

$\text{Ti}(\text{OTeF}_5)_6^{2-}$ mit nur je zwei ganz schwachen $\text{Te-F} \cdots \text{Ag}$ Kontakten von über 300 pm Länge^[20]. Von Verbindungen mit den Anionen $\text{Ti}(\text{OTeF}_5)_6^{2-}$ und $\text{Nb}(\text{OTeF}_5)_6^-$ wird sicher noch viel zu hören sein.

Ausblick: Viele andere schwach koordinierende Anionen sind denkbar, so z.B. Heteropolyanionen wie $\text{PW}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ ^[1b]. Bis jetzt hat aber jedes der aufgezeigten Systeme noch Schwächen. Die Verwendung von Fluor in der äußeren Sphäre von idealerweise meist großen, kugelförmigen Anionen ist hinreichend für Lösungsmittel wie CH_2Cl_2 und Chlorfluorkohlenwasserstoffe. In Kohlenwasserstoffen sollte sich aber die schwache Koordinationsfähigkeit der Fluoratome wieder bemerkbar machen, und letztlich sind alle Fluorverbindungen gegenüber Lewis-Säuren wie Fe^{3+} eigentlich instabil. Das ideale nichtkoordinierende Anion sollte also eine kugelförmige Kohlenwasserstoffoberfläche haben und die negative Ladung im Inneren tragen, wobei wieder eine gewisse Oxidationsempfindlichkeit ins Spiel kommt.

Daß die Herstellung schwach koordinierender Anionen an unerwarteter Stelle Bedeutung erlangt, zeigt die Tatsache, daß das Lithiumsalz der Säure $\text{HC}(\text{SO}_2\text{CF}_3)_3$ ^[21] als in Ethern besonders gut lösliches Lithiumsalz mit hoher Ionenleitfähigkeit und extremer Oxidationsstabilität in wiederaufladbaren Lithiumbatterien Verwendung findet^[22]. Diese Entwicklung könnte die bisherige Batterietechnik revolutionieren.

[1] Das erste „Highlight“ zu diesem Thema: a) M. Bochmann, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1206–1207; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 1181–1182.

- b) Übersichtsartikel über schwach koordinierende Anionen: S. H. Strauss, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 927–942.
- [2] W. Kaminsky, H. Sinn, *Transition Metals and Organometallics as Catalysts for Olefin Polymerisation*, Springer, New York, **1988**.
- [3] R. N. Perutz, J. J. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4791–4800.
- [4] C. J. Krüger, A. L. Du Preez, R. J. Haines, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1974**, 1302–1305.
- [5] M. Brookhart, S. Sabo-Etienne, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 2777–2779.
- [6] G. G. Hlatky, *Abstr. 204th Am. Chem. Soc. Natl. Meet.*, Washington DC, **1992**, INOR 387.
- [7] C. Pellicchia, A. Grassi, A. Imminzi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1160–1162.
- [8] M. Kira, T. Hino, H. Sakurai, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 6697–6700.
- [9] P. D. Lickiss, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, 1333–1338.
- [10] P. Jutz, E.-A. Bunte, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1636–1638; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 1605–1607. Jüngste Versuche zur Darstellung von Silykationen mit schwach koordinierenden Anionen: J. B. Lambert, S. Zhang, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 383–384; Z. Xie, D. J. Liston, T. Jelinek, V. Mitro, R. Bau, C. A. Reed, *ibid.* **1993**, 384–386.
- [11] D. J. Liston, Y. J. Lee, W. R. Scheidt, C. A. Reed, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6643–6648.
- [12] C. P. Gupta, G. Lang, Y. J. Lee, W. R. Scheidt, K. Shelly, C. A. Reed, *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 3022–3030.
- [13] K. Shelly, C. A. Reed, Y. J. Lee, W. R. Scheidt, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3117–3118.
- [14] K. Seppelt, *Angew. Chem.* **1982**, 94, 890–901; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 877–888.
- [15] M. R. Colman, T. D. Newbound, L. J. Marshall, M. D. Noiro, M. M. Miller, G. P. Wulfsberg, J. S. Frye, O. P. Anderson, S. H. Strauss, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 2349–2362.
- [16] P. K. Hurlburt, O. P. Anderson, S. H. Strauss, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6277–6280.
- [17] P. K. Hurlburt, J. J. Rack, S. F. Dec, O. P. Anderson, S. H. Strauss, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 373–374.
- [18] K. Schröder, F. Sladky, *Chem. Ber.* **1980**, 113, 1414–1419.
- [19] K. Moock, K. Seppelt, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1988**, 561, 132–138.
- [20] D. M. Van Seggen, P. K. Hurlburt, O. P. Anderson, S. H. Strauss, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10995–10997.
- [21] L. Turowsky, K. Seppelt, *Inorg. Chem.* **1988**, 27, 2135–2137.
- [22] L. A. Dominey, WO-B 92/02966, US-A 91/05262, **1992**; L. A. Dominey, T. J. Blakley, V. R. Koch, *Proc. Intersoc. Energy Convers. Eng. Conf.* **1990**, 25, 382–384; *Chem. Abstr.* **1991**, 114, 105 617g.

