

Niedermolekulare Verbindungen aus Spinnen als chemische Sensoren

Christian A. Olsen, Anders S. Kristensen und Kristian Strømgaard*

Allomone · Pheromone · Polyamine · Spinnen · Toxine

Spinnen sind für viele Ökosysteme wichtig, und als Hauptfeinde von Insekten verfügen sie über eine Fülle von niedermolekularen Naturstoffen mit faszinierenden biologischen Wirkungen. Die Isolierung und die biologische Charakterisierung dieser Verbindungen sind wohl bekannt, aber erst kürzlich wurden sie als Leitstrukturen für die Entwicklung, Synthese und biologische Untersuchung synthetischer Analoga verwendet. Weit weniger erforscht sind hingegen Verbindungen, die der Kommunikation von Spinnen dienen. Vor kurzem wurden jedoch auf dem Gebiet der Pheromone und Allomone aus Spinnen neue Erkenntnisse erhalten, die wir hier zusammenfassen und mit früheren Ergebnissen in Zusammenhang bringen. Abschließend geben wir einen Ausblick auf künftige Untersuchungen an dieser Art von Verbindungen.

1. Einleitung

Spinnen (Araneae) sind Luft atmende Gliederfüßer (Arthropoda) mit acht Beinen und Kieferklauen, durch die ein Gift injiziert wird (Abbildung 1). Sie kommen weltweit vor, etwa 40 000 verschiedene Arten und mehr als 100 Familien sind beschrieben. Zu den bekanntesten Eigenschaften von Spinnen gehört ihre Fähigkeit, Seide zu produzieren und Netze zu bilden, die häufig dem Beutefang dienen. Fast alle Spinnen sind Räuber und jagen vor allem Insekten und andere Spinnen, wobei viele verschiedene Strategien genutzt werden, darunter das Einspritzen von Gift in die Beutetiere.

Ihr breites Verhaltensspektrum, das eine Kombination aus Geduld, Grausamkeit und Erfindungsgebe symbolisiert, machte Spinnen zu bekannten Symbolen in der Kunst und der Mythologie. Das geht zurück bis auf alte ägyptische und griechische Mythologien und setzt sich mit Charakteren wie Kankra aus „Der Herr der Ringe“ und dem Superhelden der Comicreihe Spider-Man bis in die heutige Kultur fort. Zudem sind Spinnen die Ursache für eine der häufigsten spezifischen

Ängste, die Spinnenphobie – eine krankhafte Furcht vor Spinnen und allem, was an Spinnen erinnert. Allerdings ist nur das Gift weniger Spinnenarten für Menschen gefährlich.

Sowohl das Gift als auch die Seide von Spinnen waren in den vergangenen Jahren Gegenstand intensiver

Forschung. Spinnenseide zeichnet sich durch Eigenschaften wie Leichtigkeit, Elastizität und außerordentliche Stärke aus, die z.B. als medizinisches Nahtmaterial und künstlicher Knorpel potenziellen Nutzen haben. Diese und andere Anwendungen von (künstlicher) Spinnenseide werden derzeit bei einer Reihe von Biotechnologie-Unternehmen unter-

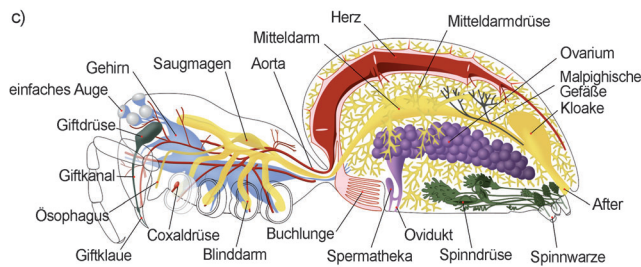
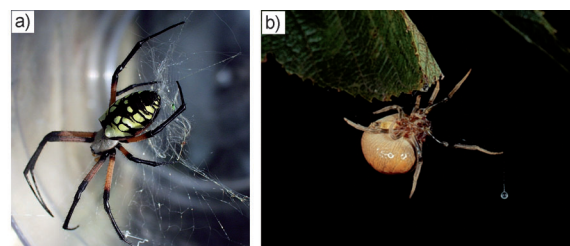


Abbildung 1. a) Wespenspinne. b) Bolaspinne. c) Zeichnung des Körperbaus von Spinnen.

[*] Prof. A. S. Kristensen, Prof. K. Strømgaard
Department of Medicinal Chemistry, University of Copenhagen
Universitetsparken 2, 2100 København (Dänemark)
E-Mail: krst@farma.ku.dk
Homepage: <http://www.farma.ku.dk/chembiol>
Prof. C. A. Olsen
Department of Chemistry, Technical University of Denmark
Kemitorvet 207, 2800 Kgs. Lyngby (Dänemark)

sucht. Spinnenseide besteht hauptsächlich aus Peptiden/Proteinen, und auch wenn ihre spezifische Zusammensetzung mit den Arten variiert, enthält die Spinnenseide normalerweise Peptidregionen, die durch Selbstorganisation eine β -Faltblattkonformation bilden. Die β -Faltblätter stapeln sich zu Kristallen, andere Proteinabschnitte bilden dagegen amorphe Bereiche, und die Wechselwirkung zwischen diesen Regionen verleiht der Spinnenseide ihre außergewöhnlichen Eigenschaften. Da über die Bildung, Zusammensetzung und Anwendung von Spinnenseide erst vor kurzem eingehend berichtet wurde,^[1] werden diese Aspekte hier nicht näher besprochen.

Das Gift von Spinnen enthält Gemische aus Proteinen und Peptiden sowie niedermolekulare Verbindungen (< 1000 Da) wie biogene Amine, Aminosäuren, Neurotransmitter und insbesondere Acylpolyamin-Toxine. Allgemein wird Spinnengift seit mehr als 50 Jahren untersucht;^[2] ersten Versuchen zur Trennung der Inhaltsstoffe durch Papierchromatographie Ende der 1950er Jahre^[3] folgten die partielle Charakterisierung und die anschließende Isolierung von Giftbestandteilen.^[4] In den folgenden Jahren wurden viele Peptid- und Proteintoxine aus Spinnengift isoliert. Biologische Untersuchungen ergaben für einige dieser Toxine interessante pharmakologische Eigenschaften, insbesondere als Liganden für verschiedene Arten von Ionenkanälen. Daher haben Peptid- und Proteintoxine aus Spinnen einzigartige Verwendung bei der Untersuchung von Ionenkanälen gefunden und das Interesse an ihrer Zusammensetzung und Struktur und vor allem an ihrem Wirkmechanismus beim Angriff auf Ionenkanäle geweckt.^[5] Da über dieses faszinierende Gebiet der Peptid- und Protein-Spinnentoxine ebenfalls erst vor kurzem berichtet wurde,^[5f-h,6] werden hier nur einige repräsentative Beispiele vorgestellt (Abschnitt 4). Wir konzentrieren uns daher auf zwei Klassen niedermolekularer Substanzen aus Spinnen: die aus dem Gift isolierten Acylpolyamin-Toxine sowie niedermolekulare Signalstoffe, die der Kommunikation innerhalb einer Art wie auch zwischen den Spezies verschiedener Arten dient.

Wie viele andere Gliederfüßer, Insekten und Lebewesen verwenden auch Spinnen chemische Signalstoffe für eine äußerst komplexe chemische Kommunikation. Spinnen nutzen hierfür entweder niedermolekulare, auf der Netzseide verteilte Signalstoffe oder leichter flüchtige Verbindungen, die durch die Luft übertragen werden. Zwei Arten von Signalstoffen sind besonders interessant: Allomone und Pheromone.^[7] Allomone sind niedermolekulare Substanzen, die an der Kommunikation zwischen verschiedenen Arten beteiligt sind und der emittierenden Art nutzen. Pheromone werden hingegen für die Kommunikation zwischen Individuen einer Art verwendet.

Wir berichten zunächst über die jüngsten Fortschritte bei der Isolierung und Charakterisierung von Allomonen und Pheromonen, die bisher etwa zwei Dutzend niedermolekulare Verbindungen lieferten, deren Struktur und biologische Bedeutung geklärt wurden. Dies wird sich in den kommenden Jahren aber sehr wahrscheinlich grundlegend ändern, weil die Weiterentwicklung moderner Isolierungsmethoden wichtige Fortschritte beim Verständnis molekularer Einzelheiten der Kommunikation von Spinnen ermöglicht.



Christian A. Olsen wurde in Kopenhagen geboren. Er promovierte 2004 mit einer Doktorarbeit über Synthesemethoden für Polyamin-Toxinanaloga an der Danish University of Pharmaceutical Sciences. Nach unabhängigen Arbeiten zur Entwicklung neuer peptidmimetischer antimikrobieller Wirkstoffe wechselte er 2007 in die Arbeitsgruppe von Professor Ghadiri am Scripps Research Institute, wo er Inhibitoren von Histone-Deacetylase erforschte. 2010 wurde er Associate Professor am Department of Chemistry der Technical University of Denmark.



Anders S. Kristensen beendete 1999 sein Studium der Chemie und Molekularbiologie an der Aarhus University und promovierte 2004 an der Danish University of Pharmaceutical Sciences, Kopenhagen, mit einer Arbeit über Glutamat-Rezeptoren bei Professor Arne Schousboe. Nach einem Postdoc-Aufenthalt (2004–2006) bei Professor Stephen F. Traynelis an der Emory University School of Medicine in Atlanta wechselte er in die Arbeitsgruppe Chemische Biologie am Department of Medicinal Chemistry der Universität Kopenhagen, wo er derzeit Associate Professor ist.



Kristian Strømgaard promovierte 1999 an der Danish University of Pharmaceutical Sciences und arbeitete danach bei Professor Koji Nakanishi an der Columbia University über die neuromodulatorischen Eigenschaften von Ginkgoliden. Später kehrte er an das Department of Medicinal Chemistry der Universität Kopenhagen zurück, wo er derzeit Professor für Chemische Biologie ist. Zu den Schwerpunkten der Arbeitsgruppe gehören Transporter von Neurotransmittern und ionotrope Glutamat-Rezeptoren einschließlich der Entwicklung pharmakologischer Werkzeuge auf der Basis von Polyamin-Toxinen.

Danach besprechen wir die Acylpolyamin-Toxine, wobei die Anwendung dieser Verbindungen und ihrer Analoga als chemische Werkzeuge zur Untersuchung biologischer Systeme ein Schwerpunkt ist. Die erste Verbindung aus der Klasse der Acylpolyamin-Toxine wurde Ende der 1980er Jahre isoliert und strukturell charakterisiert.^[8] Im Anschluss daran wurden diese Toxine eingehend untersucht.^[4c,9] Jüngste Fortschritte in der Synthese und Biologie ermöglichten neue Erkenntnisse über ihre Wirkungsweise und potenzielle Verwendung bei künftigen Wirkstoffentwicklungen, vor allem im Zusammenhang mit Gehirnerkrankungen.

Die Themen und der Aufbau dieses Kurzaufsatzes erinnern an den ausgezeichneten Aufsatz von Schulz, der 1997 in dieser Zeitschrift veröffentlicht wurde,^[10] und können daher als Aktualisierung dieser Übersicht betrachtet werden.

2. Chemische Kommunikation

Die chemische Signalübermittlung spielt im Verhalten der meisten, wenn nicht aller Organismen eine wichtige Rolle. Arthropoden und Insekten kommunizieren über Gerüche in Form niedermolekularer Verbindungen, und tatsächlich sind sie stärker auf chemische Signale angewiesen als auf irgendeine andere Form der Kommunikation wie Sehen, Geräusche oder Schwingungen. Diese niedermolekularen, als Semiochemikalien bezeichneten Verbindungen dienen als chemische Sprache, die Interaktionen zwischen Organismen vermittelt. Semiochemikalien werden allgemein in zwei Gruppen unterteilt, Pheromone und Allelochemikalien. Bei den Pheromonen handelt es sich um chemische Signale, die Informationen zwischen einzelnen Individuen derselben Art übertragen. Dagegen dienen Allelochemikalien der Kommunikation zwischen verschiedenen Arten und werden in drei Gruppen unterteilt: Allomone, Kairomone und Synomone.

Die chemische Kommunikation zwischen Spinnen ist seit fast einem Jahrhundert bekannt, und es wurden umfangreiche Untersuchungen zum Verhalten verschiedener Spinnen durchgeführt, in denen lebende Tiere, Spinnenseide und Seidenextrakte als Quelle der chemischen Signalstoffe verwendet wurden.^[7,11] 1986 wurde über eine partielle Isolierung der an diesen Kommunikationsprozessen beteiligten Substanzen berichtet,^[12] aber die chemische Identität der Verbindungen blieb bis 1993 unklar, als das erste Spinnenpheromon aus *Linyphia triangulis* isoliert und strukturell charakterisiert wurde.^[13] Die von den ungewöhnlichen Bolaspinnen zum Jagen ihrer Beute verwendeten Allomone wurden hingegen in den 1980er Jahren isoliert und charakterisiert.^[14] Wir beschreiben daher, wie die molekularen Einzelheiten der chemischen Kommunikation bei Spinnen in den vergangenen Jahren bekannt wurden, wobei wir uns besonders auf Allelochemikalien und Pheromone konzentrieren. Die jüngsten Fortschritte haben entscheidende Erkenntnisse bezüglich der chemischen Strukturen geliefert, die dieser Kommunikation zugrunde liegen.

