

ANGEWANDTE CHEMIE

94. Jahrgang 1982
Heft 12
Seite 881-962

Die Leukotriene, superaktive, an Allergie und Entzündung beteiligte Wirkstoffe**

Von Bengt Samuelsson*

Die Arachidonsäure, eine vierfach ungesättigte C₂₀-Fettsäure, hat in den letzten 15 Jahren weit über den Kreis der Ernährungsforscher hinaus Interesse erheischt. Sie bildet einen Acylbestandteil der Phospholipide aller tierischen Zellen. Die schon lange bekannte Tatsache, daß bestimmte ungesättigte Fettsäuren in der Nahrung enthalten sein müssen, damit eine normale Funktion des Organismus gewährleistet ist, hat mit der Entdeckung einer weit aufgefächerten Palette von biologisch hochwirksamen Oxidationsprodukten der Arachidonsäure, einer Kaskade, wie sie oft genannt werden, eine Erklärung erfahren. Arachidonsäure entsteht im Organismus aus Linol- und Linolensäure, die zu den sogenannten essentiellen Fettsäuren gehören. *Ulf von Euler* konnte schon 1935 in Samenflüssigkeit einen Stoff nachweisen, der glatte Muskulatur zur Kontraktion bringt. Dieser später rein isolierte Faktor wurde als Prostaglandin bezeichnet. Die Zahl der Prostaglandine nahm dann stark zu, auch die der synthetisch erhaltenen Analoga. Sie entstehen biosynthetisch aus Arachidonsäure und ähnlichen C₂₀-Fettsäuren durch enzymatische Oxidation mit einer Cyclooxygenase. Deren Wirkung wird durch Acetylsalicylsäure, Indometazin und andere Stoffe gehemmt, weshalb diese Mittel Entzündungen lindern oder heilen, die als Folgen der Wirkung bestimmter Prostaglandine auftreten. Nach den Prostaglandinen wurden als weitere Umwandlungsprodukte der Arachidonsäure die Thromboxane entdeckt, die eine starke Zusammenballung (Aggregation) der Blutplättchen bewirken, die für die Blutgerinnung zuständig sind. In einem wohl ausgewogenen Gleichgewicht wirkt den Thromboxanen das bald danach entdeckte Prostacyclin entgegen, das die Aggregate auflöst. Beide Wirkstoffe sind Metaboliten der Arachidonsäure, die ebenfalls im Verlauf der cyclisierenden Oxidation entstehen. Deshalb läßt sich auch das Bild der Blutgerinnung durch Aspirin und ähnlich wirkende Mittel beeinflussen. Es gibt jedoch Kontraktionsvorgänge und Entzündungserscheinungen, die auf diese Mittel nicht, wohl aber auf Steroidhormone (Cortison) ansprechen. Für solche Erscheinungen, zu denen auch das Asthma gehört, sind höchstwahrscheinlich die zuletzt entdeckten Umwandlungsprodukte der Arachidonsäure ausschlaggebend, die auf einem anderen enzymatischen Weg, über ein Hydroperoxid der Arachidonsäure entstehen. Sie werden in Leukozyten gebildet und enthalten das dreifach ungesättigte Strukturlement eines Triens und wurden deshalb als Leukotriene bezeichnet. Ihre erstaunlich starke Histamin-artige Wirkung bei der Kontraktion der Lungenkapillaren, ihre ausgeprägte

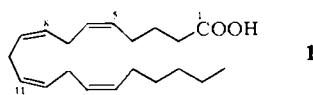
[*] Prof. Dr. B. Samuelsson
Department of Physiological Chemistry
Karolinska Institutet
S-10401 Stockholm (Schweden)

[**] Nach einem Vortrag anlässlich der Verleihung des Heinrich-Wieland-Preises am 30. Oktober 1981 in München.

Eigenschaft, Kapillargefäße für Blutplasma durchlässig zu machen, also Ödeme zu erzeugen, die Fähigkeit des Leukotriens LTB₄, weiße Blutkörperchen anzuziehen und ihre Haf- tung an die Gefäßwände der Blutkapillaren zu stimulieren, macht die Leukotriene zu chemischen Vermittlern bei Allergien und Entzündungsvorgängen, die in winzigen Konzentrationen wirken. Von der Umwandlung der Arachidonsäure in das labile Epoxid LTA₄ und weiter in die Dihydroxyverbindung LTB₄ oder in die Glutathion-, Cysteinylglycin- und Cy-stein-Konjugate LTC₄, LTD₄ bzw. LTE₄ sowie über die physiologisch-pathologischen Implikationen wird im folgenden von einem der drei an der Aufklärung dieser außerordentlich interessanten Naturstoffklasse beteiligten, mit dem diesjährigen Nobel-Preis für Medizin und Physiologie ausgezeichneten Forscher berichtet. Die beiden anderen Preisträger auf dem Gebiet dieser Wirkstoffe, welche oft als Eicosanoide bezeichnet werden, sind Samuels-sons Lehrer Sune Bergström und der Brite John Vane.

1. Einleitung

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind Vorläufer einer größeren Zahl von biologisch hochwirksamen Derivaten, die durch Oxygenierung und weitere Umwandlungen daraus entstehen. Weitaus am wichtigsten ist die Arachidonsäure **1**, eine vierfach ungesättigte C₂₀-Fettsäure (5Z,8Z,11Z,14Z-Eicosatetraensäure), aus der die Prostaglandine, die Thromboxane, Prostacyclin^[1,2] und die erst vor kurzem entdeckten Leukotriene gebildet werden. Nach der Zahl ihrer C-Atome werden die biologisch vielseitig aktiven Wirkstoffe auch unter dem Namen Eicosanoide zusammengefaßt.

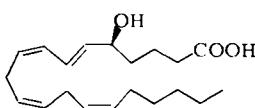


Die Leukotriene weisen drei konjugierte Doppelbindungen auf und zumeist eine Thioether-Bindung mit Cystein. Solche des letztgenannten Typs interessieren als Komponenten einer ursprünglich als "slow reacting substance of anaphylaxis" (SRS-A) bezeichneten Stoffmischung, die starke Bronchien-verengende Wirkung zeigt (Konstriktor) und bei allergischen Überempfindlichkeitsreaktionen eine Rolle spielt. Zusammen mit einem anderen chemotaktisch gegenüber Leukozyten äußerst wirksamen Leukotrienen sind sie wahrscheinlich auch als chemische Vermittler (Mediator) bei Entzündungsvorgängen beteiligt. In der vorliegenden Übersicht wird über die Entwicklung dieses neuen Forschungsgebietes berichtet.

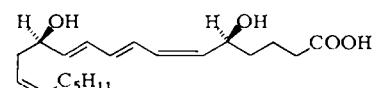
2. Metabolisierung der Arachidonsäure in Leukozyten

Heute weiß man sicher, daß Aspirin und andere nicht-steroide entzündungshemmende Stoffe das Enzym Cyclooxygenase hemmen, das die Bildung von Prostaglandinen, Thromboxanen sowie Prostacyclin aus Arachidonsäure bewirkt^[3]. Entzündungshemmende Steroide unterdrücken hingegen die hydrolytische Freisetzung der Arachidonsäure aus den Phospholipiden der Zellmembranen^[4,5]. Daraus sollte es entzündungsauslösende Stoffe geben, die aus Arachidonsäure entstehen, aber nicht auf dem durch Aspirin hemmbaren Weg unter Einwirkung von Cyclooxygenase. Um diese Annahme zu prüfen, untersuchten wir die Umwandlungen von Arachidonsäure in „polymorpho-nucleare“ (unreifen) Leukozyten (PMNL).

