



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Untersuchung der anxiolytischen Wirkung
ausgewählter GABA_A-Liganden anhand
verhaltenspharmakologischer Experimente

Verfasserin

Maria Magdalena Müllner

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreuerin / Betreuer: Univ. Prof. Dr. Steffen Hering

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Danksagung.....	6
1. Einleitung.....	8
1.1 γ -Aminobuttersäure (GABA).....	8
1.2 GABA _A -Rezeptoren	10
1.2.1 Struktur von GABA _A -Rezeptoren	10
1.2.2 GABA _A -Rezeptor-Untereinheiten	11
1.2.3 Die GABA-Bindungsstelle am GABA _A -Rezeptor	14
1.2.4 Gating.....	16
1.2.5 Phasische und tonische Inhibition.....	17
1.2.6 Erkrankungen.....	17
1.2.6.1 Angststörungen	18
1.2.6.2 Depressionen.....	22
1.2.6.3 Epilepsie	23
1.2.6.4 Schizophrenie	23
1.2.6.5 Schlafstörungen.....	24
1.2.7 Liganden am GABA _A -Rezeptor.....	25
1.2.7.1 Benzodiazepine	26
1.2.7.2 Z-Drugs	29
1.2.7.3 Barbiturate	31
1.2.7.4 Anästhetika	33
1.2.7.5 Neurosteroide	37
1.2.7.6 Ethanol	39
1.3 GABA _B -Rezeptoren.....	42
2. Problemstellung und Zielsetzung	48
3. Methoden	50
3.1 Injektionslösungen.....	50
3.2 Elevated-Plus-Maze Test (EPM).....	50

3.3	Open-Field-Test (OF).....	51
3.4	Light-Dark-Choice-Test (LDT).....	52
3.5	Statistische Analyse der Daten	53
4.	Ergebnisse.....	54
4.1	Untersuchung der Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM	54
4.1.1	Untersuchung der Effekte von LJS-0-Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 15 Minuten nach i.p. Applikation.....	54
4.1.2	Untersuchung der Effekte von LJS-0 und –Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 30 Minuten nach i.p. Applikation.....	56
4.1.3	Untersuchung der Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 60 Minuten nach i.p. Applikation.....	58
4.2	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	60
4.2.1	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	60
4.2.2	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-5 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	62
4.2.3	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-6 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	64
4.2.4	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-7 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	66
4.2.5	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-8 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	68
4.2.6	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-9 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	70
4.2.7	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-10 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	72
4.2.8	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-11 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	74
4.2.9	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-12 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	76
4.2.10	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-13 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	78

4.2.11	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-14 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	80
4.2.12	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-15 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF	82
4.3	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT	84
4.3.1	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT	84
4.3.2	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-6 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT	86
4.3.3	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-13 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT	88
4.3.4	Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-15 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT	90
5.	Diskussion	94
6.	Zusammenfassung	102
7.	Abstract	104
8.	Lebenslauf	106
	Literaturverzeichnis	108

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Univ. Prof. Dr. Steffen Hering für die Bereitstellung des Themas, die kompetente Betreuung und für die Möglichkeit meine Diplomarbeit am Department für Pharmakologie und Toxikologie zu schreiben, bedanken.

Ein großer Dank gilt auch Dr. Sophia Khom, unter deren Anleitung die hier beschriebenen Versuche durchgeführt wurden und die mir auch beim Verfassen meiner Arbeit, bei der Auswertung der Ergebnisse und Erstellung der Abbildungen mit Rat und Tat zur Seite gestanden ist.

Weiters möchte ich mich bei Mag. Juliane Hintersteiner bedanken, mit der ich einen großen Teil der praktischen Arbeiten erledigt habe und die immer ein offenes Ohr bei Problemen jeglicher Art für mich hat.

Für die Unterstützung, den Rückhalt und die schönen Stunden während des Studiums möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken. Ohne sie wäre die Zeit in Wien nicht dieselbe gewesen.

Ein besonders großes und herzliches Dankeschön gilt meiner Familie: meinen Eltern, da sie mir immer ein gemütliches und liebevolles Zuhause geboten haben und mich in allen Lebenslagen unterstützen; meinem Bruder, auf den ich mich immer verlassen kann; meinem Freund, der immer zu und hinter mir steht.

DANKE!

1. Einleitung

1.1 γ -Aminobuttersäure (GABA)

γ -Aminobuttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter (Olsen und Sieghart, 2009; Hood et al., 2012) und interagiert mit mindestens 40 % der inhibitorischen Synapsen des Säugergehirns (Gos et al., 2012).

GABA spielt als Neurotransmitter bei sehr vielen physiologischen und psychologischen Prozessen eine bedeutende Rolle, wobei die Effekte grundsätzlich über zwei Arten von GABA-Rezeptoren vermittelt werden: einerseits über die ionotropen GABA_A- und GABA_C-Rezeptoren, die ligandengesteuerte Cl⁻-Kanäle sind, andererseits über die metabotropen GABA_B-Rezeptoren, deren Reizweiterleitung mit Hilfe von K⁺- und Ca⁺-Kanäle erfolgt. (Cryan und Kaupmann, 2005; Bowery und Smart, 2006). Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass vielen Erkrankungen wie zum Beispiel Angst- und Schlafstörungen, Epilepsie und chronischem Schmerz ein Mangel an GABAergen Signalen zu Grunde liegt (Bowery und Smart, 2006; Sałat et al., 2012)

GABA wird in GABAergen Neuronen mithilfe des Enzyms Glutamatdecarboxylase (GAD), das in den zwei Isoformen GAD-65 und GAD-67 vorkommt, aus Glutamat hergestellt (Karolewicz et al., 2010; Conti et al., 2011; Buddhala et al., 2012). Beide Isoformen sind in den meisten GABAergen Neuronen präsent, weisen aber unterschiedliche Aktivität auf. Während vorübergehend aktivierte GAD-65 in Membranen und Nervenendigungen vorkommt, ist die konstitutiv aktive GAD-67 in den Zellen weiter verbreitet (Gos et al., 2012).

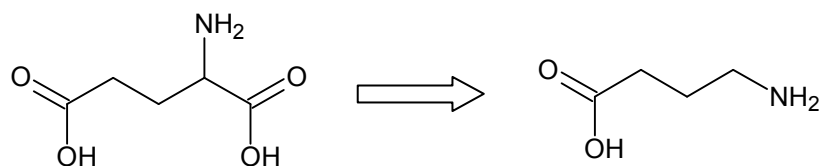


Abbildung 1: Umsetzung von Glutamat zu GABA.

Nach der Synthese wird GABA in kleine synaptische Vesikel „verpackt“. Kommt es zum Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration, werden diese Vesikel exocytotiert und GABA in den synaptischen Spalt freigesetzt (Leng und Ludwig, 2008; Schöne und Burdakov, 2012). An der postsynaptischen Membran kann der Neurotransmitter von Rezeptoren gebunden werden, wodurch es zu einem vermehrten Cl^- -Einstrom in die Zelle kommt (Marowsky et al., 2012). Prinzipiell ist der Kanal auch für andere Anionen wie HCO_3^- permeabel, jedoch in viel geringerem Ausmaß. Der intrazelluläre Anstieg der Cl^- -Ionen führt nun zu einer Hyperpolarisation, wodurch es zur, durch den GABA_A -Rezeptor vermittelten, synaptischen Inhibition kommt. Diese kann sowohl in prä- als auch postsynaptischen Zellen auftreten (Owens und Kriegstein, 2002).

Um GABA wieder aus dem synaptischen Spalt zu entfernen, sorgt der GABA-Transporter (GAT) für die Wiederaufnahme in die Zelle (Doengi et al., 2009). Anschließend wird GABA intrazellulär über den Tricarbonsäurezyklus mit Hilfe der GABA-Transaminase (GABA-T) und der Succinat-Semialdehyd-Dehydrogenase in ein α -Ketoglutarat übergeführt, das in weiterer Folge zur Glutaminsäure und schließlich zum Glutamat abgebaut wird (Owens und Kriegstein, 2002; Conti et al., 2011).

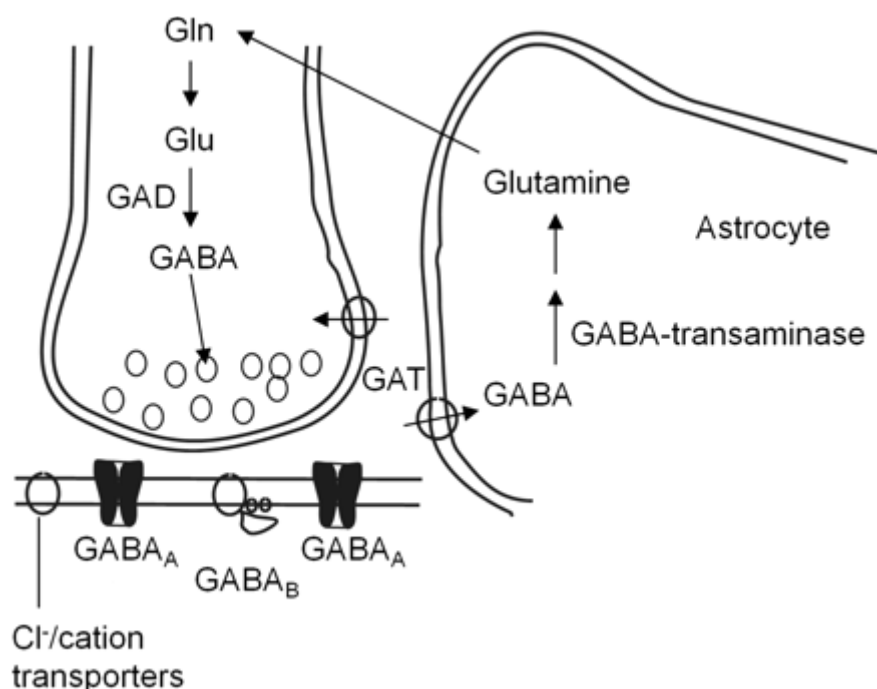


Abbildung 2: Schema einer GABAergen Synapse mit Synthese und Metabolismus der GABA sowie GABA-Rezeptoren und -Transportern (Uusi-Oukari und Korpi, 2010).

1.2 GABA_A-Rezeptoren

1.2.1 Struktur von GABA_A-Rezeptoren

GABA_A-Rezeptoren gehören zur Superfamilie der Cys-Loop-Pentamere. Zu diesen ligandengesteuerten Ionenkanälen zählen auch nikotinische Acetylcholin-Rezeptoren, Glycin-Rezeptoren, ionotrope Serotonin-3-Rezeptoren und Zn²⁺-aktivierte Ionenkanäle. (Olsen und Sieghart, 2008, 2009).

Die GABA_A-Rezeptoren können in drei Domänen unterteilt werden: Erstens die große extrazelluläre Domäne, auf der sich die Bindungsstellen sowohl für den natürlichen Agonisten GABA als auch für klinisch relevante Wirkstoffe wie die Benzodiazepine befinden. Zweitens die transmembranäre Domäne, die den Ionenkanal formt und eine intrahelicale, hydrophobe Tasche aufweist, die für die Interaktion mit intravenös verabreichten Anästhetika wichtig ist. Drittens die intrazelluläre Domäne, die die Ionenportale beinhaltet (Mokrab et al., 2007).

Cys-Loop-Rezeptoren bestehen aus fünf Untereinheiten, die um die Kanalpore angeordnet sind. (Connolly und Wafford, 2004; Ernst et al., 2005). Jede Untereinheit besteht aus einer langen N-terminalen, extrazellulären, hydrophilen Region, die aus zehn β -Strängen zusammengesetzt ist. Dabei bilden die Stränge 1, 2, 3, 5, 6 und 8 den äußeren und die Stränge 4, 7, 9 und 10 den inneren β -sheet, die aber miteinander in Kontakt stehen. Anschließend folgen vier transmembranäre α -Helices (M1-4). Im Bereich der Grenzfläche zwischen der extrazellulären Domäne und den transmembranären Helices befinden sich vier Loops, wobei der Cys-Loop, Loop 2, die prä-M1-Region und der M2-M3-Loop besonders gut untersucht sind. Den Abschluss jeder Untereinheit bildet dann der relativ kurze extrazelluläre C-Terminus (Cederholm et al., 2009; Olsen und Sieghart, 2009).

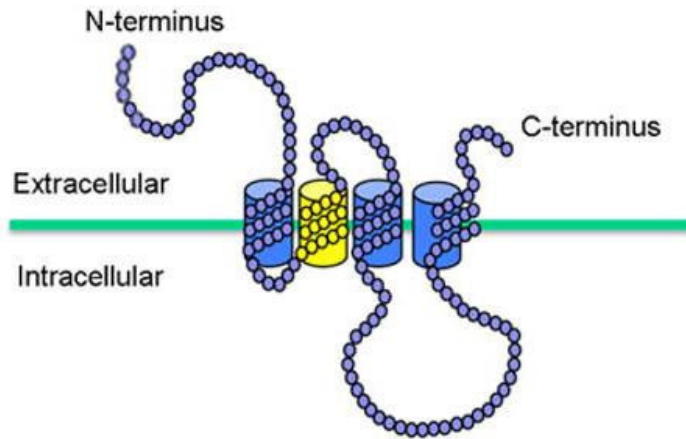


Abbildung 3: Anordnung der vier transmembranären Sequenzen einer Untereinheit des GABA_A-Rezeptors. M1, M3 und M4 sind blau und M2 gelb dargestellt (Charych et al., 2009).

Der Ionenkanal des GABA_A-Rezeptors wird aus den M2-Domänen der fünf Untereinheiten geformt (Olsen und Sieghart, 2009). Die Selektivität der Pore hingegen wird durch andere Bereiche bestimmt. Grundsätzlich ist es nämlich sowohl Anionen als auch Kationen möglich das extrazelluläre Ende der Pore zu erreichen. Der Selektivitätsfilter beginnt erst auf der zytoplasmatischen Seite der transmembranären Pore und reicht weiter bis in den kurzen zytoplasmatischen Loop zwischen M1 und M2 hinein (Connolly und Wafford, 2004).

1.2.2 GABA_A-Rezeptor-Untereinheiten

Grundsätzlich sind 19 Gene bekannt, die für unterschiedliche Klassen von Untereinheiten des GABA-Rezeptors codieren (Olsen und Sieghart, 2008): α 1–6, β 1–3, γ 1–3, ρ 1–3, δ , ϵ , θ , π . Untersuchungen haben gezeigt, dass α - und β -Untereinheiten mit den meisten anderen Untereinheiten kombinierbar sind beziehungsweise auch zwei unterschiedliche α - gemeinsam mit zwei unterschiedlichen β -Untereinheiten in einem GABA_A-Rezeptor vorkommen können. Im Gegensatz dazu kann eine γ -Untereinheit weder mit einer weiteren γ -Untereinheit, noch mit einer δ -Untereinheit kombiniert werden (Olsen und Sieghart, 2009). Daraus ergibt sich, dass die meisten GABA_A-Rezeptoren aus α -, β - und γ -Untereinheiten im Verhältnis 2:2:1 zusammengesetzt sind

(Benke et al., 2004; Olsen und Sieghart, 2008). Sie sind entgegen dem Uhrzeigersinn aus Sicht des synaptischen Spalts $\gamma\beta\alpha\beta\alpha$ angeordnet (Lüscher et al., 2012).

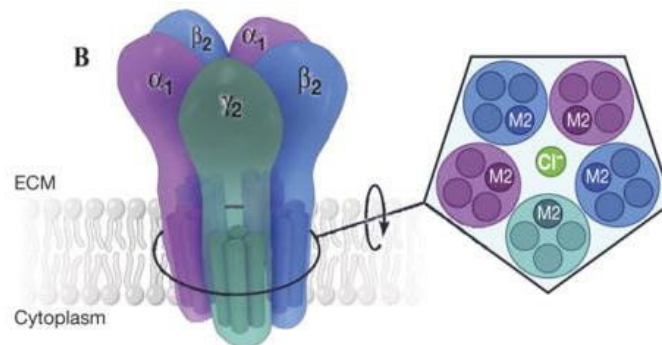


Abbildung 4: Ein typischer GABA_A-Kanal, der aus zwei α -, zwei β - und einer γ -Untereinheit besteht und deren M2-Domänen die für Cl^- -Ionen durchlässige Pore formen (Meldrum und Rogawski, 2007).

Die zahlreichen Kombinationsmöglichkeiten der diversen Untereinheiten und die daraus resultierende Heterogenität der Struktur sind somit für das pharmakologische Profil der GABA_A-Rezeptoren verantwortlich (Olsen und Sieghart, 2009).

Während manche Untereinheiten in nahezu allen Bereichen des Gehirns vorkommen, sind andere wiederum nur in bestimmten Gehirnabschnitten zu finden (Uusi-Oukari und Korpi, 2010).

Die $\alpha 1$ -Untereinheit ist die am weitesten verbreitete und kommt somit in fast allen Gehirnregionen vor (Olsen und Sieghart, 2008; Uusi-Oukari und Korpi, 2010; Hörtnagl et al., 2013).

Im Gegensatz dazu ist die $\alpha 2$ -Untereinheit seltener zu finden. Sie kommt unter anderem im Bulbus olfactorius, im CA3-Bereich des Hippocampus, in der zentralen und lateralen Amygdala, im Septum, im Striatum und im Hypothalamus vor.

Im Bereich des Bulbus olfactorius, der inneren Schichten des zerebralen Cortex, der Amygdala, dem lateralen Septum, dem Claustrum und des Colliculus superior ist die $\alpha 3$ -Untereinheit zu finden (Pirker et al., 2000), wobei sie vor allem von monoaminergen Neuronen exprimiert wird (Uusi-Oukari und Korpi, 2010).

α 4-Untereinheiten kommen am häufigsten im Thalamus, Striatum, Nucleus accumbens und im Tuberculum olfactorium, seltener im zerebralen Cortex, Septum und CA1-Sektor des Hippocampus vor.

Die α 5-Untereinheit ist unter anderem im Bulbus olfactorius, den inneren Schichten des zerebralen Cortex, in Teilen des Hippocampus und des Hypothalamus lokalisiert (Pirker et al., 2000).

Das Vorkommen der α 6-Untereinheit beschränkt sich auf die Granularzellen des Zerebellums und die Nuclei cochleares (Uusi-Oukari und Korpi, 2010).

Unter den β -Untereinheiten ist β 1 die am seltensten und β 2 die am häufigsten vorkommende. Die β 3-Untereinheit wird ebenfalls oft exprimiert (Olsen und Sieghart, 2008). Grundsätzlich sind alle drei β -Untereinheiten im Gehirn weit verbreitet, wobei sie besonders häufig im zerebralen Cortex zu finden sind (Uusi-Oukari und Korpi, 2010; Hörtnagl et al., 2013).

In der Gruppe der γ -Untereinheiten, kommt γ 2 am häufigsten vor. Hohe Konzentrationen dieser Untereinheit sind in weiten Teilen des Gehirns mit Ausnahme des Thalamus zu finden. Im Vergleich dazu ist die γ 1-Untereinheit weniger weit verbreitet. Sie kommt vor allem im Pallidum, der Substantia nigra und im Septum vor. Die γ 3-Untereinheit ist ähnlich der γ 1-Untereinheit im gesamten Gehirn zu finden, jedoch in geringerer Konzentration (Pirker et al., 2000).

Die δ -Untereinheit kommt häufig gemeinsam mit der α 4-Untereinheit in GABA_A-Rezeptoren des Thalamus, des Striatum und der äußeren Schichten des Cortex vor. Im Zerebellum hingegen ist die δ -Untereinheit mit der α 6-Untereinheit co-lokalisiert (Olsen und Sieghart, 2009; Sigel et al., 2009). GABA_A-Rezeptoren, die eine δ -Untereinheit besitzen, kommen ausschließlich extrasynaptisch vor und können durch Neurosteroiden moduliert werden (Sigel et al., 2011). Jedoch enthalten nicht alle extrasynaptischen GABA_A-Rezeptoren eine δ -Untereinheit (Belelli et al., 2009).

Die ρ -Untereinheiten werden vorwiegend in der Retina exprimiert, obwohl die dafür codierende mRNA auch in gewissen Teilen des Gehirns gefunden werden konnte. Diese Untereinheiten sind Bestandteil von sogenannten GABA_C-Rezeptoren, ebenfalls ligandengesteuerte Ionenkanäle, die zur Gruppe der GABA_A-Rezeptoren gezählt werden (Pirker et al., 2000; Olsen und Sieghart, 2009).

Table 1
GABA_A receptor list 2008

A. Identified			
$\alpha 1\beta 2\gamma 2$	$\alpha 4\beta\gamma 2$	$\alpha 5\beta\gamma 2$	$\alpha 6\beta 3\delta$
$\alpha 2\beta\gamma 2$	$\alpha 4\beta 2\delta$	$\alpha 6\beta\gamma 2$	ρ
$\alpha 3\beta\gamma 2$	$\alpha 4\beta 3\delta$	$\alpha 6\beta 2\delta$	
B. Existence with high probability			
$\alpha 1\beta 3\gamma 2$	$\alpha 5\beta 3\gamma 2$	$\alpha\beta$	
$\alpha 1\beta\delta$	$\alpha\beta 1\gamma/\alpha\beta 1\delta$	$\alpha 1\alpha 6\beta\gamma/\alpha 1\alpha 6\beta\delta$	
C. Tentative			
$\rho 1$	$\alpha\beta\gamma 1$	$\alpha\beta\theta$	
$\rho 2$	$\alpha\beta\gamma 3$	$\alpha\beta\pi$	
$\rho 3$	$\alpha\beta\epsilon$	$\alpha\alpha\gamma\beta\gamma 2$	

Abbildung 5: Liste von möglichen Kombinationen der Untereinheiten des GABA_A-Rezeptors (Olsen und Sieghart, 2009).

1.2.3 Die GABA-Bindungsstelle am GABA_A-Rezeptor

Die Bindungsstelle für GABA befindet sich am GABA_A-Rezeptor zwischen der α - und der β -Untereinheit. Daraus ergibt sich, dass bei jenen Rezeptoren, die aus zwei α -, zwei β - und einer γ -Untereinheit bestehen, zwei Bindungsstellen vorhanden sind (Baumann et al., 2003; Jansen et al., 2008; Hanson und Czajkowski, 2011).

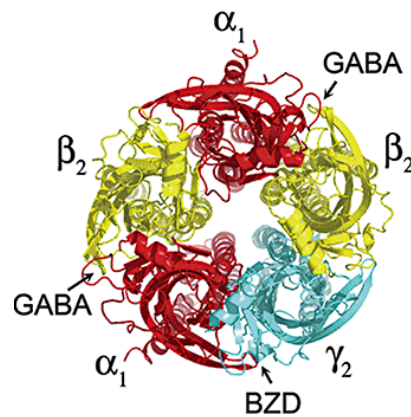


Abbildung 6: Der GABA_A-Rezeptor mit den Bindungsstellen für GABA und Benzodiazepine (BZD) (Hanson und Czajkowski, 2011).