2.1. Allelochemikalien

Viele Untersuchungen an Spinnen und ihren Allomonen wurden mit Bolaspinnen durchgeführt. Diese Arten gehören zu drei verwandten Gattungen, der Amerikanischen (*Mastophora*), der Afrikanischen (*Cladomelea*) und der Australischen (*Ordgarius*) Bolaspinne. Sie zeichnen sich durch eine interessante Jagdtechnik aus, bei der sie einen Seidenfaden mit einem klebrigen Tröpfchen (Bola) schwenken, an dem vorbeikommende Beute festklebt. Anschließend lähmt die Spinne ihre Beute und spinnt sie ein oder frisst sie auf.^[15]

Erwachsene Weibchen der Gattung *Mastophora* locken ihre Beute mit flüchtigen Substanzen an, die ihre Körper und nicht die klebrigen Seidentröpfchen aussenden.^[24] Man nahm an, dass diese flüchtigen Substanzen weibliche Sexualpheromone einer Unterfamilie von Motten, der Eulenfalter (*Noctuidae*), nachahmen, denn alle identifizierten Beutetiere wa-

ren männliche Eulenfalter.^[24] Zehn Jahre später wurde nachgewiesen, dass die jagende weibliche Bolaspinne *Mastophora cornigera* tatsächlich flüchtige Verbindungen abgibt, die mit den Sexualpheromonen weiblicher Eulenfalter identisch sind.^[14] Dies war unseres Wissens der erste molekulare Nachweis der oben beschriebenen Theorie der chemischen Mimikry^[24] und auch die erste Untersuchung zur Charakterisierung einer flüchtigen semiochemischen Verbindung aus Spinnen überhaupt. Von acht in einem Gewächshaus unter annähernd natürlichen Jagdbedingungen gehaltenen Bolaspinnen der Art *Mastophora cornigera* wurden die flüchtigen Komponenten gesammelt, indem jede einzelne Spinne in eine Sammelkammer transferiert wurde, sobald sie jagdbereit war. Durch spektroskopische Analyse der gesammelten, in Hexan gelösten flüchtigen Stoffe und Vergleich mit synthetischen Standards ließen sich mindestens drei Sexualpheromone der Eulenfalter (**1–3**; Tabelle 1) nachweisen, das Vorhandensein eines vierten Pheromons (**4**) war erkennbar. Darüber hinaus waren durch Untersuchung mehrerer verschiedener Pools sowohl intra- als auch interindividuelle Variationen in der Zusammensetzung der emittierten Gemische nachweisbar. Bemerkenswerterweise fanden sich keine der identifizierten Verbindungen in Netzen oder Klebtröpfchen, was dafür spricht, dass diese Allomone höchstwahrscheinlich vom Spinnenkörper abgegeben werden.^[14]

Später wurde nachgewiesen, dass die Bolaspinnen *Mastophora hutchinsoni* flüchtige Gemische emittieren, die (*Z*)-Tetradec-9-enylacetat (**2**) sowie dessen zweifach ungesättigtes Analogon **5** enthalten.^[17a] Beide Verbindungen sind weibliche Sexualhormone ihrer Hauptnahrungsquelle, dem Nachtfalter *Lacinipolia renigera*.^[19] Interessanterweise produziert die Spinne nicht nur die gleichen Substanzen wie ihre Beute, sondern imitiert auch das Verhältnis der von den weiblichen Nachtfaltern genutzten Pheromone.^[17a] Biosynthetische Untersuchungen ergaben, dass alle Verbindungen **1–5** in *Trichoplusia ni*-Nachtfaltern (*Noctuidae*) vorkommen.^[18] Auf ähnliche Weise wurde das mit **2**, **4** und **5** eng verwandte (*Z*)-Octadec-11-enylacetat (**6**) als Sexualpheromon in Fliegen nachgewiesen^[21] und später aus den Netzen von Linyphiid-Spinnen isoliert.^[10] Auch die Verbindungen **7** und **8** sind bekannte weibliche Sexualpheromone des Nachtfalters *Tetanolita mynesalis*;^[22] sie wurden zwar bisher noch nicht aus Spinnen isoliert, es gibt aber überzeugende Hinweise, dass die Bolaspinne *Mastophora hutchinsoni* diese Verbindungen produzieren könnte. Bei diesen Untersuchungen wurden Nachtfalter, deren Sexualpheromon ein Gemisch aus **2** und **5** (*Lacinipolia arenigera*) oder aus **7** und **8** (*Tetanolita mynesalis*) ist, sowohl mit Hilfe von Bolaspinnen als auch mit synthetischen Pheromongemischen gefangen.^[17b]

Manche Spinnen können auch die von ihrer Beute emittierten Signalstoffe nutzen. Ein Beispiel hierfür ist die Spinne *Habronestes bradleyi*, die das von Ameisen der Gattung *Iridomyrmex purpureus* abgegebene Alarmpheromon 6-Methylhept-5-en-2-on (**9**) verwendet, um diese Beute zu lokalisieren. Demnach ist **9** als Kairomon einzuordnen,^[7a] eine Verbindung, die von einer anderen Art emittiert wird (in diesem Fall der Ameise), aber auch der Spinne nützt.^[23]

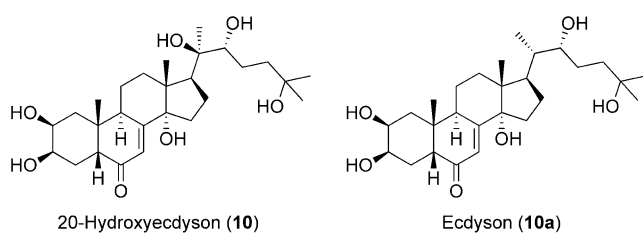
Tabelle 1: Allelochemikalien aus Spinnen.^[a]

Verbindung	Typ	Spinnenart ^[b]	Herkunft ^[c]
 1: (Z)-Tetradec-9-enal (Z9-14:Al)	Allomon	<i>Mastophora cornigera</i> ^[14]	Eulenfalter ^[16]
 2: (Z)-Tetradec-9-enylacetat (Z9-14:Ac)	Allomon	<i>Mastophora cornigera</i> , ^[14] <i>Mastophora hutchinsoni</i> ^[17]	Eulenfalter, ^[16] <i>Trichoplusia ni</i> (Noctuidae), ^[18] <i>Lacinipolia renigera</i> ^[19]
 3: (Z)-Hexadec-11-enal (Z11-16:Al)	Allomon	<i>Mastophora cornigera</i> ^[14]	Eulenfalter, ^[16] <i>Nephelodes minians</i> ^[20]
 4: (Z)-Hexadec-11-enylacetat (Z11-16:Ac)	Allomon	Daten nicht eindeutig ^[14]	Eulenfalter, ^[16] <i>Trichoplusia ni</i> (Noctuidae), ^[18] <i>Nephelodes minians</i> ^[20]
 5: (9Z,12E)-Tetradeca-9,12-dienylacetat (Z,E-9,12-14:Ac)	Allomon	<i>Mastophora hutchinsoni</i> ^[17]	<i>Lacinipolia renigera</i> ^[19]
 6: (Z)-Octadec-11-enylacetat (Z11-18:Ac)	Allomon	verschiedene <i>Linyphia</i> ^[10]	<i>Drosophila simulans</i> ^[21]
 7: (3Z,6Z,9Z)-Henicosa-3,6,9-trien	Allomon	<i>Mastophora hutchinsoni</i> ^[17b]	<i>Tetanolita mynesalis</i> ^[22]
 8: (3Z,9Z)-6S,7R-Epoxyhenicosa-3,9-dien	Allomon	<i>Mastophora hutchinsoni</i> ^[17b]	<i>Tetanolita mynesalis</i> ^[22]
 9: 6-Methylhept-5-en-2-on	Kairomon	<i>Habronestes bradleyi</i> ^[23]	<i>Iridomyrmex purpureus</i> ^[23]

[a] Die Tabelle enthält bekannte niedermolekulare Verbindungen aus Spinnen, die keine Sexualpheromone der Spinnen sind. [b] Arten, aus denen die Verbindungen isoliert wurden oder die in Verhaltensstudien eine Wirkung zeigten. [c] Für die hier gezeigten Allomone sind das die Arten, aus denen die von den Spinnen nachgeahmten Substanzen stammen.

Lipidmatrices auf Spinnennetzen enthalten zahlreiche Fettsäuren und langkettige Kohlenwasserstoffe, die auch in den Häuten von Spinnen vorkommen.^[25] Diese Substanzen scheinen an der Pheromonkommunikation beteiligt zu sein, indem sie entweder als Solvens oder als Trägerstoff zur Abgabe der Pheromonsubstanzen an die Seide wirken.^[13,25a] Allerdings müssen die genauen Wirkungen dieser Verbindungen noch eingehender untersucht werden, denn es wurde auch angenommen, dass sie bei der Erkennung eine Rolle spielen.

Kürzlich wurde entdeckt, dass das Steroidhormon 20-Hydroxyecdysen **10** (Schema 1), das die Eierstockentwicklung,^[26] das Signalniveau bei Hautkontakt^[27] und das kanni-



Schema 1. Strukturen des wichtigsten Häutungshormons 20-Hydroxyecdysen (**10**) und seiner Prohormon-Vorstufe Ecdysen (**10a**).

balistische Verhalten^[27] beeinflusst, auch die Spiegel mehrerer Fettsäuren und Ester ändert, die das Sexualverhalten männlicher *Tegenaria-atrica*-Spinnen auslösen.^[28] Dieses Steroid wurde vorher auch in anderen Arten wie *Phalagium mopilio*, *Leiobonum limbatum*, *Opilio parietinus* und *Opilio ravennae* nachgewiesen.^[29]

2.2. Pheromone

Die erste Isolierung und Charakterisierung eines niedermolekularen Pheromons war eine gewaltige Leistung von Butenandt et al., die Bombykol, (10E,12Z)-Hexadeca-10,12-dien-1-ol, in dem Seidenspinner *Bombyx mori* entdeckten.^[30] Interessanterweise hat diese Verbindung strukturell große Ähnlichkeit mit den meisten der oben beschriebenen Allomone; zu den bemerkenswertesten Unterschieden gehört, dass Bombykol eine freie Hydroxygruppe enthält, während die verwandten Spinnenallomone normalerweise acetyliert oder zum Aldehyd oxidiert sind. Seit diesen ersten Arbeiten von Butenandt et al. haben spektroskopische und analytische Methoden umwälzende Weiterentwicklungen erfahren und die Strukturaufklärung zahlreicher Pheromone aus verschiedenen Arten ermöglicht.^[31]

Schulz und Toft isolierten und charakterisierten 1993 die ersten weiblichen Sexualpheromone einer Spinne.^[13] Die Isolierung von Pheromonen aus den Netzen weiblicher *Linyphia-triangularis*-Spinnen basierte auf der Beobachtung männlicher Spinnen und ihrem Netzreduktionsverhalten. Ursprünglich hatte Watson dieses Verhalten beobachtet und bemerkt, dass die Netze unbegatteter Weibchen männliche Spinnen anlockten, die damit begannen, Netzfäden zu durchtrennen und einen Teil des Netzes zu verdichten, wahrscheinlich um so die Verdunstung flüchtiger Sexualpheromone und damit die Anlockung anderer Männchen zu minimieren.^[32] Die von Schultz und Toft isolierten Sexualpheromone waren (*R*)-3-Hydroxybuttersäure (**11**) und ihr dimeres Addukt **12** (Tabelle 2). Diese Verbindungen führten nachweislich zu einer Netzreduktion, wenn sie auf die Netze begatteter Weibchen gesprüht wurden, die diese Reaktion vorher noch nicht ausgelöst hatten. In den Pheromonextrakten fanden sich auch Hinweise auf Spuren der trimeren Verbindung **13** und winzige Mengen Crotonsäure (**14**). Die Verbindung **13** wurde nicht weiter untersucht, und **14** löste kein Netzreduktionsverhalten aus. Da die Verbindung **12** aber in großen Mengen auf den Netzen nachgewiesen wurde, ist es wahrscheinlich, dass sie von der Spinne auf das Netz eingebracht wird und dass **11** und **14** flüchtige Abbauprodukte einer auf dem Netz stattfindenden Retro-Michael-Reaktion sind.^[13] Die beiden Aldehyde **15** und **16** (Tabelle 2) haben sich nicht als Spinnenpheromone bestätigt, aber sie ermöglichen in einer Freilanduntersuchung das Fangen männlicher *Xysticus*-Spinnen.^[33]

Im Jahr 2000 wurde über die Entdeckung eines weiteren Spinnenpheromons, Cupilure (**17**), aus dem Sicherungsfaden der tropischen Jagdspinne *Cupiennius salei* berichtet.^[34] Durch chemische Synthese und spektroskopische Untersuchungen der beiden Stereoisomere wurde das *S*-Enantiomer **17** als die biologisch aktive Form nachgewiesen.^[34] Verhaltensbiologische Untersuchungen ergaben zudem, dass männliche Seidenfäden, die mit dem synthetischen Pheromon behandelt waren, das Werbungsverhalten männlicher Spinnen auslösten; damit war auch die biologische Aktivität der synthetischen Probe bestätigt.^[35] Weitere Beweise für die Wirksamkeit lieferten elektrophysiologische Versuche mit Elektroden, die in die Sensillen männlicher Spinnen platziert wurden. Die zugehörigen Aufzeichnungen lieferten beim Kontakt der Tiere mit weiblicher Seide oder mit dem synthetischen Pheromon **17** ähnliche Spuren.^[35]

Die bisher besprochenen Sexualpheromone von Spinnen werden durch Kontakt mit dem Netz abgegeben, aber bei einigen Spinnenarten wurde auch eine Luftübertragung der Pheromone nachgewiesen.^[7,40] Das erste durch Luft übertragene Spinnenpheromon, 8-Methylnonan-2-on (**18**), wurde aus geschlechtsreifen virginen weiblichen Wüstenspinnen der Art *Agelenopsis aperta* isoliert.^[36] Ein Vergleich der Gasraumextrakte, die von juvenilen virginen und von geschlechtsreifen virginen Weibchen gesammelt wurden, durch Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ergab im Chromatogramm der Extrakte von reifen Weibchen zwei Peaks, die in den Extrakten der juvenilen Spinnen fehlten. Die spektroskopische Analyse und eine Kombination aus Resynthese und Chromatographie bestätigten, dass es sich bei den beiden

Verbindungen um 6-Methylheptan-2-on und 8-Methylnonan-2-on (**18**) handelte. In den anschließenden Tests zur biologischen Aktivität konnte jedoch nur **18** männliche Spinnen anlocken und ihr Balzverhalten auslösen.^[36]

Die Verbindungen **19** und **20** wurden aus den Netzen empfängnisbereiter weiblicher *Pholcus-beijingensis*-Spinnen isoliert und ihre Strukturen durch Vergleich mit authentischem Material bestimmt. Artsspezifische männliche Spinnen wurden allerdings nicht von der Probe einer der Einzelverbindungen angelockt, sondern bevorzugten ein 2:1-Gemisch aus **19** und **20**, was darauf schließen lässt, dass die entsprechende Kombination aus **19** und **20** als Zwei-Komponenten-Pheromon wirkt.^[37]

Vor kurzem haben Schulz et al. die Isolierung und Synthese des ersten Sexualpheromons (**21**) aus einer Radnetzspinne, der Wespenspinne *Argiope bruennichi*, beschrieben.^[38] Die Verbindung wurde zuerst durch Vergleich der Gasraumextrakte von virginen Weibchen, adulten Weibchen und subadulten Weibchen mit GC/MS entdeckt. Die anschließende Synthese aus enantiomerenreiner (*S*)-Äpfelsäure lieferte die Diastereomeren Trimethyl-(2*R*,3*S*)-methylcitrat (**21**) und Trimethyl-(2*S*,3*S*)-methylcitrat im Verhältnis von etwa 6:1. Durch GC an chiraler Phase ließ sich **21** als das Hauptdiastereomer des natürlichen Extrakts nachweisen, das auch im Freiland bei der Anlockung artsspezifischer Männchen wirksam war.^[38] In einer zweiten Arbeit wurde über die Identifizierung eines ungewöhnlichen Serinderivats (**22**) als Sexualpheromon der Australischen Rotrückenspinne *Latrodectus hasselti* berichtet.^[39] Verhaltensbiologische Untersuchungen mit allen vier möglichen Diastereomeren ergaben, dass **22** die wirksame Verbindung ist; die Anwendung von Gemischen aus **22** mit inaktiven Isomeren ließ hingegen darauf schließen, dass andere Stereoisomere die Reaktion sogar inhibieren können.^[39] Der strukturell verwandte *N,O*-diacylierte Serinmethylester **23** wurde ebenfalls aus wirksamen Seidenextrakten isoliert, allerdings muss seine biologische Aktivität noch nachgewiesen werden.