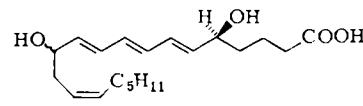
Aus Arachidonsäure entstehen in Gegenwart von PMNL, die aus der Bauchhöhle von Kaninchen erhalten wurden, die oxidierten Derivate: (5S)-5-Hydroxy-(6E,8Z,11Z,14Z)-eicosatetraensäure (5-HETE) **2** als Hauptprodukt^[6], die stärker polaren Dihydroxyverbindungen (DHETE) (5S,12R)-5,12-dihydroxy-(6Z,8E,10E,14Z)-eicosatetraensäure **3**, als Hauptanteil später als Leukotriene B₄ bezeichnet, und zwei (5S)-5,12-Dihydroxysäuren mit (E,E,E,Z)-Konfiguration (**4a**, **4b**), die an C-12 epimer sind, sowie zwei isomere 5,6-Dihydroxysäuren (**5a**, **5b**) mit gleicher Konfiguration der 7,9,11,14-ständigen Doppelbindungen^[7,8].



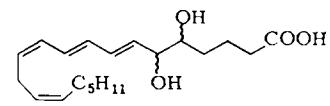
5-HETE **2**



5S, 12R-DHETE **3**

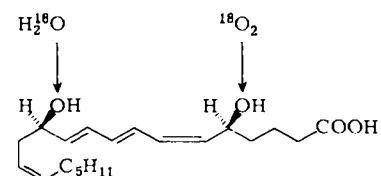


5S, 12R-DHETE **4a**
5S, 12S-DHETE **4b**



5,6-DHETE
Isomere **5a, b**

Das Vorliegen von verschiedenen Doppelbindungskonfigurationen in den Produkten der biologischen Oxidation von Arachidonsäure warf die Frage nach dem Mechanismus auf^[8]. Mit ¹⁸O-Isotopenmarkierung konnte gezeigt



werden, daß der Sauerstoff der Hydroxygruppe an C-5 aus O₂ der Luft stammt, während er für die Hydroxygruppe an

C-12 aus dem Wasser kommt^[9]. Daher postulierten wir, daß die Leukozyten ein instabiles Zwischenprodukt erzeugen, das einen nucleophilen Angriff durch Wasser oder auch Alkohole und andere Nucleophile erfahren würde.

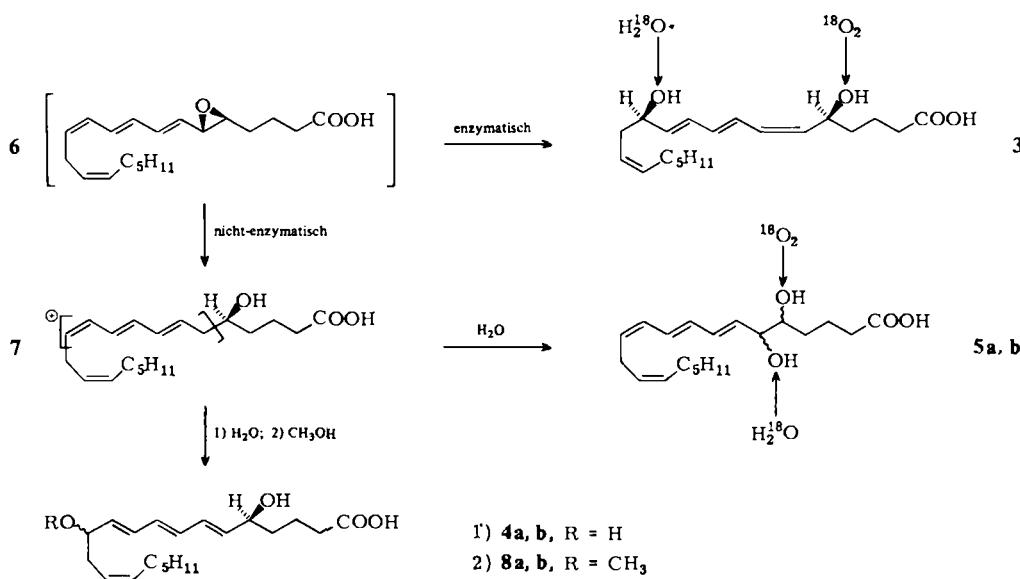
Kaninchen-PMNL wurden deshalb 30 Sekunden mit Arachidonat inkubiert, zu gleichen Anteilen wurde danach das 10fache Volumen Methanol oder Ethanol oder 0.2 Volumina 1 N Salzsäure gegeben. Die Produkte wurden mit Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) analysiert. Im Abfangversuch mit Methanol (entsprechend mit Ethanol) entstanden zusätzlich zu den Verbindungen **2–5** noch zwei Produkte (**8a** und **8b**) in gleicher Menge. Ihre UV-Spektren zeigten drei konjugierte Doppelbindungen an, die nach dem IR-Spektrum *E*-Konfiguration haben. Durch Gaschromatographie-Massenpektroskopie einiger Derivate wurde nachgewiesen, daß es sich um Isomere handelt, die Hydroxygruppen an C-5 und Alkoxygruppen an C-12 tragen. Die stereochemische Analyse ergab (*S*)-Konfiguration für C-5. Obwohl die Konfiguration an C-12 nicht bestimmt wurde, handelt es sich zweifellos bei den Abfangprodukten mit Methanol um die C-12-Epimere von (5*S*)-5-Hydroxy-12-methoxy-(6*E*,8*E*,10*E*,14*Z*)-eicosatetraensäure. Dies zeigt, daß ein Metabolit der Arachidonsäure in Leukozyten durch eine rasche nucleophile Reaktion mit Alkoholen umgesetzt werden kann. Da unter variierten Bedingungen der Anteil der 12-Methoxyverbindungen **8a** und **8b** stets umgekehrt proportional zum Anteil der 12-Hydroxsäuren **4a** und **4b** war, ließ sich der Schluß ziehen, daß letztere nicht-enzymatisch aus demselben Zwischenprodukt wie die Alkoxyderivate entstehen (vgl. Schema 1).

blieb. Dies ließ darauf schließen, daß die anderen Produkte nicht-enzymatisch durch Hydrolyse eines gemeinsamen Zwischenprodukts **6** entstehen, **3** aber durch Enzymkatalyse. Kinetische Versuche bei verschiedenen pH-Werten zeigten auf analoge Weise, daß das Zwischenprodukt gegen Säure labil, gegen Lauge stabiler ist.

Aufgrund dieser Befunde wurde als Zwischenprodukt (5*S*)-5,6-Epoxy-7,9,11,14-eicosatetraensäure **6** postuliert^[9]. Die Hydrolyse von Epoxiden verläuft unter Säurekatalyse, die Öffnung des Rings allylischer Epoxide vollzieht sich bevorzugt in Allylstellung, hier an C-6. Dies stimmt auch damit überein, daß bei der Bildung der Hydrolyseprodukte **5a** und **5b** aus ¹⁸O-markiertem Epoxid (entstanden durch Inkubation des Leukozyten-Arachidonsäure-Gemisches mit ¹⁸O-haltigem Sauerstoff) ¹⁸O nur an C-5 zu finden ist. Wie in Schema 1 skizziert, verläuft die Bildung aller Hydrolyseprodukte des Epoxids **6** mit Ausnahme der von **3** über ein Carbenium-Ion **7**; dieses addiert ein Hydroxid-Ion an C-6 oder C-12, wobei vier Isomere entstehen, welche das stabilisierte konjugierte Triensystem enthalten. Verbindung **3** wird enzymatisch gebildet, denn sie hat ausschließlich (*R*)-Konfiguration an C-12 und entsteht nur in nicht-denaturierten Zellpräparaten.

Den für die Biosynthese des Epoxids **6** vorgeschlagenen Weg zeigt Schema 2. Er führt über die 5-Hydroperoxy-6,8,11,14-eicosatetraensäure (5-HPTE) **9**. Aus ihr entsteht durch Reduktion die Hydroxyverbindung **2**. Das Epoxid **6** entsteht aus **9** durch einen intramolekularen Prozess, nämlich OH-Eliminierung nach Abstraktion des durch Doppelallylstellung aktivierten Protons an C-10.