Die GABA-Bindungsstelle zwischen der α - und der β -Untereinheit wird durch viele Bindungstaschen-Segmente gebildet, die als „Loops A-F“ bezeichnet werden (Cederholm et al., 2009). Für die GABA-Rezeptor-Interaktion haben sich diverse Aminosäuren als essentiell erwiesen:

An der α_1 -Untereinheit spielen Phe⁶⁴, Arg⁶⁶, Ser⁶⁸ (Loop D), Arg¹¹⁹ und Ile¹²⁰ (Loop E) eine entscheidende Rolle (Wagner und Czajkowski, 2001; Boileau et al., 2002). Untersuchungen von Newell und Czajkowski legen nahe, dass die Aminosäuren Val¹⁷⁸, Val¹⁸⁰ und Asp¹⁸³, die Teil des Loop F sind, ebenfalls an der Bildung der Bindungstasche beteiligt sind (Newell und Czajkowski, 2003).

An der β_2 -Untereinheit sind Tyr¹⁵⁷, Thr¹⁶⁰ (Loop B), Thr²⁰², Ser²⁰⁴, Tyr²⁰⁵, Arg²⁰⁷, und Ser²⁰⁹ (Loop C) unerlässlich für die Bindung von GABA am Rezeptor (Wagner und Czajkowski, 2001; Boileau et al., 2002). Der Abschnitt zwischen Trp⁹²-Asp¹⁰¹ (Loop A) an der β_2 -Untereinheit scheint hingegen nicht für die Gestaltung der Bindungstasche verantwortlich zu sein (Boileau et al., 2002). Ebenso wenig die Aminosäuren Phe²⁰⁰, Ser²⁰¹, Thre²⁰² und Gly²⁰³ (Loop C). Letztere beeinflussen jedoch die GABA-Affinität des Rezeptors (Wagner und Czajkowski, 2001).

1.2.4 Gating

Das Binden eines Neurotransmitters an eine extrazelluläre Domäne und die damit verbundene Öffnung des Ionenkanals durch Veränderungen im Bereich der transmembranären sowie intrazellulären Domänen wird als „Gating“ bezeichnet (Connolly und Wafford, 2004; Keramidas et al., 2006). An diesem Prozess können jedoch andere Aminosäuren beziehungsweise deren Reste beteiligt sein als beim Binden der GABA an ihren Rezeptor (Newell und Czajkowski, 2003). Momentan wird davon ausgegangen, dass nach der initialen Bindung von GABA die Bindungsstelle eine Konformationsänderung erfährt, die sich entlang der longitudinalen Achse über die extrazellulären bis hin zu den transmembranären Domänen ausbreitet und in einem Ioneneinstrom resultiert (Connolly und Wafford, 2004; Keramidas et al., 2006).

Die größte Veränderung beim Gating erfährt Loop C, der sich zwischen den β -Strängen 9 und 10 befindet und mit M1 über β -Strang 10 in Verbindung steht. So legt sich Loop C nach dem Binden des Liganden an die Bindungsstelle über diesen und führt somit auch zur Neuorganisation der M1-Region und in weiterer Folge auch der M2- und M3-Segmente (Cederholm et al., 2009). Besonders der Bereich der kurzen extrazellulären Domäne zwischen den letzten beiden Segmenten nimmt eine Schlüsselrolle beim Gating-Mechanismus ein. Untersuchungen haben gezeigt, dass wahrscheinlich ein geladener Rest nahe der Membran zwischen M2 und M3 der $\alpha 1$ -Untereinheit hierfür verantwortlich ist (Carland et al., 2004; Connolly und Wafford, 2004). Weiters fand man heraus, dass es durch die Nähe dieser beiden Segmente zur Interaktion mit GABA im Verlauf des Gating-Prozesses kommt. An der $\beta 2$ -Untereinheit finden nach dem Binden von GABA ebenfalls einige strukturelle Veränderungen statt, die eine potentielle Wechselwirkung mit dem Cys-Loop beziehungsweise der prä-M1-Domäne ermöglichen (Connolly und Wafford, 2004).

Für ein effizientes Gating müssen am GABA_A-Rezeptor zwei Agonisten gebunden sein (Farrant und Nusser, 2005).

1.2.5 Phasische und tonische Inhibition

Prinzipiell werden zwei durch GABA vermittelte Effekte unterschieden: die tonische und die phasische Inhibition. Bei letzterer kommt es während des kurzfristigen, starken Anstiegs von GABA im synaptischen Spalt zur Aktivierung von postsynaptischen GABA_A-Rezeptoren und somit zur Weiterleitung des klassischen, inhibitorischen Effekts von GABA (Farrant und Nusser, 2005).

Im Gegensatz zur phasischen Inhibition wird die tonische Inhibition durch einen sogenannten „GABA-Spillover“ vermittelt (Farrant und Nusser, 2005; Belelli et al., 2009). Dabei werden extra- beziehungsweise perisynaptische Rezeptoren aktiviert, die eine langsame Desensibilisierung aufweisen (Belelli et al., 2009; Marowsky et al., 2012).

Auffällig ist auch, dass die tonische Inhibition in jenen Gehirnarealen stattfindet, in denen relativ seltene Untereinheiten exprimiert werden. Dazu zählen die $\alpha 4$ -, $\alpha 6$ - und die δ -Untereinheit (Belelli et al., 2009).

Typische Beispiele für extrasynaptische Rezeptoren, die die tonische Inhibition vermitteln, sind jene im Gyrus dentatus mit den Untereinheiten $\alpha 4$ und δ , solche in CA1 Pyramidenzellen mit $\alpha 5$ -Untereinheiten und Rezeptoren mit $\alpha 6$ - und δ -Untereinheiten im Cerebellum (Marowsky et al., 2012).

1.2.6 Erkrankungen

Im Zentralnervensystem eines gesunden Menschen herrscht grundsätzlich ein Gleichgewicht zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Impulsen. Wie oben bereits erwähnt, stellt GABA den wichtigsten inhibitorischen Neurotransmitter dar. Daraus folgt, dass Störungen im GABAergen System eine Reihe von Erkrankungen zur Folge haben können. So führt eine Dämpfung dieses Systems zu Erregung, Angst, Ruhelosigkeit, Schlaflosigkeit, Reizbarkeit bis hin zur Epilepsie (Möhler, 2006). Vor allem Mutationen im Bereich der GABA_A-Rezeptoren werden mit dem Angelmanns Syndrom, Epilepsie und Angst assoziiert (Connolly und Wafford, 2004). Neben GABAergen Dysfunktionen können jedoch auch Veränderungen im Bereich des serotoninergen, noradrenergen,

dopaminergen und glutamatergen Systems zu psychischen Erkrankungen, Angst und Epilepsie führen (Arida et al., 2012).

1.2.6.1 Angststörungen

Bei Angststörungen handelt es sich um Erkrankungen mit sehr hoher Prävalenz (Möhler, 2006). Angst kann als unangemessene, adaptive Reaktion auf eine drohende Gefahr beschrieben werden (Cryan und Kaupmann, 2005). Generell muss man zwischen Furcht und Angst unterscheiden: Bei Anzeichen von Gefahr sollen Furchtmechanismen einerseits die Aufmerksamkeit steigern und andererseits durch Einfluss auf die Verhaltensweise dazu führen, dass die Gefahr umgangen beziehungsweise ihr entflohen wird.

Angst hingegen ist mit der Risikoeinschätzung der potentiellen Gefahr verbunden, wobei Unsicherheit hinsichtlich des tatsächlichen Ausmaßes der Gefahr eine entscheidende Rolle spielt. Grundsätzlich geht der Zustand der Angst mit einem Gefühl des Unwohlseins sowie Reizbarkeit und grundlosen Sorgen einher. Ängstliche Menschen neigen dazu, vor allem furchteinflößenden Gedanken nachzuhängen, und empfinden Unklarheiten im emotionalen Bereich als angsteinflößend. Dadurch kommt es häufig zu den für Angststörungen typischen Verhaltensweisen, die im Wesentlichen darauf begründen, dass „Gefahren“ umgangen beziehungsweise vermieden werden sollen. Dies führt sehr häufig zu sozialer Abkapselung (Möhler, 2012).

Die neurobiologischen Ursachen von Angststörungen sind noch weitestgehend ungeklärt. Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass Veränderungen im Bereich der Amygdala, der Rinde des vorderen Gyrus cingulus, des Hippocampus und des medialen präfrontalen Cortex ursächlich sein könnten (Cryan und Kaupmann, 2005).

Aufgrund der pharmakologischen Effekte, die durch GABA vermittelt werden, scheint eine Störung des GABAergen Systems eine mögliche Ursache der Symptome von Angst zu sein (Möhler, 2006). Dies legen Untersuchungen mit GABA_A-Rezeptor-Antagonisten nahe, bei denen es zu gesteigerter Angst bei Mensch und Tier gekommen ist. Im Gegensatz dazu führte eine Steigerung der GABAergen Aktivität zu einer Verminderung des Angstgefühls (Malizia und Cunningham, 1998; Möhler, 2006).

Unter dem Begriff „Angststörungen“ sind mehrere psychische Erkrankungen zusammengefasst (Cryan und Kaupmann, 2005):

- generalisierte Angststörungen
- obsessiv-zwanghafte Störungen
- Panikstörungen
- posttraumatische Belastungsstörungen
- soziale Phobien
- spezifische Phobien

Generalisierte Angststörungen:

Generalisierte Angststörungen sind charakterisiert durch über einen längeren Zeitraum (zumindest über sechs Monate) hinweg auftretende Sorgen gemeinsam mit diversen mentalen und somatischen Symptomen (Hoffman et al., 2008). Dazu gehören unter anderem exzessive Angst und Sorgen, Probleme die Sorgen zu kontrollieren, Ruhelosigkeit, Langeweile, Konzentrationsschwäche, erhöhte Muskelspannung und Schlafstörungen (Hoffman und Mathew, 2008). Bei 5,7 % der Bevölkerung tritt die Erkrankung im Laufe des Lebens auf und ist somit die häufigste Form von Angststörungen. Zusätzlich erkrankt ein Großteil der Betroffenen noch an mindestens einer anderen mentalen Störung. Am häufigsten tritt die generalisierte Angststörung in Kombination mit Depressionen auf (Hoffman et al., 2008).

Obsessiv-zwanghafte Störungen

Obsessiv-zwanghafte Störungen sind durch wiederkehrende, eindringliche Gedanken und Bilder und/oder durch wiederholt ausgeführte, physische oder mentale Akte, die zur Angstreduktion führen sollen, gekennzeichnet. Daraus folgt, dass das klinische Bild äußerst heterogen ist und zwei Patienten zwar an ein und derselben Erkrankung leiden, jedoch eine völlig unterschiedliche Symptomatik aufweisen können (Bloch et al., 2008). Dabei steht grundsätzlich das dominierende obsessiv-zwanghafte Symptom des Patienten, wie zum Beispiel Kontroll- oder Waschwänge, im Mittelpunkt (Brakoulias, 2013). Die Prävalenz liegt hier bei 1-3 % der Bevölkerung, wobei sowohl Erwachsene als auch Kinder betroffen sein können (Bloch et al., 2008).

Horten	Schmutz / Putzen	Symmetrie / Ordnen	unakzeptierbare / Tabu-Gedanken	Zweifel / Kontrolle
- Ich-synton - wenig erforscht - kann sich mit der Zeit verschlechtern - spricht schlecht auf Therapien an - beeinträchtigt Entscheidungsfähigkeit - familiäre Häufung - verminderte Aktivität im Cortex cingulus und orbitofrontalen Cortex	- eher permanente Sorge, als eindringlicher Gedanke - Schmutz wird vermehrt vermieden - spricht gut auf SSRIs und ERP an - häufiger bei Frauen - gesteigerte Aktivität in den präfrontalen Regionen und im rechten Nucleus caudatus	- Ich-Synton - Unordnung führt zum Gefühl von Unvollständigkeit - wenig Einblick - entwickelt sich in jungen Jahren - Co-Morbidität mit Tics - häufiger in der Kindheit - kann sich mit der Zeit bessern - mit Perfektionismus assoziiert	- Ich-Dyston - gut erforscht - assoziiert mit Selbstmordtendenzen - entwickelt sich in jungen Jahren - frühzeitiger Ausbruch - spricht weniger auf ERP an - mit Bedürfnis assoziiert, Gedanken zu kontrollieren	- spricht gut auf ERP an - vermindertes Erinnerungsvermögen - gesteigerte Aktivität in bilateralen striatalen Regionen, im Putamen, Globus pallidus, Thalamus und dorsal corticalen Bereichen

Abbildung 7: Charakteristika der fünf potentiellen Symptom-Gruppen der obsessiv-zwanghaften Störungen (Brakoulis, 2013).

Panikstörungen

Panikstörungen sind gekennzeichnet durch spontane Anfälle großer Angst (Malizia und Cunningham, 1998), die mit zahlreichen physischen Symptomen wie beispielsweise Erhöhung der Puls- und Atemfrequenz einhergehen (Johnson et al., 2010). Die Prävalenz liegt bei 1-2 % und führt zu einer beträchtlichen Morbidität und gesteigerten Mortalität. Pharmakologische und metabolische Studien haben ergeben, dass Panikstörungen mit Veränderungen im Bereich des serotoninergeren, noradrenergen und GABAergen Systems sowie in der Cholecystokinin-Funktion im Gehirn einhergehen. Weiters kommt es zu einer erhöhten Sensitivität gegenüber den Angst auslösenden Stimuli Kohlendioxid und Lactat (Malizia und Cunningham, 1998).

Posttraumatische Belastungsstörung

Die Posttraumatische Belastungsstörung ist eine neurotische, stressassoziierte, somatoforme Störung (Javidi und Yadollahie, 2011), die durch drei Symptomgruppen gekennzeichnet ist: das wiederholte Erleben der traumatischen Erfahrung (zum Beispiel durch Alpträume oder Flashbacks), das Vermeiden von Erinnerungen an das traumatische Erlebnis und emotionale Abstumpfung (zum Beispiel durch Meiden von Plätzen und Aktivitäten, vermindertes Interesse, soziale Abkapselung) sowie erhöhte Reizbarkeit (zum Beispiel mit Schlafstörungen, Hypervigilanz, Konzentrationsstörungen) (Engelhard et al., 2006). Die Prävalenz variiert zwischen den diversen Populationen relativ stark. So liegt sie in China bei circa 0,3 %, in Neuseeland bei 6,1 % und in den USA bei 6,8 % (Javidi und Yadollahie, 2011). Studien konnten zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen traumatischen Erlebnissen in früheren Lebensabschnitten und der Entwicklung einer posttraumatischen Belastungsstörung aufgrund eines Ereignisses in der jüngeren Vergangenheit besteht (Breslau et al., 1999). Weitere Risikofaktoren sind der Schweregrad des Traumas, wie lange man der traumatischen Erfahrung ausgesetzt war, das Vorhandensein von physischen Verletzungen und Lebensgefahr, das Ausmaß an sozialem Rückhalt, die erste psychische Reaktion des Individuums auf das Trauma, Vererbung, das Geschlecht, das Bildungsniveau, die Intelligenz des Individuums und vorab bestehende mentale Defizite oder Störungen (Epstein et al., 1998).

Soziale Phobien

Starke Angstgefühle und Furcht vor Situationen, in denen man von anderen kritisiert oder beurteilt wird, gehören zu den Charakteristika der sozialen Phobie, die auch als soziale Angststörung bekannt ist. Es können im Großen und Ganzen drei Arten von Symptomen auftreten: physiologische mit Palpitationen, Zittern, erhöhter Muskeltonus, Schwitzen, Bauchschmerzen und Erröten; kognitive mit gestörter Selbstreflexion, Konzentrations- und Aufmerksamkeitsstörungen und verhaltensbezogene, zu denen Flucht und Vermeidung gehören. Die Kombination dieser Symptomik führt zu einer erheblichen Beeinträchtigung der sozialen Fähigkeiten. Studien haben gezeigt, dass 25,9 - 39 % der Bevölkerung zu bestimmten Zeitpunkten, wie vor einer Rede oder Vorstellungsgesprächen, milde bis moderate Symptome von sozialen Phobien verspüren (Bunnell et al., 2013).

Grundsätzlich werden zur Therapie von generalisierten Angststörungen, Panikstörungen, sozialen Phobien und posttraumatische Belastungsstörungen vor allem selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (SSRIs), Serotoninnoradrenalin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (SNRIs), aber auch Benzodiazepine (BZDs), trizyklische Antidepressiva (TCAs), Monoaminoxidase-Inhibitoren (MAOIs), Antikonvulsiva und atypische Antipsychotika verwendet (Hoffman und Mathew, 2008).

1.2.6.2 Depressionen

Depressive Störungen werden als Erkrankungen mit einer Kombination aus bestimmten Symptomen beziehungsweise Symptomklassen, die über einen gewissen Zeitraum hinweg auftreten, definiert. Dazu gehören unter anderem depressive Verstimmung, Verlust von Interesse und Freude an allem, Schlaflosigkeit oder gesteigertes Schlafbedürfnis, Konzentrationsschwäche, aber auch Gedanken an den Tod (Goodwin, 2011).

Zwischen Angst und depressiven Störungen gibt es einen Zusammenhang. Sie weisen Co-Morbidität und gemeinsame Risikofaktoren auf. Daher ist es wenig verwunderlich, dass sowohl Angst- als auch depressive Störungen kaum als Einzelerkrankungen vorkommen (Beesdo et al., 2010).

Die neurobiologische Ursache für depressive Beeinträchtigungen wird in Veränderungen im Bereich der Amygdala und des präfrontalen, sowie des medial-frontalen Cortex gesehen (Möhler, 2012). Es gibt Hinweise darauf, dass vor allem die monoaminerge Neurotransmission in diesen Arealen nicht mehr ausreichend funktioniert. Deswegen greifen typische antidepressiv wirkende Therapeutika auch an diesen Systemen an. Durch weitere Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, dass Depressionen auch in Verbindung mit Veränderungen des GABAergen Systems stehen können (Cryan und Kaupmann, 2005). Dies scheint nicht verwunderlich, da neue Erkenntnisse nahe legen, dass in bestimmten Bereichen des Gehirns die Ausschüttung von Dopamin durch GABA stimuliert wird; und vice versa (Brambilla et al., 2003).

1.2.6.3 Epilepsie

Epilepsie ist eine Erkrankung des Gehirns, für die eine dauerhafte Prädisposition für epileptische Anfälle typisch ist. Solche Anfälle sind gekennzeichnet durch das Auftreten von Symptomen aufgrund einer anormal hohen oder synchronen neuronalen Aktivität im Gehirn. Dadurch kommt es zu neurobiologischen, kognitiven, psychologischen und sozialen Konsequenzen für den Patienten. Per Definition muss ein Patient mit Epilepsie mindestens einen epileptischen Anfall gehabt haben (Fisher et al., 2005).

Untersuchungen haben gezeigt, dass sowohl beim Menschen als auch beim Tier bestimmte Neurotransmitter eine Rolle bei dieser Erkrankung spielen. So zeigte beispielsweise Noradrenalin antikonvulsive Eigenschaften, ebenso Dopamin und Serotonin (Arida et al., 2012). Veränderungen im GABAergen System stehen ebenfalls im Zusammenhang mit Epilepsie. Vor allem Mutationen an diversen Untereinheiten, die eine Dysfunktion der GABA_A-Rezeptoren zur Folge haben, können zu bestimmten Formen von Epilepsie führen. Beispielsweise führt eine Lys289Met-Mutation im Bereich des extrazellulären Loops auf der $\gamma 2$ -Untereinheit zu generalisierter Epilepsie. Eine Veränderung im Bereich Arg43Gln an derselben Untereinheit steht hingegen mit der Entwicklung von Absencen in der Kindheit in Verbindung (Möhler, 2012).

Deswegen wurde seit den 1970er Jahren nach Wirkstoffen gesucht, die die Disposition von GABA dahingehend verändern, dass der inhibitorische Effekt und somit die antikonvulsiven Eigenschaften verstärkt werden. So kam es zur Entwicklung von Vigabatrin, einem GABA-Transaminase-Inhibitor, und Tiagabin, einem kompetitiven GAT-Antagonisten (Meldrum und Rogawski, 2007).

1.2.6.4 Schizophrenie

Schizophrenie ist eine Erkrankung, die 0,5 – 1 % der Weltbevölkerung betrifft. Die Symptome werden prinzipiell in drei Gruppen unterteilt: positive, negative und kognitive. Bei der positiven Symptomatik sind Realitätsverlust mit Halluzinationen und Wahnvorstellungen, sowie Konzentrationsstörungen und Unorganisiertheit typisch. Negative Symptome äußern sich in der Beeinträchtigung des sozialen und emotionalen Bereiches, aber auch in Motivationsverlust (Curley und Lewis, 2012). Verminderte

Gedächtnisleistung und Störungen in den Bewegungsabläufen sind unter anderem typische kognitive Symptome (Perlstein et al., 2001).

Bis vor Kurzem waren vor allem monoaminerge Neurotransmittersysteme Angriffspunkte für die Therapie der Schizophrenie. Jedoch kam es durch den Einsatz von Arzneistoffen, die beispielsweise an Dopamin- und Serotoninrezeptoren angreifen, lediglich zu einer Abschwächung der psychotischen Störungen. Auf die negativen und kognitiven Beschwerden zeigten diese Therapeutika keinen Einfluss. Daraus folgt, dass Monoamine vor allem die positive Symptomatik bedingen.

Für die kognitiven Beschwerden scheinen Veränderungen im GABAergen System, wie eine Verminderung der Aufnahme und Freisetzung von GABA, verantwortlich zu sein, weswegen hier auch ein Ansatzpunkt für die Therapie der Schizophrenie liegt (Charych et al., 2009; Möhler, 2012).

1.2.6.5 Schlafstörungen

Schlaf ist ein reversibler, physiologischer Zustand mit verminderter Motilität und reduzierten Reaktionen auf sensorische Reize. Man unterscheidet zwischen REM-Schlaf (rapid-eye-movement-Schlaf) und NREM-Schlaf-Phasen (non-REM-Schlaf), die in der Nacht alternierend auftreten (Stenberg, 2007; Stickgold und Walker, 2007). Während des REM-Schlafes kommt es zu Muskelatonie, Aktivierung diverser Gehirnareale, phasisch wiederkehrenden Augenbewegungen, Muskelzuckungen, sowie Veränderungen des Pulsschlages, Blutdruckes und der Atmung. NREM-Schlaf zeichnet sich durch eine allgemein verminderte Aktivität des Körpers aus (Stenberg, 2007; Stickgold und Walker, 2007).

Eine entscheidende Rolle bei der Modulation der corticalen Aktivität und Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus spielt das basale Vorderhirn. Es leitet extrathalamische Signale des Gehirnstammes an den zerebralen Cortex weiter, wodurch das Aufwachen induziert wird. Weiters scheint es jedoch auch einen Zusammenhang zwischen dem basalen Vorderhirn und Schlaf zu geben, da Läsionen in diesem Bereich zur Insomnie führen können (Henny und Jones, 2006). Diese gegensätzlichen Funktionen werden durch unterschiedliche Neuronengruppen vermittelt. So befinden sich im basalen Vorderhirn

GABAerge und cholinerge sowie non-GABAerge/non-cholinerge Neuronen (Henny und Jones, 2006; Stenberg, 2007).