2.3. Chemische Werkzeuge

Die Chemie der Pheromone allgemein ist traditionell eng mit der organischen Synthese verknüpft, weil oft nur winzige Mengen der Verbindungen isoliert wurden. Die Leistungen der Synthese hatten daher maßgeblichen Anteil an der Herstellung ausreichender Substanzmengen, mit denen vorgeschlagene Strukturen bestätigt und biologische Ergebnisse geprüft werden konnten.^[31a-c] Ein ausgezeichnetes Beispiel für ein Pheromon, das faszinierende Synthesestudien angetrieben hat, ist der hoch wirksame Sexuallockstoff Periplanon B aus Küchenschaben, der Ende der 1970er bis Mitte der 1980er Jahre zu mehreren eindrucksvollen Synthesen geführt hat.^[41]

Was die Anwendung der Semiochemikalien von Spinnen als Werkzeuge betrifft, so wurde die Theorie der aggressiven chemischen Mimikry bei Bolaspinnen mithilfe der ersten Allomone zweifelsfrei bestimmt,^[14] und die ersten Sexualpheromone lieferten eine chemische Erklärung für das Netzreduktionsverhalten von *Linyphia*-Spinnen.^[13]

Die Isolierung von Cupilure (**17**) war entscheidend für die Identifizierung der an der Detektion des Pheromons beteiligten Kontaktchemorezeptoren in *Cupiennius salei*;[35] diese

Rezeptoren waren Wissenschaftlern mehr als 30 Jahre verborgen geblieben. Man hatte lange vermutet, dass das Tar-salorgan ein olfaktorischer Chemorezeptor ist, und raster-

Tabelle 2: Spinnenpheromone.[a]

Verbindung	Spinnenart	Verhalten der Männchen	Art der Übertragung
 11: (R)-3-Hydroxybuttersäure (HBA)	<i>Linyphia triangulis</i> [13]	Anlockung und Netzreduktion	Kontakt mit Seide
 12: (R,R)-3-(3-Hydroxybutyryloxy)buttersäure (HBBA)	<i>Linyphia triangulis</i> [13]	Anlockung und Netzreduktion	Kontakt mit Seide
 13: (R,R,R)-3-[3-(3-Hydroxybutyryloxy)-hydroxybutyryloxy]buttersäure (HBBBA)	<i>Linyphia triangulis</i> , Daten nicht eindeutig[13]	nicht untersucht	unbekannt
 14: Crotonsäure (CA)	<i>Linyphia triangulis</i> [13]	keines beobachtet	Kontakt mit Seide
 15: (E)-Dec-2-enal und 16: (E)-Oct-2-enal	<i>Xysticus ferox</i> , <i>X. discursans</i> , <i>X. triguttatus</i> , <i>X. auctificus</i>	Fangen der Männchen mit synthetischen Verbindungen im Freiland[33]	durch Luft
 17: (S)-1,1'-Dimethylcitrat ("Cupilure")	<i>Cupiennius salei</i> [34]	Anlockung und Balz[34] Elektrophysiologie an männlichen Sensillen[35]	Kontakt mit Seide
 18: 8-Methyl-2-nonanon	<i>Agelenopsis aperta</i> [36]	Anlockung und Balz	durch Luft
 19: Hexadecylacetat und 20: (E,E)-Farnesylacetat	<i>Pholcus beijingensis</i> [37]	Anlockung	Kontakt mit Seide
 21: Trimethyl-(2R,3S)-methylcitrat	<i>Argiope bruennichi</i> [38]	Fangen von Männchen mit einem gesicherten Pheromon im Freiland	durch Luft
 22: N-3-Methylbutyryl-O-2-(S)-methylbutyryl-L-serinmethylester	<i>Latrodectus hasselti</i> [39]	Anlockung	Kontakt mit Seide
 23: N-3-Methylbutyryl-O-2-methylpropyl-L-serinmethylester	<i>Latrodectus hasselti</i> [39]	in der wirksamen Seide dieser Spezies nachgewiesen; seine Resynthese und Wirkung auf das Verhalten von Männchen sind aber nicht beschrieben[39]	Kontakt mit Seide

[a] Die Tabelle enthält Spinnenpheromone und Verbindungsarten, die bei Untersuchungen von Pheromonen isoliert wurden, aber nicht vollständig charakterisiert sind oder keine Wirkung zeigten. Die Verbindungen **11**, **12**, **17**, **18**, **21** und **22** wirken nachweislich als Einzelpheromone; **19** und **20** wirken als Zwei-Komponenten-Pheromon; mit den Verbindungen **15** und **16** ließen sich männliche Spinnen in einer Freilandstudie fangen, sie wurden bisher aber noch nicht aus Spinnen isoliert; **13**, **14** und **23** wurden an Proben wirksamer Spinnenseide nachgewiesen.

elektronenmikroskopische Untersuchungen ließen in den Tarsalorganen der Webspinne *Araneus diadematus* Sensillen erkennen, die sowohl Mechano- als auch Chemorezeptoren zu enthalten schienen.^[42] Fünf Jahre später, 1978, führte Dumpert elektrophysiologische Untersuchungen durch und wies erstmals nach, dass die Tarsalorgane der Männchen von *Cupiennius salei* auf Duftstoffe von Weibchen derselben Art reagieren;^[43] dagegen führten Duftstoffe von Männchen weder bei Männchen noch bei Weibchen zu einer als Signal aufgezeichneten Reaktion, und auch der Geruch verschiedener Beutearten führte zu keiner olfaktorischen Erkennung.^[43] Diese Ergebnisse sowie Verhaltensstudien ließen darauf schließen, dass die olfaktorische Erkennung von Beute bei *C. salei* unwahrscheinlich ist.^[44] 1994 lieferten Ehn und Tichy aber überzeugende Beweise dafür, dass diese Organe in *C. salei* sehr wahrscheinlich Hygro- und Thermorezeptoren sind,^[45] wofür auch die spätere Identifizierung der tatsächlichen Kontaktchemorezeptoren mithilfe einer isolierten Pheromonverbindung spricht.^[34,35] Diese Beispiel belegt den Nutzen von Semiochemikalien für die Aufklärung biologischer Vorgänge.

Eine weitere langjährige Herausforderung auf diesem Gebiet war die Erforschung der Biosynthesemechanismen, nach denen diese Semiochemikalien in Spinnen produziert werden. Die beobachtete Tendenz, wonach die Hälfte der charakterisierten Pheromone strukturelle Ähnlichkeit mit Primärmetaboliten hat und die andere Hälfte strukturell Insektenpheromonen auf Lipidbasis gleicht, führte zu vorsichtigen Spekulationen über ihren biosynthetischen Ursprung. Für den Erfolg solcher Arbeiten sind aber zweifellos weitere Strukturbestimmungen und die Untersuchung der Biosynthese dieser Verbindungen erforderlich.^[39]

Mit gerade einmal acht bekannten chemischen Strukturen von Spinnenpheromonen und etwa genauso vielen anderen Semiochemikalien mit gesicherten chemischen Strukturen und biologischen Wirkungen haben diese relativ wenigen Verbindungen bereits einen wichtigen Beitrag zu dem Gebiet geleistet und lassen daher auch in Zukunft auf viel versprechende Entdeckungen schließen. Die Charakterisierung neuer niedermolekularer Verbindungen und die Untersuchung ihrer Wirkungen werden sicherlich neue wichtige Werkzeuge liefern, mit denen sich bekannte Verhaltensweisen, Wahrnehmungs- und Produktionsorte sowie Biosynthesewege erforschen lassen. Darüber hinaus spielen sie eine wichtige Rolle beim Verständnis der biochemischen Mechanismen und molekularen Angriffsorte, auf denen die olfaktorische Erkennung der Spinnen beruht – ein Gebiet, auf dem in jüngster Zeit bei Insekten große Fortschritte gemacht wurden.^[46]

3. Acylpolyamin-Toxine

3.1. Isolierung und strukturelle Vielfalt

Die ersten Untersuchungen zu Acylpolyamin-Toxinen reichen mehr als 50 Jahre bis zu ihrer Entdeckung im Gift von Tarantula-Spinnen zurück.^[47] Acylpolyamine sind Sekundärmetaboliten von Spinnen und Wespen, die nur in den Gift-

drüsen vorkommen und sich speziell als Mittel zum Betäuben der Beute entwickelt zu haben scheinen.^[9a] Viele Jahre später lieferten Kawai et al. erste Erkenntnisse zur physiologischen Wirkung von Acylpolyaminen, indem sie nachwiesen, dass Acylpolyamin-Fractionen aus dem Gift der Spinne *Nephila clavata* (Joro-Spinne) selektiv postsynaptische ionotrope Glutamat(iGlu)-Rezeptoren in den neuromuskulären Synapsen wirbelloser Tiere blockieren.^[48] Da Glutamat der wichtigste chemische Botenstoff in den neuromuskulären Endplatten von Insekten ist, überrascht es nicht, dass die iGlu-Rezeptoren von Insekten der Hauptangriffspunkt von Acylpolyamin-Toxinen sind.^[9e] Die wirksamen Fractionen aus den Spinnenarten *Nephila clavata* und *Nephila maculate* wurden als Joro-Spinnentoxine (JSTX-1, JSTX-2, JSTX-3 und JSTX-4) bzw. Nephila-Spinnentoxine (NSTX-1, NSTX-2, NSTX-3 und NSTX-4) bezeichnet, wobei die Ziffern der Elutionsreihenfolge in der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) entsprechen. Etwa zur gleichen Zeit berichteten die Arbeitsgruppen von Usmanov und Usherwood unabhängig voneinander, dass das Gift von *Argiope*-Arten die Glutamat-Rezeptoren sowohl von Wirbellosen als auch von Wirbeltieren blockieren kann.^[49] Diesen Ergebnissen folgte wenig später der Nachweis ähnlich wirksamer Blockaden von iGlu-Rezeptoren bei Säugetieren.^[48a,50]

Im Zentralnervensystem (ZNS) von Säugetieren vermitteln die iGlu-Rezeptoren die weitaus meisten Erregungsübertragungen und sind an praktisch allen Hirnfunktionen sowie zahlreichen neurologischen Erkrankungen, darunter der Alzheimer-Krankheit, Hirnschäden nach mangelhafter Durchblutung und Schizophrenie beteiligt.^[51] Entsprechend der selektiven Wirkung von *N*-Methyl-D-aspartat (NMDA), α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionat (AMPA) und Kainat werden die iGlu-Rezeptoren in drei Hauptgruppen unterteilt. Sie werden durch homomere oder heteromere Aggregation von vier Untereinheiten gebildet und enthalten einen zentralen Kationenkanal, der Na^+ , K^+ und Ca^{2+} durch die Zellmembran leitet und durch Bindung von Glutamat an Positionen des extrazellulären Teils der iGlu-Rezeptoren kontrolliert wird.^[51]

Acylpolyamin-Toxine sind so genannte Offenkanal-Blocker von iGlu-Rezeptoren, das heißt, sie binden an die Ionenkanalregion und inhibieren dadurch den Ionenfluss.^[9d-g] Dieser Wirkmechanismus ist äußerst wichtig für die Entwicklung von Wirkstoffen, die iGlu-Rezeptoren angreifen. Eines der sehr wenigen an iGlu-Rezeptoren wirkenden Medikamente, das zur symptomatischen Behandlung der Alzheimer-Krankheit eingesetzte Memantine (Ebixa), nutzt einen ähnlichen Wirkmechanismus.^[52] Ein weitere interessante Eigenschaft von Acylpolyamin-Toxinen, auf die später näher eingegangen wird, ist ihre Fähigkeit, zwischen Ca^{2+} -durchlässigen und Ca^{2+} -undurchlässigen iGlu-Rezeptoren zu unterscheiden.

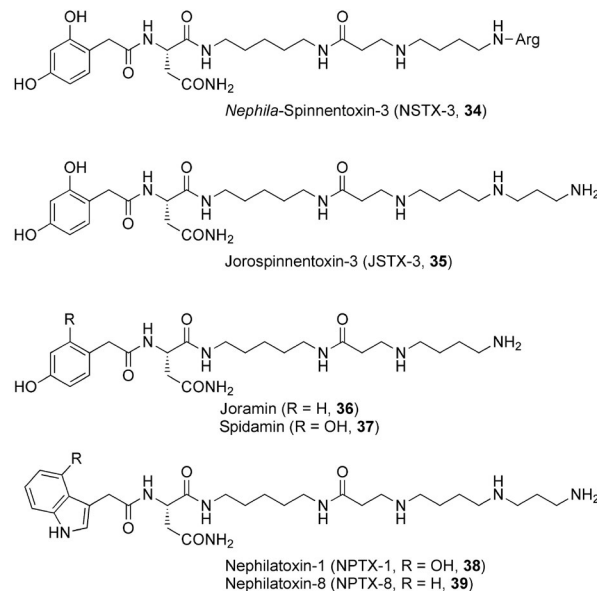
Diese interessanten biologischen Eigenschaften wurden später an verschiedenen Spinnenextrakten eingehender untersucht,^[9e,f] und die Ergebnisse regten zu intensiven Arbeiten zur Strukturaufklärung der Verbindungen an, die diese Wirkungen hervorrufen. Diese Bestrebungen beruhten auf der Hoffnung, dass Acylpolyamine möglicherweise nützliche Hilfsmittel zur Untersuchung der Nervensysteme von Wir-

bellosen und Wirbeltieren sind und darüber hinaus Verwendung als Leitstrukturen für die Synthese potenzieller Therapeutika gegen Hirnerkrankungen oder als Pestizide in der Landwirtschaft finden könnten.