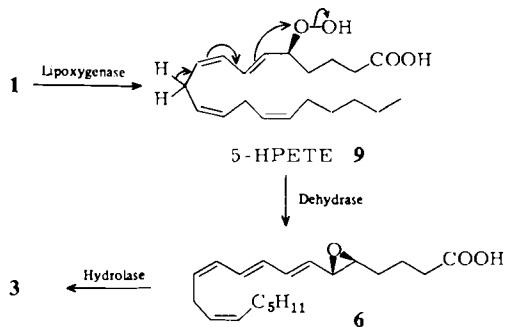
Die Struktur dieses 5,6-Epoxids **6** ist die des Leuko-



Schema 1. Bildung von Dihydroxy-Derivaten aus einem instabilen Metabolit (Epoxid **6**, LTA₄) der Arachidonsäure.

Die Stabilität des Zwischenproduktes wurde dadurch bestimmt, daß Kaninchen-PMNL bei pH 7.4 und 37 °C mit Arachidonat 45 Sekunden inkubiert, dann in Methanol suspendiert, und in Zeitabständen Proben mit RP-HPLC analysiert wurden. Es ergab sich eine Halbwertszeit von 3 bis 4 Minuten. Die Konzentration der Verbindungen **4a** und **4b**, **8a** und **8b** sowie **5a** und **5b** nahm mit der Zeit zu, während die Konzentration von **3** und von **2** konstant

triens **A**₄ (LTA₄). Sie ist durch chemische Synthese bestätigt, wobei auch die Stereochemie gesichert wurde^[10]. Die Konfiguration der drei konjugierten Doppelbindungen im Leukotriens **A**₄ (LTB₄), dem enzymatischen Hydrolyseprodukt von LTA₄, ist ebenfalls durch Synthese gesichert^[11]. LTA₄, das Epoxid **6**, konnte vor kurzem auch aus polymorphonucleären Leukozyten von Menschen isoliert werden^[12].



Schema 2. Bildung des instabilen Epoxids 6 (LTA₄) über das Hydroperoxid 9 (5-HPETE).

Die Kenntnis von Epoxid 6 und seinen Reaktionsweisen war Voraussetzung für die Aufklärung der Zusammensetzung und Biosynthese der anaphylaktischen Substanz SRS-A^[9]. Quantitative Untersuchungen der Bildung der Hydroxylierungsprodukte 2 und 3 aus Arachidonsäure durch Menschen-PMNL zeigten eine deutliche Stimulierung der Synthese durch den Ca-Ionophor^[1] A 23 187^[13]. Dies war von besonderem Interesse, weil – wie vorher gefunden^[14] – der Ionophor auch die Freisetzung von SRS-A aus Leukozyten stimuliert. Weiterhin war auch das UV-Spektrum mit λ_{max} um 270 nm der aus Leukozyten stammenden Leukotriene sehr ähnlich dem UV-Spektrum von SRS-A^[15, 16]. Dies und andere Überlegungen führten uns zu der Hypothese, daß zwischen dem instabilen Epoxid 6 und SRS-A ein biogenetischer Zusammenhang bestehen könnte.

3. Die Struktur der Slow Reacting Substance of Anaphylaxis (SRS-A)

Der Begriff „slow reacting substance“ (SRS) wurde schon 1938 von *Feldberg* und *Kellaway* eingeführt für einen Faktor, der glatte Muskeln (Meerschweinchen-Jejenum, Teil des Dünndarms) langsam zur Kontraktion brachte und der in der Strömungsflüssigkeit einer mit Kobragift behandelten Meerschweinchenlunge enthalten war^[17]. Danach wurde es immer wahrscheinlicher, daß SRS ein wichtiger Mediator bei Asthma und anderen akuten Überempfindlichkeits-Reaktionen ist^[18–21]. Ganz ähnlich wirkende Stoffe ließen sich auch durch Immunvorgänge erzeugen. Man nannte sie SRS-A (A für Anaphylaxie). Es wird angenommen, daß SRS-A freigesetzt wird (zusammen mit anderen Mediatoren wie Histamin etc.), wenn Immunglobulin E (ein Antikörper), das an Rezeptoren der Zellmembran z. B. der Bronchien gebunden ist, mit Allergenen, etwa Pollen, reagiert. Wir betrachten im folgenden SRS und SRS-A als weitgehend identisch. Die Aufklärung der Natur von SRS war zunächst behindert durch die Schwierigkeit, genügend reine Substanz zu gewinnen. Immerhin konnte es aber als polares Lipid charakterisiert werden^[16, 22, 23], das wahrscheinlich Schwefel enthält und ein UV-Spektrum mit λ_{max} um 270 nm aufweist^[15, 16, 24]. Experimente mit markierter Arachidonsäure zeigten, daß sie in SRS eingebaut wird^[25, 26].

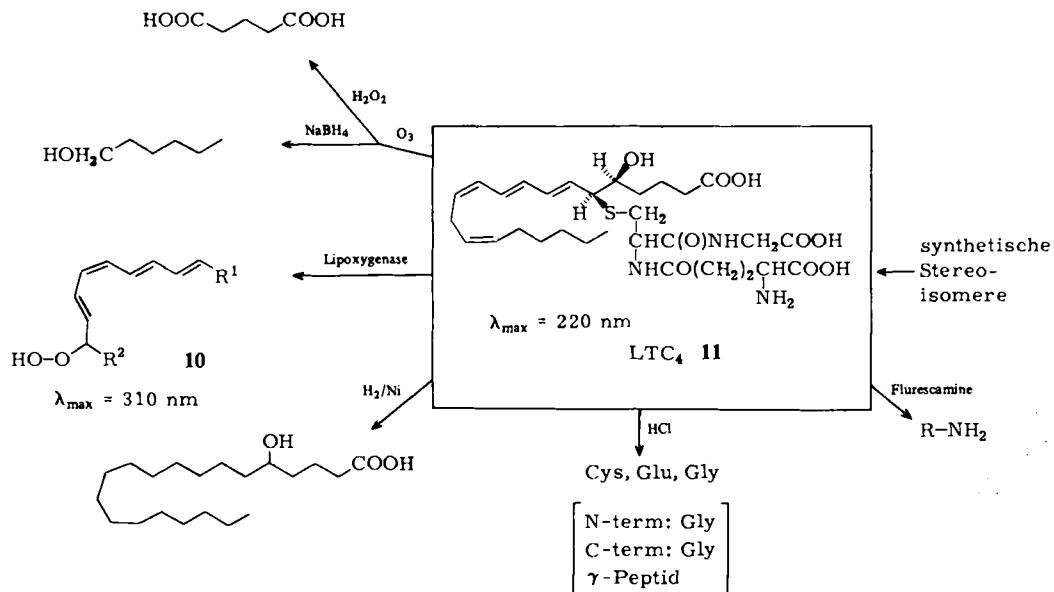
Wir fanden, daß Brustcarzinomzellen von Mäusen bei Behandlung mit dem Ionophor A 23 187 aus Arachidonsäure in Gegenwart von L-Cystein SRS erzeugten, und zwar in viel besseren Ausbeuten als nach früheren Methoden. Dies ermöglichte Einbaustudien mit markierten Vorläufern und die Gewinnung von so viel Substanz, daß die Bestimmung der Struktur gelingen konnte^[27]. Die Isolierung erfolgte nach Ausfällen von Protein mit Ethanol und alkalischer Hydrolyse durch Trennung der Komponenten am Anionenaustauscher Amberlite XAD-8 und an Silicagel und schließlich durch zweimalige RP-HPLC. Die so erhaltenen Substanzen waren völlig rein, zeigte ein UV-Absorptionsmaximum bei 280 nm und bewirkte eine typische Kontraktion des Meerschweinchen-Ileums, die durch den SRS-Antagonist FPL 55712 aufgehoben wurde^[27]. Das UV-Spektrum ähnelte dem der in Abschnitt 2 vorgestellten Hydroxyfettsäuren mit drei konjugierten Doppelbindungen ($\lambda_{\text{max}} \approx 270$ nm), war aber um 10 nm ins Langwellige verschoben. Dies ist typisch für eine Schwefelfunktion in α -Stellung eines Triens. Isotopenmarkierung zeigte, daß Arachidonsäure und Cystein eingebaut waren.