Insomnie oder Schlaflosigkeit ist durch Probleme beim Einschlafen und/oder durch häufiges Aufwachen aus dem Schlaf charakterisiert. Schlafstörungen treten relativ häufig, bei 10 – 30 % der Bevölkerung, auf und führen bei circa der Hälfte der Betroffenen zu ernst zu nehmenden Konsequenzen wie Konzentrationsstörungen, Energielosigkeit und verminderter Gedächtnisleistung. Tritt diese Symptomatik über einen Zeitraum von mindestens einem Monat auf, ohne dass eine mentale oder physische Ursache vorhanden ist, so spricht man von primärer Insomnie. Vorübergehende Schlafprobleme sind häufig mit Stress oder Angst assoziiert, wohingegen andauernde Schlafstörungen oft psychologische oder physiologische Ursachen, wie Depressionen oder chronische Schmerzen, haben (Wafford und Ebert, 2008).

Bei der Therapie von Schlafstörungen werden meist sedativ-hypnotische wirkende Pharmaka eingesetzt, die am GABA_A-Rezeptor angreifen. Dazu gehören die klassischen Benzodiazepine, aber auch die sogenannten „Z-Drugs“, wie beispielsweise Zolpidem, Zopiclon und Zaleplon (Winsky-Sommerer, 2009).

1.2.7 Liganden am GABA_A-Rezeptor

Neben dem natürlichen Liganden GABA können auch andere Substanzen an den GABA_A-Rezeptor binden. Von klinischem Interesse sind vor allem Benzodiazepine, Barbiturate, Anästhetika, Neurosteroiden sowie Ethanol (Muroi et al., 2009; Hanson und Czajkowski, 2011; Sancar und Czajkowski, 2011).

1.2.7.1 Benzodiazepine

Die Bezeichnung „Benzodiazepine“ umfasst eine Gruppe von Wirkstoffen mit ähnlichem chemischen Aufbau. Benzodiazepine bestehen aus einem Benzen-Ring, der mit einem Diazepin-Ring mit Stickstoff-Atomen in Position 1 und 4 fusioniert ist (Rudolph und Knoflach, 2011).

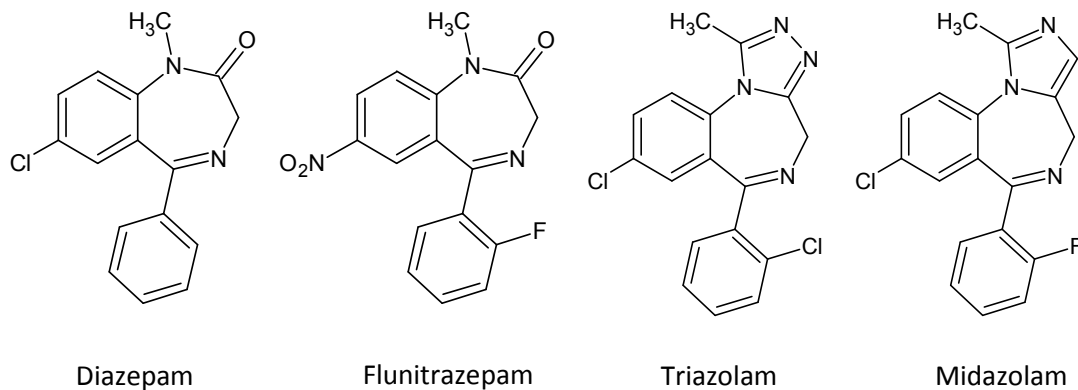


Abbildung 8: Struktur ausgewählter Benzodiazepine.

Benzodiazepine gehören in den USA zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten (Hanson und Czajkowski, 2008) und zeigen sedativ-hypnotische, anxiolytische, muskelrelaxierende und antikonvulsive Eigenschaften (Hanson und Czajkowski, 2008; Lüscher et al., 2012). Deswegen werden sie unter anderem zur Sedierung, Schlafinduktion, Therapie von Angststörungen, Epilepsie sowie bestimmten Formen von Depressionen und zur Lösung von Muskelspasmen angewendet (Benke et al., 2004; Hanson und Czajkowski, 2008).

Zu den Nebenwirkungen der Benzodiazepine gehören zum Beispiel sedative Effekte, die bei der Therapie von nicht-schlafassoziierten Erkrankungen unerwünscht sind, da damit häufig ein erhöhtes Risiko für Unfälle und Verletzungen verbunden ist. Besonders ältere Menschen sind davon betroffen. Studien konnten nämlich einen Zusammenhang zwischen der Einnahme von Benzodiazepinen und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Stürze und Hüftfrakturen deutlich machen (Smith und Tett, 2010; Lader, 2011). Weiters kann es unter dem Einfluss von Benzodiazepinen zu psychomotorischen Beeinträchtigungen, wie verminderter Bewegungskoordination und Leistungsfähigkeit,

kommen. Diese führen in Kombination mit den sedativen Eigenschaften zu Problemen beim Lenken von Fahrzeugen oder Steuern von Maschinen (Lader, 2011). Außerdem gehören kognitive Einbußen, wie zum Beispiel reduzierte Lernfähigkeit und Gedächtnisstörungen, zu den unerwünschten Effekten der Benzodiazepine (Bierman et al., 2007). Bei 1 – 20 % der Anwender kann es auch zu paradoxen Reaktionen auf die Benzodiazepingabe kommen. Diese äußern sich in Erregungszuständen, die unter anderem mit Angst, Aufregung, Hyperaktivität sowie Aggressionen einhergehen (Hall und Zisook, 1981; Lader, 2011).

Eine langfristige Einnahme von Benzodiazepinen führt grundsätzlich zu einer Beeinträchtigung der physischen und mentalen Gesundheit. Besonders die vorhin genannten Störungen treten vermehrt beziehungsweise verstärkt bei Langzeitanwendern auf. Aber auch Veränderungen im Bereich der Schlafphasen, die zu schlechtem Schlaf führen, sowie Beeinträchtigungen des Immunsystems und Blepharospasmen können mit der dauerhaften Einnahme von Benzodiazepinen in Verbindung gebracht werden. Allerdings konnte die Hypothese, dass der Dauergebrauch von Benzodiazepinen zu Gehirnschäden führt, weder eindeutig verifiziert noch dementiert werden (Lader, 2011).

Ein weiteres Problem bei der Anwendung von Benzodiazepinen ist die Toleranzentwicklung. Diese äußert sich dadurch, dass bei längerfristigem Gebrauch höhere Dosen an Benzodiazepinen notwendig sind, um denselben Effekt hervorzurufen (Lalivie et al., 2011). Die genauen Mechanismen, die diesem Phänomen zugrunde liegen, sind nach wie vor unbekannt, jedoch wurden im Laufe der Zeit verschiedene Theorien zu diesem Thema entwickelt. Eine davon besagt, dass eine Entkopplung am GABA_A-Rezeptor stattfindet, wodurch es zur Reduktion des Benzodiazepin-vermittelten GABA-abhängigen Ioneneinstroms kommt. Allerdings sind die genauen molekularen Mechanismen unklar. Unbestätigt ist die Hypothese, dass Veränderungen in der GABA_A-Rezeptor-Untereinheiten-Expression die Ursache für die Toleranzentwicklung darstellen. Weitere Theorien vermuten Veränderungen auf Ebene der glutamatergen beziehungsweise monoaminergen und neurosteroidalen Systeme als Kernproblem der Toleranz (Hood et al., 2012).

Außerdem kann es ab einer Anwendungsdauer von drei bis sechs Wochen zur physischen Abhängigkeit kommen. Werden die Benzodiazepine zu schnell abgesetzt,

können Entzugserscheinungen auftreten (Hood et al., 2012). Die mildeste Form wird als Rebound bezeichnet. Dabei treten die Originalsymptome erneut auf (Lader, 2011). Aber auch gastrointestinale, schlafassoziierte, balanceassoziierte, sensorische, bewegungsassoziierte und affektive Effekte können durch das Absetzen bedingt sein (Nielsen et al., 2012). Grundsätzlich gilt: Je abrupter die Benzodiazepine abgesetzt werden, desto schwerwiegender sind die dadurch bedingten Symptome. Deshalb ist es wichtig, die Therapie langsam ausschleichen zu lassen. Das kann vier Wochen bis hin zu Jahren dauern (Lalivie et al., 2011).

Die Wirkung der Benzodiazepine beruht auf der Tatsache, dass sie die inhibitorischen Effekte von GABA verstärken (Hood et al., 2012). Dazu binden sie an spezifische Bindungsstellen, die sich zwischen α - und γ -Untereinheiten befinden (Rudolph und Knoflach, 2011; Sancar und Czajkowski, 2011; Hood et al., 2012). Dies führt zu einer Modulation des GABA_A-Rezeptors, wodurch zunächst die Affinität der GABA-Bindungsstellen für den Neurotransmitter und damit verbunden die Öffnungsfrequenz des Chloridkanals gesteigert wird (Baur und Sigel, 2005).

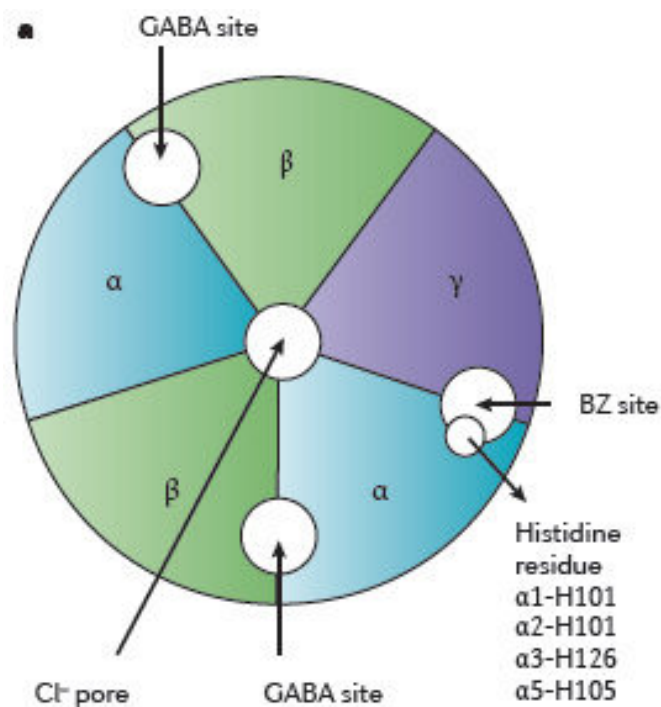


Abbildung 9: GABA- und Benzodiazepin-Bindungsstellen am GABA_A-Rezeptor (Rudolph und Knoflach, 2011).

Untersuchungen haben gezeigt, dass an der α 1-Untereinheit ein Histidin-Rest in Position 101 unerlässlich für die Wirkung von Diazepam ist. Dieselbe essentielle Bedeutung weisen Histidinreste in Position 101 an der α 2-, in Position 126 an der α 3- und in Position 105 an der α 5-Untereinheit auf (Benke et al., 2004; Lüscher et al., 2012). GABA_A-Rezeptoren, die α 4- und α 6-Untereinheiten enthalten, sind jedoch gegenüber den klassischen Benzodiazepinen insensitive. Verantwortlich dafür sind entsprechende Argininreste. Werden diese nun gegen Histidin ausgetauscht, kommt es zu den typischen Benzodiazepin-vermittelten Effekten (Lüscher et al., 2012).

Besonders interessant ist die Konstellation der α -Untereinheiten im GABA_A-Rezeptor, da die diversen Subtypen mit unterschiedlichen Wirkungen der Benzodiazepine in Zusammenhang gebracht werden können. Während die α 1-Untereinheit für die sedativ-hypnotische und antikonvulsiven Eigenschaften sowie das Auftreten von anterograder Amnesie verantwortlich ist, vermitteln α 2-Untereinheiten vor allem anxiolytische aber auch myorelaxierende Effekte (Benke et al., 2004; Rudolph und Knoflach, 2011; Hood et al., 2012). Letztere werden jedoch zum Großteil durch GABA_A-Rezeptoren, die α 3-beziehungsweise α 5-Untereinheiten enthalten, vermittelt. Weiters konnte ein Zusammenhang zwischen der Toleranzentwicklung gegenüber den sedativen Eigenschaften der Benzodiazepine und der α 5-Untereinheit, sowie zwischen dem Abhängigkeitspotential und der α 1-Untereinheit beobachtet werden (Rudolph und Knoflach, 2011).

1.2.7.2 Z-Drugs

Aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen der Benzodiazepine wurde nach neuen Hypnotika mit verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften und weniger unerwünschten Wirkungen gesucht (Wilson und Nutt, 2007; Bocca et al., 2011; Pressman, 2011). Im Zuge dessen wurden die sogenannten „Z-Drugs“ (Zolpidem, Zopiclon beziehungsweise Es-Zopiclon und Zaleplon) entwickelt (Lader, 2011). Chemisch gesehen handelt es sich hier um eine sehr heterogene Gruppe: Während Zolpidem zur Gruppe der Imidazopyridine gehört (Crestani et al., 2000; Bocca et al., 2011), werden Zopiclon und das Enantiomer Es-Zopiclon zu den Cyclopyrolonen gezählt (Bocca et al.,

2011). Zaleplon hingegen weist einen Pyrazolopyrimidin-Grundkörper auf (Bharathi et al., 2007). Neben den chemischen Unterschieden haben diese Wirkstoffe auch stark divergierende Halbwertszeiten. Am längsten wirksam sind Zopiclon und Es-Zopiclon, gefolgt von Zolpidem. Zaleplon ist mit einer Halbwertszeit von gerade einmal einer Stunde der am kürzesten wirksame Vertreter dieser Gruppe (Lader, 2011).

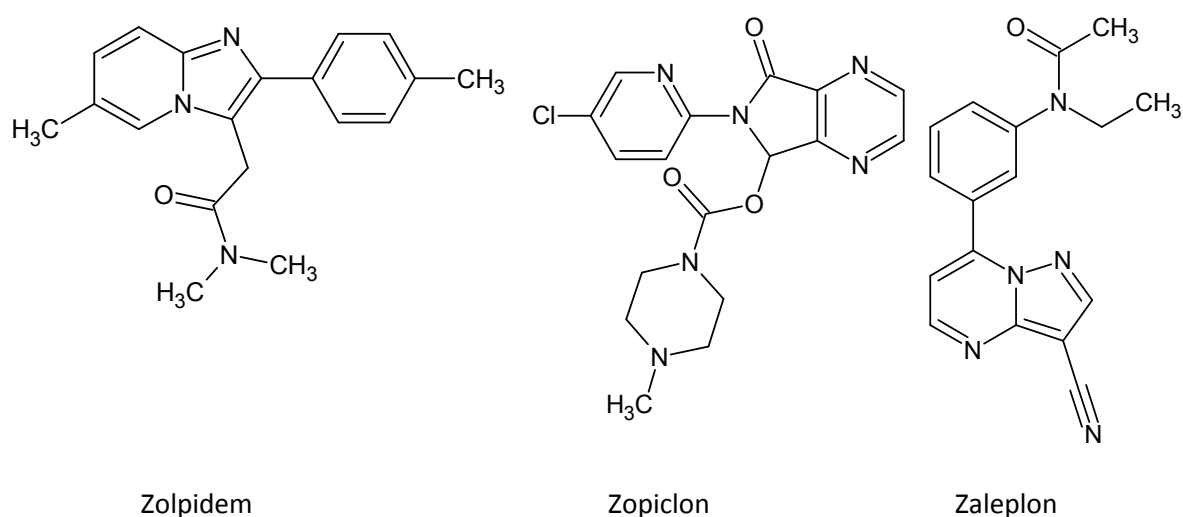


Abbildung 10: Struktur von Zolpidem, Zopiclon, Zaleplon.

Z-Drugs werden aufgrund ihrer sedativen Eigenschaften ausschließlich zur Behandlung von Schlafstörungen verwendet und haben den Ruf stärkere Effekte beziehungsweise weniger Nebenwirkungen als Benzodiazepine hervorzurufen (Pressman, 2011). Ebenso wird mit ihnen ein geringeres Abhängigkeitspotential assoziiert (Clay et al., 2012).

Untersuchungen haben aber gezeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen Benzodiazepinen und den Z-Drugs hinsichtlich der Effizienz gibt (Wilson und Nutt, 2007; Clay et al., 2012). Weiters fand man heraus, dass Z-Drugs nicht wie erhofft nebenwirkungsärmer sind. So kann es bei der Anwendung von Zopiclon an jungen bis mittelalten Personen zur Beeinträchtigung der Fahrtüchtigkeit kommen. Hingegen konnte man diese Effekte weder bei Zolpidem noch bei Zaleplon beobachten (Bocca et al., 2011; Pressman, 2011). Unter dem Einfluss von Zolpidem kann es allerdings zu Übelkeit, Schwindel, Erregung, Kopfschmerzen, Leichtsinnigkeit, Somnolenz, Albträumen, Verwirrung und Depressionen kommen (Hwang et al., 2010). Bei Zaleplon wurde vor allem eine Beeinträchtigung der Tagesaktivität beobachtet (Heydorn, 2000).

Nebenwirkungen der Z-Drugs bei Patienten, die über 60 Jahre alt sind, entsprechen im Wesentlichen denen der Benzodiazepine. Das heißt, es kann zur Verschlechterung bereits bestehender psychomotorischer und kognitiver Dysfunktionen kommen, wodurch beispielsweise Stürze, Unfälle, Verwirrung und Gedächtnisstörungen begünstigt werden (Clay et al., 2012). Auch in puncto Toleranz und Abhängigkeit liegen die Z-Drugs weit hinter den Erwartungen. Untersuchungen haben gezeigt, dass es ebenso wie bei den Benzodiazepinen zu Toleranzentwicklung, Abhängigkeit und Entzugerscheinungen kommen kann (Siriwardena et al., 2008; Clay et al., 2012). Die Arbeitsgruppe um Siriwardena fand außerdem heraus, dass im Vergleich zum Gebrauch von Benzodiazepinen die Einnahme von Z-Drugs häufiger dazu führt, dass die Patienten das Medikament absetzen möchten beziehungsweise bereits versucht haben es abzusetzen (Siriwardena et al., 2008). Jedoch gelingt der Entzug nicht immer, was auch zum Teil auf Entzugerscheinungen wie beispielsweise Rebound zurückzuführen ist (Wilson und Nutt, 2007).

Auch der Wirkmechanismus der Z-Drugs entspricht dem der Benzodiazepine. Durch Binden an die Benzodiazepinbindungsstelle am GABA_A-Rezeptor kommt es bei den Z-Drugs ebenfalls zu einer Verstärkung der GABAergen Effekte (Wikner und Källén, 2011). Hinsichtlich der Affinität für bestimmte Subtypen von α -Untereinheiten unterscheiden sich die Z-Drugs allerdings von den Benzodiazepinen. So zeigen Zaleplon und Zopiclon Selektivität für GABA_A-Rezeptoren, die eine $\alpha 1$ -Untereinheit enthalten (Follesa et al., 2006; Bocca et al., 2011). Zolpidem bindet ebenfalls bevorzugt an solche Rezeptoren, jedoch konnten auch geringere Affinitäten zu $\alpha 2$ - und $\alpha 3$ -Untereinheiten beobachtet werden. Mit $\alpha 5$ -Untereinheiten-enthaltenden GABA_A-Rezeptoren interagiert es aber nicht (Crestani et al., 2000; Rudolph und Knoflach, 2011).

1.2.7.3 Barbiturate

Barbiturate sind Malonyl-Harnstoffderivate, die durch Modifikationen am Ausgangsstoff Barbitursäure entstanden sind. Diese diversen Veränderungen führten zu Wirkstoffen mit unterschiedlicher Wirkdauer und damit verbunden zu unterschiedlichen Einsatzgebieten in der Medizin. Im Wesentlichen werden die Barbiturate in drei Gruppen unterteilt: Erstens die ultrakurzwirksamen Barbiturate, wie beispielsweise

Thiopental, das zur Narkoseeinleitung und -aufrechterhaltung bei kleineren Operationen, aber auch zur Notfalltherapie von epileptischen Anfällen verwendet wird. Zweitens Derivate mit kurzer oder etwas längerer Wirkung, wie Pentobarbital, das als Hypnotikum, zur präoperativen Sedierung und als Notfallmedikament bei epileptischen Anfällen in Gebrauch ist. Drittens sehr lang wirksame Barbiturate, wie Phenobarbital, das vor allem als Antikonvulsivum im Einsatz ist (López-Muñoz et al., 2005).

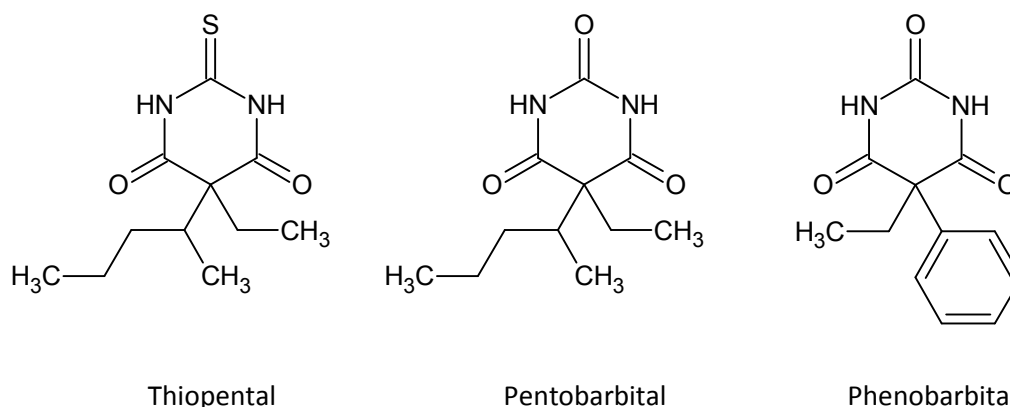


Abbildung 11: Struktur von Thiopental, Pentobarbital und Phenobarbital.

Nach der Markteinführung der Barbiturate Anfang des 20. Jahrhunderts stieg die Zahl der Anwender bis in die 1950er Jahre stetig an. Da Barbiturate jedoch zahlreiche Nebenwirkungen, beispielsweise zentrale Effekte, Hypotonie, aber auch Abhängigkeit und Tod, hervorrufen können und über eine geringe therapeutische Breite verfügen, gingen die Verkaufszahlen deutlich zurück (López-Muñoz et al., 2005; Smith, 2011).