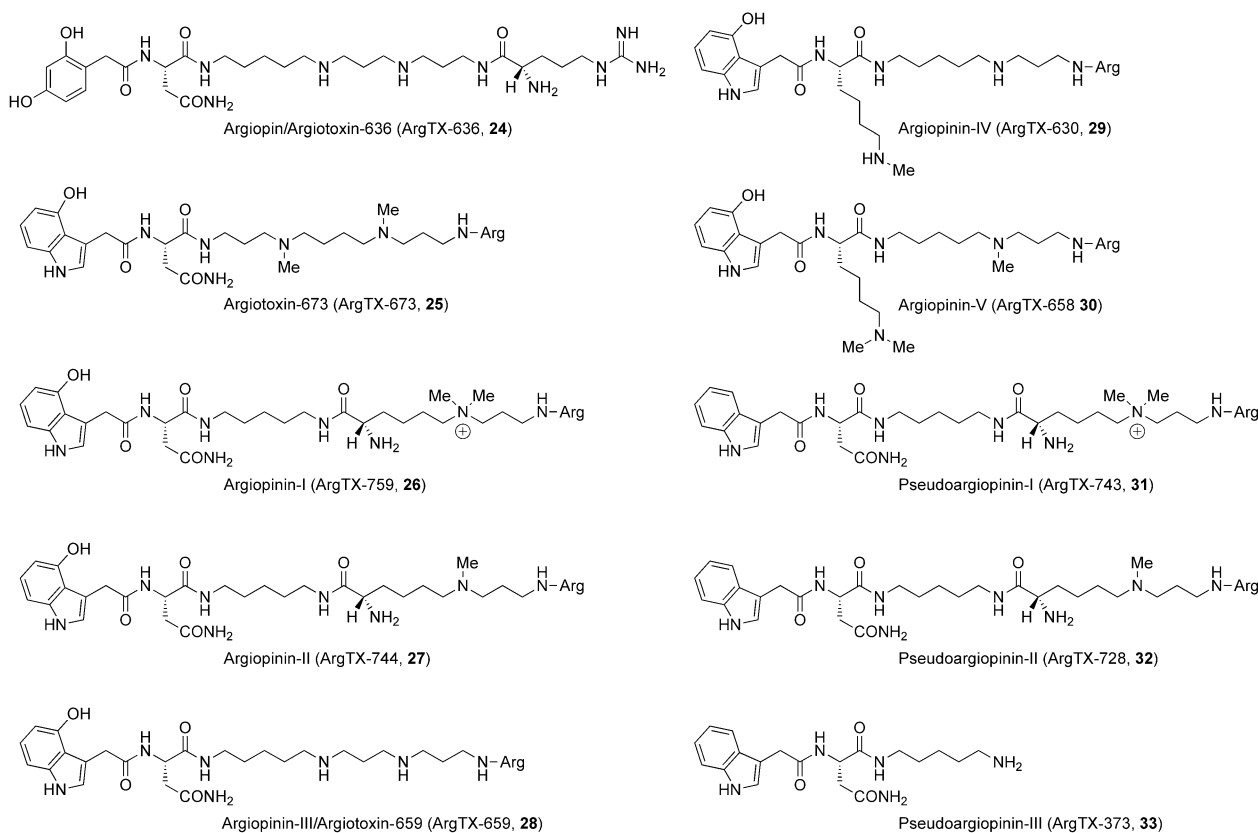
Grishin et al. gelang 1986 mit Argiotoxin-636 (**24**, Schema 2) die erste vollständige chemische Charakterisierung eines Acylpolyamin-Toxins.^[8] Die Verbindung wurde ursprünglich aus dem Gift der Radnetzspinne *Argiope lobata* isoliert, ein Jahr später von Adams et al. aber auch zusammen mit ArgTX-673 (**25**) und ArgTX-659 (**28**) aus dem Giftgemisch von *Argiope aurantia* erhalten.^[53] Die Zahlen in den Verbindungsamen beziehen sich auf die Molmasse. Darüber hinaus identifizierten Grishin et al. im Gift von *Argiope lobata* eine Reihe strukturell verwandter Toxine (**26–33**).^[54] Alle Argiotoxine enthalten eine Kopfgruppe mit einer Arylacetyl-Einheit, die über einen Asparaginrest (oder einen Lysinrest bei **29** und **30**) mit dem Polyamin verknüpft ist, und mit Ausnahme des etwas verkürzten Analogons **33** tragen alle Argiotoxine (**24–32**) die Aminosäure Arginin als Endgruppe (Schema 2).

Die erste Strukturbestimmung von JSTX-3 veröffentlichten Nakajima et al. 1986, sie wurde aber ein Jahr später von der gleichen Arbeitsgruppe leicht revidiert, als diese über die korrekten Strukturen von NSTX-3 (**34**)^[55] und JSTX-3 (**35**)^[56] sowie die Totalsynthesen der beiden Toxine berichtete und damit ihre Strukturen zweifelsfrei bestätigte (Schema 3).^[57] Zwei weitere, aus dem Gift von *Nephila clavata* isolierte und charakterisierte Toxine erhielten Trivialnamen [Joramin (**36**) und Spidamin (**37**)] und sind ebenfalls in Sche-

ma 3 gezeigt.^[58] Mit massenspektrometrischen (MS) Methoden, die Mitte der 1990er Jahre entwickelt wurden, konnte eine Fülle von Toxinen in sehr kleinen Mengen rasch charakterisiert werden,^[59] und durch Kombination dieser neuen Methoden mit ein- und zweidimensionaler NMR-Spektroskopie wurden zahlreiche Toxine aus den Giften von *Nephila*



Schema 3. Beispiele für Nephilatoxine (NPTX), darunter Toxine aus der Jorospinne (JSTX) und aus *Nephila maculata* (NSTX).



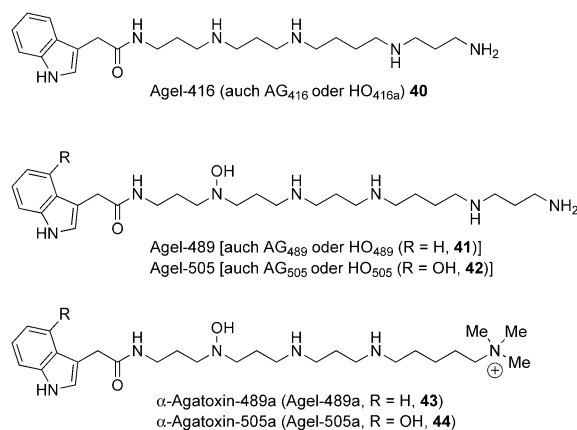
Schema 2. Beispiele für Argiotoxin-, Argiopin-, Argiopin- und Pseudoargiopin-Acylpolyamin-Toxine aus *Argiope*-Spinnen.

clavata, *Nephila maculate*, *Nephila clavipes*, *Nephilengys borbonica* und *Nephilengys cruentata* identifiziert.^[4c] Diese Toxine, von denen die JSTXs und NSTXs Untergruppen enthalten, wurden Nephilatoxine (NPTX, siehe die Beispiele **38** und **39** in Schema 3) genannt.^[4c,60] Nach der Identifizierung dieser vielen Toxine wurde eine systematischere Bezeichnung eingeführt, bei der die Zahlen die Molmasse des Toxins angeben. Als 2005 die neueste Übersicht von Palma und Nakajima über die Nephilatoxine erschien, waren die Strukturen von etwa 70 der heute bekannten 91 einzelnen Acylpolyamine aus dieser Spinnenunterfamilie aufgeklärt.^[4c] Diese große Zahl an vorhandenen Toxinstrukturen erforderte ihre Einteilung in Gruppen, und man wählte eine Klassifizierung auf der Basis des Polyamingerüsts (Schema 4).^[60,61] Die Toxine wurden demnach in vier Komponenten unterteilt, von denen das „Polyamingerüst“ und die „aromatische Acetylgruppe“ essentiell sind, während der „Aminosäure-Linker“ und die „Aminosäure-Endgruppe“ als optional angesehen werden, auch wenn die meisten bekannten Strukturen die Aminosäure Asparagin als Linker enthalten. Neben den systematischen Klassen, den Typen A–F in Schema 4, wurde ein Typ G vorgeschlagen, der wie Typ D ein einfaches 1,5-Diaminopentangerüst hat, aber als Endgruppe oder Linker Ornithin enthalten kann.^[4c] Außerdem sollte bei der Benennung neu entdeckter Toxine im Namen nach dem Molekulargewicht der Gerüstuntertyp angegeben werden. Beispielsweise würde NPTX-1, das ein Molekulargewicht von 588 Da hat, als NPTX-588A bezeichnet, auch wenn es aus historischen Gründen NPTX-1 bleibt.

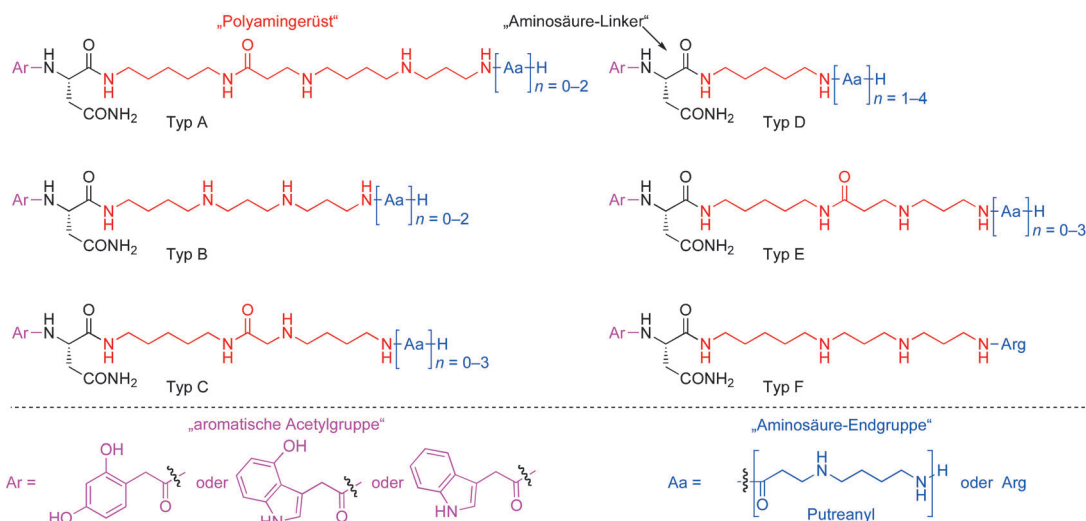
Die Fähigkeit der Spinne, aus diesen wenigen einfachen Molekülbausteinen eine Vielzahl von Verbindungen (mindestens 91) zu produzieren, gleicht interessanterweise den Syntheseleistungen in der kombinatorischen Chemie, und entsprechend würde die vollständige Toxinbibliothek 378 Verbindungen zählen, wenn man von den bekannten Kom-

ponenten und der Einteilung in die genannten vier Gruppen ausgeht.^[4c] Das bedeutet wiederum, dass die Mehrheit der biosynthetisierten Verbindungen bisher noch nicht identifiziert wurde oder dass die Spinnen mit der Zeit nichtoptimale Verbindungen der Bibliothek durch Evolution entfernt haben. Da aber die Biosynthesemechanismen zur Produktion dieser Toxine in Spinnen bisher kaum verstanden sind, lässt sich nur vermuten, ob Spinnen ihre Biosynthese in Abhängigkeit von äußeren Reizen anpassen und verschiedene Acylpolyamin-Gemische produzieren können.

Eine dritte Klasse von Acylpolyaminen wurde aus Trichternetzspinnen isoliert (ausgewählte Strukturen siehe Schema 5). Bei Untersuchungen des Giftgemisches der Amerikanischen Trichternetzspinne *Agelenopsis aperta* wurden 1989 die ersten dieser Toxine isoliert, charakterisiert und als



Schema 5. Beispiele für α-Agatoxine/Curtatoxine/Agelenotoxine. Einige dieser Toxine wurden aus verschiedenen Agelenid-Spinnen isoliert, so dass mehr als ein Name für die gleiche Verbindung resultierte. Die hier verwendete Agel-Terminologie bezieht sich auf die Spinnenfamilie Agelenidae.



Schema 4. Die als Typ A–F bezeichneten Klassen der Nephilatoxine (NPTX).^[60a] Neben den hier gezeigten Klassen wurde ein Typ G vorgeschlagen, der wie Typ D ein Cadaverin-Polyamingerüst hat.^[4c] Die überwiegende Mehrheit der charakterisierten Nephilatoxine ist den bekannten Argiotoxinen strukturell sehr ähnlich, d. h., die Kopfgruppen mit einem Asparaginylnrest, der an eine der drei in Argiotoxinen vorkommenden Arylacetylgruppen gebunden ist, sind in Nephilatoxinen ebenfalls sehr häufig. Die Putrescyl-Einheit (blau, im unteren Teil des Schemas) scheint jedoch weitgehend auf die Nephilatoxine beschränkt zu sein.

Acylpolyamine identifiziert.^[62] Eine hoch polare Fraktion dieses peptidreichen Gifts enthielt Toxine, die Glutamatrezeptoren nichtkompetitiv in nutzungsabhängiger Weise antagonisieren. Durch Einführung der ursprünglich von Olivera zur Klassifizierung von Conotoxinen entwickelten Terminologie mit griechischen Buchstaben^[63] wurden diese Toxine als α -Agatoxine eingeordnet.^[62] Eine Charakterisierung durch Ultraviolett(UV)-Spektroskopie und Massenspektrometrie ließ strukturelle Ähnlichkeiten mit den Argiotoxinen erkennen, die ebenfalls nach ihrer Molmasse benannt wurden (z. B. heißt das α -Agatoxin mit der Molmasse 489 Da AG₄₈₉ oder Agel-489). Im folgenden Jahr wurden die Strukturaufklärungen zahlreicher Toxine, darunter die der vier häufigsten Bestandteile (Agel-489, Agel-489a, Agel-505 und Agel-505a) veröffentlicht.^[64] Die Strukturen von **41** und **42** wurden durch Totalsynthese bestätigt,^[64a] aber die ursprünglich vermuteten Strukturen von Agel-489a und Agel-505a^[64b] wurden später revidiert; ihre Totalsynthese ergab, dass sie eine quartäre Aminogruppe enthalten, wie die Verbindungen **43** und **44** in Schema 5 zeigen.^[65]

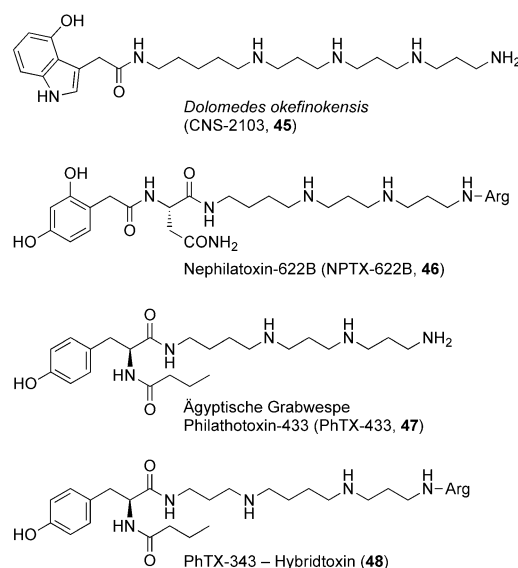
Kurz nach der Strukturaufklärung der ersten α -Agatoxine wurden zehn strukturell ähnliche Acylpolyamin-Toxine aus dem Gift einer anderen Trichternetzspinne, *Hololena curta*, isoliert.^[66] Einige dieser Verbindungen waren identisch mit den Toxinen im Gift von *A. aperta* (Schema 5).