Hydrogenolytische Entschwefelung von SRS mit Raney-Nickel führte zur 5-Hydroxyeicosansäure – ein Indiz dafür, daß Cystein an die Arachidonsäure durch eine Thioether-Bindung geknüpft war (vgl. Schema 3). Die Hydroxygruppe an C-5 bestärkte uns in der Annahme, daß zwischen den Umwandlungsprodukten der Arachidonsäure durch Leukozyten und SRS eine biochemische Verwandtschaft bestehen müsse.

Die Positionen der Doppelbindungen in SRS wurden an einem Präparat bestimmt, das durch Biosynthese aus ³H-markierter Arachidonsäure erhalten worden war. Reduktive Ozonolyse ergab [¹-³H]₁Hexanol und bestätigte somit, daß die Δ^{14} -Doppelbindung der Arachidonsäure an der ursprünglichen Stelle geblieben war. Zur Lokalisierung des konjugierten Triensystems wurde eine spezielle Methode benutzt: Frühere Versuche hatten uns gezeigt, daß Lipoxygenase (aus Sojabohnen) das homokonjugierte System von zwei Z-Doppelbindungen am Ende peroxidierend angreift, wodurch die Doppelbindungen in Konjugation geraten. SRS wurde so durch Lipoxygenase in das 15-Hydroperoxid 10 der konjugierten Tetraensäure umgewandelt, erkennbar an einer bathochromen Verschiebung des UV-Maximums um 30 nm (Schema 3). Auf diese Weise war die Z-Konfiguration der Δ^{11} -Doppelbindung und ihre Konjugation mit den Δ^7 - und Δ^9 -Doppelbindungen bestätigt. Die Strukturermittlung zeigte in diesem Stadium, daß SRS ein Derivat der 5-Hydroxy-7,9,11,14-eicosatetraensäure ist, das Thioether-artig in 6-Stellung mit Cystein verknüpft ist.

Da bei der Reduktion mit Raney-Nickel aus dem Cystein kein freies Alanin entstand, mußte es derivatisiert vorliegen. Deshalb formulierten wir in den ersten Publikationen den Cysteinteil von SRS mit unbestimmtem Cysteinrest R am Schwefelatom^[27–29]. Sodann wurden bei Aminosäureanalysen des HCl-Hydrolysats von SRS außer Cystein noch Glycin und Glutaminsäure im Verhältnis 1:1:1 gefunden. Durch Endgruppenbestimmung nach der Dansyl-Methode und durch Hydrazinolyse sowie durch neuerliche Umsetzung mit Dansylchlorid nach einem Edman-Abbau ergab sich für den Peptidteil von SRS die Struktur des Glutathions (γ -Glutamyl-cysteinyl-glycin). Die in Brustcarzinomzellen von Mäusen aus Arachidon-

[*] Ionophore sind Moleküle, die Ionen, zum Beispiel Ca^{2+} , durch Zellmembranen schleusen.



Schema 3. Einige Umwandlungen von SRS zur Aufklärung seiner Struktur als Leukotrien C₄ 11.

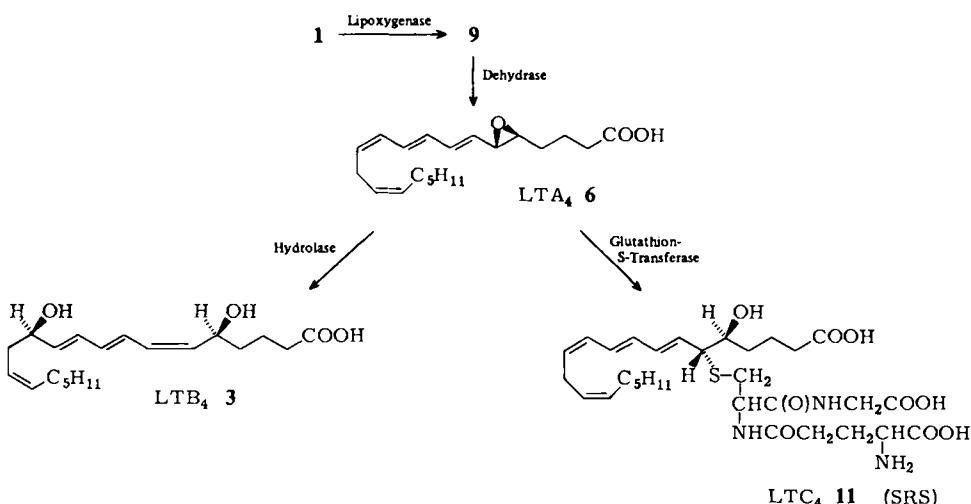
säure und Cystein gebildete SRS ist demnach 6-S-Glutathionyl-5-hydroxy-7,9,11,14-eicosatetraensäure 11, bezeichnet als Leukotrien C₄ (LTC₄)^[30] (vgl. Schema 3).

Weitere Cystein-Konjugate sind das Glutaminsäurefreie Cysteinyl-glycin-Derivat LTD₄ 12 und das einfache Cystein-Derivat LTE₄ 13^[30].

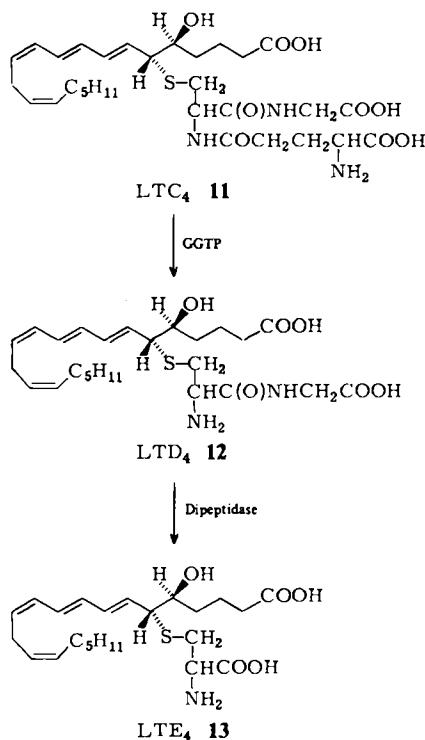
Die Struktur von LTC₄ mit allen stereochemischen Einzelheiten, wie sie aufgrund unserer Abbaureaktion vorgeschlagen worden war, wurde durch die Totalsynthese von Corey et al. bestätigt^[31]. Hierbei wurden auch Stereoisomere hergestellt. Der exakte systematische Name für LTC₄ ist nunmehr (5S,6R)-6-S-Glutathionyl-5-hydroxy-(7Z,9Z,11E,14E)-eicosatetraensäure. Der schon früher vermutete biochemische Zusammenhang zwischen dem Epoxid LTA₄ (6) und LTC₄ (11) ließ sich vor kurzem dadurch beweisen, daß synthetisches LTA₄ bei Inkubation mit polymorphen Leukozyten von Menschen in LTC₄ umgewandelt wurde^[32] (Schema 4). Die Epoxidfunktion von 6 wird in 6-Stellung durch die nucleophile Thiolfunktion des Glutathions unter Thioetherbildung geöffnet.