Die zentralen Effekte der Barbiturate kommen durch Interaktion mit dem GABA_A-Rezeptor zustande (Feng und Macdonald, 2010). In niedrigen Konzentrationen führen Barbiturate ähnlich wie die Benzodiazepine am GABA_A-Rezeptor zu allosterischen Veränderungen, wodurch GABA-abhängige Ionenströme verstärkt werden. Die hier hervorgerufenen Effekte sind also an die Anwesenheit von GABA gekoppelt. Allerdings sind Barbiturate in höheren Konzentrationen auch in der Lage GABA-unabhängige GABA_A-Rezeptor-vermittelte Ionenströme auszulösen, ganz im Gegensatz zu den Benzodiazepinen (Feng und Macdonald, 2010; Sieghart et al., 2012). Ab einer Konzentration von mehr als 1 mM können allerdings auch GABA-Inhibitorische Effekte

auftreten. Die strukturellen Mechanismen, die diesen Effekten zugrunde liegen sind jedoch noch weitestgehend unklar (Muroi et al., 2009).

Grundsätzlich zeigen Barbiturate nur geringe Selektivität für bestimmte Untereinheiten an GABA_A-Rezeptoren, die eine $\alpha 1\text{-}6\beta 2$ -Konstellation aufweisen (Sieghart et al., 2012). Die Arbeitsgruppe um Thompson konnte allerdings Unterschiede in der Wirksamkeit von Pentobarbital an GABA_A-Rezeptoren mit verschiedenen α - und β -Untereinheiten beobachten. Besonders der Subtyp der α -Untereinheit scheint für die Affinität von Pentobarbital zum Rezeptor und somit für die Wirksamkeit entscheidend zu sein. Dabei konnte der größte Effekt an GABA_A-Rezeptoren, die eine $\alpha 6$ -Untereinheit enthalten, beobachtet werden; gefolgt von den Effekten an GABA_A-Rezeptoren mit einer $\alpha 2$ - beziehungsweise einer $\alpha 5$ -Untereinheit. Die β -Untereinheit scheint hingegen eine untergeordnete Rolle hinsichtlich Affinität und Wirksamkeit von Pentobarbital zu spielen (Thompson et al., 1996).

1.2.7.4 Anästhetika

Mitte des 19. Jahrhunderts konnten die ersten Operationen an anästhesierten Patienten durchgeführt werden. Während damals vor allem Inhalationsnarkotika wie Lachgas oder Chloroform verwendet wurden, setzt die Medizin heute auf eine Kombination aus diversen Anästhetika, Muskelrelaxantien, Sedativa und Analgetika (Rudolph und Antkowiak, 2004). Durch die Gabe von Anästhetika wird ein Zustand erreicht, der durch Bewusstseinsverlust, Amnesie, Analgesie und Immobilität gekennzeichnet ist (Bali und Akabas, 2004; Rudolph und Antkowiak, 2004). Zur Gruppe der Anästhetika gehören einerseits Injektionsnarkotika, wie Etomidate, Propofol, Barbiturate, Steroide und Alkohol, und andererseits Inhalationsnarkotika, wie Isofluran (Olsen und Li, 2011). Früher wurde angenommen, dass die Effekte der Anästhetika durch Interaktionen mit der Lipiddoppelschicht zustande kommen. Untersuchungen haben allerdings gezeigt, dass diese Substanzen mit spezifischen Proteinen wechselwirken (Bali und Akabas, 2004), wobei der GABA_A-Rezeptor einen der Hauptangriffspunkte dieser Arzneistoffklasse darstellt (Olsen und Li, 2011). Injektionsnarkotika, wie Etomidat oder Propofol, binden dabei an die Grenzfläche zwischen $\beta 2\text{M}3$ und $\alpha 1\text{M}1$ (Bali und Akabas, 2012), wobei Untersuchungen gezeigt haben, dass vor allem Aminosäuren an den β -

Untereinheiten für die Interaktion essentiell sind. Im Gegensatz dazu konnten bei Inhalationsnarkotika sowohl an α - als auch an β -Untereinheiten Strukturen identifiziert werden, die für die Vermittlung der anästhetischen Effekte unerlässlich sind (Rudolph und Antkowiak, 2004).

Gurndsätzlich sind die am GABA_A-Rezeptor hervorgerufenen Effekte konzentrationsabhängig. Analog zu den Barbituraten kommt es auch bei anderen Injektionsnarkotika in niedrigen Konzentrationen zu einer Verstärkung der GABAergen Wirkungen und in höhreeren Konzentrationen zu einer GABA-unabhängigen Öffnung des Ionenkanals. Bei manchen Vertretern führt die Applikation von hohen Dosen sogar zur Inhibition der Ionenströme (Bali und Akabas, 2004).

Etomidat

Ursprünglich wurde Etomidat, das R-Enantiomer eines Imidazol-5-Ethylester, zur Sedierung und Anästhesie eingesetzt (Forman, 2011; Chan et al., 2012). Doch aufgrund des schnellen Wirkungseintritts und des geringen Einflusses auf kardiovaskuläre und pulmonale Parameter wird es heute vor allem zur Narkoseeinleitung, insbesondere um eine endotracheale Intubation zu ermöglichen, verwendet (Chan et al., 2012).

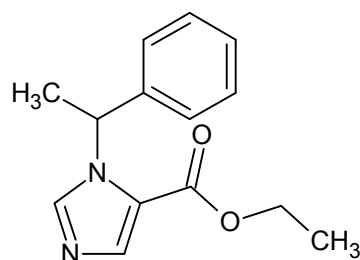


Abbildung 12: Strukturformel von Etomidat.

Zu den durch Etomidat hervorgerufenen Nebenwirkungen zählen Schmerzen während der Injektion, myoklonische Bewegungen während der Narkoseeinleitung, Hämolyse und postoperative Nausea mit Erbrechen (Forman, 2011). Da Etomidat aber nicht nur am GABAergen System sondern auch an der mitochondrialen 11- β -Hydroxylase der Nebenniere angreift, kann es dadurch zu einer anhaltenden Nebenniereninsuffizienz kommen (Forman, 2011; Chan et al., 2012). Die Arbeitsgruppe um Chan konnte zeigen,

dass dies bei Patienten mit Sepsis oder septischem Schock zu einem gesteigerten Mortalitätsrisiko führt. Ähnliche Effekte wurden bei schwerkranken Patienten beobachtet (Chan et al., 2012).

Viele für die Narkose wichtigen Effekte von Etomidat werden durch Modulation des GABA_A-Rezeptors hervorgerufen (Olsen und Li, 2011). Untersuchungen haben gezeigt, dass die für die Aktivität wichtigsten Strukturen die β -Untereinheiten darstellen (Rudolph und Antkowiak, 2004). So ist die Affinität von Etomidat größer zu β 2-beziehungsweise β 3-Untereinheiten-enthaltenden GABA_A-Rezeptoren als zu jenen, die β 1-Untereinheiten aufweisen (Olsen und Li, 2011). Für die Wirkung von Etomidat scheint besonders die Aminosäure Asparagin in Position 265 an der β 2- und β 3-Untereinheit essentiell zu sein. Diese befindet sich an der Protein-zugewandten Seite der M2-Domäne.

Untersuchungen an Knock-in Mäusen, bei denen dieses Asparagin gegen ein Methionin ausgetauscht wurde, haben gezeigt, dass die Veränderung zu einer deutlich verminderten Effizienz von Etomidat führt (Bali und Akabas, 2004; Rudolph und Antkowiak, 2004; Olsen und Li, 2011). Durch weitere Studien an Mäusen, deren β 3-Untereinheit auf gleiche Weise wie vorhin manipuliert wurde, fand man heraus, dass diese Mutation einen Verlust der modulatorischen Eigenschaften und der direkten Effekte von Etomidat auf den GABA_A-Rezeptor zu Folge hat. Ebenso wurde eine verminderte Reflexsuppression durch Etomidat an den Knock-in Mäusen beobachtet, wodurch angenommen wird, dass einerseits die Immobilisation vollständig und andererseits die hypnotischen Eigenschaften zumindest zum Teil durch die β 3-Untereinheit vermittelt werden (Rudolph und Antkowiak, 2004). Mutationen an benachbarten Positionen, wie α 1Ala²⁹¹ und β 2Met²⁸⁶ nahe dem extrazellulären Ende des M3-Segments, vermindern ebenfalls die anästhetischen Eigenschaften von Etomidat (Bali und Akabas, 2004).

Propofol

2,6-Diisopropylphenol oder Propofol ist strukturell mit keinem anderen Anästhetikum verwandt und wird vor allem zur Narkoseeinleitung beziehungsweise -aufrechterhaltung verwendet. Propofol zeigt einen schnellen Wirkungseintritt und eine relativ kurze Wirkdauer (Sanna et al., 1995).

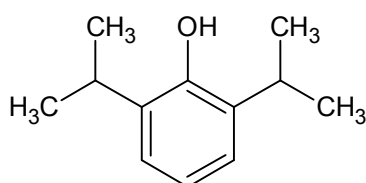


Abbildung 13: Strukturformel von Propofol.

Abhängig von der Dosis führt die Gabe von Propofol zu unterschiedlichen Effekten: Während hohe Konzentrationen starke Sedierung, Schläfrigkeit und Immobilität vermitteln, kommt es bei niedrigeren Konzentrationen zu milder Sedierung, Gedächtnis- sowie Konzentrationsstörungen (Rudolph und Antkowiak, 2004). Anders als bei den meisten Anästhetika werden exzitatorische Phänomene, Übelkeit und Erbrechen während der Aufwachphase nur selten beobachtet (Sanna et al., 1995).

Ähnlich wie bei Etomidat kam es an Mäusen mit Mutationen an der Position 265 der $\beta 2$ - und $\beta 3$ -Untereinheit zu einer verminderten Aktivität von Propofol am GABA_A-Rezeptor (Olsen und Li, 2011). Jedoch haben Untersuchungen gezeigt, dass Propofol im Gegensatz zu Etomidat nicht nur Affinität für die $\beta 2$ - und $\beta 3$ -Untereinheit aufweist, sondern auch für $\beta 1$ (Rudolph und Antkowiak, 2004). Bali und Akabas fanden außerdem heraus, dass sich Methionin an Position 286 der $\beta 2$ -Untereinheit wahrscheinlich in der Nähe der Propofolbindungsstelle befindet. Unklar ist hingegen noch, ob dieser Rest in direktem Kontakt mit Propofol steht oder ob es sich nur um ein strukturelles Element der Bindungsstelle handelt (Bali und Akabas, 2004).

Untersuchungen von Sanna et al haben gezeigt, dass für die direkte Wirkung von Propofol am GABA_A-Rezeptor eine β -Untereinheit notwendig ist. Außerdem beobachteten sie, dass Kombinationen von α -Untereinheiten mit einer $\beta 1$ -Untereinheit zu einer Reduktion der direkten Rezeptoraktivierung, aber zu einer Steigerung der GABAergen Effekte führten. Letztere stehen allerdings nicht mit einem bestimmten

Untereinheiten-Subtyp in Zusammenhang. Deswegen kam man zu dem Schluss, dass Propofol möglicherweise zwei Bindungsstellen am GABA_A-Rezeptor aufweist: eine, die die direkte Wirkung von Propofol vermittelt, wofür eine β -Untereinheit notwendig ist, sowie eine weitere, die zur Verstärkung der GABAergen Effekte führt (Sanna et al., 1995).

1.2.7.5 Neurosteroid

Neurosteroid können einerseits im Zytoplasma von Neuronen und Gliazellen ausgehend von Steroidhormonen aus den Gonaden oder der Nebenniere produziert werden. Andererseits sind Neuronen und Gliazellen in der Lage Neurosteroid lokal auch ohne Vorläuferstoffe herzustellen. Dabei stellt das Cholesterol-Translokator-Transporter-Protein in der mitochondrialen Membran das geschwindigkeitsbestimmende Enzym dar (Ferando und Mody, 2012). Nach der Aufnahme von Cholesterol ins Mitochondrium, kommt es zur Umsetzung zu Pregnenolon. Dieses wird ins Zytoplasma abgegeben und kann mit Hilfe der 3β -Hydroxysteroiddehydrogenase in Progesteron übergeführt werden, das anschließend zum Dihydroprogesteron reduziert wird. Die α -Hydroxysteroiddehydrogenase katalysiert schließlich die Umwandlung zum Tetrahydroprogesteron (Belelli und Lambert, 2005).

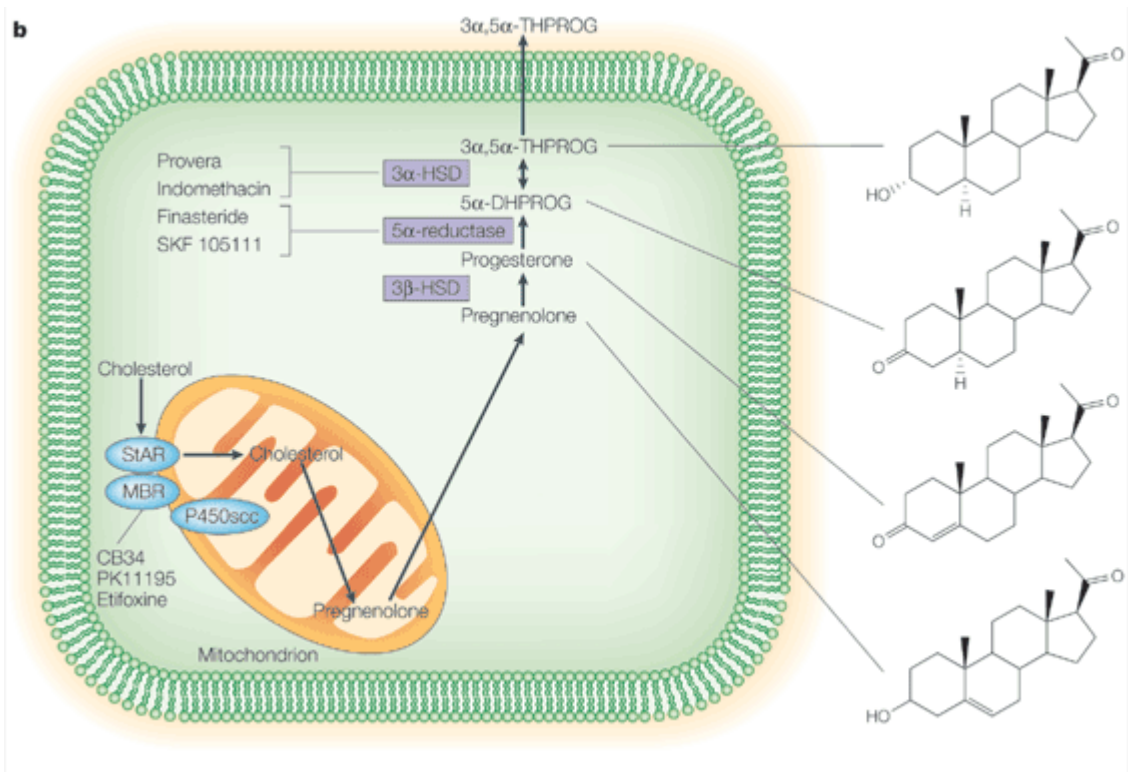


Abbildung 14: Biosynthese von Neurosteroiden ausgehend von Cholesterol. 3α-Hydroxysteroiddehydrogenase (3α-HSD); 3β-Hydroxysteroiddehydrogenase (3β-HSD); 5α-dihydroprogesteron (5α-DHPROG); 3α,5α-Tetrahydroprogesteron (3α,5α-THPROG) (Belelli und Lambert, 2005).

In den 1940er Jahren fand man heraus, dass Progesteron und seine Metabolite, wie 3α,5α-Tetrahydroprogesteron und Allopregnanolon, rasch Anästhesie und Sedierung vermitteln können (Majewska et al., 1986; Belelli und Lambert, 2005; Follesa et al., 2006). Später stellte man fest, dass niedrige Dosen von Neurosteroiden auch anxiolytische, analgetische, antikonvulsive und hypnotische Effekte induzieren können. Deswegen ist es nicht verwunderlich, dass Veränderungen der Neurosteroidkonzentrationen mit Stress, Schwangerschaft, Menopause, Menstruationstörungen, neuraler Entwicklung, Alterungsprozessen, neurologischen und psychischen Erkrankungen assoziiert werden (Belelli und Lambert, 2005; Follesa et al., 2006).

Die Effekte der Neurosteroiden werden dabei durch konzentrationsabhängige Aktivierung des GABA_A-Rezeptors vermittelt. Während Konzentrationen im nanomolaren Bereich zu allosterischen Veränderungen des Rezeptors und dadurch zu einer Verstärkung der

GABAergen Inhibition führen, können Neurosteroiden in höheren Konzentrationen selbst den GABA_A-Rezeptor-Ionenkanal-Komplex aktivieren (Belelli und Lambert, 2005; Follesa et al., 2006; Ferando und Mody, 2012).

Untersuchungen an Knock-out Mäusen haben gezeigt, dass Neurosteroiden mit hoher Affinität an GABA_A-Rezeptoren, die eine δ -Untereinheit enthalten, binden (Rudolph und Antkowiak, 2004; Belelli und Lambert, 2005; Ferando und Mody, 2012). Da diese Untereinheit ausschließlich in extrasynaptischen Rezeptoren zu finden ist, kommt es durch Neurosteroiden zur Vermittlung der tonischen Inhibition (Belelli und Lambert, 2005; Ferando und Mody, 2012).

Ähnlich zu den Injektionsnarkotika befindet sich auch die Bindungsstelle der Neurosteroiden im Abschnitt zwischen α M1 und β M3 (Olsen und Li, 2011), jedoch ist der Rest in Position β M2-15' nicht essentiell für die Interaktion mit dem Rezeptor (Li et al., 2009). Allerdings obliegt den Positionen α Thr²³⁷ und β Tyr²⁸⁴ (bovine Nummerierung) diese Schlüsselrolle bei der Rezeptorbindung. Außerdem konnten Li et al. zeigen, dass den Aminosäuren in Position α 1Met²³⁶ und β Met²⁸⁶ eine ähnliche Bedeutung zukommt (Li et al., 2009). In anderen Studien kam man zu dem Schluss, dass an M1-10' α 1Gln²⁴² und an M4 α 1Asn⁴⁰⁸ sowie α 1Tyr⁴¹¹ (bovine Nummerierung) Strukturen formen könnten, die in der Lage sind, beide Enden der Steroidmoleküle zu binden (Olsen und Li, 2011). Weiters fanden sie heraus, dass trotz der Nähe der Bindungsstellen von Neurosteroiden und Etomidat am GABA_A-Rezeptor diese keine gemeinsame Bindungstasche besitzen (Li et al., 2009).

1.2.7.6 Ethanol

Ähnlich wie die vorhin beschriebenen Substanzen vermittelt auch Alkohol beziehungsweise Ethanol oder Ethylalkohol konzentrationsabhängig zentral depressive Effekte (Follesa et al., 2006).

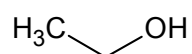


Abbildung 15: Strukturformel Ethanol.

So zeigt Ethanol anxiolytische, sedativ-hypnotische, antikonvulsive, muskelrelaxierende und anästhesierende Wirkungen (Breese et al., 2006; Follesa et al., 2006). Wobei diese ebenso wie die Beeinträchtigung von kognitiven Prozessen vor allem durch Neurosteroiden vermittelt werden. Ataxie und Koordinationsstörungen hingegen werden nicht mit dem neurosteroidalen System assoziiert (Breese et al., 2006). Für die Entwicklung von Toleranz und Abhängigkeit sind Veränderungen im Bereich des GABAergen Systems, das neben Glycin-Rezeptoren den Hauptangriffspunkt von Ethanol darstellt, verantwortlich. Dabei kommt es unter anderem zu Umstrukturierungen im Bereich des GABA_A-Rezeptors mit Veränderungen der Untereinheitenexpression, Rezeptordichte und posttranslationalen Modifikationen. So wurde im zerebralen Cortex und im Zerebellum bei chronischem Alkoholkonsum eine verminderte Expression von $\alpha 1$ - und $\alpha 2$ - Untereinheiten, sowie eine Zunahme an $\alpha 4$ -, $\alpha 6$ -, $\beta 1$ -, $\beta 2$ -, $\beta 3$ -, $\gamma 1$ - und $\gamma 2$ - Untereinheiten beobachtet. Außerdem kommt es im Hippocampus zur Reduktion von $\alpha 1$ - und δ -Untereinheiten und zur Up-Regulation von $\alpha 4$ -, $\gamma 1$ - und $\gamma 2$ -Untereinheiten als Reaktion auf dauerhafte Alkoholfuhr (Follesa et al., 2006).

GABA _A -R-Untereinheit	Granularzellen des Zerebellums		Neuronen des Hippocampus	
	chronische Alkoholfuhr	Alkoholentzug	chronische Alkoholfuhr	Alkoholentzug
$\alpha 1$	$\leftrightarrow$	$\downarrow$	$\downarrow$	$\downarrow$
$\alpha 2$	$\leftrightarrow$	$\uparrow \uparrow \uparrow$	$\leftrightarrow$	$\uparrow \uparrow$
$\alpha 3$	$\uparrow$	$\leftrightarrow$	$\downarrow$	$\uparrow \uparrow$
$\alpha 4$	$\leftrightarrow$	$\uparrow \uparrow$	$\leftrightarrow$	$\uparrow \uparrow$
$\alpha 5$	$\leftrightarrow$	$\uparrow$	$\leftrightarrow$	$\leftrightarrow$
$\alpha 6$	$\leftrightarrow$	$\downarrow$	nicht exprimiert	nicht exprimiert
δ	$\leftrightarrow$	$\downarrow$	$\uparrow \uparrow \uparrow$	$\uparrow \uparrow$
$\gamma 2L$	$\downarrow \downarrow$	$\downarrow \downarrow \downarrow$	$\downarrow \downarrow$	$\downarrow \downarrow$
$\gamma 2S$	$\downarrow$	$\downarrow \downarrow$	$\downarrow$	$\downarrow$

Abbildung 16: Veränderungen der Rezeptoruntereinheitenexpression in Zusammenhang mit Alkoholkonsum und -entzug (Follesa et al., 2006).

Für die Wirkungen von Ethanol sind unterschiedliche Mechanismen verantwortlich. So führen hohe Konzentrationen von Ethylalkohol zu anästhetischen Effekten, die durch direkte Interaktion mit dem synaptischen GABA_A-Rezeptor vermittelt werden (Breese et al., 2006; Meera et al., 2010; Olsen und Li, 2011). Allerdings treten auch bereits nach geringen Dosen von Alkohol, wie beispielsweise nach einem Glas Wein, typische Beeinträchtigungen auf (Olsen und Li, 2011). Diese werden durch Modulation von GABA_A-Rezeptoren vermittelt, die ausgesprochen sensitiv gegenüber GABA und Ethanol sind. Untersuchungen haben gezeigt, dass für diese Empfindlichkeit eine δ -Untereinheit essentiell ist (Breese et al., 2006; Meera et al., 2010; Olsen und Li, 2011). Außerdem führt Ethylalkohol über Interaktion mit GABA_A- und GABA_B-Rezeptoren zu einer veränderten Freisetzung von GABA in den synaptischen Spalt und durch diverse Mechanismen zu einer Erhöhung der Neurosteroidkonzentration im Gehirn (Breese et al., 2006).