Lineare Arachidonsäuremetaboliten mit biologischer Aktivität – der erste endogene Cannabinoidrezeptor-Ligand

Von Wolf D. Lehmann* und Gerhard Fürstenberger

Eine wichtige Funktion von Zellmembranen ist die als Vorratskompartiment für mehrfach ungesättigte Fettsäuren. Durch in die Membranen miteingelagerte Antioxidantien wie Vitamin E sind diese besonders empfindlichen Fettsäuren dort vor Radikal-induzierten Peroxidationsreaktionen wirksam geschützt, und sie liegen ausschließlich verestert vor, so daß sie von zellulären Enzymen, beispielsweise Lipoxygenasen oder Prostaglandin-H-Synthasen, die bevorzugt freie Fettsäuren als Substrat akzeptieren, nicht angegriffen werden können. Die wichtigsten mehrfach ungesättigten Fettsäuren bei nicht-marinen Säugern sind Linolsäure (9,12-Octadecadiensäure) mit zwei und Arachidonsäure (5,8,11,14-Icosatetraensäure) mit vier nicht-konjugierten *cis*-Doppelbindungen. Der Arachidonsäurerest ist unter anderem der bevorzugte Substituent am Glycerin-C2-Atom von Phosphatidylcholin, einem wichtigen Membranbestand-

teil. Im Cytosol unstimulierter Zellen liegt die Konzentration an freier Arachidonsäure in der Größenordnung von 0.1 μM ; dies ist deutlich unterhalb der K_m -Werte von etwa 10 μM von wichtigen Arachidonsäure-metabolisierenden Enzymen. Bei der Regulierung aller Stoffwechselwege, die über freie Arachidonsäure verlaufen, spielt daher deren Freisetzung aus dem Membran-Pool an veresterten Fettsäuren über die Phospholipasen A_2 , C oder D entweder allein oder im Zusammenspiel mit Diacylglycerin-Lipase oder -Kinase eine Schlüsselrolle. Diese Wege sind in der oberen Hälfte von Abbildung 1 dargestellt.

So freigesetzte Arachidonsäure wird in Zellen entweder reverestert oder rasch zu biologisch hochaktiven Metaboliten umgesetzt. Der Angriff einer Prostaglandin-H-Synthase leitet die Bildung von *cyclischen Metaboliten* (Prostaglandinen, Prostacyclinen, Thromboxanen) der Arachidonsäure ein, deren Struktur und Funktion besonders seit Anfang der sechziger Jahre intensiv erforscht wurden. Die Bedeutung des linearen Stoffwechselwegs, der z.B. durch eine Lipoxy-

[*] Priv.-Doz. Dr. W. D. Lehmann, Dr. G. Fürstenberger
Deutsches Krebsforschungszentrum
Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg

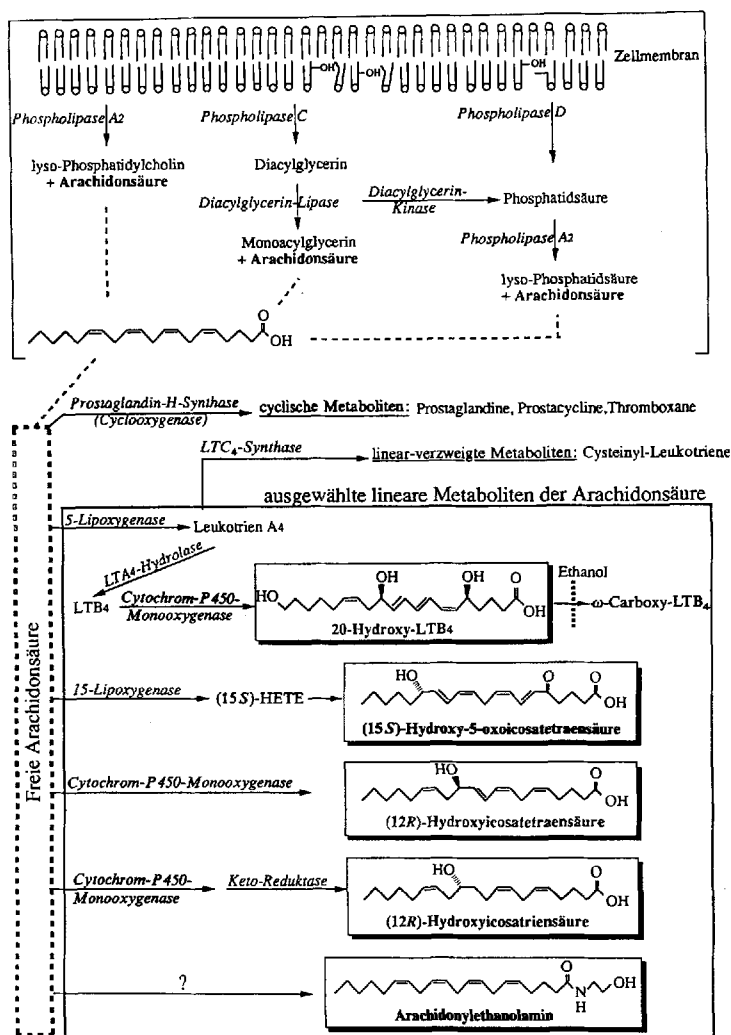


Abb. 1. Bildung freier Arachidonsäure aus dem Membran-Pool an veresterten Fettsäuren und ihre Verstoffwechselung zu den hier besprochenen linearen Metaboliten mit biologischer Aktivität.

genase eingeleitet wird, wurde durch die Entdeckung der Säuger-Lipoxygenasen und der *linearen Metaboliten* (HETEs, diHETEs, Lipoxine, Leukotriene A₄ und B₄) sowie der *linear-verzweigten Metaboliten* (Cysteinyl-Leukotriene) der Arachidonsäure seit Anfang der siebziger Jahre zum Gegenstand umfangreicher Untersuchungen^[1]. Lineare Metaboliten können auch durch Angriff einer Cytochrom-P450-abhängigen Monooxygenase gebildet werden.

Lineare Metaboliten der Arachidonsäure wurden bei Säugern bisher vor allem in Zellen des blutbildenden Systems und des Immunsystems nachgewiesen. Überraschenderweise wurde kürzlich ein neuer linearer Arachidonsäuremetabolit aus Nervengewebe isoliert und als endogener Ligand des Cannabinoidrezeptors identifiziert^[2]. Aus diesem Anlaß sollen hier einige neuere lineare Arachidonsäuremetaboliten vorgestellt werden, bei denen biologische Funktionen nachgewiesen werden konnten. Diese Arachidonsäuremetaboliten sowie ihre Bildung sind im unteren Teil von Abbildung 1 dargestellt.