Zur Nomenklatur: Unser Vorschlag für kurze praktische Trivialnamen der „Leukotriene“ (LT) leitet sich von ihrer erstmaligen Entdeckung in Leukozyten und ihrem gemeinsamen Strukturmerkmal, einem System aus drei konjugierten Doppelbindungen, her^[28]. Die alphabetische Reihung folgt grob dem biochemischen Weg ihrer Entstehung aus Arachidonsäure und ihrer Entdeckung. Da die Derivate nicht nur aus Arachidonsäure (mit 4 Doppelbindungen) gebildet werden, sondern allgemein aus C₂₀-Fettsäuren, die dasselbe 5,8,11-Doppelbindungssystem, aber mehr oder weniger Doppelbindungen im Restmolekül haben, wird eine zusätzliche Numerierung gebraucht^[33]. So sind LTA_n (n=3, 4, 5) mit Bezug auf Formel 6 dreifach bis fünfach ungesättigte 5,6-Epoxy-(7Z,9Z,11E)-, LTB_n (5S,12R)-5,12-Dihydroxy-(6Z,8E,10E)-, LTC_n (5S,6R)-6-S-Glutathionyl-5-hydroxy-(7E,9E,11Z)-, LTD_n die entsprechenden S-Cysteinyl-glycin- und LTE_n die einfacheren S-Cysteinyl-C₂₀-Fettsäuren (vgl. Formeln 6, 3, 11, 12 bzw. 13).

Die Verwandtschaft von LTC₄, LTD₄ und LTE₄ ergab sich bei den folgenden Beobachtungen. Untersuchungen



Schema 4. Bildung der Leukotriene (LT) A₄, B₄ und C₄.



Schema 5. Bildung der Leukotriene (LT) D₄ und E₄.

mit einem anderen Zelltyp („rat basophilic leukemia cells“, RBL-1) führten zu einer SRS-Spezies, die weniger polar als LTC₄ aus Leukozyten ist^[34]. Die UV-Spektren wiesen die Fettsäure-Bestandteile der beiden Leukotriene als identisch aus, ebenso die Produkte der hydrogenolytischen Entschwefelung mit Raney-Nickel und auch die spektralen Veränderungen nach Lipoxygenase-Behandlung. Im Säurehydrolysat des weniger polaren Leukotriens fehlte jedoch die Glutaminsäure; Glycin war als C-terminale Komponente vorhanden. Dasselbe Leukotrien entstand bei der Inkubation von LTC₄ mit γ -Glutamyltranspeptidase (GGTP). Das Produkt ist demnach die bereits erwähnte 6S-Cysteinyl-glycin-Verbindung LTD₄ (12 in Schema 5). LTD₄ bewirkt am Meerschweinchen-Ileum in kleineren Konzentrationen raschere Kontraktion als LTC₄^[34].

Der biochemische Zusammenhang zwischen Leukotrienen D und E wurde unter anderem in Versuchen mit LTC₃ geklärt^[35]. Im Fettsäureteil ³H-markiertes LTC₃ wurde mit einem Homogenpräparat aus Meerschweinchenniere rasch unter Abspaltung von Glutaminsäure in

LTD₃ umgewandelt, dieses wiederum durch ein Homogenpräparat aus Leber oder Nieren rasch unter hydrolytischer Abspaltung des Glycins in die 6-S-Cysteinyl-triensäure LTE₃. Durch das letztere „Reagens“ wird LTC₃ nicht merklich verändert, was auf eine hohe Konzentration von Glutathion in Leber und Nieren zurückgeführt werden kann. Der stufenweise Abbau von LTC₃ zu LTE₃ findet auch in der Lunge von Affen statt^[36]. Die Strukturen der Leukotriene sind durch solche biochemischen Verknüpfungen, aber auch durch chemische Synthesen gesichert.

Leukotriene konnten in den verschiedensten Organen nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 1). SRS-A ist ein Gemisch der schwefelhaltigen Leukotriene C₄, D₄ und E₄.

Leukotriene mit einem anderen Substitutionsmuster sind vor kurzem aufgefunden worden. So entsteht über ein primäres 15-Hydroperoxid der Arachidonsäure die instabile 14,15-Epoxy-5,8,10,12-eicosatetraensäure (14,15-LTA₄), die in das 14,15-Dihydroxy- (14,15-LTB₄) und 8,15-Dihydroxy-Derivat (8,15-LTB₄) umgewandelt wird^[37,38]. Ein neues Isomer von LTB₄ wurde als Oxidationsprodukt von Arachidonsäure in menschlichen Leukozyten isoliert: (5S,12S)-5,12-Dihydroxy-(6E,8Z,10E,14Z)-eicosatetraensäure^[39]. Diese Verbindung entsteht auf einem anderen Weg als die Leukotriene; sie wurde als 5S,12S-DHETE bezeichnet.

4. Physiologische Rolle der Leukotriene

Die „slow reacting substance of anaphylaxis“ (SRS-A) ist durch einige pharmakologische Wirkungen charakterisiert worden. Der klassische Kontraktions-Test am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm im Vergleich mit dem analog wirkenden Histamin ist ein Maß für die stimulierende Wirkung auf glatte Muskeln, die auch für die Kontraktion von kapillären Blutgefäßen zuständig sind. Eine Steigerung der Permeabilität der Blutgefäße in der Meerschweinchenhaut wird am Eindringen eines Farbstoffs ins Gewebe unter Bildung farbiger Flecken erkannt, nachdem dem Versuchstier der Farbstoff in die Blutbahn injiziert wurde.

Die reinen Leukotriene LTC₄ und LTD₄ rufen in Konzentrationen von 0.1 bis 1.0 nM dosisabhängig die Kontraktion des Meerschweinchendarms hervor^[40]. Bezogen auf mol/L ist Histamin 200mal weniger wirksam als LTC₄. Beide Leukotriene steigern auch die Gefäßpermeabilität in der Haut^[40,41]. In vergleichenden Studien wurden wesentliche Unterschiede in der Wirkungsart der schwefelhaltigen Leukotriene und von LTB₄ gefunden. Die erstgenannten

Tabelle 1. Identifizierung von Leukotrienen (LT) verschiedenen Vorkommens.

Quelle	LTA ₄	LTB ₄	LTC ₄	LTD ₄	LTE ₄	Lit.
Leukozyten aus Bauchfell (Kaninchen)	+	+				[7, 9]
Leukozyten aus Blut (Mensch)	+	+	+			[12, 13, 58]
Brustcarzinom (Maus)	+		+			[27, 30, 59]
Basophile Leukämiezellen (Ratte)				+	+	[34, 60, 61]
Monozyten aus Bauchfell (Ratte)			+	+		[62, 63]
Anaphylaktische Zellen vom Bauchfell (Ratte)			+	+	+	[64]
Leukozyten (Ratte)	+					[65, 66]
Makrophagen (Ratte)	+					[67]
Makrophagen (Maus)			+			[68]
Lunge (Mensch)		+		+		[69]
Lunge (Meerschweinchen)			+			[70]
Pfote (Katze)				+	+	[71]

haben eine spezifische Wirkung auf das Herz-Lungen-Kreislaufsystem; sie beeinflussen die Mikrozirkulation. LTB₄ verursacht Adhäsion der Leukozyten an die Blutgefäßwand und hat chemotaktische Eigenschaften, d. h. es zieht Leukozyten in einem Gradienten steigender Konzentration an. Das deutet darauf hin, daß Leukotriene wichtige Faktoren bei Abwehrmechanismen wie Überempfindlichkeits- und Entzündungsreaktionen sind.

Bei intravenöser Injektion verstärken Histamin und auch LTC₄ den Druck der Einatmungsluft in der Luftröhre anästhesierter, künstlich beatmeter Meerschweinchen – ein Anzeichen für Luftwiderstand in der Lunge^[40,41]. Dabei war LTC₄ mindestens 100mal so wirksam wie Histamin, und seine Wirkung war von viel längerer Dauer. Als Aerosol erweist sich LTC₄ sogar mindestens 1000mal wirksamer als Histamin; LTD₄ und LTE₄ zeigten gleich starke Wirkung wie LTC₄. Vor kurzem wurde die Bronchien-verengende Wirkung von LTC₄ auch an künstlich beatmeten Affen untersucht^[42]. Bereits 20 nmol (10 µg) LTC₄ verursachten heftige Bronchokonstriktionen, erkennbar an einem starken Druckanstieg und einem gleichzeitigen Abfall des arteriellen Sauerstoff-Partialdrucks. Das Blut vermochte weniger Sauerstoff aus den Lungenkapillaren aufzunehmen. Die Effekte waren erst nach 45–50 Minuten abgeklungen. Sie zeigten, daß die schwefelhaltigen Leukotriene vor allem auf die peripheren Luftwege einwirken, wie es zuvor schon für rohe SRS-A-Präparate festgestellt worden war. Isolierte Lungenteile von Mensch und Affen reagieren ebenfalls auf Cystein-haltige Leukotriene^[43]. Humanbronchien erwiesen sich als besonders empfindlich; LTC₄ war als Konstriktor mindestens 1000mal wirksamer als Histamin. Analoge Bronchienpräparationen von Affen zeigten sich weniger sensibel, doch bewirkt LTC₄ auch hier noch starke Kontraktionen in 100fach höherer Konzentration als beim Menschen, d. h. es ist immerhin 10mal effektiver als Histamin.