Da unterschiedliche Ethanolkonzentrationen verschiedene Strukturen des GABAergen Systems beeinflussen, wird angenommen, dass es für diese Substanz zwei Bindungsstellen an GABA_A-Rezeptoren gibt (Olsen und Li, 2011). Mihic et al. konnten zeigen, dass sich eine Bindungsstelle zwischen M2 und M3 befindet. Vermutet wird, dass Ser²⁷⁰ und Ala²⁹¹ an der α 1- sowie Asn²⁶⁵ an der β 3-Untereinheit Bestandteil der Bindungstasche sind (Mihic et al., 1997).

Immer mehr Studien befassen sich aber vor allem mit den extrasynaptischen GABA_A-Rezeptoren, die sogar auf geringe Konzentrationen an Alkohol empfindlich reagieren. Typischerweise enthalten sie eine δ -Untereinheit, die häufig in Kombination mit α 4- beziehungsweise α 6-Untereinheiten vorkommt (Breese et al., 2006). Untersuchungen haben gezeigt, dass α 4/ β 3 δ -Rezeptoren besonders sensitiv auf Alkohol reagieren (Meera et al., 2010; Olsen und Li, 2011) und dass eine Mutation an der Position 100 der α 6-Untereinheit diese Empfindlichkeit noch weiter steigert (Meera et al., 2010). Durch Studien an Knock-out Mäusen weiß man, dass die δ -Untereinheit unerlässlich für die Sensitivität ist. Jedoch fand man auch heraus, dass diese alleine nicht ausreicht. Um selbst bei geringen Alkoholkonzentrationen tonische Inhibition vermitteln zu können, muss ein GABA_A-Rezeptor neben der δ - auch eine β 3-Untereinheit enthalten (Breese et al., 2006; Meera et al., 2010).

1.3 GABA_B-Rezeptoren

Anders als bei den ligandengesteuerten GABA_A- handelt es sich bei den GABA_B-Rezeptoren um metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (Cryan und Kaupmann, 2005), denen eine entscheidene Rolle bei der Regulation synaptischer Transmission zukommt (Biermann et al., 2010). Dabei hat die Aktivierung von präsynaptischen GABA_B-Rezeptoren Einfluss auf die Ca²⁺-abhängige Neurotransmitterfreisetzung (Cryan und Kaupmann, 2005). Grundsätzlich werden präsynaptische GABA_B-Rezeptoren in Autorezeptoren, die die GABA-Transmission regulieren, und in Heterorezeptoren, die die Freisetzung anderer Neurotransmitter hemmen, unterteilt (Bettler et al., 2004). Vermittelt werden diese Effekte durch Interaktion mit spannungsabhängigen Ca²⁺-Kanälen, wobei es sich vor allem um N- beziehungsweise P/Q-Typ Ca²⁺-Kanäle handelt (Marshall et al., 1999; Bettler et al., 2004; Biermann et al., 2010). Die Aktivierung von postsynaptischen Rezeptoren hingegen ist mit einer Öffnung von inwardly-rectifying K⁺-Kanälen (GIRK) assoziiert, was zu einer Hyperpolarisation, damit zur Vermittlung von langsamen inhibitorischen postsynaptischen Potentialen und letztendlich zur Reduktion der neuronalen Erregbarkeit führt (Marshall et al., 1999; Bettler et al., 2004; Cryan und Kaupmann, 2005; Biermann et al., 2010). Das entscheidende Segment für die hier beschriebene Interaktion mit den Ionenkanälen ist die G_{βγ}-Untereinheit des GABA_B-Rezeptors. Allerdings werden diverse Effekte der GABA_B-Rezeptoren auch durch Hemmung beziehungsweise Aktivierung der Adenylatcyclase (AC) hervorgerufen, wofür sowohl die G_{βγ}-, als auch G_{iα}- und G_{oα}-Untereinheit verantwortlich sind. Außerdem spielt die an die G_{iα}- und G_{oα}-Untereinheit gekoppelte Phospholipase C (PLC) eine entscheidende Rolle bei der Weiterleitung von exzitatorischen Stimuli im Cerebellum (Bettler et al., 2004).

GABA_B-Rezeptoren werden wegen ihrer modulatorischen Eigenschaften auf Neurotransmittersysteme mit verschiedenen physiologischen Prozessen, wie Regulation der Körpertemperatur, Blasenfunktion und emotionalen Verhaltens, aber auch Vermittlung von Nozizeption, in Verbindung gebracht. Dies legt nahe, dass Veränderungen im Bereich der GABA_B-Rezeptoren mit unterschiedlichen Erkrankungen beziehungsweise Symptomen assoziiert sind: Dazu gehören unter anderem Epilepsie,

Spasmen, Schmerzen und psychische Störungen (Marshall et al., 1999; Bettler et al., 2004; Cryan und Kaupmann, 2005).

Untersuchungen an GABA_B-Rezeptoren haben gezeigt, dass diese Heterodimere bestehend aus einer GABA_{B(1)}- und einer GABA_{B(2)}-Untereinheit sind (Bettler et al., 2004; Cryan und Kaupmann, 2005). Am häufigsten kommen im Gehirn zwei unterschiedlich exprimierte Isoformen des GABBR1-Gens, GABA_{B(1a)} und GABA_{B(1b)}, vor (Cryan und Kaupmann, 2005; Biermann et al., 2010). Strukturell unterscheiden sie sich nur im Bereich der extrazellulären Domäne, wo bei GABA_{B(1b)} die ersten 147 Aminosäuren der GABA_{B(1a)}-Isoform gegen eine 18 Aminosäuren lange Sequenz ausgetauscht sind (Bettler et al., 2004). Daraus ergibt sich, dass die beiden N-terminalen Sushi-Domänen, die in GABA_{B(1a)} vorkommen, in GABA_{B(1b)} fehlen, weshalb vermutet wird, dass vor allem GABA_{B(1a)}-Untereinheiten für die Interaktion mit Liganden und Proteinen verantwortlich sind (Biermann et al., 2010). Hinsichtlich ihres Vorkommens in prä- und postsynaptischen Regionen konnten bisher keine Präferenzen beobachtet werden (Cryan und Kaupmann, 2005), allerdings sind GABA_{B(1a)}-Untereinheiten sowohl in Axonen und Dendriten zu finden, während GABA_{B(1b)}-Untereinheiten ausschließlich in Dendriten vorkommen (Biermann et al., 2010). Neben GABA_{B(1a)} und GABA_{B(1b)} sind bis dato noch fünf andere Untereinheiten des GABA_{B(1)}-Typs bekannt: GABA_{B(1c)} – GABA_{B(1g)}. Diese kommen jedoch viel seltener vor, als die beiden anderen Subtypen (Bettler et al., 2004). Anders als bei der GABA_{B(1)}-Untereinheit ist von der GABA_{B(2)}-Untereinheit bis heute nur eine Form bekannt (Bettler et al., 2004). Diese dimerisiert mit einer GABA_{B(1)}-Untereinheit zu funktionfähigen GABA_B-Rezeptoren (Cryan und Kaupmann, 2005; Biermann et al., 2010).

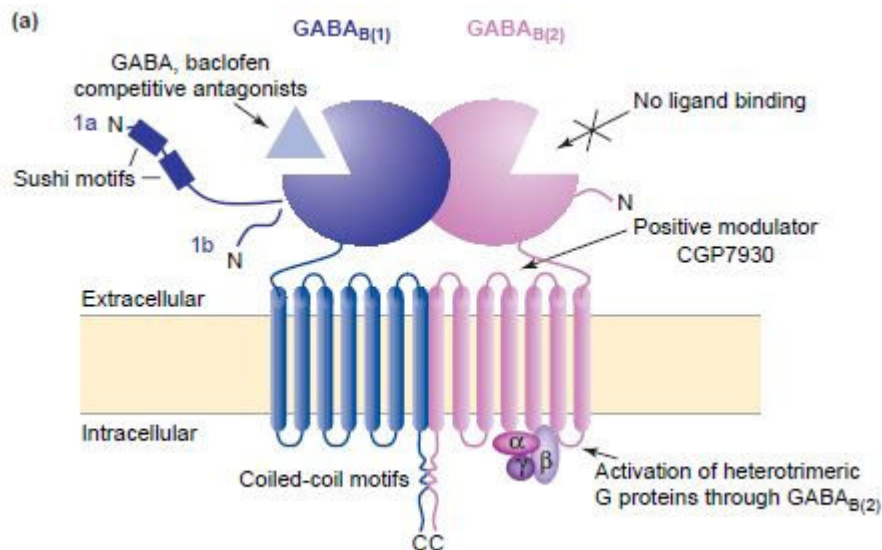


Abbildung 17: Schema eines GABA_B-Rezeptors, bestehend aus einer GABA_{B(1)}- und einer GABA_{B(2)}-Untereinheit, mit seinen Bindungsstellen für diverse Liganden (Cryan und Kaupmann, 2005).

Sowohl GABA_B-Agonisten also auch kompetitive Antagonisten an diesem Rezeptor binden an die extrazelluläre Domäne der GABA_{B(1)}-Untereinheit, die als lösliches Protein bezeichnet werden kann. Durch Röntgenstrukturanalyse entdeckte man eine Bindungstasche, die aus zwei globulären Lappen (Lappen I und II), die durch eine Art Schanier-Region getrennt sind, besteht. Kommt es nun zum Binden eines Liganden, schließen die Lappen diesen, ähnlich einer Venusfliegenfalle, ein. Als unerlässlich für die Ligand-Rezeptor-Interaktion haben sich dabei die Aminosäuren Ser²⁴⁶, Ser²⁶⁹, Asp⁴⁷¹ und Glu⁴⁶⁵ an Lappen I, sowie Tyr³⁶⁶ an Lappen II erwiesen.

Es wird angenommen, dass GABA, aber auch Baclofen, mit seiner Carboxylgruppe an die Hydroxylgruppen von Ser²⁴⁶ und Tyr³⁶⁶ bindet, während das aminoterminal Ende wahrscheinlich mit Glu⁴⁶⁵ interagiert. Neue Erkenntnisse legen nahe, dass Asp⁴⁷¹, nicht wie bisher angenommen, durch ionische Wechselwirkungen mit GABA in Kontakt tritt, sondern eher für die korrekte Faltung des Lappen I verantwortlich ist.

Die GABA_{B(2)}-Untereinheit scheint hingegen nicht für die Bindung von Agonisten oder Antagonisten verantwortlich zu sein. Allerdings könnte sie der Angriffspunkt für die neuen allosterischen Agonisten am GABA_B-Rezeptor sein (Bettler et al., 2004).

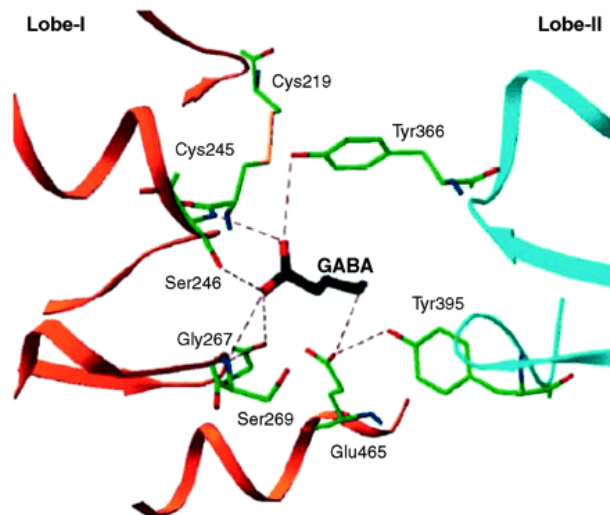


Abbildung 18: Die Bindungsstelle von GABA am GABA_B-Rezeptor (Bettler et al., 2004).

Baclofen, β -p-Chlorophenyl-GABA, ist der Prototyp für GABA_B-Rezeptoragonisten. Es besitzt dieselbe Bindungsstelle wie GABA und vermittelt muskelrelaxierende und analgetische Effekte, weswegen es häufig zur Therapie von Epilepsie, Wahrnehmungsstörungen, Schmerzen, gastroösophagealer Refluxkrankheit und Abhängigkeit eingesetzt wird (Cryan und Kaupmann, 2005). Allerdings kommt es häufig zu motorischen Beeinträchtigungen, Sedierung, Toleranzentwicklung und Muskelrelaxation unter Baclofen-Einfluss, weswegen vermehrt nach Wirkstoffen gesucht wird, die zwar am GABA_B-Rezeptor angreifen, jedoch weniger Nebenwirkungen aufweisen (Bettler et al., 2004).

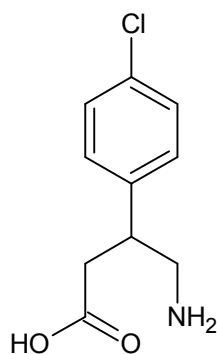


Abbildung 19: Strukturformel von Baclofen.

Hier scheinen besonders allosterische Modulatoren des GABA_B-Rezeptors sehr vielversprechend zu sein. Diese unterscheiden zwischen Rezeptoren im aktiven beziehungsweise inaktiven Zustand und führen nach Binden an eine gesonderte Bindungsstelle zu einer Verstärkung der GABAergen Effekte (Bettler et al., 2004). Dadurch kommt es zur Reduktion von diversen Nebenwirkungen, wie beispielsweise Sedierung und Muskelrelaxation (Cryan und Kaupmann, 2005).

Für Forschungszwecke werden hingegen häufig GABA_B-Rezeptor-Antagonisten eingesetzt. Dabei waren Phaclofen, Saclofen und 2-Hydroxysaclofen die ersten selektiven Antagonisten, die in den späten 1980er Jahren synthetisiert wurden. Diese weisen allerdings nur geringe Affinität für die GABA-Bindungsstelle auf, weswegen nach neuen Derivaten gesucht wurde. Potentere Antagonisten stellen Phosphinsäurederivate, wie CPG36742, dar, das zur Verbesserung der kognitiven Aktivität bei milden Formen von Alzheimer getestet wird (Cryan und Kaupmann, 2005).

2. Problemstellung und Zielsetzung

Wie bereits unter 1.2.6.1 erwähnt, sind Angststörungen Erkrankungen, die eine sehr hohe Prävalenz (Möhler, 2006) und Co-Morbiditäten mit beispielsweise gastrointestinalen Erkrankungen, Diabetes und kardiologischen Beeinträchtigungen aufweisen. Neben den sozialmedizinischen Aspekten dürfen aber auch die ökonomischen Folgen nicht außer Acht gelassen werden, da Angststörungen nicht nur direkte Kosten durch den finanziellen Aufwand für die Therapie sondern auch indirekte Kosten durch Verminderung der Produktivität und häufigere Krankenstände verursachen (Hoffman et al., 2008).

Heutzutage umfasst die Behandlung sowohl verhaltenstherapeutische als auch pharmakologische Maßnahmen, wie unter anderem die Einnahme von SSRIs, TCAs und Benzodiazepinen (Gutteling et al., 2012; Möhler, 2012). Während die Verhaltenstherapie Nachteile in puncto Zeitaufwand und Wirkungseintritt aufweist, sind bei SSRIs und TCAs besonders Arznei- beziehungsweise Nahrungsmittelinteraktionen problematisch (Lane und Baldwin, 1997; Gutteling et al., 2012). Beim Gebrauch von Benzodiazepinen sind vor allem Effekte wie Sedierung, Toleranzentwicklung und Abhängigkeit unerwünscht (Lader, 2011; Hood et al., 2012; Möhler, 2012). Da eine optimale Therapie nicht nur aus sozialmedizinischer sondern auch aus ökonomischer Sicht von besonderem Interesse ist, sucht man nach neuen Wirkstoffen und Substanzen mit günstigeren Eigenschaften.

Im Rahmen meiner Diplomarbeit habe ich deswegen die Effekte eines Naturstoffes und einer Reihe von Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen untersucht.

1. Untersuchung des Wirkungseintritts beziehungsweise der Wirkdauer von einer Prodrug-Serie der Substanz LJS-0.
2. Untersuchung dosisabhängiger Änderungen des angstassoziierten Verhaltens beziehungsweise der Motoraktivität nach Applikation von 11 LJS-0-Derivaten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beziehungsweise LJS-0 im Open-Field (OF) beziehungsweise Light-Dark-Choice-Test (LDT).

Prodrugs:

Hier sollten potentiell anxiolytische beziehungsweise sedierende Effekte von LJS-0 und vier LJS-0-Derivaten, die in einer Dosis von 3 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal (i.p.) verabreicht wurden, an c57Bl/6N Mäusen im Elevated-Plus-Maze-Test (EPM) mittels VideoMot2 System 15, 30 beziehungsweise 60 Minuten nach Applikation untersucht werden. Um Aufschluss darüber zu erhalten, ob diese Substanzen über einen schnelleren Wirkungseintritt und/oder eine längere Wirkdauer verfügen, wurden folgende Parameter zur Analyse herangezogen: die verbrachte Zeit in den offenen Armen (OA) in Prozent, die Besuche der OA, die Besuche der geschlossenen Arme (GA) in Prozent und die zurückgelegte Gesamtstrecke in Zentimetern.

LJS-0-Derivate:

Zur Untersuchung der potentiell anxiolytischen beziehungsweise sedierenden Effekte von LJS-0 und LJS-0-Derivaten im OF beziehungsweise im LDT mittels ActiMot2 wurden den Versuchstieren 30 Minuten vor dem verhaltenspharmakologischen Test die Substanzen in unterschiedlich hohen Dosierungen verabreicht. Für die Auswertung der Effektivität wurden beim OF die zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter, die Zeit im Zentrum in Sekunden, die Gesamtzahl der Rearings und die zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent zur Gesamtstrecke als Parameter herangezogen. Beim LDT sollten die verbrachte Zeit im Hellen in Prozent von der gesamten Versuchsdauer, die Besuche der hellen Zone, die gelaufene Strecke im Hellen in Prozent von der Gesamtstrecke und die zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter Aufschluss über die Wirkstärke der Substanzen geben.

3. Methoden

Die in vivo Untersuchungen wurden ausschließlich an männlichen c57Bl/6N Mäuse im Alter von 3 bis 6 Monaten durchgeführt (Charles River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland), die in Gruppen zu je 5 Tieren gehalten wurden und freien Zugang zu Futter und Wasser hatten. Die Haltungsbedingungen waren: Raumtemperatur bei $23 \pm 1^\circ \text{C}$; Luftfeuchtigkeit $40 \pm 20 \%$ und ein 12-stündiger Tag-Nacht-Rhythmus (07.00 bis 19.00 Uhr).

Die Durchführung der Versuche wurde vom Bundesministerium für Wissenschaft und Forschung unter Befolgung der europäischen Konvention zum Schutz von für experimentelle oder andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltieren ETS no.: 123 genehmigt (Khom et al., 2010).

Zur Versuchsvorbereitung wurden die Tiere am Vortag gewogen, markiert und in den Versuchsraum gebracht. 30 Minuten vor dem Test wurden die Substanz- bzw. Kontrolllösungen i.p. injiziert. Die Injektion der Testlösungen erfolgte in einem gesonderten Vorbereitungsraum, um die anderen Tiere nicht zu stören.

3.1 Injektionslösungen

Die Injektionslösungen wurden aus Stammlösungen von jeweils 1 mg Substanz in 10 μl DMSO bereitet und mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) weiter auf die gewünschte Konzentration verdünnt. Als Lösungsvermittler wurde den Lösungen 3 % Polysorbat 80 zugesetzt, sodass die DMSO-Konzentration in der fertigen Lösung maximal 10 % betrug.

3.2 Elevated-Plus-Maze Test (EPM)

Der Elevated-Plus-Maze Test ist in der Angstforschung das am häufigsten verwendete Tiermodell (Hogg, 1996). Dazu wird die Injektionslösung i.p. eingebracht und das Verhalten der Mäuse nach 15, 30 oder 60 Minuten über einen Zeitraum von 5 Minuten auf einer plusförmigen Testapparatur in einem Meter Höhe bei einer Lichtintensität von

180 Lux beobachtet. Diese Apparatur besteht aus zwei offenen Armen (OA; 5x30 Zentimeter), zwei geschlossenen Armen (5x30 Zentimeter; Höhe der geschlossenen Arme 10 Zentimeter) und einer dazwischenliegenden neutralen Zone (NA; 5x5 Zentimeter; siehe Abbildung 20). Zu Beginn des Tests werden die Mäuse in die NA mit Blick in einen OA gesetzt. Die Aufzeichnung und Auswertung der Versuche erfolgte automatisch mittels VideoMot2 (TSE-Systems, Bad Homburg, Deutschland).

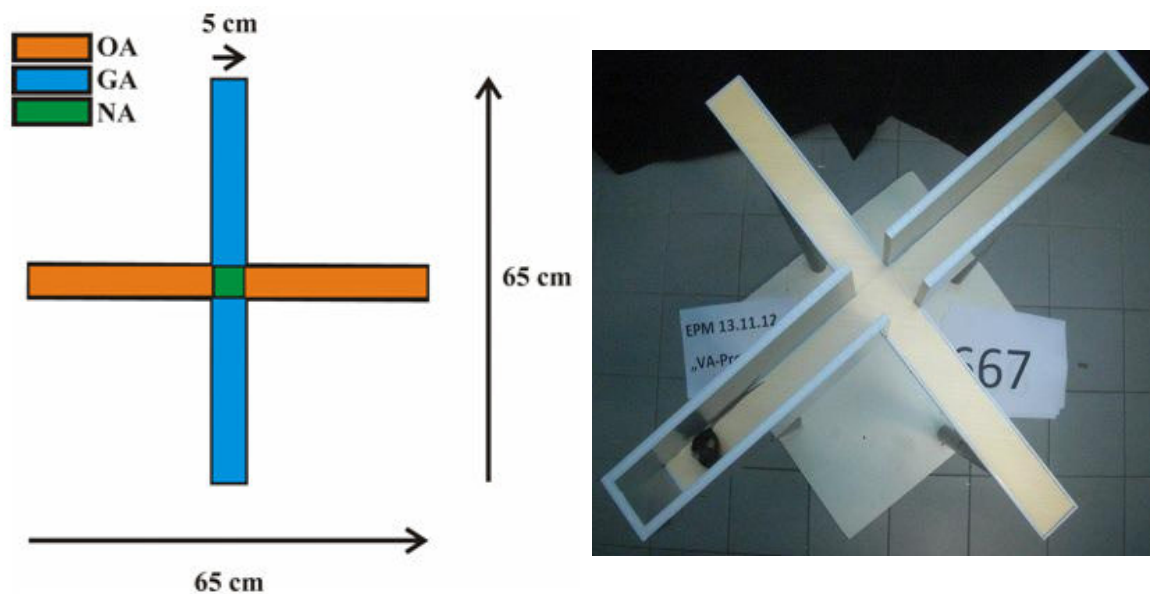


Abbildung 20: Schematische Darstellung des EPM Tests und Foto der Versuchsaapparatur.