Hierzu gehört beispielsweise das kürzere Toxin Agel-416 (**40**), das im Gift von *Hololena curta* in zwei verschiedenen Isomeren der Polyaminkette vorkommt (d. h., die gezeigte 3343-Variante, aber auch ein 4333-Isomer). Später wurden im Gift von *A. aperta* verschiedene Isomere identifiziert, darunter Analoga mit einer 4-Hydroxybenzoyl- oder einer 2,5-Dihydroxybenzoylgruppe anstelle der Indolylacetylgruppe, es wurden aber nicht alle der möglichen Kombinationen nachgewiesen.^[67] In einer eindrucksvollen Arbeit zeigten Bienz et al., dass sich mit der Totalsynthese nicht nur die Strukturen isolierter Verbindungen bestätigen, sondern auch NebenkompONENTEN in hoch komplexen Giftgemischen auffinden lassen. Durch Parallelsynthese in Kombination mit umfangreichen LC-MS/MS-Untersuchungen wiesen sie nach, dass alle zwölf möglichen Kombinationen aus der Polyaminstruktur und der Kopfgruppe im natürlichen Gift vorkommen.^[67]

Obwohl zwischen den Toxinen aus *Hololena curta* und den Acylpolyaminen, die aus Spinnen der Familie Araneidae isoliert wurden (Argio- und Nephilatoxine), mehrere strukturelle Ähnlichkeiten bestehen, gibt es einige fundamentale Unterschiede. Vor allem enthalten die zuletzt beschriebenen keine Aminosäuren, und ihr Polyamingerüst kann N-hydroxylierte Aminogruppen aufweisen. Die Indolyl- und 4-Hydroxyindolyl- (Arylacetyl-)Kopfgruppen kommen in Toxinen aus beiden Familien vor, aber anstelle der 2,3-Dihydroxyphenyllessigsäure in den Araneidae-Toxinen können die Agelenid-Toxine auch eine 4-Hydroxybenzoyl- oder eine 2,5-Dihydroxybenzoylgruppe enthalten.^[9e]

Die in Schema 6 oben gezeigte Verbindung **45** ist ein strukturell ähnliches Toxin, das aus einer Spinne einer völlig anderen Familie isoliert wurde und spannungsgesteuerte Calciumkanäle reversibel blockiert.^[68]

Philanthotoxin-433 (PhTX-433; **47**) ist ein aus der Ägyptischen Grabwespe *Philanthus triangulum* isoliertes Acylpo-



Schema 6. Beispiele für verschiedene Acylpolyamin-Toxine. Die Ziffern im Wespentoxin beziehen sich auf die Zahl der Methylengruppen zwischen jedem Amin (von links nach rechts gezählt).

lyamin-Toxin, dessen Strukturaufklärung und Synthese Nakanishi und Usherwood et al. gelang.^[69] Ein Strukturvergleich mit NPTX-622B (**46**) und dem synthetischen Analogon („Spinnen-Wespen-Hybrid“ **48**)^[70] zeigt eindeutig die strukturelle Ähnlichkeit mit den Acylpolyamin-Toxinen von Spinnen.

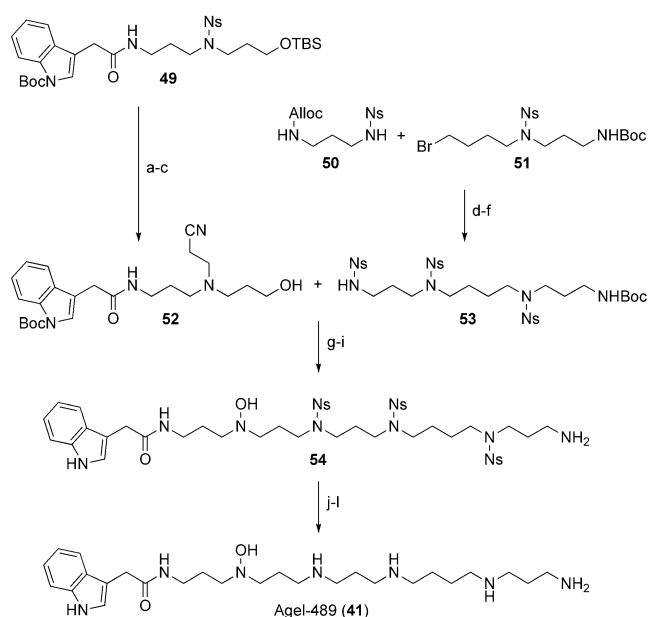
Durch die Isolierung und strukturelle Charakterisierung zahlreicher Acylpolyamin-Toxine aus Spinnengift wurden einige bemerkenswerte biologische Eigenschaften erkannt, von denen die Störung der Glutamatrezeptoren die wichtigste ist. Zudem wurde durch umfangreiche, vor allem massenspektrometrische Strukturanalysen festgestellt, dass Spinnen für die Biosynthese dieser Toxine wenige einfache Molekülbausteine auf kombinatorische Art verknüpfen. Dies lässt auch den Schluss zu, dass noch einige neue Acylpolyamin-Toxine auf ihre Entdeckung warten und dass Spinnen ergiebige Quellen bei der Suche nach biologischen Werkzeugen sind.

3.2. Chemische Synthese

Die chemische Synthese von Polyaminen und ihren Derivaten erfolgte bis in die späten 1990er Jahre überwiegend in Lösung,^[71] obwohl die ersten Festphasensynthesen von Spinentoxinen mit Diamingerüst (NPTX-9 und NPTX-11) schon 1994 beschrieben wurden.^[72] Seitdem wurden zahlreiche Methoden zur Festphasensynthese (solid-phase synthesis, SPS) von Polyamin-Einheiten vorgestellt.^[9b,d,73] Da dieses Thema bereits eingehend zusammengefasst wurde, werden im Folgenden nur wenige ausgewählte Beispiele vorgestellt, darunter neue Methoden, die in den früheren Übersichten nicht enthalten sind.^[9b,d,71,73]

Die Synthese von Acylpolyamin-Toxinen in Lösung kann vor allem für die Herstellung von Toxinen mit relativ einfa-

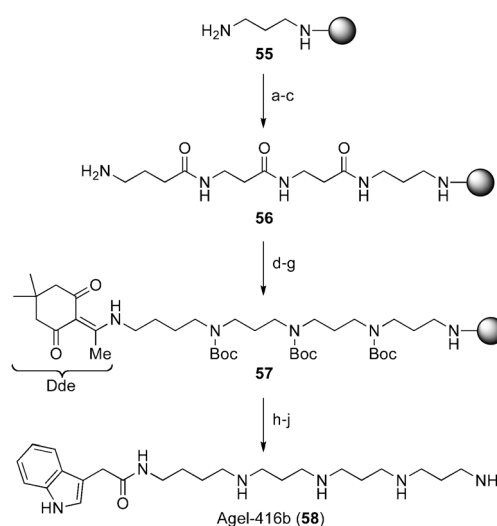
chen Polyamin-Einheiten im Großmaßstab gut geeignet sein,^[74] das SPS-Verfahren bietet hingegen eine hoch effiziente Möglichkeit, Kollektionen von Toxinanaloga für Testzwecke und erste biologische Charakterisierungen im Maßstab 10–30 mg zu synthetisieren.^[75] Insbesondere die Fukuyama-Mitsunobu-Aminierung^[76] hat für die SPS von Acylpolyamin-Toxinanaloga Anwendung gefunden,^[75b–d,77] auch wenn die Ausbeuten tendenziell mit jedem Aminierungsschritt, der an dem festen Träger durchgeführt wird, signifikant sinken.^[78] Dagegen sind die einfachen, direkten und effizienten Waschprozesse zwischen den Reaktionsschritten am festen Träger zur Reinigung dieser Verbindungen und ihrer Zwischenstufen äußerst wünschenswert, da stark polare Aminoverbindungen bekanntermaßen schwierig zu handhaben sind. In einer eindrucksvollen Arbeit entwickelten Fukuyama et al. eine konvergente und hoch effiziente Total-synthese von Agel-489 (Schema 7), bei der die Fukuyama-Aminierungsschritte in Lösung ausgezeichnete Ausbeuten



Schema 7. Konvergente Totalsynthese von Agel-489 (31 % Gesamtausbeute) unter Verwendung von Synthesemethoden in Lösung und an fester Phase: a) PhSH, Cs₂CO₃, CH₃CN; b) Acrylnitril, EtOH, 60 °C; c) HF-NH₃, CH₃CN, 60 °C; d) nBu₄NI, Cs₂CO₃, CH₃CN, 60 °C; e) [Pd(PPh₃)₄], PPh₃, Pyrrolidin, CH₂Cl₂; f) NsCl, Et₃N, CH₂Cl₂; g) DEAD, PPh₃, Benzol/CH₂Cl₂ (4:1); h) mCPBA, CH₂Cl₂, –10 °C; i) SO₂Cl, MeOH; j) Überschuss fester Tritylchlorid-Träger, iPr₂EtN, CH₂Cl₂; k) 2-Mercaptoethanol, DBU, DMF; l) TFA, CH₂Cl₂. DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en, DEAD = Diethylazodicarboxylat, DMF = *N,N'*-Dimethylformamid, mCPBA = *meta*-Chlorperbenzoesäure, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TFA = Trifluoressigsäure.

ergaben und die abschließende Abspaltung aller 2-Nitrobenzolsulfonyl(Ns)-Gruppen an einem festen Träger den polaren Naturstoff in 31 % Gesamtausbeute lieferte.^[79]

Die erste Totalsynthese eines Spinnentoxins mit vollständigem Aufbau der Polyamin-Einheit an einem festen Träger gelang durch Reduktion des an ein Trityl-Trägerharz gebundenen Tripeptids **56** mit Boran (Schema 8).^[80] Die Reduktion sekundärer Amide zu sekundären Aminen mit Boran^[81] wurde von Schultz et al. erstmals auf die Festphase



Schema 8. Festphasensynthese von Agel-416 durch Amidreduktion mit BH₃·THF: a) Fmoc-β-Ala-OH, HBTU, HOBT, iPr₂EtN, DMF; b) Piperidin/DMF (1:4); c) Schritte (a) und (b) wiederholen, danach (a) mit Fmoc-γ-Abu-OH und (b); d) BH₃·THF, 60 °C, 48 h; e) I₂, THF/HOAc/iPr₂EtN (7:2:1); f) 2-Ac-Dimedon, DMF; g) Boc₂O, iPr₂EtN, CH₂Cl₂; h) DMF/NH₂NH₂ (98:2); i) 2-(1*H*-Indol-3-yl)acet-(*tert*-butylkohlen-säure)anhydrid, Et₃N, DMAP, DMF; j) TFA/H₂O/iPr₃SiH (95:2.5:2.5). Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl, HBTU = O-(1*H*-Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat, HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, THF = Tetrahydrofuran.

übertragen^[82] und seitdem von Houghten und anderen intensiv angewendet.^[73] Die Schwierigkeit bei der Anwendung dieser Methode im Zusammenhang mit der Acylpolyamin-SPS ist die etwas eingeschränkte Verträglichkeit mit funktionellen Gruppen, daher erfordert die Methode geeignete Strategien für Linker und Schutzgruppen.^[80,83] Hall et al. lösten das Problem durch Verwendung der *N*-1-(4,4-Dimethyl-2,6-dioxocyclohexyliden)ethyl(Dde)-Schutzgruppe, die selektiv primäre Amine blockiert und durch Basen abgespalten wird, und anschließendes Schützen der inneren sekundären Amine (**57**) mit der *N*-*tert*-Butoxycarbonyl(Boc)-Gruppe. Nach Entschützen, Acylierung, Abspaltung vom Träger mit gleichzeitiger Entfernung der Boc-Gruppen und Reinigung durch HPLC wurde das gewünschte Toxin mit einer eindrucksvollen Gesamtausbeute von 37 % erhalten.^[80]

Des Weiteren wurde eine bidirektionale SPS der Polyamine von α-Agatoxinen durch Verknüpfen einer inneren sekundären Aminogruppe mit dem festen Träger beschrieben;^[84] diese Methode wurde vor kurzem auf die Herstellung *N*-hydroxylierter Polyamin-Einheiten durch oxidative Spaltung eines maßgeschneiderten Linkers angewendet.^[85]

Da die Toxine von Spinnen der Araneidae-Familie häufig Aminosäure-Endgruppen enthalten, wurde nach effizienten bidirektionalen SPS-Strategien gesucht, um diese Art von Verbindungen herzustellen. Bycroft et al. entwickelten eine Lösung, in der ein Rink-Trägerharz mit Asparaginsäure beladen wurde, deren Abspaltung vom Träger zur Aminosäure Asparagin als Linker-Einheit führte.^[72] Die kürzlich beschriebenen Festphasen-Totalsynthesen von ArgTX-636 und dessen Analoga erfolgten an einem BAL-Harz (backbone

amide linker),^[86] das ebenfalls eine bidirektionale Funktionalisierung des Polyamins ermöglicht, wie sie für gemischte Spinnen-Wespen-Toxinanaloga beschrieben wurde.^[70] Solche Hybride wurden auch durch Anknüpfen der Phenolgruppe von Tyrosin über einen Tritylbromid-Linker hergestellt.^[87]

3.3. Biologische Wirkungen und Acylpolyamine als Werkzeuge

Die Acylpolyamin-Toxine sind wie bereits erwähnt wirksame Ionenkanal-Blocker von iGlu-Rezeptoren, d.h., sie binden an eine Stelle im Innern des Ionenkanals, die nur zugänglich ist, wenn der Rezeptor durch Glutamat aktiviert ist (nutzungsabhängige Inhibitoren). Ein besonderes Merkmal von Acylpolyamin-Toxinen ist ihre Fähigkeit, Ca^{2+} -durchlässige iGlu-Rezeptoren, wozu alle NMDA-Rezeptorkombinationen sowie bestimmte AMPA- und Kainat-Rezeptoren gehören,^[51] selektiv zu blockieren.^[88] Insbesondere Ca^{2+} -durchlässige AMPA-Rezeptoren haben Schlüsselfunktionen bei der Hirnentwicklung und der synaptischen Plastizität, daher wurden Acylpolyamin-Toxine zu äußerst wichtigen Werkzeugen für Untersuchungen dieser Rezeptor-Subtypen. Die Ca^{2+} -Durchlässigkeit von iGlu-Rezeptoren wird durch den so genannten Q/R/N-Ort am Eingang zur Ionenkanalpore bestimmt, wo das Vorliegen eines Argininrests (R) den Rezeptor für Ca^{2+} -Ionen undurchlässig macht.^[51] Dieser basische Argininrest im Q/R/N-Ort verhindert höchstwahrscheinlich gleichfalls den Zugang der terminalen Amino-Gruppe von Acylpolyamin-Toxinen zur Bindungsstelle im Innern des Ionenkanals.