Injektion von LTC₄ und LTD₄ in die Haut von Meerschweinchen führt zur gleichen Erscheinung wie die von roher SRS-A, zur Ausbreitung von (mit Evans Blau gefärbtem) Blutplasma^[40,41]. Das Durchlässigwerden von Blutgefäßen läßt sich auch am lebenden Tier beobachten, z. B. am Gewebe der Backentaschen des Hamsters^[44] (Fig. 1). In solchen Versuchen wirkten LTC₄ und LTD₄, in Lösung (0.3–2.0 nM) äußerlich appliziert, dosisabhängige Kontraktionen vor allem der feinsten Arterienkapillaren (Arteriolen), wo sie in feinsten Venenkapillaren (Venolen) übergehen. Die Kontraktion blieb nur wenige Minuten erhalten, da sodann ein Austritt von Plasma ins Gewebe folgte, der an Fluorescein-markiertem Dextran beobachtet werden konnte, das vorher in die Blutbahn injiziert worden war. Den Permeabilitätseffekt ruft auch Histamin hervor, doch sind die Leukotriene viel wirksamer; LTC₄ ist etwa 5000mal so wirksam wie Histamin. Gesteigerter Plasmaaustritt aus den Gefäßen hat Ödeme zur Folge, bezeichnend für den Vorgang einer Entzündung. Das Phänomen wird auch durch Prostaglandine bewirkt, und PGE₂ verstärkt den durch submaximale Dosen von LTD₄^[45] oder LTE₄^[46,47] erzeugten Effekt. Dies mag nahelegen, daß Leukotriene indirekt, über eine Synthese von Prostaglandinen wirken könnten. Der Effekt der Leukotriene läßt sich jedoch nicht durch notorische anti-inflammatorische Hemmer der PG-Synthese wie Indomethazin oder Mepyramin

unterdrücken, er ist daher den Leukotrienen selbst zuzuschreiben.

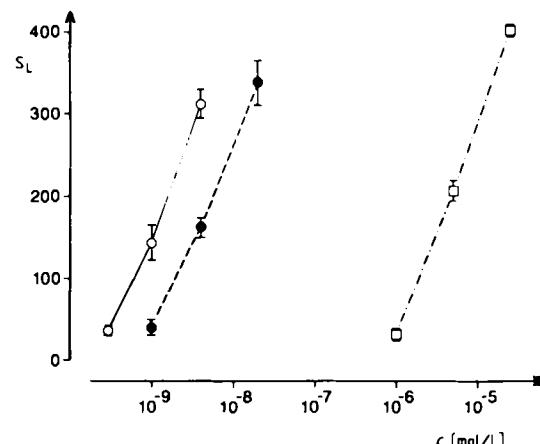


Fig. 1. Steigerung der Gefäßdurchlässigkeit in der Hamsterbackentasche durch Leukotriene (LTC₄ ○—○, LTD₄ ●—●) und durch Histamin (□---□). S_L = Zahl der Plasmaaustritts-Flecken pro cm².

Im Gegensatz zu den schwefelhaltigen Leukotrienen führt LTB₄ (im gleichen Konzentrationsbereich wie LTC₄ angewendet) nicht zur Gefäßkontraktion und beeinflußt auch nicht den Plasmaaustritt ins Gewebe; es verursacht jedoch eine drastische Zunahme der Adhäsion von weißen Blutkörperchen an die Wände von kleinen Venolen (feinsten Venenkapillaren)^[44]. Nach Zugabe von LTB₄ bewegten sich wandernde Leukozyten sofort langsamer und viel mehr von ihnen klebten an den Gefäßwänden als beim Blindversuch. Diesen Effekt kann man auch in vitro mit menschlichen Leukozyten zeigen: Läßt man sie durch eine Säule fließen, die mit Nylonfasern gefüllt ist, so bleiben in

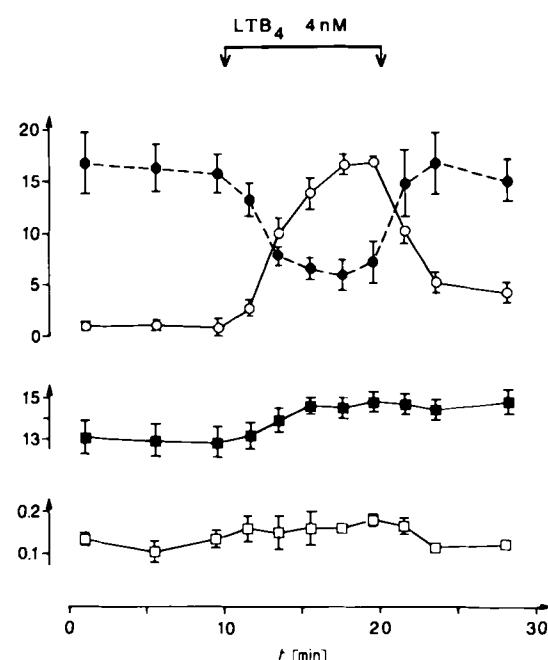


Fig. 2. Messung der Wirkung von LTB₄ (4 nM) an einer postkapillären Venole der Hamsterbackentasche. Oben: Weiße Blutzellen; Zahl der pro Minute durchlaufenden (●) und pro Minute an die Gefäßwand fixierten (○) Zellen. Mitte: Zeitliche Veränderung des Venolendurchmessers (µm). Unten: Rote Blutzellen; Geschwindigkeit (mm/s).

Gegenwart von LTB₄ viel mehr Leukozyten an den Nylonfasern hängen als ohne Zugabe des Leukotriens^[48] (vgl. Fig. 2).

LTB₄ hat auch einen chemotaktischen Effekt. Er läßt sich in vitro auf verschiedene Weise zeigen, z. B. durch Nachweis in der sogenannten Boyden-Kammer oder durch Wanderung unter Agarose^[49-52], wobei Leukozyten einem Konzentrationsgefälle von LTB₄ entgegenwandern. In vivo wurde dieser Effekt durch Bestimmung der Anhäufung von weißen Blutzellen in der Bauchhöhle von Meerschweinchen nach Injektion von LTB₄ gemessen^[53]. Nach diesen Beobachtungen könnte LTB₄ ein Wegweiser für Leukozyten bei ihrer Wanderung aus dem Blut in Entzündungsgebiete sein. Es ist in diesem Zusammenhang interessant, daß das chemotaktische Peptid Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin die Bildung von LTB₄ und anderen Leukotrienen in menschlichen Neutrophilen, das sind unreife kernhaltige Vorstufen der Leukozyten, stimuliert^[54].