3.3 Open-Field-Test (OF)

30 Minuten nach i.p. Injektion wurde das Verhalten der Mäuse über einen Zeitraum von 10 Minuten in einer 50 x 50 Zentimeter Box, die mit Lichtschranken ausgestattet war, getestet. Die Lichtintensität betrug bei diesem Test 150 Lux. Nach Empfehlung von EMPRESS (European Mouse Phenotyping Resource of Standardised Screens; <http://empress.har.mrc.ac.uk>) wurde die Gesamtfläche für die Auswertung in eine Randzone (bis 8 Zentimeter von der Wand), ein Zentrum (16 % von der Gesamtfläche) und die Fläche zwischen diesen Zonen = Zwischenzone unterteilt (siehe Abbildung 21). Die Aufzeichnung und Auswertung der Versuche erfolgte automatisch mittels ActiMot2 (TSE-Systems, Bad Homburg, Deutschland).

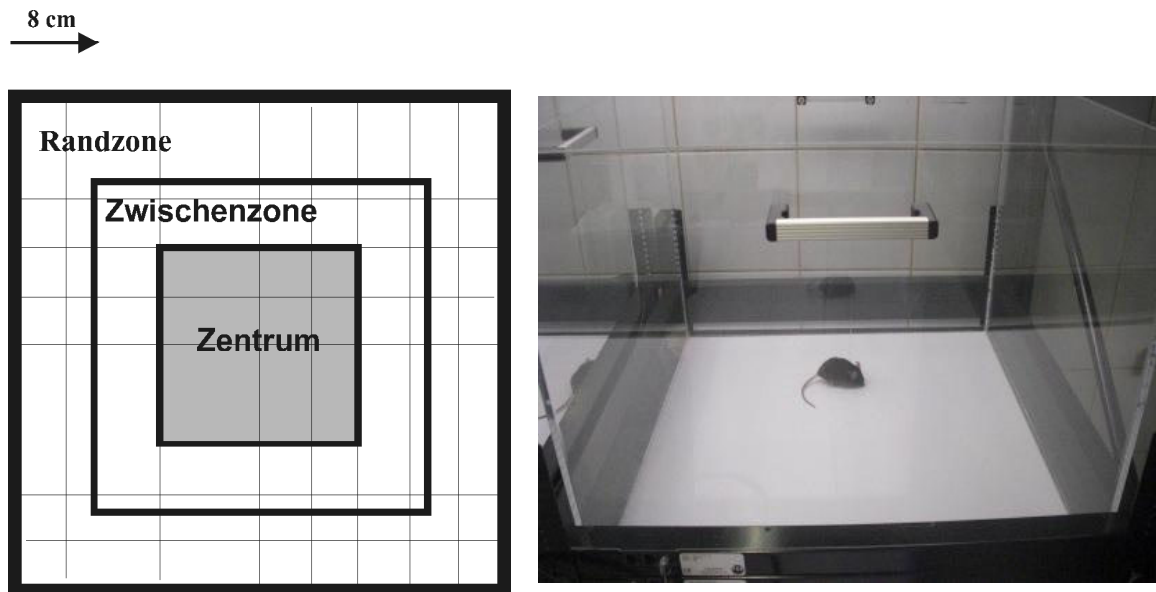


Abbildung 21: Links: Schematische Darstellung des OF mit Einteilung der Fläche in Rand-, Zwischenzone und Zentrum (16 % der Gesamtfläche). Rechts: Foto der Versuchsanordnung.

3.4 Light-Dark-Choice-Test (LDT)

Bei diesem Test wurde in die OF-Box eine um circa 2/3 kleinere schwarze Box mit einer kleinen Öffnung, die den Eingang vom Hellen ins Dunkle darstellt und in der die Tiere Schutz suchen können, eingebracht. Die Lichtintensität wurde hier auf 400 Lux eingestellt. In Abbildung 22 ist der LDT schematisch dargestellt. Das Verhalten der Tiere wurde 30 Minuten nach i.p. Injektion der Testlösungen über einen Zeitraum von 10 Minuten aufgezeichnet. Die Aufzeichnung und Auswertung der Versuche erfolgte automatisch mittels ActiMot2 (TSE-Systems, Bad Homburg, Deutschland).

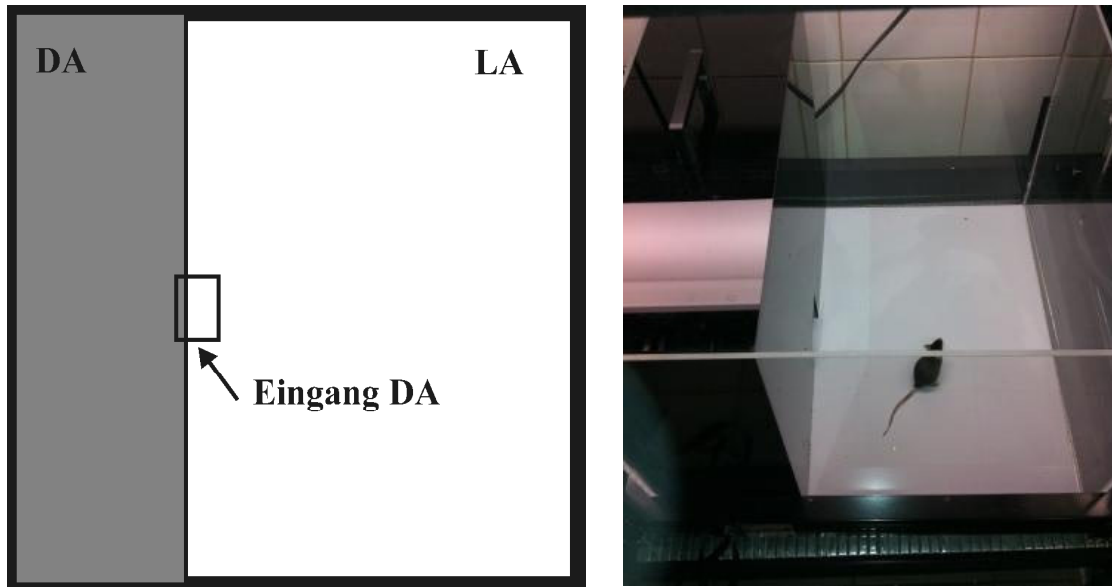


Abbildung 22: Links: Schematische Darstellung der LDT-Versuchsanordnung. Lit Area (LA); Dark Area (DA); Rechts: Foto des LDT.

3.5 Statistische Analyse der Daten

Der Vergleich von Kontrollgruppe und Verumgruppe erfolgte mittels Einweg-ANOVA mit anschließender Bonferroni-Korrektur (Microsoft Office; Origin MicroCal). p-Werte $<0,05$ gelten als statistisch signifikant. Alle Werte werden als Mittelwert $\pm$ SEM angegeben.

4. Ergebnisse

4.1 Untersuchung der Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM

4.1.1 Untersuchung der Effekte von LJS-0-Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 15 Minuten nach i.p. Applikation

	EPM 15 Minuten				
	Zeit OA; %	Besuche OA	Besuche GA; %	Gesamtstrecke; cm	Versuchstiere; n
Kontrolle	30,56 ± 4,68	13,9 ± 1,9	51,23 ± 3,74	1302 ± 63	8
LJS-1	43,36 ± 5,70	11,4 ± 1,2	48,25 ± 3,84	1332 ± 48	12
LJS-2	47,61 ± 4,49	13,3 ± 1,1	43,97 ± 2,56	1342 ± 50	20

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert ± SEM) von LJS-1 und LJS-2 (3 mg/kg Körpergewicht) im EPM 15 Minuten nach i.p. Applikation.

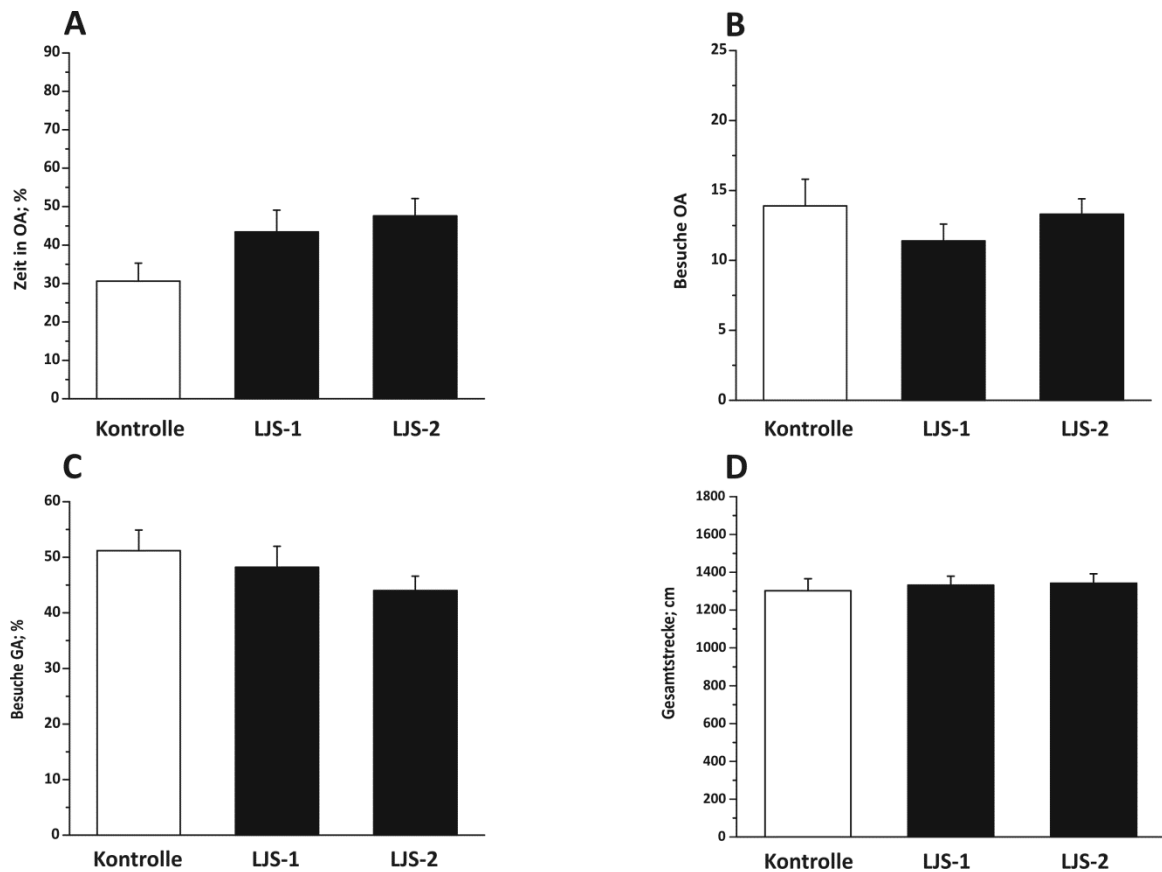


Abbildung 23: Vergleich des Effekts von LJS-1 und LJS-2 (3 mg/kg Körpergewicht) mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 15 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Aufenthaltsdauer (% der Gesamtzeit des Versuchs) der Tiere in den OA. **B:** Anzahl der Besuche der OA. **C:** Anzahl der Besuche der GA (% der Gesamtzahl). **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Zentimeter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Wie in Tabelle 1 und Abbildung 23 gezeigt, verbrachten Mäuse der Kontrollgruppe $30,56 \pm 4,68$ % ($n=8$) der Gesamtzeit in den OA des EPM. Nach Applikation von LJS-1 als auch LJS-2 verbrachten die Versuchstiere mehr Zeit in den OA (LJS-1: $43,36 \pm 5,70$ %, $n=12$; LJS-2: $47,61 \pm 4,49$ %, $n=20$): dieser Anstieg war jedoch statistisch nicht signifikant ($p>0,05$).

Während Versuchstiere der Kontrollgruppe und jene, die LJS-2 bekommen hatten, ungefähr gleich oft die OA besuchten, führte die Gabe von LJS-1 zu einer geringfügigen Reduktion dieses Parameters (Kontrolle: $13,9 \pm 1,9$, $n=8$; LJS-1: $11,4 \pm 1,2$, $n=12$; LJS-2: $13,3 \pm 1,1$, $n=20$).

Bei den relativen Besuchen der GA konnte allerdings eine Abnahme bei der LJS-1-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe beobachtet werden. Dieser Effekt kam bei LJS-2 noch deutlicher zum Vorschein (Kontrolle: $51,23 \pm 3,74$ %, n=8; LJS-1: $48,25 \pm 3,84$ %, n=8; LJS-2: $43,97 \pm 2,56$ %, n=20).

Die zurückgelegte Gesamtstrecke war bei allen drei Gruppen ähnlich groß (Kontrolle: 1302 ± 63 cm, n=8; LJS-1: 1332 ± 48 cm, n=12; LJS-2: 1342 ± 50 cm, n=20).

4.1.2 Untersuchung der Effekte von LJS-0 und –Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 30 Minuten nach i.p. Applikation

	EPM 30 Minuten				
	Zeit OA; %	Besuche OA	Besuche GA; %	Gesamtstrecke; cm	Versuchstiere; n
Kontrolle	$30,16 \pm 3,65$	$11,3 \pm 1,4$	$53,90 \pm 3,55$	1294 ± 46	13
LJS-0	$38,49 \pm 8,62$	$13,8 \pm 2,8$	$47,39 \pm 5,95$	1342 ± 117	5
LJS-3	$54,59 \pm 4,54$	$13,7 \pm 0,7$	$38,21 \pm 3,05$	1270 ± 33	18
LJS-2	$46,41 \pm 4,22$	$16,8 \pm 4,1$	$42,22 \pm 3,88$	1401 ± 192	18
LJS-4	$42,33 \pm 7,17$	$13,3 \pm 2,1$	$43,83 \pm 4,48$	1198 ± 76	9

Tabelle 2: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von LJS-0, LJS-3, LJS-2 und LJS-4 (3 mg/kg Körpergewicht) im EPM 30 Minuten nach i.p. Applikation.

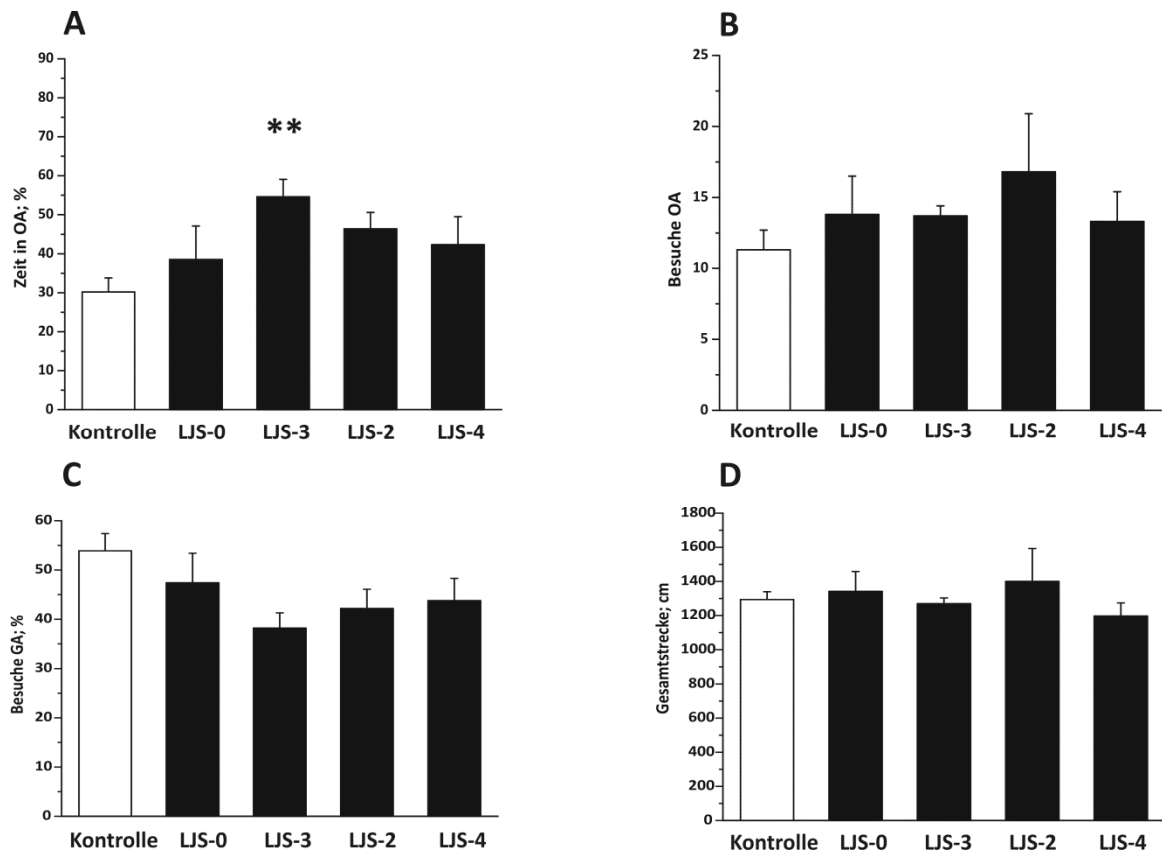


Abbildung 24: Vergleich des Effekts von LJS-0, LJS-3, LJS-2 und LJS-4 (3 mg/kg Körpergewicht) mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Aufenthaltsdauer (% der Gesamtzeit des Versuchs) der Tiere in den OA. **B:** Anzahl der Besuche der OA. **C:** Anzahl der Besuche der GA (% der Gesamtzahl). **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Zentimeter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte ± SEM. (***) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Aus Tabelle 2 und Abbildung 24 kann man entnehmen, dass die Mäuse der Kontrollgruppe $30,16 \pm 3,65$ % ($n=13$) der Gesamtzeit in den OA des EPM verbrachten. Im Vergleich dazu bewirkten LJS-0, LJS-2 und LJS-4 eine größere Aufenthaltszeit in den OA, die jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$) von den Werten der Kontrollgruppe abwich (LJS-0: $38,49 \pm 8,62$ %, $n=5$; LJS-2: $46,41 \pm 4,22$ %, $n=18$; LJS-4: $42,33 \pm 7,17$ %, $n=9$). Im Gegensatz dazu führte die Applikation von LJS-3 mit $54,8 \pm 4,2$ % ($n=18$) zu einem signifikanten ($p < 0,01$) Anstieg der Aufenthaltsdauer in den OA verglichen mit der Kontrollgruppe.

Hinsichtlich der Anzahl der Besuche der OA lieferten LJS-0, LJS-3 und LJS-4 ähnliche Ergebnisse wie die Kontrollgruppe (Kontrolle: $11,3 \pm 1,4$, $n=13$; LJS-0: $13,8 \pm 2,8$, $n=5$; LJS-3: $13,7 \pm 0,7$, $n=18$; LJS-4: $13,3 \pm 2,1$, $n=9$). Nur bei Versuchstieren, die LJS-2 bekommen hatten, konnten deutlich mehr Besuche der OA gezählt werden als bei der Kontrollgruppe (LJS-2: $16,8 \pm 4,1$, $n=18$).

In Abbildung 24 zeigt sich ebenfalls deutlich, dass die Mäuse der Kontrollgruppe am häufigsten die GA aufgesucht haben (Kontrolle: $53,90 \pm 3,55$ %, $n=13$). Besonders LJS-3 führte mit $38,21 \pm 3,05$ % ($n=18$) zu einer Reduktion dieses Parameters, während LJS-0, LJS-2 und LJS-4 einen weniger deutlichen Effekt zeigten (LJS-0: $47,39 \pm 5,95$ %, $n=5$; LJS-2: $42,22 \pm 3,88$ %, $n=18$; LJS-4: $43,83 \pm 4,48$ %, $n=9$).

Die zurückgelegte Gesamtstrecke im EPM lag bei allen fünf Gruppen wieder in einem sehr ähnlichen Bereich (Kontrolle: 1294 ± 46 cm, $n=13$; LJS-0: 1342 ± 117 cm, $n=5$; LJS-3: 1270 ± 33 cm; $n=18$; LJS-2: 1401 ± 192 cm; $n=18$; LJS-4: 1198 ± 76 cm; $n=9$).

4.1.3 Untersuchung der Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 60 Minuten nach i.p. Applikation

	EPM 60 Minuten				
	Zeit OA; %	Besuche OA	Besuche GA; %	Gesamtstrecke; cm	Versuchstiere; n
Kontrolle	$41,85 \pm 1,48$	$11,0 \pm 0,6$	$54,60 \pm 2,08$	1366 ± 73	15
LJS-0	$43,36 \pm 4,96$	$13,5 \pm 1,2$	$43,90 \pm 1,46$	1271 ± 65	13
LJS-3	$50,20 \pm 6,72$	$12,6 \pm 1,6$	$40,62 \pm 5,36$	1285 ± 74	11
LJS-2	$57,05 \pm 6,68$	$9,0 \pm 1,2$	$39,17 \pm 5,98$	1111 ± 95	16
LJS-4	$67,62 \pm 14,54$	$8,2 \pm 2,2$	$31,25 \pm 12,70$	974 ± 143	6

Tabelle 3: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von LJS-0, LJS-3, LJS-2 und LJS-4 (3 mg/kg Körpergewicht) im EPM 60 Minuten nach i.p. Applikation.