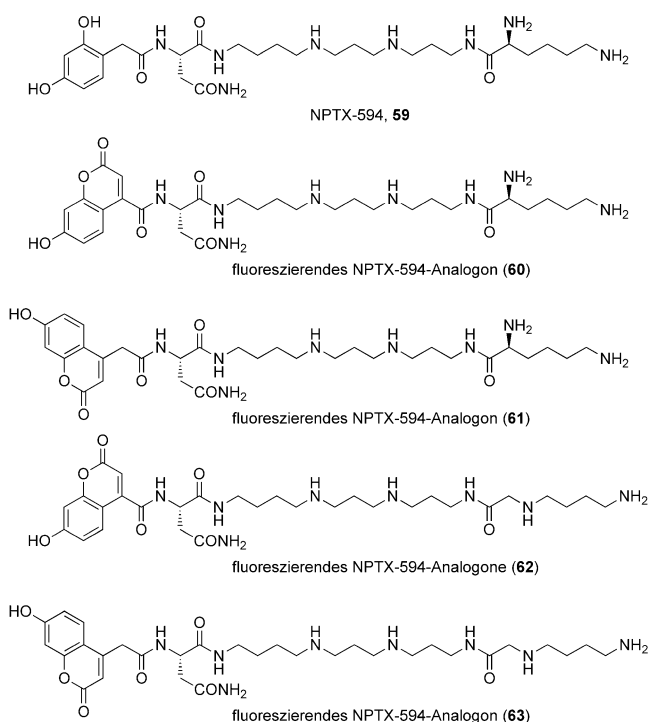
3.3.1. Markierte und lichtempfindliche vernetzte Analoga

Anders als beispielsweise Analoga des Acylpolyamin-Toxins PhTX-433 (**47**) der Wespe wurden synthetische Analoga von Spinnentoxinen nicht so eingehend untersucht, was vielleicht teilweise auf die komplizierteren Synthesewege zurückzuführen ist, die ihre Herstellung erfordert. Dagegen könnten die umfangreichen Arbeiten zur Totalsynthese und Charakterisierung der vielen natürlichen Analoga von Spinnentoxinen selbst ein Beitrag gewesen sein.

Ende der 1980er Jahre synthetisierten Kawai und Nakajima et al. die ersten radioaktiv markierten Analoga von Spinnentoxinen auf der Basis von ^{125}I -haltigem JSTX-3.^[89] Außerdem beschrieben Nakanishi et al. Anfang der 1990er Jahre die Herstellung radioaktiv markierter Analoga von Acylpolyamin-Toxinen. Sie basierten auf PhTX-433, umfassten aber auch Analoga, die mit Lysin oder Arginin verlängert waren und daher als Wespen-Spinnen-Hybride wie **48** betrachtet werden konnten. In einer ersten Arbeit wurden die ^{125}I -markierten Verbindungen PhTX-343, PhTX-343-Lys und PhTX-343-Arg synthetisiert und zur Untersuchung von Rattenhirnmembranen verwendet.^[90] Später wurden Analoga mit lichtempfindlichen Vernetzern in der Kopf- oder Endgruppe hergestellt und zur Untersuchung der Bindung an Ionenkanäle von nikotinischen Acetylcholin-Rezeptoren eingesetzt.^[91]

Fluoreszenzmarkierte Sensoren auf der Basis von Acylpolyamin-Spinnentoxinen wurden unseres Wissen erst kürz-

lich durch Wakamiya et al. ausgehend von NPTX-594 (**59**) hergestellt. Die beiden ersten Verbindungen (**60** und **61**), in denen eine der Hydroxygruppen der Acyl-Kopfgruppe in eine fluoreszierende Hydroxycumarinstruktur eingebaut ist (Schema 9), waren in einem Test zur Betäubung von Grillen (*Gryllus bimaculatus*) 6- bis 15-mal weniger wirksam als der Naturstoff.^[92] Der Austausch der Lysin-Endgruppe in den ersten Verbindungen gegen *N*-(4-Aminobutyl)glycin ergab **62** und **63**, wobei sich **63** als fluoreszenzmarkiertes Analogon von NPTX-594 mit relativ guter struktureller Ähnlichkeit und gleicher Wirksamkeit im Assay erwies.^[92]



Schema 9. NPTX-594 und Beispiele für fluoreszenzmarkierte Analoga.

3.3.2. Entwicklung selektiver Inhibitoren

Besonders interessant sind die Acylpolyamin-Spinnentoxine als pharmakologische Werkzeuge für neurobiologische Untersuchungen vor allem der iGlu-Rezeptorsysteme von Säugetieren. Erste Arbeiten ließen erhebliche Unterschiede in der Aktivität von Acylamin-Toxinen bei den Subtypen der iGlu-Rezeptoren von Wirbeltieren und Wirbellosen erkennen, sodass die Acylpolyamine möglicherweise selektive Antagonisten für Subtypen dieser Rezeptorklasse sind.^[93] iGlu-Rezeptoren sind multimere Proteine aus vier Unter-einheiten, die sich zu einem zentralen Ionenkanal mit vier großen extrazellulären, Liganden bindenden Domänen anordnen. Einige Acylpolyamin-Toxine können bei Säugetieren zwar als Verstärker von iGlu-Rezeptor-vermittelten Strömen wirken,^[94] ihre Hauptwirkung ist aber der starke Antagonismus durch eine Bindung mit nanomolarer Affinität innerhalb der Ionenkanalregion, sodass der Ionenfluss durch den Kanal blockiert wird (sie wirken demnach als Offenkanal-Blocker).

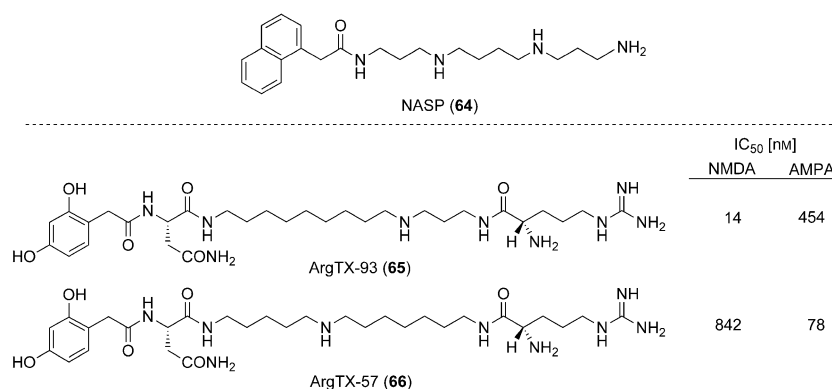
Die molekularen und strukturellen Blockierungsmechanismen der iGlu-Rezeptorkanäle waren Gegenstand zahlreicher experimenteller Arbeiten und Modellstudien.

Auch wenn es keine hoch aufgelösten röntgenographischen Kristallstrukturanalysen der Ionenkanal-domäne von iGlu-Rezeptoren gibt, wurden detaillierte Modelle für Polyamin-Ionenkanalblocker entwickelt, darunter auch Acylpolyamin-Spinnentoxine.^[95] Diesen Modellen zufolge durchsetzen die Toxine die Ionenkanal-domäne, wobei die Polyamin-Endgruppe durch den engsten Teil des Kanals, den so genannten Selektivitätsfilter oder N/Q/R-Ort in die Porenregion eindringt, während die aromatische Kopfgruppe in der Region direkt oberhalb des Selektivitätsfilters haften bleibt. Die Assoziation von Acylpolyaminen an den Ionenkanal des iGlu-Rezeptors ist ebenso wie ihre Dissoziation insofern sehr empfindlich gegenüber dem Membranpotential der Zelle, als die Bindungsgeschwindigkeit mit steigendem negativem Membranpotential zunimmt, die Dissoziation des Toxins aber sinkt. Die Inhibitorwirkungen der meisten Toxine sind stark spannungsabhängig und ein Ausdruck dafür, dass die Wanderung der Toxinmoleküle in den und aus dem Kanal durch das elektrische Feld beeinflusst wird, wobei ähnliche Kräfte wie bei der Permeabilität von Kationen auftreten. Bei Säugtieren werden 18 einzelne iGlu-Rezeptoruntereinheiten exprimiert, die homo- oder heteromer zu mehr als 50 bekannten Subtypen des iGlu-Rezeptors mit unterschiedlichen funktionellen Eigenschaften und regionalen Expressionsmustern im Gehirn kombinieren können.^[51] Diese Subtypen werden in drei große, funktionell und physiologisch verschiedene Subfamilien unterteilt, die wie bereits erwähnt als NMDA-, AMPA- und Kainat-Rezeptoren bezeichnet werden.^[51] Man erkannte früh, dass mehrere Spinnentoxine unterschiedliche Affinitäten zu diesen iGlu-Subfamilien haben.^[50c,96] Für den Nicht-NMDA-Typ der iGlu-Rezeptoren wurden bestimmte Acylpolyamin-Toxine, z.B. das JSTX-Analogon 1-Naphthylacetylspermin (NASP, **64**),^[97] zu einem wichtigen Werkzeug bei der Untersuchung von Ca²⁺-permeablen AMPA-Rezeptoren, weil sie die gegenüber Ca²⁺-undurchlässigen Rezeptoren hoch spezifische Blockade ermöglichten. Ein Schwerpunkt unserer Arbeit ist seit kurzem, anhand von Struktur-Wirkungs-Beziehungen mit *Argiope*-

Toxinen wie ArgTX-636 und seinen synthetischen Analoga zu erforschen, worauf die Selektivität von Acylpolyamin-Toxinen für die iGlu-Rezeptorsubtypen beruht. Als Hauptfaktor der Selektivität für die NMDA- und AMPA-Subfamilien wurde die Polyamin-Einheit nachgewiesen.^[86] Darüber hinaus ergaben erste Arbeiten zum Vergleich der Aktivität von ArgTX-636 an rekombinanten NMDA-Rezeptoren, dass ArgTX-636 einzelne NMDA-Rezeptor-Subtypen mit bis zu 100-fach unterschiedlicher Wirkung inhibiert.^[88] Die Untersuchung einer Reihe von ArgTX-636-Analoga an den vier wichtigsten NMDA-Subtypen GluN1/N2A, GluN1/N2B, GluN1/N2C und GluN1/N2D hat diese ersten Ergebnisse bisher bekräftigt und gezeigt, dass schon geringste Änderungen in der Polyamin-Einheit erhebliche Auswirkungen auf die Selektivität für den Subtyp haben können (siehe die Verbindungen **65** und **66**, Schema 10). Einzelne NMDA-Rezeptor-Subtypen sind derzeit pharmakologisch kaum zu unterscheiden, weil für viele Subtypen selektive Antagonisten fehlen, daher erscheint das Potenzial von Acylpolyamin-Toxinen auf diesem Gebiet äußerst viel versprechend. Um den möglichen Nutzen von Acylpolyaminen als Subtyp-selektive Antagonisten von iGlu-Rezeptoren zu realisieren, sind weitere Arbeiten erforderlich; dazu gehört auch die Identifizierung der molekularen Basis für die Subtyp-selektive Kanalblockade.

4. Peptidtoxine

Peptid- und Proteintoxine aus Spinnen sowie aus Skorpionen, Kegelschnecken und Schlangen haben als pharmakologische Werkzeuge, vor allem bei Untersuchungen von Ionenkanälen, beispiellose Anwendung gefunden und werden als potenzielle Therapeutika betrachtet.^[98] Die biologische Wirkung dieser Toxine besteht höchstwahrscheinlich darin, die Beute zu betäuben, indem die Ionenkanäle inhibiert werden und dadurch die Erregungsleitung an den Synapsen des Nervensystems gestört wird. Toxine, die spannungsgesteuerte K⁺, Na⁺- und Ca²⁺-Kanäle blockieren, wurden aus verschiedenen Spinnenfamilien isoliert, wobei aber die zu den *Theraphosidae* gehörenden Vogelspinnen von



Schema 10. NASP (**64**), ein synthetisches und strukturell einfaches Acylpolyamin-Toxin, das in Untersuchungen von AMPA-Rezeptoren umfangreiche Verwendung fand. ArgTX-93 (**65**) und ArgTX-57 (**66**) (die Ziffern bezeichnen die Methylengruppen in der Polyamin-Einheit) sind kürzlich synthetisierte Analoga von ArgTX-636.

besonderem Interesse waren.^[99] Viele dieser Peptidtoxine haben insofern strukturelle Ähnlichkeiten, als sie normalerweise aus 30–40 Aminosäuren bestehen und durch Disulfidbrücken stabilisiert sind; eine häufige Faltung ist der inhibitorische Cystein-Knoten (ICK).

Die Toxine wirken im Allgemeinen auf zwei Arten: 1) Sie blockieren Ionenkanäle durch eine Offenkanal-Blockade, indem sie an das äußere Vestibül des Proteins binden und dadurch den Ionenfluss hemmen; oder 2) sie binden an die Region der Kanäle, die das Öffnen und Schließen (Gating) des Ionenkanals steuert.^[100] Das prototypische Beispiel dafür, wie ein Peptidtoxin von einem hervorragenden pharmakologischen Werkzeug zu einem Medikament werden kann, ist das aus 25 Aminosäuren bestehende ω -Conotoxin MVIIA (Ziconotide, Prialt Eisai Ltd., Großbritannien), das spannungsgesteuerte Ca^{2+} -Kanäle (CaV2.2 oder N-Typ) blockiert und heute zur Behandlung neuropathischer Schmerzen eingesetzt wird. Mit dieser Art von Toxin wurde unlängst der umstrittene Gating-Mechanismus von K^{+} -Kanälen eingehend untersucht.^[101] Beispielsweise inhibiert Hanatoxin, ein amphipathisches Peptidtoxin mit 35 Aminosäuren (4.1 kDa; Abbildung 2 a), das aus der Vogelspinne *Grammostola spatulata*

Rezeptors.^[103] Daher sind diese Toxine sehr nützliche Werkzeuge zur Untersuchung dieses Rezeptors sowie der strukturellen Zusammenhänge zwischen TRP-Kanälen (transient receptor potential channels) und spannungsgesteuerten Ionenkanälen.