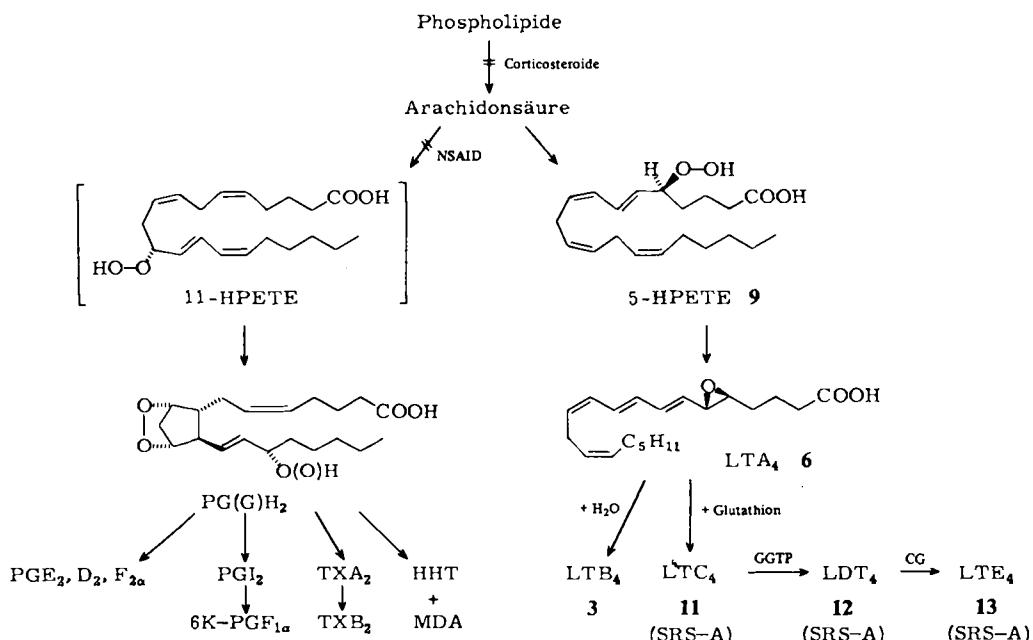
Unsere Befunde weisen darauf hin, daß sowohl die auf dem Wege der Cyclooxygenase-Reaktion aus Arachidonsäure entstehenden Produkte wie die Prostaglandine als auch die auf einem anderen Oxidationsweg entstehenden Leukotriene wichtige Rollen bei raschen Überempfindlichkeitsreaktionen und Entzündungen spielen. Die Cystein-haltigen Leukotriene sind sehr wirksame Stimulantien der

sonders der Kapillaren – anzuregen und chemotaktisch anzulocken, deutet darauf hin, daß die Leukotriene auch bei Abwehrvorgängen ihres Wirtsorganismus mitwirken. Alle Effekte der Leukotriene zusammengenommen erinnern deutlich an die frühe Phase einer akuten Entzündung.

Die Leukotriene wirken synergistisch, d. h. in gleichem Sinne zusammen mit einigen Metaboliten, die auf dem Cyclooxygenase-Weg aus Arachidonsäure entstehen: Prostaglandine, Thromboxane, Prostacyclin. So kann die Bildung von Ödemen als ein Gemeinschaftseffekt der Leukotriene, die den Plasmaaustritt aus den Gefäßen befördern, und des gefäßweiternden Prostaglandins PGE₂ zusammen mit Prostacyclin PG_I₂ verstanden werden. Auch synergistisches Wirken von Bronchien-verengenden Leukotrienen und Thromboxan A₂ erscheint möglich: LTC₄ und LTD₄ verursachen die Freisetzung von TXA₂ in Meerschweinchenlunge^[55]; da TXA₂ ein starker Konstriktor der Luftwege ist, ist anzunehmen, daß es zur Bildung allergischer Bronchiostasen beiträgt.

Die beiden Hauptwege der Oxidation von Arachidonsäure und verwandter Fettsäuren, der Cyclooxygenase-Weg und derjenige, der zu den Leukotrienen führt, sind in Schema 6 nebeneinander skizziert.

Anti-inflammatory Steroide hemmen die hydrolytische Freisetzung der Arachidonsäure aus den Phospholipiden



Schema 6. Bildung von Prostaglandinen (PG), Thromboxanen (TX), Prostacyclin (PGI₂) und Leukotrienen (LT). NSAID: non-steroidal anti-inflammatory drugs; HHT: (12S)-12-Hydroxy-(5Z,8E,10E)-heptadecatriensäure.

glatten Muskeln in der Lunge, in spezifischer Weise kontrahieren sich unter ihrem Einfluß die peripheren Gefäße, d. h. die feinsten Kapillaren. Sie verursachen darüber hinaus Plasmaaustritt aus den Venolen, den feinsten zu den Arteriolen verlaufenden Venenkapillaren in der Haut. So sind sie wohl Vermittler von allergisch, also durch Immunreaktionen bedingtem Verhalten der Atemwege und der Haut. Weiterhin ist anzunehmen, daß die schwefelhaltigen Leukotriene zusammen mit LTB₄ ganz allgemein an Entzündungsvorgängen eng beteiligt sind. Die Fähigkeit von LTB₄, Leukozyten zur Adhäsion an die Gefäßwände – be-

den der Zellmembran, während Cyclooxygenase-Inhibitoren wie Aspirin die Umwandlung der Arachidonsäure in Prostaglandine, Thromboxane und Prostacyclin verhindern. Für die Unterdrückung der Freisetzung von Arachidonsäure aus Phospholipiden soll ein Hemmstoff verantwortlich sein, dessen Synthese durch anti-inflammatorye Steroide stimuliert wird^[56,57]. Steroide können also die Bildung sämtlicher Umwandlungsprodukte der Arachidonsäure unterdrücken und verhindern so auch die von den Leukotrienen verursachten allergischen und entzündungsartigen Erscheinungen.

5. Ausblick

Die in diesem Fortschrittsbericht zusammengefaßten Erkenntnisse über die Bildung der Leukotriene und ihre biochemische Verwandtschaft^[17,2] können der Therapie neue Möglichkeiten eröffnen. Besonders gegen Krankheiten, die mit allergischen Reaktionen und Entzündungen einhergehen, sollten spezifischere Heilmittel entwickelt werden können, etwa Antagonisten gegen die Leukotriene selbst oder Inhibitoren jener Enzyme, die an der Entstehung oder Weiterveränderung der Schlüsselsubstanz LTA₄ beteiligt sind. Auch die Entwicklung von Pharmaka, die auf beide Umwandlungswege für Arachidonsäure einwirken, kann von erheblicher Bedeutung sein.

Die hier geschilderten Arbeiten im Laboratorium des Autors wurden vom Swedish Research Council (Projekt 03X-217) unterstützt.

Eingegangen am 10. Februar 1982 [A 436]
Übersetzt von Prof. Dr. Theodor Wieland, Heidelberg