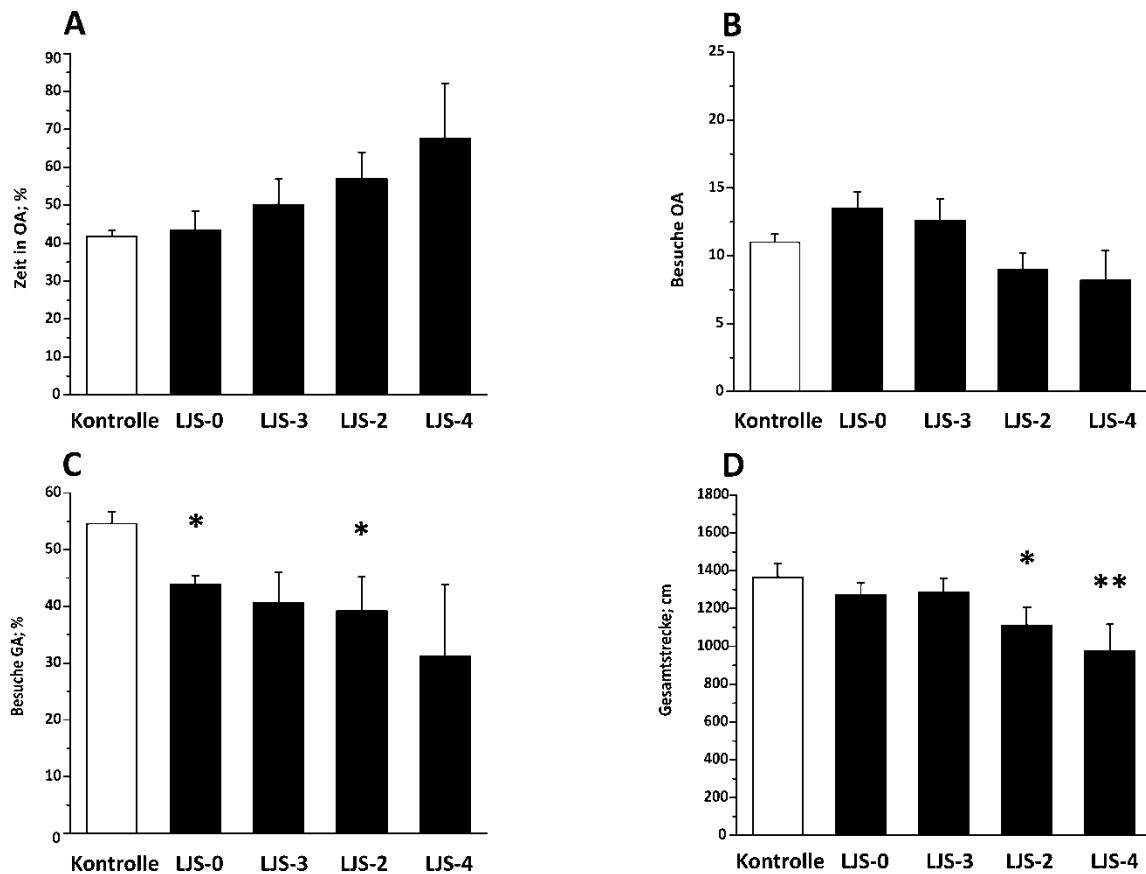


Abbildung 25: Vergleich des Effekts von LJS-0, LJS-3, LJS-2 und LJS-4 (3 mg/kg Körpergewicht) mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im EPM 60 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Aufenthaltsdauer (% der Gesamtzeit des Versuchs) der Tiere in den OA. **B:** Anzahl der Besuche der OA. **C:** Anzahl der Besuche der GA (% der Gesamtzahl). **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Zentimeter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$). (**) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Bei diesem Versuch verbrachten Mäuse, die LJS-0 bekommen hatten, mit $43,36 \pm 4,96$ % ($n=13$) der Gesamtzeit, im Wesentlichen genauso viel Zeit in den OA wie die Tiere der Kontrollgruppe $41,85 \pm 1,48$ % ($n=15$). Im Gegensatz dazu hatte die Gabe von LJS-3 einen Anstieg dieses Parameters zu Folge, der allerdings bei LJS-2 noch größer und bei LJS-4 am größten war (LJS-3: $50,20 \pm 6,72$ %, $n=11$; LJS-2: $57,05 \pm 6,68$ %, $n=16$; LJS-4: $67,62 \pm 14,54$ %, $n=6$) (siehe Abbildung 25).

Im Schnitt betraten Mäuse der Kontrollgruppe die OA $11,0 \pm 0,6$ Mal ($n=15$). Während LJS-0 und LJS-3 zu etwas mehr Besuchen der OA führten, sank die Anzahl der Eintritte in

die OA bei LJS-2 und LJS-4 hingegen etwas ab (LJS-0: $13,5 \pm 1,2$, $n=13$; LJS-3: $12,6 \pm 1,6$, $n=11$; LJS-2: $9,0 \pm 1,2$, $n=16$; LJS-4: $8,2 \pm 2,2$, $n=6$).

Zu einer signifikanten ($p<0,05$) Reduktion der Besuche der GA in Prozent von der Gesamtzahl der Besuche kam es sowohl bei der LJS-0- als auch bei der LJS-2-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe (Kontrolle: $54,60 \pm 2,08$ %, $n=15$; LJS-0: $43,90 \pm 1,46$ %, $n=13$; LJS-2: $39,17 \pm 5,98$ %, $n=16$). Mäuse, die LJS-3 beziehungsweise LJS-4 bekommen hatten, liefen ebenfalls seltener in die GA (LJS-3: $40,62 \pm 5,36$ %, $n=11$; LJS-4: $31,25 \pm 12,70$ %, $n=6$). Diese Reduktion war allerdings nicht statistisch signifikant ($p>0,05$).

Vergleicht man die zurückgelegten Gesamtstrecken der verschiedenen Gruppen, so wird deutlich, dass LJS-0 und LJS-3 keinen Einfluss auf diesen Parameter ausgeübt haben (Kontrolle: 1366 ± 73 cm, $n=15$; LJS-0: 1271 ± 65 cm, $n=13$; LJS-3: 1285 ± 74 cm, $n=11$). Allerdings führte die Gabe von LJS-2 zu einer signifikanten ($p<0,05$) Abnahme der Laufstrecke (LJS-2: 1111 ± 95 cm, $n=16$). Dieser Effekt kam bei LJS-4 noch deutlicher zum Vorschein ($p<0,01$) (LJS-4: 974 ± 143 cm, $n=6$).

4.2 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

4.2.1 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-0				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
1 mg/kg	$35,9 \pm 1,3$	$39,2 \pm 5,8$	$262,3 \pm 33,8$	$8,68 \pm 0,93$	10
3 mg/kg	$33,6 \pm 2,8$	$36,8 \pm 10,0$	$222,3 \pm 23,9$	$8,87 \pm 1,55$	4
10 mg/kg	$32,9 \pm 2,9$	$30,8 \pm 3,0$	$187,0 \pm 18,5$	$9,02 \pm 0,90$	4
30 mg/kg	$36,7 \pm 2,5$	$42,1 \pm 7,0$	$165,3 \pm 22,6$	$9,09 \pm 0,74$	16

Tabelle 4: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-0 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

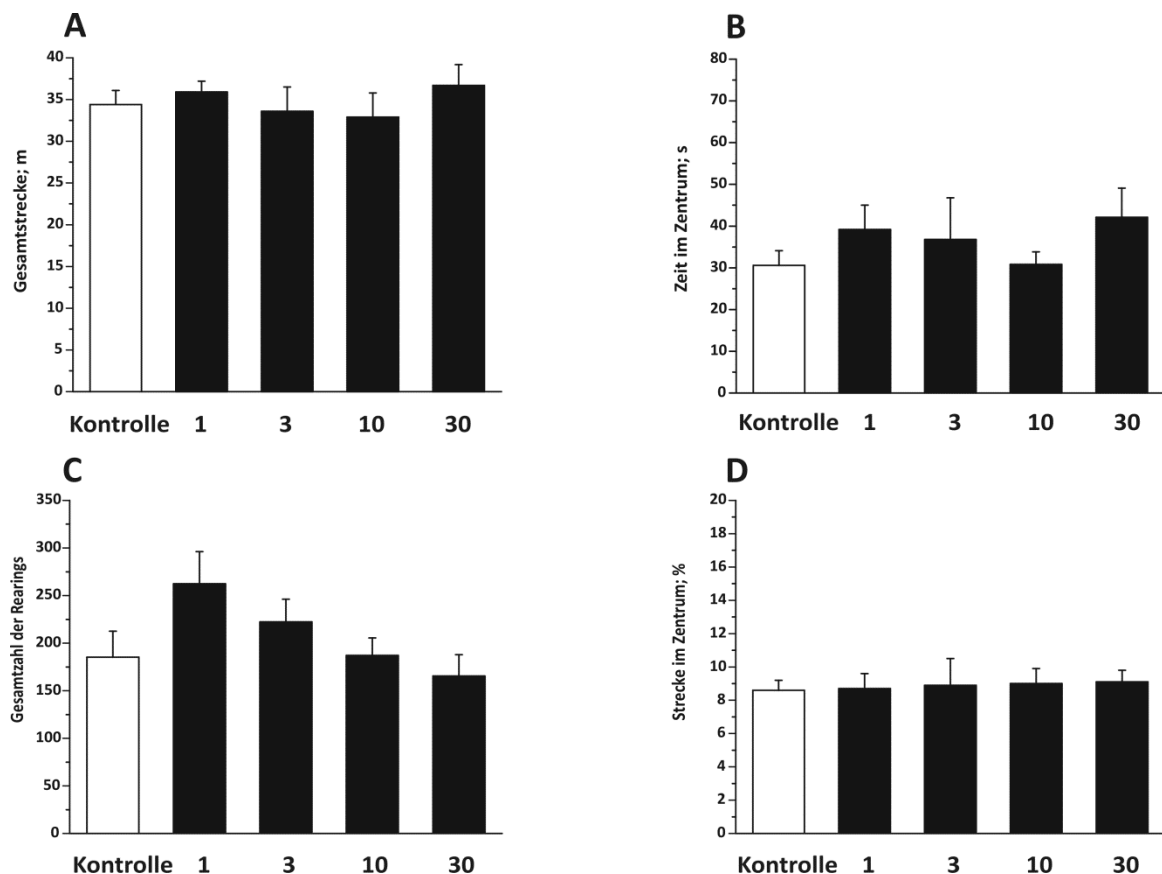


Abbildung 26: Vergleich des Effekts von 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-0 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Wie in Abbildung 26 ersichtlich, unterscheiden sich die getesteten Gruppen hinsichtlich der zurückgelegten Gesamtstrecke nur minimal (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 1 mg/kg LJS-0: $35,9 \pm 1,3$ m, $n=10$; 3 mg/kg LJS-0: $33,6 \pm 2,8$ m, $n=4$; 10 mg/kg LJS-0: $32,9 \pm 2,9$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-0: $36,7 \pm 2,5$ m, $n=16$).

Während sich die Mäuse der Kontrollgruppe und jene, die 10 mg/kg Körpergewicht LJS-0 erhalten hatten, ungefähr gleich lang im Zentrum aufhielten, verbrachten die Mäuse der restlichen Gruppen etwas mehr Zeit in der zentralen Zone (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 1 mg/kg LJS-0: $39,2 \pm 5,8$ s, $n=10$; 3 mg/kg LJS-0: $36,8 \pm 10,0$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-0: $30,8 \pm 3,0$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-0: $42,1 \pm 7,0$ s, $n=16$).

Im Laufe des Versuchs richteten sich Mäuse der Kontrollgruppe im Schnitt $185,20 \pm 27,40$ Mal ($n=15$) auf. Abbildung 26 zeigt sehr deutlich, dass LJS-0 in niedrigen Dosen zu einem Anstieg und eine Dosissteigerung zu einem Abfall der Gesamtzahl der Rearings führte (1 mg/kg LJS-0: $262,3 \pm 33,8$, $n=10$; 3 mg/kg LJS-0: $222,3 \pm 23,9$, $n=4$; 10 mg/kg LJS-0: $187,0 \pm 18,5$, $n=4$; 30 mg/kg LJS-0: $165,3 \pm 22,6$, $n=16$).

Analog zu den ähnlichen Ergebnissen bezüglich der zurückgelegten Gesamtstrecke, zeigte sich, dass LJS-0 auch auf die gelaufenen Strecke im Zentrum keinen Einfluss hatte (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 1 mg/kg LJS-0: $8,68 \pm 0,93$ %, $n=10$; 3 mg/kg LJS-0: $8,87 \pm 1,55$ %, $n=4$; 10 mg/kg LJS-0: $9,02 \pm 0,90$ %, $n=4$; 30 mg/kg LJS-0: $9,09 \pm 0,74$ %, $n=16$).

4.2.2 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-5 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-5				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
1 mg/kg	$35,7 \pm 2,2$	$31,8 \pm 6,7$	$273,2 \pm 35,8$	$8,41 \pm 0,96$	12
3 mg/kg	$33,0 \pm 3,1$	$41,3 \pm 7,5$	$172,2 \pm 19,1$	$9,97 \pm 1,46$	13
10 mg/kg	$33,1 \pm 1,3$	$35,5 \pm 4,8$	$183,3 \pm 21,4$	$9,22 \pm 1,08$	9
30 mg/kg	$33,7 \pm 3,7$	$31,9 \pm 6,5$	$148,3 \pm 28,9$	$8,43 \pm 1,90$	4

Tabelle 5: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-5 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

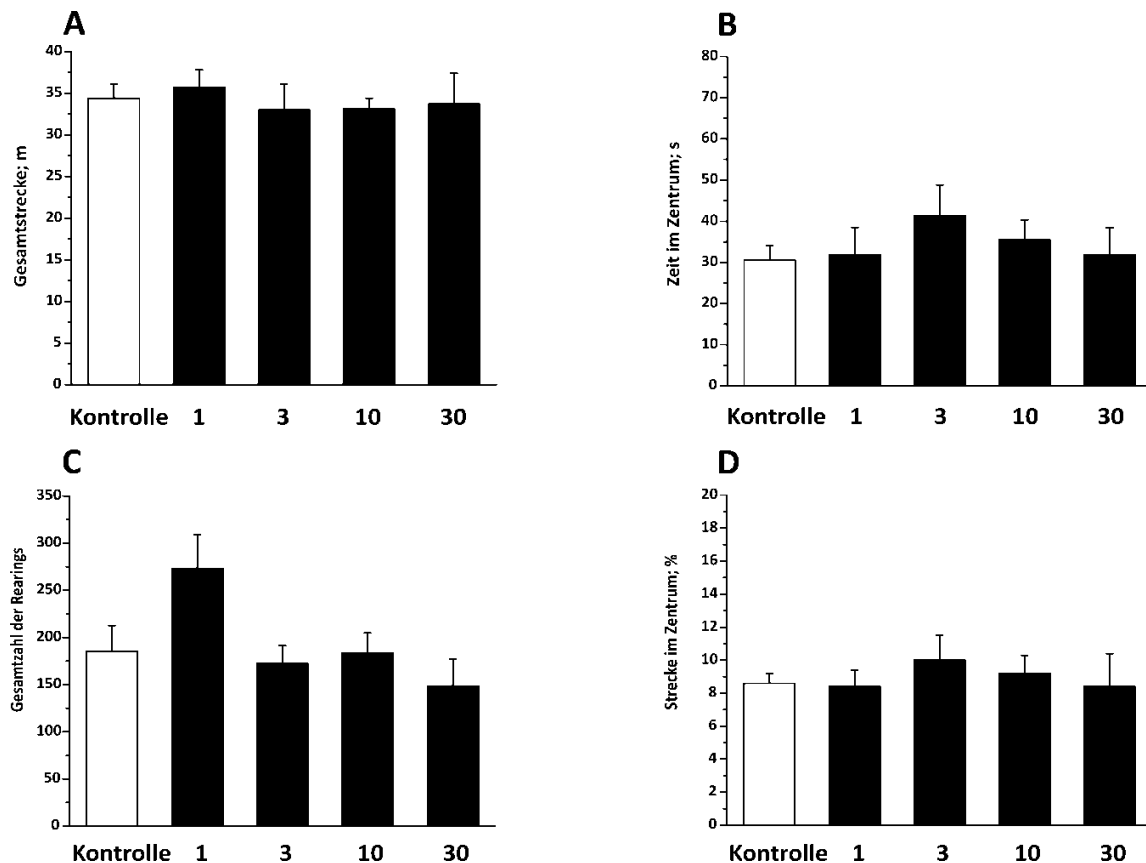


Abbildung 27: Vergleich des Effekts von 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-5 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Ähnlich wie zuvor bei LJS-0, unterschieden sich die LJS-5-Gruppen in puncto zurückgelegter Gesamtstrecke nicht wesentlich von der Kontrollgruppe (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 1 mg/kg LJS-5: $35,7 \pm 2,2$ m, $n=12$; 3 mg/kg LJS-5: $33,0 \pm 3,1$ m, $n=13$; 10 mg/kg LJS-5: $33,1 \pm 1,3$ m, $n=9$; 30 mg/kg LJS-5: $33,7 \pm 3,7$ m, $n=4$).

Bezüglich der Zeit im Zentrum konnte zunächst bei 1 mg/kg Körpergewicht LJS-5 kein Unterschied zur Kontrollgruppe festgestellt werden (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 1 mg/kg LJS-5: $31,8 \pm 6,7$ s, $n=12$). Allerdings stieg die Aufenthaltsdauer im Zentrum bei einer Dosis von 3 mg/kg Körpergewicht LJS-5 auf $41,3 \pm 7,5$ s ($n=13$) an, um anschließend bei noch höheren Dosen wieder auf das Ausgangsniveau zurückzukehren (10 mg/kg LJS-5: $35,5 \pm 4,8$ s, $n=9$; 30 mg/kg LJS-5: $31,9 \pm 6,5$ s, $n=4$).

Die Gesamtzahl der Rearings der Versuchstiere, die 3 beziehungsweise 10 mg LJS-5/kg Körpergewicht erhalten hatten, war mit jener der Kontrollgruppe vergleichbar (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-5: $172,2 \pm 19,1$, $n=13$; 10 mg/kg LJS-5: $183,3 \pm 21,4$, $n=9$). Mäuse, die nur 1 mg/kg LJS-5 erhalten hatten, richteten sich hingegen etwas häufiger auf, als die der Kontrollgruppe (1 mg/kg LJS-5: $273,2 \pm 35,8$; $n=12$). Im Gegensatz dazu wurde eine geringere Anzahl an Rearings bei der 30 mg/kg Körpergewicht LJS-5-Gruppe gemessen (30 mg/kg LJS-5: $148,3 \pm 28,9$, $n=4$).

Analog zu den Ergebnissen bezüglich der Zeit im Zentrum, zeigte sich auch hinsichtlich der zurückgelgten Strecke im Zentrum, dass die Gabe von 1 mg/kg Körpergewicht LJS-5 diesen Parameter nicht beeinflusst hat, wohingegen es bei Dosissteigerung zunächst zu einem Anstieg und anschließend zu einem Abfall kam (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 1 mg/kg LJS-5: $8,41 \pm 0,96$ %, $n=12$; 3 mg/kg LJS-5: $9,97 \pm 1,46$ %, $n=13$; 10 mg/kg LJS-5: $9,22 \pm 1,08$ %, $n=9$; 30 mg/kg LJS-5: $8,43 \pm 1,90$ %, $n=4$).

4.2.3 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-6 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-6				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$30,5 \pm 1,4$	$32,2 \pm 7,3$	$147,0 \pm 19,3$	$8,29 \pm 1,32$	4
10 mg/kg	$35,5 \pm 3,2$	$48,9 \pm 15,3$	$131,8 \pm 29,5$	$10,02 \pm 2,21$	4
30 mg/kg	$34,9 \pm 2,2$	$27,4 \pm 8,5$	$111,8 \pm 22,6$	$8,47 \pm 1,43$	4

Tabelle 6: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-6 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

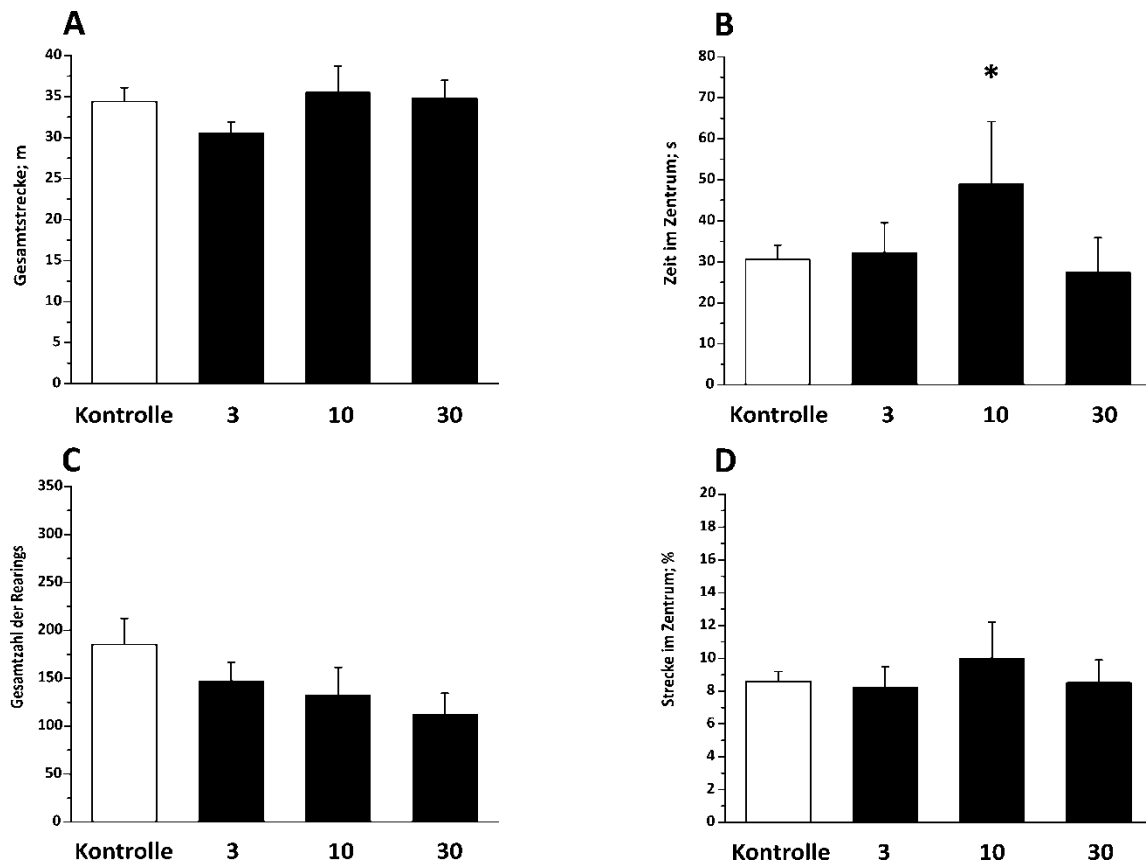


Abbildung 28: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-6 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Wie Abbildung 28 und Tabelle 6 zu entnehmen ist, lagen auch bei diesem Derivat die Ergebnisse von Kontrollgruppe und LJS-6-Gruppen hinsichtlich der zurückgelegten Gesamtstrecke knapp beieinander (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 3 mg/kg LJS-6: $30,5 \pm 1,4$ m, $n=4$; 10 mg/kg LJS-6: $35,5 \pm 3,2$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-6: $34,9 \pm 2,2$ m, $n=4$).

Auch in puncto Zeit im Zentrum lieferten die LJS-6-Gruppen mit Ausnahme der 10 mg/kg Körpergewicht Mäuse ähnliche Resultate wie die Kontrollgruppe (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-6: $32,2 \pm 7,3$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-6: $27,4 \pm 8,5$ s, $n=4$). Nach Gabe von 10 mg LJS-6/kg Körpergewicht verbrachten die Versuchstiere durchschnittlich $48,9 \pm 15,3$ s ($n=4$). Daraus folgt, dass sich diese Versuchstiere signifikant ($p < 0,05$) länger im Zentrum aufhielten, als jene der Kontrollgruppe.

Während sich Mäuse der Kontrollgruppe im Schnitt $185,2 \pm 27,4$ Mal ($n=15$) aufrichteten, fiel die Anzahl der Rearings bei steigender Dosierung immer geringer aus (3 mg/kg LJS-6: $147,0 \pm 19,3$, $n=4$; 10 mg/kg LJS-6: $131,8 \pm 29,5$, $n=4$; 30 mg/kg LJS-6: $111,8 \pm 22,6$, $n=4$).

Die zurückgelegte Strecke im Zentrum bewegte sich bei allen getesteten Gruppen in einem ähnlichen Bereich. Lediglich Mäuse, die 10 mg LJS-6/kg Körpergewicht erhalten hatten, zeigten sich in dieser Zone aktiver, als alle anderen (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-6: $8,29 \pm 1,32$ %, $n=4$; 10 mg/kg LJS-6: $10,02 \pm 2,21$ %, $n=4$; 30 mg/kg LJS-6: $8,47 \pm 1,43$ %, $n=4$).