Die Agatoxine sind eine Gruppe von Peptidtoxinen aus der Amerikanischen Trichternetzspinne *Agelenopsis aperta* mit einem breiten Wirkspektrum: α -Agatoxine greifen iGlu-Rezeptoren auf ähnliche Weise an wie die Acylpolyamin-Toxine, d. h., sie sind Ionenkanal-Blocker, μ -Agatoxine und ω -Agatoxine greifen hingegen Na^{+} - bzw. Ca^{2+} -Kanäle an (zu Beispielen siehe Abbildung 2 c und d).^[5h] Diese vielfältigen Wirkungen erfolgen höchstwahrscheinlich synergistisch und garantieren die schnelle und effiziente Betäubung der Beute.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Aus historischer Sicht haben Naturstoffe generell immense Bedeutung für biologische Untersuchungen im Allgemeinen und die Wirkstoffentdeckung im Besonderen gehabt. Den Schwerpunkt dieses Kurzaufsatzes bildeten Semiochemikalien und Acylpolyamin-Toxine aus Spinnen, die sich als hervorragende biologische Sensoren herausstellen, doch auch die gut dokumentierten Eigenschaften von Peptid- und Proteintoxinen aus Spinnen wurden hier behandelt.

Es gibt nur wenige isolierte und in Untersuchungen nachgewiesene Semiochemikalien aus Spinnen und erst acht bekannte Spinnenpheromone, obwohl die ersten Pheromone bereits vor fast 20 Jahren nachgewiesen wurden. Davon unbenannt sind die Leistungen zur Identifizierung dieser Verbindungen, die zu den eindrucksvollsten Beispielen für die Isolierung von Naturstoffen gehören, zusammen mit ihrer Totalsynthese und biologischen Untersuchung. Da mehr Arten untersucht werden und Techniken wie die Massenspektrometrie riesige Fortschritte gemacht haben, erwarten wir für die Zukunft eine stark steigende Zahl nachgewiesener Semiochemikalien aus Spinnen und ihrer biologischen Anwendungen.

Die Zahl der bisher bestimmten Acylpolyamin-Toxine ist wesentlich größer, aber bei den meisten wurden die biologischen Wirkungen nicht untersucht, und nur im Fall von ArgTX-636 wurden Modifizierungsstudien durchgeführt. Die Anwendung der Massenspektrometrie hat die Zahl neu entdeckter Acylpolyamin-Toxine bereits erheblich steigen lassen, und wenn mehr Arten untersucht werden, sollte eine Fülle neuer Verbindungen zugänglich sein. Acylpolyamin-Toxine sind schon jetzt unentbehrliche Werkzeuge zur Untersuchung von iGlu-Rezeptoren, und angesichts der jüngsten Fortschritte beim Nachweis Subtyp-selektiver Derivate ist eine Belebung der Anwendung dieser Verbindungen zu erwarten. Mit dem Aufkommen neuer selektiver Verbindungsarten sollte ihr Potenzial zur neuroprotektiven Behandlung beträchtlich zunehmen.

Niedermolekulare Naturstoffe aus Spinnen haben sich bisher als ausgezeichnete biologische Sensoren erwiesen und sicherlich das Potenzial zu einer künftig noch erfolgreicherem Weiterentwicklung.

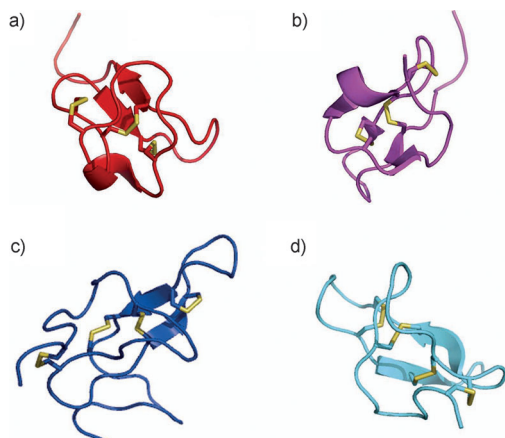


Abbildung 2. Beispiele für Peptidtoxine von Spinnen, die durch NMR-Spektroskopie in Lösung bestimmt wurden. a) Der Kaliumkanal-Blocker Hanatoxin-1 (PDB-Code: 1D1H);^[104] b) der Natriumkanal-Potentiator SGTx1 (PDB-Code: 1LA4);^[105] c) der P-Typ-Calciumkanal-Antagonist ω -Agatoxin-IVB aus *Agelenopsis aperta* (PDB-Code: 1AGG);^[106] d) der Natriumkanal-Antagonist μ -Agatoxin-I aus *Agelenopsis aperta* (PDB-Code: 1EIT).^[107] Seitenketten wurden weggelassen.

isoliert wurde, K^{+} -Kanäle^[5a] und wurde später bei Untersuchungen der beweglichen Spannungssensoren von K^{+} -Kanälen verwendet.^[102] Bei ähnlichen Studien an Na^{+} -Kanälen wurde eine Reihe von Peptidtoxinen eingesetzt, z. B. das aus der Tarantula-Spinne *Scodra griseipes* isolierte Peptid SGTx1 mit 34 Aminosäuren (3.8 kDa; Abbildung 2 b).^[6g] Anders als im zuvor diskutierten Mechanismus bindet SGTx1 an Na^{+} -Kanäle und behindert ihre rasche Inaktivierung, sodass es im Wesentlichen als Potentiator von Na^{+} -Kanälen wirkt.

Interessanterweise wurden Tarantula-Toxine auch als Agonisten von Ionenkanälen nachgewiesen; besonders die Vanillotoxine wirken als Agonisten des Capsaicin (TRPV1)-

A.S.K. und K.S. danken dem Aase og Ejnar Danielsens Fond, dem Fonden til Lægemedelvidenskabens fremme, dem Brødrene Hartmanns Fond und dem Direktør Ib Henriksens Fond für finanzielle Unterstützung. C.A.O. dankt der Lundbeck Foundation für ein Young Group Leader Fellowship und dem Danish Council for Independent Research | Natural Sciences für finanzielle Förderung.

Eingegangen am 4. April 2011

Online veröffentlicht am 27. Oktober 2011

Übersetzt von Dr. Kathrin-M. Roy, Langenfeld

- [1] a) F. Vollrath, D. P. Knight, *Nature* **2001**, 410, 541; b) F. Hagn, L. Eisoldt, J. G. Hardy, C. Vendrely, M. Coles, T. Scheibel, H. Kessler, *Nature* **2010**, 465, 239; c) G. Askarieh, M. Hedhammar, K. Nordling, A. Saenz, C. Casals, A. Rising, J. Johansson, S. D. Knight, *Nature* **2010**, 465, 236; d) M. Heim, D. Keerl, T. Scheibel, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 3638; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 3584; e) M. Heim, L. Romer, T. Scheibel, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 156.
- [2] J. A. Atkins, C. W. Wingo, W. A. Sodeman, *Science* **1957**, 126, 73.
- [3] G. P. Cantore, S. Bettini, *Rend. Ist. Super. Sanita* **1958**, 21, 794.
- [4] a) C. R. Geren, T. K. Chan, B. C. Ward, D. E. Howell, K. Pinkston, G. V. Odell, *Toxicon* **1973**, 11, 471; b) F. L. Schanbacher, C. K. Lee, J. E. Hall, I. B. Wilson, D. E. Howell, G. V. Odell, *Toxicon* **1973**, 11, 21; c) M. S. Palma, T. Nakajima, *Toxin Rev.* **2005**, 24, 209.
- [5] a) K. J. Swartz, R. MacKinnon, *Neuron* **1995**, 15, 941; b) K. J. Swartz, R. MacKinnon, *Neuron* **1997**, 18, 665; c) I. M. Mintz, V. J. Venema, K. M. Swiderek, T. D. Lee, B. P. Bean, M. E. Adams, *Nature* **1992**, 355, 827; d) I. M. Mintz, M. E. Adams, B. P. Bean, *Neuron* **1992**, 9, 85; e) S. Y. Lee, R. MacKinnon, *Nature* **2004**, 430, 232; f) M. E. Adams, B. M. Olivera, *Trends Neurosci.* **1994**, 17, 151; g) B. G. Fry, K. Roelants, D. E. Champagne, H. Scheib, J. D. A. Tyndall, G. F. King, T. J. Nevalainen, J. A. Norman, R. J. Lewis, R. S. Norton, C. Renjifo, R. C. R. de La Vega, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2009**, 10, 483; h) M. E. Adams, *Toxicon* **2004**, 43, 509.
- [6] a) S. Diochot, *Toxin Rev.* **2005**, 24, 291; b) P. Escoubas, F. Bosmans, *Expert Opin. Drug Discovery* **2007**, 2, 823; c) G. Estrada, E. Villegas, G. Corzo, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 145; d) G. F. King, *Toxicon* **2007**, 49, 513; e) M. R. Mortari, A. O. S. Cunha, L. B. Ferreira, W. Ferreira dos Santos, *Pharmacol. Ther.* **2007**, 114, 171; f) G. M. Nicholson, *Toxicon* **2007**, 49, 490; g) F. Bosmans, K. J. Swartz, *Trends Pharmacol. Sci.* **2010**, 31, 175.
- [7] a) S. Schulz in *Advances in Insect Chemical Ecology* (Hrsg.: R. T. Cardé, J. G. Millar), Cambridge University Press, Cambridge, **2004**, S. 110–150; b) A. C. Gaskett, *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.* **2007**, 82, 27.
- [8] E. V. Grishin, T. M. Volkova, A. S. Arseniev, O. S. Reshetova, V. V. Onoprienko, L. G. Magazanic, S. M. Antonov, I. M. Fedorova, *Bioorg. Khim.* **1986**, 12, 1121.
- [9] a) A. L. Mueller, R. Roeloffs, H. Jackson, *Alkaloids* **1995**, 46, 63; b) K. Strømgaard, K. Andersen, P. Krogsgaard-Larsen, J. W. Jaroszewski, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2001**, 1, 317; c) S. Bienz, R. Detterbeck, C. Ensich, A. Guggisberg, U. Hausermann, C. Meisterhans, B. Wendt, C. Werner, M. Hesse, *Alkaloids* **2002**, 58, 83; d) K. Strømgaard, I. Mellor, *Med. Res. Rev.* **2004**, 24, 589; e) I. R. Mellor, P. N. R. Usherwood, *Toxicon* **2004**, 43, 493; f) N. Kawai, *Toxin Rev.* **2005**, 24, 273; g) K. Strømgaard, L. S. Jensen, S. B. Vogensen, *Toxicon* **2005**, 45, 249.
- [10] S. Schulz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 324; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 314.
- [11] J. S. Rovner, F. G. Barth, *Science* **1981**, 214, 464.
- [12] L. R. Ayyagari, W. J. Tietjen, *J. Chem. Ecol.* **1987**, 13, 237.
- [13] S. Schulz, S. Toft, *Science* **1993**, 260, 1635.
- [14] M. K. Stowe, J. H. Tumlinson, R. R. Heath, *Science* **1987**, 236, 964.
- [15] K. V. Yeargan, *Annu. Rev. Entomol.* **1994**, 39, 81.
- [16] W. Steck, E. W. Underhill, M. D. Chisholm, *J. Chem. Ecol.* **1982**, 8, 731.
- [17] a) C. Gemenio, K. V. Yeargan, K. F. Haynes, *J. Chem. Ecol.* **2000**, 26, 1235; b) K. F. Haynes, C. Gemenio, K. V. Yeargan, J. G. Millar, K. M. Johnson, *Chemoecology* **2002**, 12, 99.
- [18] L. B. Bjostad, W. L. Roelofs, *Science* **1983**, 220, 1387.
- [19] K. F. Haynes, *J. Chem. Ecol.* **1990**, 16, 2615.
- [20] J. Zhu, K. F. Haynes, *J. Chem. Ecol.* **2004**, 30, 2047.
- [21] A. M. Schaner, R. J. Bartelt, L. L. Jackson, *J. Chem. Ecol.* **1987**, 13, 1777.
- [22] K. F. Haynes, K. V. Yeargan, J. G. Millar, B. B. Chastain, *J. Chem. Ecol.* **1996**, 22, 75.
- [23] R. A. Allan, M. A. Elgar, R. J. Capon, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **1996**, 263, 69.
- [24] W. G. Eberhard, *Science* **1977**, 198, 1173.
- [25] a) S. Schulz, S. Toft, *Tetrahedron* **1993**, 49, 6805; b) M. Trabalon, A. G. Bagnères, N. Hartmann, A. M. Vallet, *Insect Biochem. Mol. Biol.* **1996**, 26, 77; c) A. G. Bagnères, M. Trabalon, G. J. Blomquist, S. Schulz, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1997**, 36, 295; d) M. Trabalon, A. G. Bagnères, C. Roland, *J. Chem. Ecol.* **1997**, 23, 747; e) O. Prouvost, M. Trabalon, M. Papke, S. Schulz, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1999**, 40, 194.
- [26] a) M. Trabalon, A. M. Bautz, M. Morinière, P. Porcheron, *Gen. Comp. Endocrinol.* **1992**, 88, 128; b) G. Pourie, M. Trabalon, *Gen. Comp. Endocrinol.* **2003**, 131, 250.
- [27] M. Trabalon, G. Pourie, N. Hartmann, *Insect Biochem. Mol. Biol.* **1998**, 28, 751.
- [28] M. Trabalon, J. Niogret, C. Legrand-Frossi, *Gen. Comp. Endocrinol.* **2005**, 144, 60.
- [29] F. Romer, W. Gnatzy, *Cell Tissue Res.* **1981**, 216, 449.
- [30] a) A. Butenandt, R. Beckmann, E. Hecker, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1961**, 324, 71; b) A. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1961**, 324, 84.
- [31] a) K. Mori, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1479; b) K. Mori, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 102; c) P. H. G. Zarbin, J. A. F. P. Villar, I. Marchi, J. Bergmann, A. R. M. Oliveira, *Curr. Org. Chem.* **2009**, 13, 299; d) J. Bergmann, J. A. F. P. Villar, M. F. Flores, P. H. G. Zarbin, *Curr. Org. Chem.* **2009**, 13, 683; e) J. Bergmann, A. Gonzalez, P. H. G. Zarbin, *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, 20, 1206; f) K. Mori, *Chemical Synthesis of Hormones, Pheromones, and Other Bioregulators*, Wiley, Chichester, **2010**, S. 299.
- [32] P. J. Watson, *Science* **1986**, 233, 219.
- [33] J. R. Aldrich, T. M. Barros, *J. Arachnol.* **1995**, 23, 212.
- [34] M. Papke, S. Schulz, H. Tichy, E. Gingl, R. Ehn, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 4517; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4339.
- [35] H. Tichy, E. Gingl, R. Ehn, M. Papke, S. Schulz, *J. Comp. Physiol. A* **2001**, 187, 75.
- [36] M. D. Papke, S. E. Riechert, S. Schulz, *Anim. Behav.* **2001**, 61, 877.
- [37] Y. Xiao, J. Zhang, S. Li, *J. Chem. Ecol.* **2009**, 35, 769.
- [38] S. P. Chinta, S. Goller, J. Lux, S. Funke, G. Uhl, S. Schulz, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 2077; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 2033.
- [39] E. Jerhot, J. A. Stoltz, M. C. B. Andrade, S. Schulz, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 2081; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 2037.
- [40] a) W. J. Tietjen, *J. Arachnol.* **1978**, 6, 197; b) C. W. Olive, *J. Arachnol.* **1982**, 10, 241; c) T. Miyashita, H. Hayashi, *J. Arachnol.* **1996**, 24, 9; d) L. E. Searcy, A. L. Rypstra, M. H. Persons, *J. Chem. Ecol.* **1999**, 25, 2527.
- [41] a) W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 2493; b) M. A. Adams, K. Nakanishi, W. C. Still, E. V. Arnold, J. Clardy, C. J.