- [1] B. Samuelsson, M. Goldyne, E. Granström, M. Hamberg, S. Hammarström, C. Malmsten, *Annu. Rev. Biochem.* 47 (1978) 997.
- [2] B. Samuelsson, S. Hammarström, R. C. Murphy, P. Borgeat, *Allergy* 35 (1980) 375.
- [3] J. R. Vane, *Nature (London)* **New Biol.** 231 (1971) 232.
- [4] R. Gryglewski, B. Panczko, R. Korbut, L. Grodzinska, A. Oonetkiewicz, *Prostaglandins* 10 (1975) 343.
- [5] S. C. L. Hong, L. Levine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73 (1976) 1730.
- [6] P. Borgeat, M. Hamberg, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* 251 (1976) 7816.
- [7] P. Borgeat, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 2643.
- [8] P. Borgeat, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 7865.
- [9] P. Borgeat, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 3213.
- [10] O. Rådmark, C. Malmsten, B. Samuelsson, D. A. Clark, G. Giichi, A. Marfat, E. J. Corey, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 92 (1980) 954.
- [11] E. J. Corey, A. Marfat, G. Goto, F. Brion, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 7984.
- [12] O. Rådmark, C. Malmsten, B. Samuelsson, G. Goto, A. Marfat, E. J. Corey, *J. Biol. Chem.* 255 (1980) 11828.
- [13] P. Borgeat, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 2148.
- [14] M. D. Conroy, R. P. Orange, L. M. Lichtenstein, *J. Immunol.* 116 (1976) 1677.
- [15] H. R. Morris, G. W. Taylor, P. J. Piper, P. Sirois, J. R. Tippins, *FEBS Lett.* 87 (1978) 203.
- [16] R. P. Orange, R. C. Murphy, M. L. Karnovsky, K. F. Austen, *J. Immunol.* 110 (1973) 760.
- [17] W. Feldberg, C. H. Kellaway, *J. Physiol. (London)* 94 (1938) 187.
- [18] K. F. Austen, *J. Immunol.* 121 (1978) 793.
- [19] W. E. Brocklehurst, *J. Physiol. (London)* 120 (1953) 16 P.
- [20] C. H. Kellaway, E. R. Trethewie, *Q. J. Exp. Physiol.* 30 (1940) 121.
- [21] R. P. Orange, K. F. Austen, *Adv. Immunol.* 10 (1969) 104.
- [22] W. E. Brocklehurst, *Prog. Allergy* 6 (1962) 539.
- [23] K. Strandberg, B. Uvnäs, *Acta Physiol. Scand.* 82 (1971) 358.
- [24] R. P. Orange, R. C. Murphy, K. F. Austen, *J. Immunol.* 113 (1974) 316.
- [25] M. K. Bach, J. R. Brashler, R. R. Gorman, *Prostaglandins* 14 (1977) 21.
- [26] B. A. Jakschik, S. Falkenheim, C. W. Parker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74 (1977) 4577.
- [27] R. C. Murphy, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 4275.
- [28] B. Samuelsson, P. Borgeat, S. Hammarström, R. C. Murphy, *Prostaglandins* 17 (1979) 785.
- [29] B. Samuelsson, P. Borgeat, S. Hammarström, R. C. Murphy, *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.* 6 (1980) 1.
- [30] S. Hammarström, R. C. Murphy, B. Samuelsson, D. A. Clark, C. Mioskowski, E. J. Corey, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 91 (1979) 1266.
- [31] S. Hammarström, B. Samuelsson, D. A. Clark, G. Goto, A. Marfat, C. Mioskowski, E. J. Corey, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 92 (1980) 946.
- [32] O. Rådmark, C. Malmsten, B. Samuelsson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96 (1980) 1679.
- [33] B. Samuelsson, S. Hammarström, *Prostaglandins* 19 (1980) 645.
- [34] L. Örning, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 2014.
- [35] S. Hammarström, *J. Biol. Chem.* 256 (1981) 9573.
- [36] S. Hammarström, K. Bernström, L. Örning, S. E. Dahlén, P. Hedqvist, G. Smedegård, B. Revenäs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 101 (1981) 1109.
- [37] W. Jubiz, O. Rådmark, J. Å. Lindgren, C. Malmsten, B. Samuelsson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 99 (1981) 976.
- [38] U. Lundberg, O. Rådmark, C. Malmsten, B. Samuelsson, *FEBS Lett.* 126 (1981) 127.
- [39] J. Å. Lindgren, G. Hansson, B. Samuelsson, *FEBS Lett.* 128 (1981) 329.
- [40] P. Hedqvist, S. E. Dahlén, L. Gustafsson, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Acta Physiol. Scand.* 110 (1980) 331.
- [41] J. M. Drazen, F. K. Austen, R. A. Lewis, D. A. Clark, G. Goto, A. Marfat, E. J. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 4354.
- [42] G. Smedegård, P. Hedqvist, S. E. Dahlén, B. Revenäs, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Nature (London)* 295 (1982) 327.
- [43] S. E. Dahlén, P. Hedqvist, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Nature (London)* 288 (1981) 484.
- [44] S. E. Dahlén, J. Björk, P. Hedqvist, K. E. Arfors, S. Hammarström, J. Å. Lindgren, B. Samuelsson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78 (1981) 3887.
- [45] M. J. Peck, P. J. Piper, T. J. Williams, *Prostaglandins* 21 (1981) 315.
- [46] M. A. Bray, F. M. Cunningham, A. W. Ford-Hutchinson, M. J. H. Smith, *Br. J. Pharmacol.* 72 (1981) 483.
- [47] C. V. Wedmore, T. J. Williams, *Nature (London)* 289 (1981) 646.
- [48] J. Palmblad, C. L. Malmsten, A. M. Udén, O. Rådmark, L. Engstedt, B. Samuelsson, *Blood* 58 (1981) 658.
- [49] A. W. Ford-Hutchinson, M. A. Bray, M. V. Doig, M. E. Shipley, M. J. H. Smith, *Nature (London)* 286 (1980) 264.
- [50] E. J. Goetzl, W. C. Pickett, *J. Immunol.* 125 (1980) 1789.
- [51] C. L. Malmsten, J. Palmblad, A. M. Udén, O. Rådmark, L. Engstedt, B. Samuelsson, *Acta Physiol. Scand.* 110 (1980) 449.
- [52] R. M. J. Palmer, R. J. Stephney, G. A. Higgs, K. E. Eakins, *Prostaglandins* 20 (1980) 411.
- [53] M. J. H. Smith, A. W. Ford-Hutchinson, M. A. Bray, *J. Pharm. Pharmacol.* 32 (1980) 517.
- [54] W. Jubiz, O. Rådmark, C. L. Malmsten, G. Hansson, J. Å. Lindgren, J. Palmblad, A. M. Udén, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 6106.
- [55] G. Folco, G. Hansson, E. Granström, *Biochem. Pharmacol.* 30 (1981) 2491.
- [56] G. J. Blackwell, R. Carnuccion, M. Di Rosa, R. J. Flower, L. Parente, P. Persico, *Nature (London)* 287 (1980) 147.
- [57] F. Hirata, E. Schiffmann, K. Venkatasubramanian, D. Salomon, J. Axelrod, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 2533.
- [58] G. Hansson, O. Rådmark, *FEBS Lett.* 122 (1980) 87.
- [59] S. Hammarström, B. Samuelsson, *FEBS Lett.* 122 (1980) 83.
- [60] H. R. Morris, G. W. Taylor, P. J. Piper, M. N. Samhoun, J. R. Tippins, *Prostaglandins* 19 (1980) 185.
- [61] C. W. Parker, S. F. Falkenheim, M. M. Huber, *Prostaglandins* 20 (1980) 863.
- [62] M. K. Bach, J. R. Brashler, S. Hammarström, B. Samuelsson, *J. Immunol.* 125 (1980) 115.
- [63] M. K. Bach, J. R. Brashler, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 93 (1980) 1121.
- [64] R. A. Lewis, J. M. Drazen, K. F. Austen, D. A. Clark, E. J. Corey, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96 (1980) 271.
- [65] A. W. Ford-Hutchinson, M. A. Bray, F. M. Cunningham, E. M. Davidson, M. J. H. Smith, *Prostaglandins* 21 (1981) 143.
- [66] M. I. Siegel, R. T. McConnell, R. W. Bonser, P. Cautrecases, *Prostaglandins* 21 (1981) 123.
- [67] M. V. Doig, A. W. Ford-Hutchinson, *Prostaglandins* 20 (1980) 1007.
- [68] C. A. Rouzer, W. H. Scott, Z. A. Cohn, P. Blackburn, J. M. Manning, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 4928.
- [69] R. A. Lewis, K. F. Austen, J. M. Drazen, D. A. Clark, A. Marfat, E. J. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 3710.
- [70] H. R. Morris, G. W. Taylor, P. J. Piper, J. R. Tippins, *Nature (London)* 285 (1980) 104.
- [71] J. Houglum, J. K. Pai, V. Atrache, D. E. Sok, C. J. Sih, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 5688.
- [72] Vgl. auch B. Samuelsson, *Pure Appl. Chem.* 53 (1981) 1203; J. L. Marx, *Science* 215 (1982) 1380; N. A. Nelson, R. C. Kelly, R. A. Johnson, *Chem. Eng. News* 60 (1982) No. 33, 30; W. Bartmann, G. Beck, *Angew. Chem.* 94 (1982) 767; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 751.