Chemotaxis durch 20-Hydroxy-leukotrien B₄ (20-Hydroxy-LTB₄): Leukotrien B₄, (5S, 12R)-Dihydroxy-(6Z, 8E, 10E, 14Z)-icosatetraensäure (LTB₄), wirkt stark chemotaktisch auf polymorphkernige Leukocyten (Neutrophile), die typischen Abwehrzellen des Immunsystems. Die Leber ist Hauptort

für den Katabolismus systemisch gebildeter Leukotriene einschließlich Leukotrien B₄, wobei diese rasch von den Leberzellen aufgenommen und dort vor allem in Peroxisomen vom ω-Ende her oxidiert und damit inaktiviert werden. Ein Charakteristikum der fibrotischen und zirrhotischen Degeneration des Lebergewebes, z.B. bei der durch Alkohol ausgelösten Leberzirrhose, ist die Infiltration von Leukocyten in die Leber, und es wird vermutet, daß die Produktion von Neutrophil-chemotaktisch wirkenden Metaboliten durch die Leber diesen degenerativen Prozeß weiter vorantreibt. Ein Ansatz, die wichtige Rolle von Ethanol bei diesem komplexen Geschehen zu untersuchen, besteht darin, den Metabolismus von Arachidonsäure oder von chemotaktisch wirkenden Arachidonsäuremetaboliten in vitro in Hepatocyten in Gegenwart von Ethanol zu untersuchen. Mit solchen Untersuchungen konnte kürzlich gezeigt werden, daß Ethanol in Leberzellen die mikrosomale β-Oxidation von LTB₄ vom ω-Ende her auf der Stufe des ω-Hydroxy-LTB₄ blockiert^[3,4]. Dieses nahezu nur in Gegenwart von Ethanol beobachtbare Zwischenprodukt ist ein LTB₄-Metabolit mit erhaltener chemotaktischer Aktivität. Dagegen läuft in Abwesenheit von Ethanol der Katabolismus rasch zum ω-Carboxy-LTB₄, einem chemotaktisch unwirksamen Metaboliten, ab. Eine weitere Wirkung von Ethanol auf den Leukotrien-Stoffwechsel besteht in einer verstärkten LTB₄-Synthese durch die Magen- und Darmschleimhaut, was bei Ratten beobachtet wurde. Demnach könnte die Blockierung der Inaktivierung von in der Leber oder systemisch gebildeten chemotaktischen Faktoren wie LTB₄ durch Ethanol, verstärkt durch eine gleichzeitige Induzierung der Leukotrien-Synthese, ein möglicher pathogenetischer Mechanismus der akuten alkoholischen Hepatitis oder der Alkoholzirrhose sein.

Chemotaxis durch 15-Hydroxy-5-oxoicosatetraensäure: Bei der Inkubation von peripheren menschlichen Eosinophilen mit Arachidonsäure wurde ein bislang unbekanntes Lipid mit starker und Eosinophil-spezifischer chemotaktischer Wirkung gefunden^[5]. Die Struktur dieses Lipids wurde mit spektroskopischen Methoden als 15-Hydroxy-5-oxo-6,8,11,13-icosatetraensäure aufgeklärt^[6]. Es gelang auch, diesen neuen linearen Arachidonsäuremetaboliten in einem in vitro System, bestehend aus Sojabohnen-Lipoxygenase (eine Lipoxygenase mit (15S)-Spezifität) und Arachidonsäure in Gegenwart eines Hämproteins (Cytochrom c), herzustellen und zu isolieren. Diese Untersuchungen zeigen, daß Eosinophile offenbar in Gegenwart von freier Arachidonsäure einen selbstspezifischen chemotaktischen Faktor produzieren können.

Chemotaxis und Angiogenese durch (12R)-Hydroxyicosatriensäure: Bei Inkubationen von Arachidonsäure mit Hornhautepithel-Mikrosomen (vom Auge des Rinds) wurden zwei neue Arachidonsäuremetaboliten mit biologischer Aktivität gefunden^[7]. Beide Metaboliten werden durch eine Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenase gebildet, was durch die Abhängigkeit der Bildungsreaktion von NADPH sowie entsprechenden Cytochrom-Monooxygenase-spezifischen Inhibitoren gezeigt werden konnte. Der in kleineren Mengen gebildete Metabolit wurde als (12R)-Hydroxy-(5Z, 8Z, 14Z)-icosatriensäure [(12R)-HETrE] identifiziert^[8]. Aufgrund von Befunden bei Inkubationsversuchen mit Deuterium-markierter Arachidonsäure wurde vorgeschlagen, daß (12R)-HETrE über eine 12-Oxozwischenstufe gebildet

