundlage der Arbeiten von Lerner et al.^[1,2] die nach wie vor offene Frage, wie der Schlaf „funktioniert“, beantwortet werden kann. Da die Natur und wohl auch der Schlaf hierarchisch organisiert sind, wird sich die Frage, warum wir den Schlaf überhaupt brauchen, wohl nicht allein auf molekularer Ebene beantworten lassen.

Stichworte: Gehirnlipide · Neurotransmitter · Sphingosin

- [1] R. A. Lerner, G. Siuzdak, O. Prospero-Garcia, S. J. Henriksen, D. L. Boger, B. F. Cravatt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 9505–9508.
- [2] B. F. Cravatt, O. Prospero-Garcia, G. Siuzdak, N. B. Gilula, S. J. Henriksen, D. L. Boger, R. A. Lerner, *Science* **1995**, *268*, 1506–1509.
- [3] L. Jaenike, *Chemie Unserer Zeit* **1995**, *29*, 21.
- [4] Übersichten: a) A. Olivera, S. Spiegel, *Nature* **1993**, *365*, 557–560; b) R. Kolesnick, *Mol. Chem. Neuropathol.* **1994**, *21*, 287–297; c) R. H. Michell, M. J. O. Wakelam, *Curr. Biol.* **1994**, *4*, 370–373; d) R. Kolesnick, D. W. Golde, *Cell* **1994**, *77*, 325–328; e) Y. A. Hannun, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 3125–3128; f) Y. A. Hannun, L. M. Obeid, *Trends Biochem. Sci.* **1995**, *20*, 73–77.
- [5] H. Piéron, *Le Problème Physiologique du Sommeil*, Paris, Masson, **1913**, zitiert in Lit. [6,12].
- [6] A. B. Borbely, I. Tobler, *Physiol. Rev.* **1989**, *69*, 605–670.
- [7] G. A. Schoenenberger, M. Monnier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 1282–1286.
- [8] R. Ueno, Y. Ishikawa, T. Nakayama, O. Hayashi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, *109*, 576–582.
- [9] O. Hayashi, *FASEB J.* **1991**, *5*, 2575–2581.
- [10] W. C. Dement, vorgetragen auf dem International Symposium for Endogenous Sleep Factors, Honolulu, HI, **1988**, zitiert in Lit. [9].
- [11] J. S. Takahashi, *Annu. Rev. Neurosci.* **1995**, *18*, 531–553.
- [12] D. D. Kelly in *Principles of Neural Science* (Hrsg.: E. R. Kandel, J. H. Schwarz, T. M. Jessel), Elsevier, New York, **1991**, Kap. 51, S. 792–804.
- [13] J. D. Miller, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1992**, *27*, 11–19.
- [14] W. A. Devane, L. Hanus, A. Breuer, R. G. Pertwee, L. S. Stevenson, G. Griffin, D. Gibson, A. Mandelbaum, A. Etinger, R. Mechoulam, *Science* **1992**, *258*, 1946–1949.
- [15] W. A. Devane, J. Axelrod, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 6698–6701.