- Persoons, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2495; c) S. L. Schreiber, C. Santini, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4038.
- [42] a) R. F. Foelix, I. W. Chuwang, *Tissue Cell* **1973**, *5*, 451; b) R. F. Foelix, I. W. Chuwang, *Tissue Cell* **1973**, *5*, 461.
- [43] K. Dumpert, *Experientia* **1978**, *34*, 754.
- [44] E. A. Seyfarth, F. G. Barth, *J. Comp. Physiol.* **1972**, *78*, 176.
- [45] R. Ehn, H. Tichy, *J. Comp. Physiol. A* **1994**, *174*, 345.
- [46] a) K. Sato, M. Pellegrino, T. Nakagawa, L. B. Vosshall, K. Touhara, *Nature* **2008**, *452*, 1002; b) D. Wicher, R. Schafer, R. Bauernfeind, M. C. Stensmyr, R. Heller, S. H. Heinemann, B. S. Hansson, *Nature* **2008**, *452*, 1007; c) R. Benton, K. S. Vannice, C. Gomez-Diaz, L. B. Vosshall, *Cell* **2009**, *136*, 149; d) U. B. Kaupp, *Nat. Rev. Neurosci.* **2010**, *11*, 188.
- [47] F. G. Fischer, H. Bohn, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1957**, *306*, 265.
- [48] a) N. Kawai, A. Niwa, T. Abe, *Brain Res.* **1982**, *247*, 169; b) T. Abe, N. Kawai, A. Miwa, *J. Physiol.* **1983**, *339*, 243; c) N. Kawai, S. Yamagishi, M. Saito, K. Furuya, *Brain Res.* **1983**, *278*, 346.
- [49] a) P. N. R. Usherwood, I. R. Duce, P. Boden, *J. Physiol.* **1984**, *79*, 241; b) A. Bateman, P. Boden, A. Dell, I. R. Duce, D. L. J. Quicke, P. N. R. Usherwood, *Brain Res.* **1985**, *339*, 237; c) P. N. R. Usherwood, I. R. Duce, *Neurotoxicology* **1985**, *6*, 239; d) P. B. Usmanov, D. Kalikulov, N. Shadyeva, B. A. Tashmukhamedov, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1983**, *273*, 1017.
- [50] a) M. Saito, N. Kawai, A. Miwa, H. Pan-Hou, M. Yoshioka, *Brain Res.* **1985**, *346*, 397; b) N. Akaike, N. Kawai, N. I. Kiskin, E. M. Kljuchko, O. A. Krishtal, A. Tsyndrenko, *Neurosci. Lett.* **1987**, *79*, 326; c) T. Priestley, G. N. Woodruff, J. A. Kemp, *Br. J. Pharmacol.* **1989**, *97*, 1315.
- [51] S. F. Traynelis, L. P. Wollmuth, C. J. McBain, F. S. Menniti, K. M. Vance, K. K. Ogden, K. B. Hansen, H. Yuan, S. J. Myers, R. Dingledine, *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 405.
- [52] a) S. A. Lipton, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 803; b) K. M. Cosman, L. L. Boyle, A. P. Porsteinsson, *Expert Opin. Pharmacother.* **2007**, *8*, 203.
- [53] M. E. Adams, R. L. Carney, F. E. Enderlin, E. T. Fu, M. A. Jarema, J. P. Li, C. A. Miller, D. A. Schooley, M. J. Shapiro, V. J. Venema, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *148*, 678.
- [54] E. V. Grishin, T. M. Volkova, A. S. Arseniev, *Toxicon* **1989**, *27*, 541.
- [55] Y. Aramaki, T. Yasuhara, T. Higashijima, A. Miwa, N. Kawai, T. Nakajima, *Biomed. Res.* **1987**, *8*, 167.
- [56] Y. Aramaki, T. Yasuhara, K. Shimazaki, N. Kawai, T. Nakajima, *Biomed. Res.* **1987**, *8*, 241.
- [57] a) T. Teshima, T. Wakamiya, Y. Aramaki, T. Nakajima, N. Kawai, T. Shiba, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3509; b) Y. Hashimoto, Y. Endo, K. Shudo, Y. Aramaki, N. Kawai, T. Nakajima, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3511.
- [58] T. Chiba, T. Akizawa, M. Matsukawa, H. Panhou, M. Yoshioka, *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 1864.
- [59] a) T. Fujita, Y. Itagaki, H. Naoki, T. Nakajima, K. Hagiwara, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 365; b) T. Fujita, Y. Itagaki, M. Hisaka, H. Naoki, T. Nakajima, M. Andriantsiferana, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, *11*, 1115; c) Y. Itagaki, H. Naoki, T. Fujita, M. Hisada, T. Nakajima, *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1997**, *117*, 715.
- [60] a) M. Hisada, T. Fujita, H. Naoki, Y. Itagaki, H. Irie, M. Miyashita, T. Nakajima, *Toxicon* **1998**, *36*, 1115; b) M. S. Palma, Y. Itagaki, T. Fujita, H. Naoki, T. Nakajima, *Toxicon* **1998**, *36*, 485.
- [61] Y. Itagaki, T. Nakajima, *J. Toxicol. Toxin Rev.* **2000**, *19*, 23.
- [62] a) W. S. Skinner, M. E. Adams, G. B. Quistad, H. Kataoka, B. J. Cesarin, F. E. Enderlin, D. A. Schooley, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 2150; b) M. E. Adams, E. E. Herold, V. J. Venema, *J. Comp. Physiol. A* **1989**, *164*, 333.
- [63] B. M. Olivera, J. Rivier, J. K. Scott, D. R. Hillyard, L. J. Cruz, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 22067.
- [64] a) V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, K. J. Rosnack, N. A. Saccomano, J. G. Stroh, R. A. Volkmann, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6696; b) G. B. Quistad, S. Suwanrumpha, M. A. Jarema, M. J. Shapiro, W. S. Skinner, G. C. Jamieson, A. Lui, E. W. Fu, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *169*, 51.
- [65] V. J. Jasys, P. R. Kelbaugh, D. M. Nason, D. Phillips, K. J. Rosnack, J. T. Forman, N. A. Saccomano, J. G. Stroh, R. A. Volkmann, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1814.
- [66] G. B. Quistad, C. C. Reuter, W. S. Skinner, P. A. Dennis, S. Suwanrumpha, E. W. Fu, *Toxicon* **1991**, *29*, 329.
- [67] N. Manov, M. Tzouros, S. Chesnov, L. Bigler, S. Bienz, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 2827.
- [68] K. D. McCormick, K. Kobayashi, S. M. Goldin, N. L. Reddy, J. Meinwald, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 11155.
- [69] A. T. Eldefrawi, M. E. Eldefrawi, K. Konno, N. A. Mansour, K. Nakanishi, E. Oltz, P. N. R. Usherwood, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 4910.
- [70] C. A. Olsen, M. Witt, H. Franzyk, J. W. Jaroszewski, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 405.
- [71] a) V. Kuksa, R. Buchan, P. K. T. Lin, *Synthesis* **2000**, 1189; b) G. Karigiannis, D. Papaioannou, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1841.
- [72] B. W. Bycroft, W. C. Chan, N. D. Hone, S. Millington, I. A. Nash, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7415.
- [73] C. A. Olsen, H. Franzyk, J. W. Jaroszewski, *Synthesis* **2005**, 2631.
- [74] a) P. Wellendorph, J. W. Jaroszewski, S. H. Hansen, H. Franzyk, *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 1117; b) A. Nilsen, P. M. England, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4902.
- [75] a) K. Strømgaard, T. J. Brier, K. Andersen, I. R. Mellor, A. Saghyian, D. Tikhonov, P. N. R. Usherwood, P. Krogsgaard-Larsen, J. W. Jaroszewski, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4526; b) H. Kromann, S. Krikstolaityte, A. J. Andersen, K. Andersen, P. Krogsgaard-Larsen, J. W. Jaroszewski, J. Egebjerg, K. Strømgaard, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5745; c) T. F. Andersen, D. B. Tikhonov, U. Bølcho, K. Bolshakov, J. K. Nelson, F. Pluteanu, I. R. Mellor, J. Egebjerg, K. Strømgaard, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5414; d) L. S. Jensen, U. Bølcho, J. Egebjerg, K. Strømgaard, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 419; e) M. R. Jørgensen, C. A. Olsen, I. R. Mellor, P. N. Usherwood, M. Witt, H. Franzyk, J. W. Jaroszewski, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 56; f) S. Frølund, A. Bella, A. S. Kristensen, H. L. Ziegler, M. Witt, C. A. Olsen, K. Strømgaard, H. Franzyk, J. W. Jaroszewski, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7441.
- [76] a) T. Fukuyama, C. K. Jow, M. Cheung, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373; b) T. Fukuyama, M. Cheung, C. K. Jow, Y. Hidai, T. Kan, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5831.
- [77] a) K. Strømgaard, K. Andersen, T. Ruhland, P. Krogsgaard-Larsen, J. W. Jaroszewski, *Synthesis* **2001**, 877; b) C. A. Olsen, M. Witt, J. W. Jaroszewski, H. Franzyk, *Synlett* **2004**, 473; c) S. R. Chhabra, A. N. Khan, B. W. Bycroft, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1099; d) N. D. Hone, L. J. Payne, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6149.
- [78] C. A. Olsen, M. Witt, S. H. Hansen, J. W. Jaroszewski, H. Franzyk, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6046.
- [79] Y. Hidai, T. Kan, T. Fukuyama, *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1570.
- [80] F. Wang, S. Manku, D. G. Hall, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1581.
- [81] H. C. Brown, P. Heim, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3566.
- [82] S. J. Paikoff, T. E. Wilson, C. Y. Cho, P. G. Schultz, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5653.
- [83] C. A. Olsen, M. Witt, J. W. Jaroszewski, H. Franzyk, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6149.
- [84] N. Manov, S. Bienz, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7893.
- [85] M. Meret, S. Bienz, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5518.

- [86] J. K. Nelson, S. U. Frølund, D. B. Tikhonov, A. S. Kristensen, K. Strømgaard, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3133; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3087.
- [87] C. A. Olsen, M. R. Jørgensen, S. H. Hansen, M. Witt, J. W. Jaroszewski, H. Franzyk, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1703.
- [88] M. Raditsch, J. P. Ruppertsberg, T. Kuner, W. Gunther, R. Schoepfer, P. H. Seeburg, W. Jahn, V. Witzemann, *FEBS Lett.* **1993**, *324*, 63.
- [89] a) K. Hagiwara, Y. Aramaki, K. Shimazaki, N. Kawai, T. Nakajima, *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 1233; b) K. Shimazaki, K. Hagiwara, Y. Hirata, T. Nakajima, N. Kawai, *Neurosci. Lett.* **1988**, *84*, 173.
- [90] R. A. Goodnow, R. Bukownik, K. Nakanishi, P. N. R. Usherwood, A. T. Eldefrawi, N. A. Anis, M. E. Eldefrawi, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2389.
- [91] a) S.-K. Choi, A. G. Kalivretanos, P. N. R. Usherwood, K. Nakanishi, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 23; b) K. Fang, M. Hashimoto, S. Jockusch, N. J. Turro, K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8543.
- [92] T. Nishimaru, M. Sano, Y. Yamaguchi, T. Wakamiya, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 57.
- [93] a) H. Jackson, P. N. Usherwood, *Trends Neurosci.* **1988**, *11*, 278; b) H. Jackson, T. N. Parks, *Annu. Rev. Neurosci.* **1989**, *12*, 405; c) N. Kawai, A. Miwa, K. Shimazaki, Y. Sahara, H. P. Robinson, T. Nakajima, *Comp. Biochem. Physiol. Part C* **1991**, *98*, 87.
- [94] S. D. Donevan, M. A. Rogawski, *Neuroscience* **1996**, *70*, 361.
- [95] D. B. Tikhonov, *Mol. Membr. Biol.* **2007**, *24*, 135.
- [96] a) A. Draguhn, W. Jahn, V. Witzemann, *Neurosci. Lett.* **1991**, *132*, 187; b) A. L. Mueller, B. C. Albeni, A. H. Ganong, L. S. Reynolds, H. Jackson, *Synapse* **1991**, *9*, 244; c) T. N. Parks, A. L. Mueller, L. D. Artman, B. C. Albeni, E. F. Nemeth, H. Jackson, V. J. Jasys, N. A. Saccomano, R. A. Volkmann, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 21523.
- [97] M. Koike, M. Iino, S. Ozawa, *Neurosci. Res.* **1997**, *29*, 27.
- [98] R. J. Lewis, M. L. Garcia, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 790.
- [99] P. Escoubas, L. Rash, *Toxicon* **2004**, *43*, 555.
- [100] K. J. Swartz, *Toxicon* **2007**, *49*, 213.
- [101] K. J. Swartz, *Nature* **2008**, *456*, 891.
- [102] L. R. Phillips, M. Milescu, Y. Li-Smerin, J. A. Mindell, J. I. Kim, K. J. Swartz, *Nature* **2005**, *436*, 857.
- [103] J. Siemens, S. Zhou, R. Piskorski, T. Nikai, E. A. Lumpkin, A. I. Basbaum, D. King, D. Julius, *Nature* **2006**, *444*, 208.
- [104] H. Takahashi, J. I. Kim, H. J. Min, K. Sato, K. J. Swartz, I. Shimada, *J. Mol. Biol.* **2000**, *297*, 771.
- [105] C. W. Lee, S. Kim, S. H. Roh, H. Endoh, Y. Kadera, T. Maeda, T. Kohno, J. M. Wang, K. J. Swartz, J. I. Kim, *Biochemistry* **2004**, *43*, 890.
- [106] M. D. Reily, V. Thanabal, M. E. Adams, *J. Biomol. NMR* **1995**, *5*, 122.
- [107] D. O. Omecinsky, K. E. Holub, M. E. Adams, M. D. Reily, *Biochemistry* **1996**, *35*, 2836.