wird, die dann durch eine Keto-Reduktase stereospezifisch zur (12*R*)-Hydroxyverbindung reduziert wird. (12*R*)- und (12*S*)-HETrE wurden synthetisch hergestellt und ihre biologischen Effekte getrennt in vivo am Kaninchenauge getestet^[8, 9]. Dabei zeigte der isolierte Metabolit die gleich starke Beeinträchtigung der Blut/Augenflüssigkeit-Schranke wie physiologisch vorkommende (12*R*)-HETrE – gemessen über die Protein-Konzentration in der Tränenflüssigkeit – während (12*S*)-HETrE bei gleicher Dosierung (10 ng in 25 µL wäßrigem Phosphatpuffer) kaum wirkte. Auf dieser Grundlage wurde der Metabolit als (12*R*)-HETrE identifiziert. Das physiologisch gebildete (12*R*)-Enantiomer zeigte auch eine stark gefäßerweiternde Wirkung, eine Leukocyten-spezifische Chemotaxis und eine angiogene (gefäßneubildende) Wirkung, während das (*S*)-Enantiomer bei gleicher Dosierung wirkungslos blieb. Das (*S*)-Enantiomer zeigte erst bei so hoher Dosierung ähnliche Effekte wie das (*R*)-Isomer, daß der Verdacht nahelegt, diese Effekte könnten durch das Vorhandensein von etwa 1–2% (*R*)-Enantiomer in der verabreichten (12*S*)-HETrE verursacht sein. Die allein durch (12*R*)-HETrE induzierbaren Effekte sind typisch für Prozesse, die bei Entzündungen oder Wundheilungen am Auge zu beobachten sind, und die vorliegenden Untersuchungen stützen stark die Hypothese, daß mit (12*R*)-HETrE ein physiologischer Mediator dieser Vorgänge entdeckt werden konnte.

Hemmung eines Ionentransportsystems durch (12*R*)-Hydroxyicosatetraensäure: Der Hauptmetabolit, der bei der Inkubation von Arachidonsäure mit Mikrosomen aus Hornhaut auftrat, wurde als 12-Hydroxyicosatetraensäure (12-HETE) identifiziert. Bei der Untersuchung biologischer Effekte wurde eine starke Hemmwirkung dieses Metaboliten auf das Ionentransportsystem (Na^+/K^+)ATPase der Augenhornhaut beobachtet. Dieses Ionentransportsystem ist weit verbreitet und hat die Aufgabe, einen Natrium- und Kalium-Konzentrationsgradienten und damit einen elektrischen Gradienten über der Zellmembran aufzubauen und zusätzlich Chlorid aus der Zelle auszuschleusen. In der Hornhaut der Augen hat es darüber hinaus wahrscheinlich noch spezielle Funktionen wie die Aufrechterhaltung der Transparenz. Beim Vergleich der Inhibitorwirkung des isolierten Metaboliten mit synthetisch hergestellter (12*R*)- und (12*S*)-HETE wurde festgestellt, daß nur (12*R*)-HETE den biologischen Effekt des isolierten Metaboliten zeigte. Auf dieser Grundlage wurde der Metabolit als (12*R*)-HETE identifiziert. Die Hemmwirkung von (12*R*)-HETE auf (Na^+/K^+)ATPase wurde beim Rind und bei Ratten auch in anderen Geweben beobachtet^[10], was die Vermutung stützt, daß (12*R*)-HETE möglicherweise ein physiologischer Inhibitor dieses Ionentransporters ist.

Arachidonylethanolamin als endogener Ligand des Cannabinoidrezeptors: Das Vorkommen von Fettsäureamiden im Gehirn ist bereits länger bekannt. Vor kurzem konnte ein spezielles Amid der Arachidonsäure – Arachidonylethanolamin – als erster natürlicher Ligand des Cannabinoidrezeptors

aus Schweinehirn isoliert werden^[2]. Es wurde eine Fülle von chromatographisch getrennten Einzelfractionen aus Hirngewebe mit Rattenhirn-Synaptosomen inkubiert, bei denen der Cannabinoidrezeptor mit einem extrem stark bindenden Tritiummarkierten Cannabinol-Homologen beladen war (HU-243, K_D : 45 pM). Die Fähigkeit dieser isolierten Fraktionen, den markierten Liganden zu verdrängen, wurde getestet, wobei offenbar viele lipophile Fraktionen des Hirngewebes einen Teil des Liganden auch über einen unspezifischen „Emulgatoreffekt“ freisetzen konnten. Dennoch gelang es, aus 4.5 kg Gehirn des Schweins 600 µg einer hochspezifisch an den Cannabinoidrezeptor bindenden Substanz zu isolieren und deren Struktur mit spektroskopischen Methoden als Arachidonylethanolamin zu identifizieren^[2]. Weiterhin wurde die Identität mit dem entsprechenden synthetischen Produkt bewiesen. Mit dieser Untersuchung ist offenbar der erste natürliche Ligand des Cannabinoidrezeptors entdeckt worden, dessen Aminosäuresequenz beispielsweise bei Ratten^[11] und beim Menschen^[12] bekannt ist. Bislang wurden erfolglos mehr als 20 weitere Arachidonsäurederivate auf eine spezifische Bindung an den Cannabinoidrezeptor getestet. Diesem Rezeptor kommt bei der Kontrolle einer Vielzahl wichtiger Funktionen wie der Bewegungssteuerung, der Schmerzempfindung oder der emotionalen Disposition, eine wichtige Rolle zu.

Die hier zitierten analytischen und funktionellen Untersuchungen über lineare Arachidonsäuremetabolite, die zum Teil über Lipoxxygenasen und/oder Cytochrom-P450-Monooxygenasen gebildet werden, illustrieren die große Bedeutung dieser recht einfach aufgebauten Verbindungen bei der Regulation elementarer Lebensprozesse wie der Immunabwehr, der Aufrechterhaltung des Membranpotentials und der Rezeptor-gesteuerten Signalübertragung im Nervengewebe.

- [1] B. Samuelsson, *Angew. Chem.* **1983**, 95, 854; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, 22, 803; K. C. Nicolaou, J. Y. Ramphal, N. A. Petasis, C. N. Serhan, *ibid.* **1991**, 103, 1119 bzw. **1991**, 30, 1100.
- [2] D. A. Devane, L. Hanus, A. Breuer, R. G. Pertwee, L. A. Stevenson, G. Griffin, D. Gibson, A. Mandelbaum, A. Etinger, R. Mechoulam, *Science* **1992**, 258, 1946.
- [3] T. Baumert, M. Huber, D. Mayer, D. Keppler, *Eur. J. Biochem.* **1989**, 182, 223.
- [4] M. A. Shirley, C. T. Reidhead, R. C. Murphy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, 185, 604.
- [5] E. Morita, J.-M. Schröder, E. Christophers, *J. Immunol.* **1990**, 44, 1893.
- [6] U. Schwenk, E. Morita, R. Engel, J.-M. Schröder, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 12482.
- [7] M. L. Schwartzman, M. Balazy, J. Masferrer, N. G. Abraham, J. C. McGiff, R. C. Murphy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 84, 8125.
- [8] R. C. Murphy, J. R. Falck, S. Lumin, P. Yadagiri, J. A. Zirrollo, M. Balazy, J. L. Masferrer, N. G. Abraham, M. L. Schwartzman, *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 17197.
- [9] J. L. Masferrer, J. A. Rimarachin, M. E. Gerritsen, J. R. Falck, P. Yadagiri, M. W. Dunn, M. L. Schwartzman, *Exp. Eye Res.* **1991**, 52, 417.
- [10] J. L. Masferrer, A. P. Rios, M. L. Schwartzman, *Biochem. Pharmacol.* **1990**, 39, 1971.
- [11] L. A. Matsuda, S. J. Lolait, M. J. Brownstein, A. C. Young, T. I. Bonner, *Nature* **1990**, 346, 561.
- [12] C. M. Gerard, C. Mollercau, G. Vassart, M. Parmentier, *Biochem. J.* **1991**, 279, 129.