4.2.4 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-7 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-7				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$32,9 \pm 1,4$	$46,6 \pm 5,7$	$231,7 \pm 32,6$	$11,14 \pm 0,97$	11
10 mg/kg	$33,5 \pm 3,2$	$49,3 \pm 5,3$	$259,8 \pm 51,1$	$10,55 \pm 0,94$	9
30 mg/kg	$29,4 \pm 1,3$	$54,7 \pm 13,2$	$147,2 \pm 17,1$	$10,24 \pm 1,39$	12

Tabelle 7: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-7 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

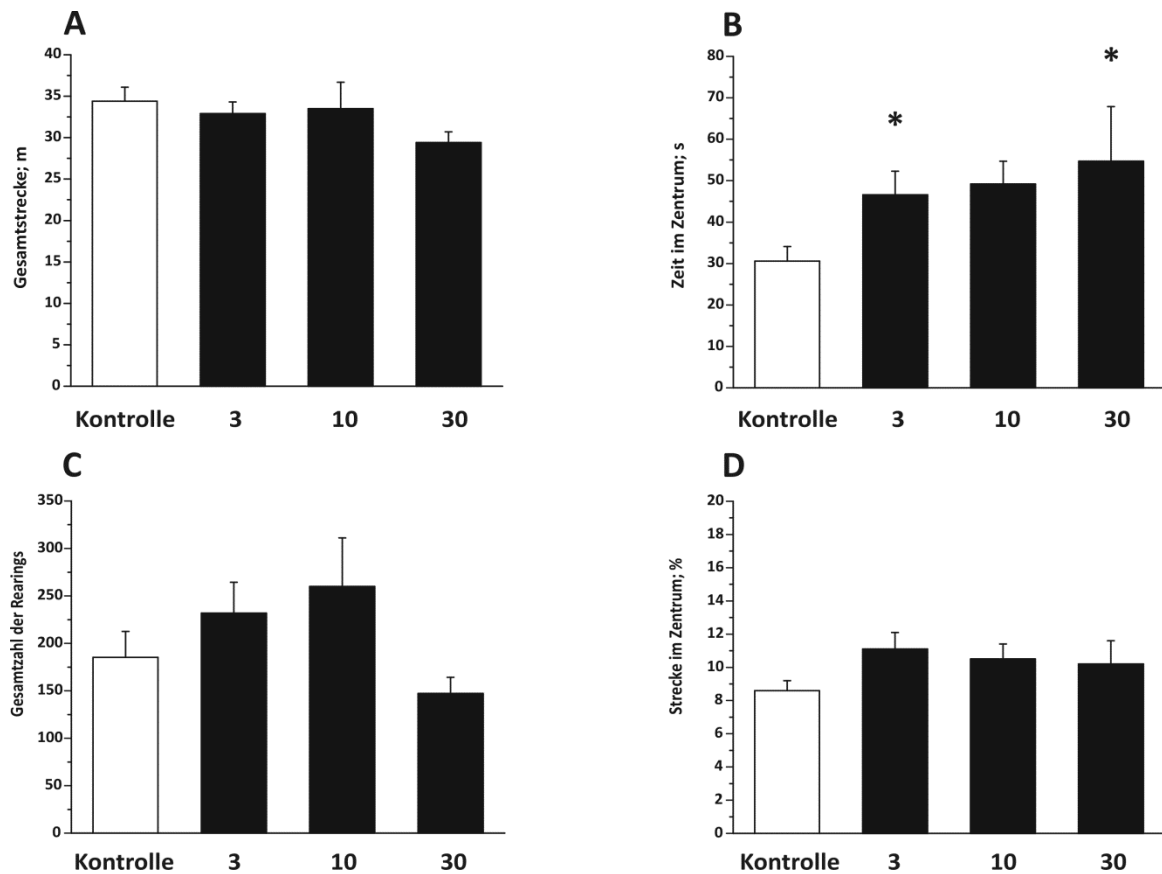


Abbildung 29: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-7 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte ± SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Mäuse aller vier Gruppen haben eine ähnliche Distanz während des Tests zurückgelegt, wobei sich jene, die 30 mg LJS-7/kg Körpergewicht erhalten hatten, am wenigsten bewegt haben (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 3 mg/kg LJS-7: $32,9 \pm 1,4$ m, $n=11$; 10 mg/kg LJS-7: $33,5 \pm 3,2$ m, $n=9$; 30 mg/kg LJS-7: $29,4 \pm 1,3$ m, $n=12$).

Während die Kontrollgruppe nur durchschnittlich $30,2 \pm 3,5$ s ($n=15$) im Zentrum verbracht hat, lag die Aufenthaltsdauer der LJS-7-Gruppen in der zentralen Zone deutlich höher. Signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe waren hier bei Dosen von 3 beziehungsweise 30 mg/kg Körpergewicht zu beobachten (3 mg/kg LJS-7: $46,6 \pm 5,7$ s, $n=11$; 30 mg/kg LJS-7: $54,7 \pm 13,2$ s, $n=12$). Tiere, denen LJS-7 in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht appliziert wurde, hielten sich mit $49,3 \pm 5,3$ s ($n=9$)

ebenfalls länger im Zentrum auf als die der Kontrollgruppe, jedoch weist dieser Unterschied keine statistische Signifikanz ($p > 0,05$) auf.

Abbildung 29 zeigt deutlich, dass LJS-7 niedrig bis mittel dosiert zu einer Steigerung der Anzahl der Rearings im Vergleich zur Kontrollgruppe führte (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-7: $231,7 \pm 32,6$, $n=11$; 10 mg/kg LJS-7: $259,7 \pm 51,1$, $n=9$). Eine weitere Dosiserhöhung hatte allerdings eine Reduktion dieses Parameters zur Folge (30 mg/kg LJS-7: $147,2 \pm 17,1$, $n=12$).

Die zurückgelegte Strecke im Zentrum war bei allen LJS-7-Gruppen etwas größer als bei der Kontrollgruppe (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-7: $11,14 \pm 0,97$ %, $n=11$; 10 mg/kg LJS-7: $10,55 \pm 0,94$ %, $n=9$; 30 mg/kg LJS-7: $10,24 \pm 1,39$, $n=12$).

4.2.5 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-8 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-8				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$25,6 \pm 1,1$	$44,1 \pm 9,2$	$210,8 \pm 23,6$	$10,26 \pm 1,14$	10
10 mg/kg	$27,3 \pm 1,5$	$49,5 \pm 10,5$	$182,7 \pm 15,1$	$9,38 \pm 0,72$	12

Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-8 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

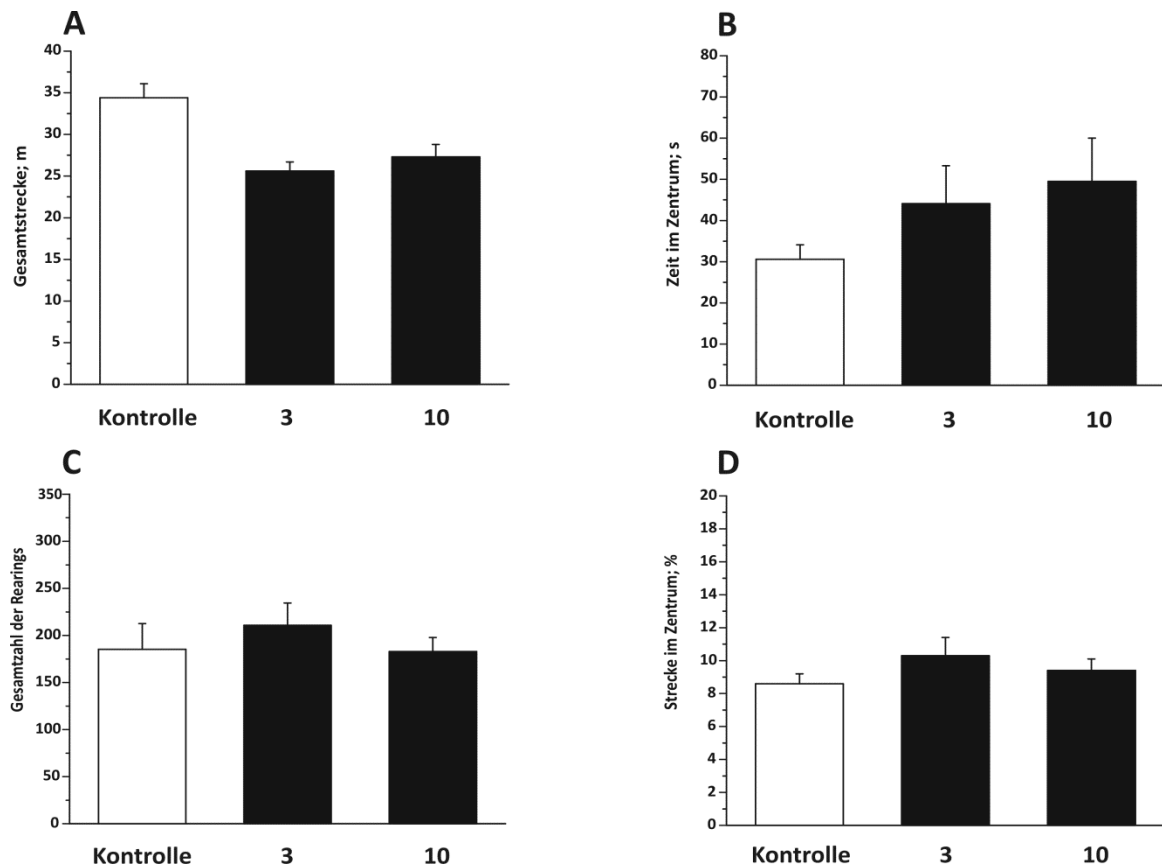


Abbildung 30: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg und 10 mg/kg LJS-8 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Wie in Tabelle 8 und Abbildung 30 gut zu erkennen ist, führte LJS-8 mit $25,6 \pm 1,1$ m ($n=10$) für die 3 mg/kg Körpergewicht Gruppe und mit $27,3 \pm 1,5$ m ($n=12$) für die 10 mg/kg Körpergewicht Gruppe zu einer Reduktion der zurückgelegten Gesamtstrecke im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$).

Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass LJS-8-Mäuse dosisabhängig mehr Zeit im Zentrum verbracht haben, als jene der Kontrollgruppe (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-8: $44,1 \pm 9,2$ s, $n=10$; 10 mg/kg LJS-8: $49,5 \pm 10,5$ s, $n=12$).

Hinsichtlich der Rearings konnten keine so deutlichen Unterschiede zwischen der Kontroll- und den Verumgruppen beobachtet werden. Allerdings richteten sich Mäuse, die 3 mg/kg Körpergewicht erhalten hatten, etwas häufiger auf, als jene, der beiden

anderen Gruppen (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-8: $210,8 \pm 23,6$, $n=10$; 10 mg/kg Körpergewicht: $182,7 \pm 15,1$, $n=12$).

Auch die zurückgelegte Strecke im Zentrum war bei allen drei getesteten Gruppen ungefähr gleich groß (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-8: $10,26 \pm 1,14$ %, $n=10$; 10 mg/kg LJS-8: $9,38 \pm 0,72$ %, $n=12$).

4.2.6 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-9 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-9				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$52,2 \pm 22,9$	$31,5 \pm 13,5$	$174,8 \pm 47,8$	$7,05 \pm 2,64$	4
10 mg/kg	$31,1 \pm 1,2$	$35,7 \pm 14,7$	$99,5 \pm 5,0$	$9,12 \pm 1,53$	4
30 mg/kg	$34,9 \pm 1,6$	$27,5 \pm 8,3$	$205,8 \pm 31,5$	$8,35 \pm 2,13$	4

Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-9 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

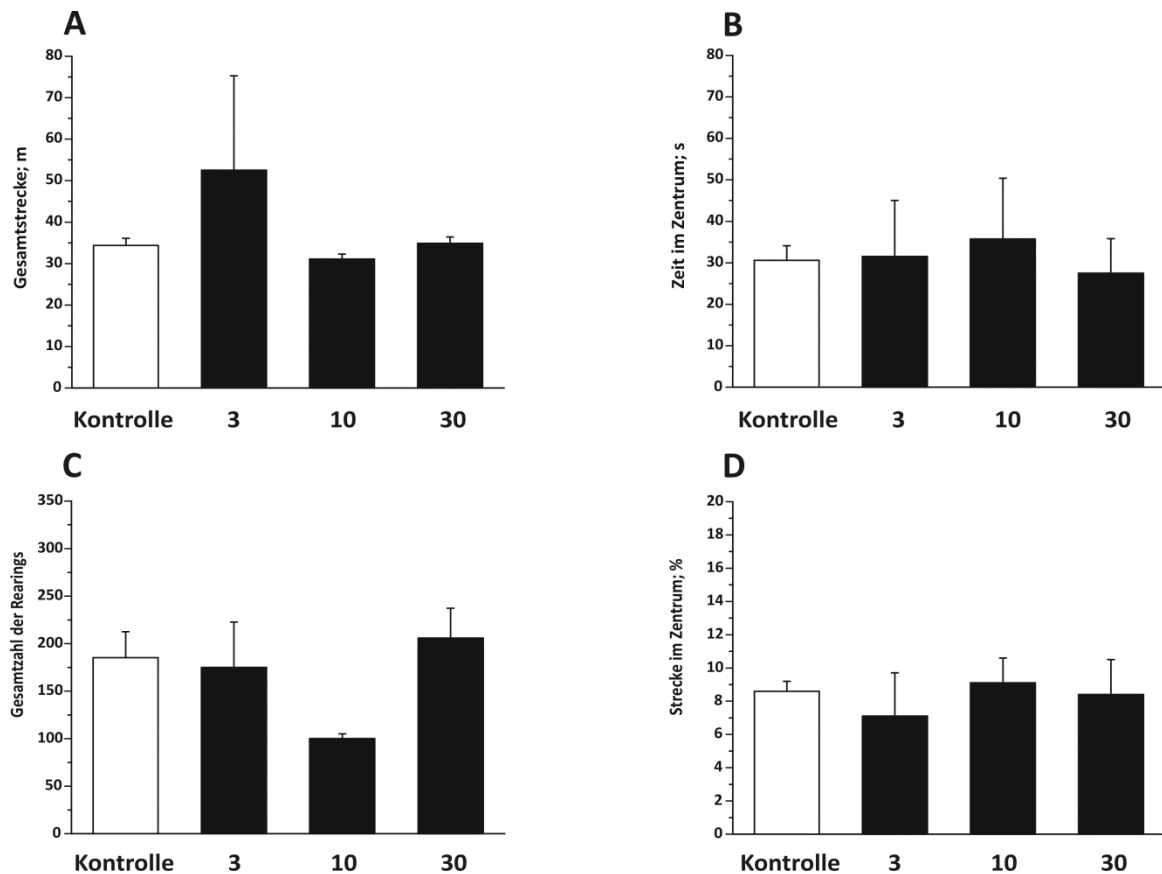


Abbildung 31: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-9 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte ± SEM.

Aus Abbildung 31 und Tabelle 9 ist zu entnehmen, dass LJS-9 in Dosierungen von 10 beziehungsweise 30 mg/kg Körpergewicht zu ähnlichen Ergebnissen verglichen mit der Kontrollgruppe hinsichtlich der zurückgelegten Gesamtstrecke geführt hat (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 10 mg/kg LJS-9: $31,1 \pm 1,2$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-9: $34,9 \pm 1,6$ m, $n=4$). Allerdings war bei einer Dosierung von 3 mg LJS-9/kg Körpergewicht die zurückgelegte Distanz mit $52,2 \pm 22,9$ m ($n=4$) etwas größer als in der Kontrollgruppe.

Die Aufenthaltsdauer in der zentralen Zone bewegte sich bei allen vier Gruppen in einem sehr ähnlichen Bereich (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-9: $31,5 \pm 13,5$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-9: $35,7 \pm 14,7$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-9: $27,5 \pm 8,3$ s, $n=4$).

Während die Anzahl der Rearings von Mäusen, die LJS-9 in einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht erhalten hatten, in etwa jener der Kontrollgruppe entsprachen, richteten

sich die Versuchstiere bei einer Dosierung von 10 mg/kg Körpergewicht deutlich seltener und bei einer Dosierung von 30 mg/kg Körpergewicht etwas häufiger auf (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, n=15; 3 mg/kg LJS-9: $174,8 \pm 47,8$, n=4; 10 mg/kg LJS-9: $99,5 \pm 5,0$, n=4; 30 mg/kg LJS-9: $205,8 \pm 31,5$, n=4).

Hinsichtlich der zurückgelegten Strecke im Zentrum unterschieden sich die vier Gruppen nur geringfügig von einander (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, n=15; 3 mg/kg LJS-9: $7,05 \pm 2,64$ %, n=4; 10 mg/kg LJS-9: $9,12 \pm 1,53$ %, n=4; 30 mg/kg LJS-9: $8,35 \pm 2,13$ %, n=4).

4.2.7 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-10 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-10				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$33,2 \pm 3,3$	$25,2 \pm 7,9$	$204,0 \pm 18,5$	$7,57 \pm 1,64$	4
10 mg/kg	$31,6 \pm 2,8$	$24,2 \pm 5,3$	$119,5 \pm 40,1$	$7,74 \pm 0,70$	4
30 mg/kg	$25,4 \pm 1,8$	$11,9 \pm 5,0$	$89,0 \pm 11,3$	$5,18 \pm 1,69$	4

Tabelle 10: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-10 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

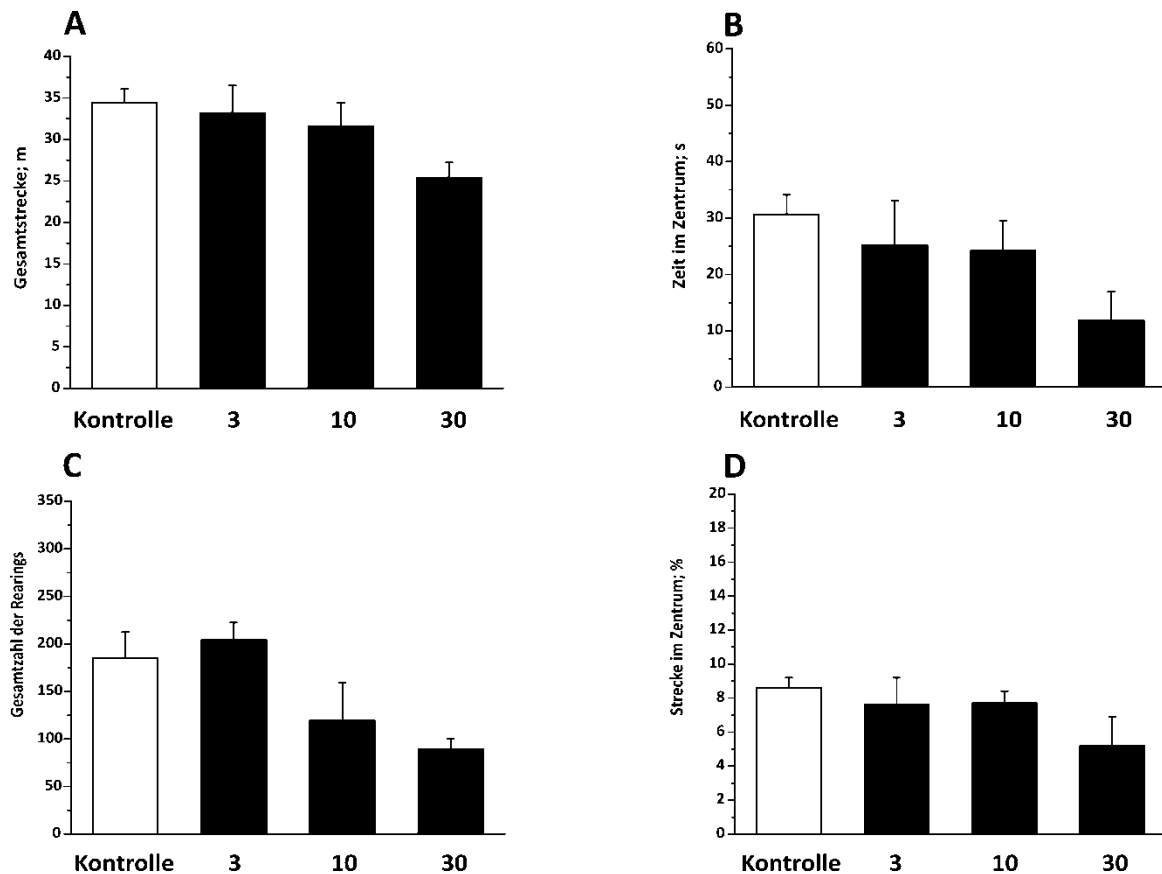


Abbildung 32: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-10 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Die zurückgelegte Gesamtstrecke betrug bei der Kontrollgruppe $34,4 \pm 1,7$ m ($n=15$). Während LJS-10 in niedriger Dosierung diesen Parameter nicht beeinflusste, kam es in höheren Dosen zu einer Abnahme der zurückgelegten Distanz (3 mg/kg LJS-10: $33,2 \pm 3,8$ m, $n=4$; 10 mg/kg LJS-10: $31,6 \pm 2,8$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-10: $25,4 \pm 1,8$ m, $n=4$).

Ähnliche Ergebnisse konnten für LJS-10 hinsichtlich der Aufenthaltsdauer im Zentrum gezeigt werden, die ebenfalls bei der höchsten Dosierung am geringsten ausfiel (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-10: $25,2 \pm 7,9$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-10: $24,2 \pm 5,3$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-10: $11,9 \pm 5,0$ s, $n=4$).

Verglichen mit der Kontrollgruppe stieg die Anzahl der Rearings zunächst in niedrigen Dosierungen von LJS-10 geringfügig an, um anschließend bei mittlerer und hoher

Dosierung deutlich abzunehmen (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-10: $204,0 \pm 18,5$, $n=4$; 10 mg/kg LJS-10: $119,5 \pm 40,1$, $n=4$; 30 mg/kg LJS-10: $89,0 \pm 11,3$, $n=4$).

Die zurückgelegte Strecke im Zentrum war bei allen vier Gruppen in etwa gleich groß (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-10: $7,57 \pm 1,64$ %, $n=4$; 10 mg/kg LJS-10: $7,74 \pm 0,70$ %, $n=4$; 30 mg/kg LJS-10: $5,18 \pm 1,69$ %, $n=4$).

4.2.8 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-11 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-11				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$29,8 \pm 0,5$	$46,3 \pm 28,3$	$166,0 \pm 38,1$	$8,82 \pm 3,18$	4
10 mg/kg	$32,6 \pm 0,6$	$37,6 \pm 9,4$	$155,5 \pm 13,7$	$7,63 \pm 1,40$	4
30 mg/kg	$31,4 \pm 2,1$	$21,8 \pm 6,2$	$241,0 \pm 109,7$	$7,09 \pm 0,88$	4

Tabelle 11: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-11 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

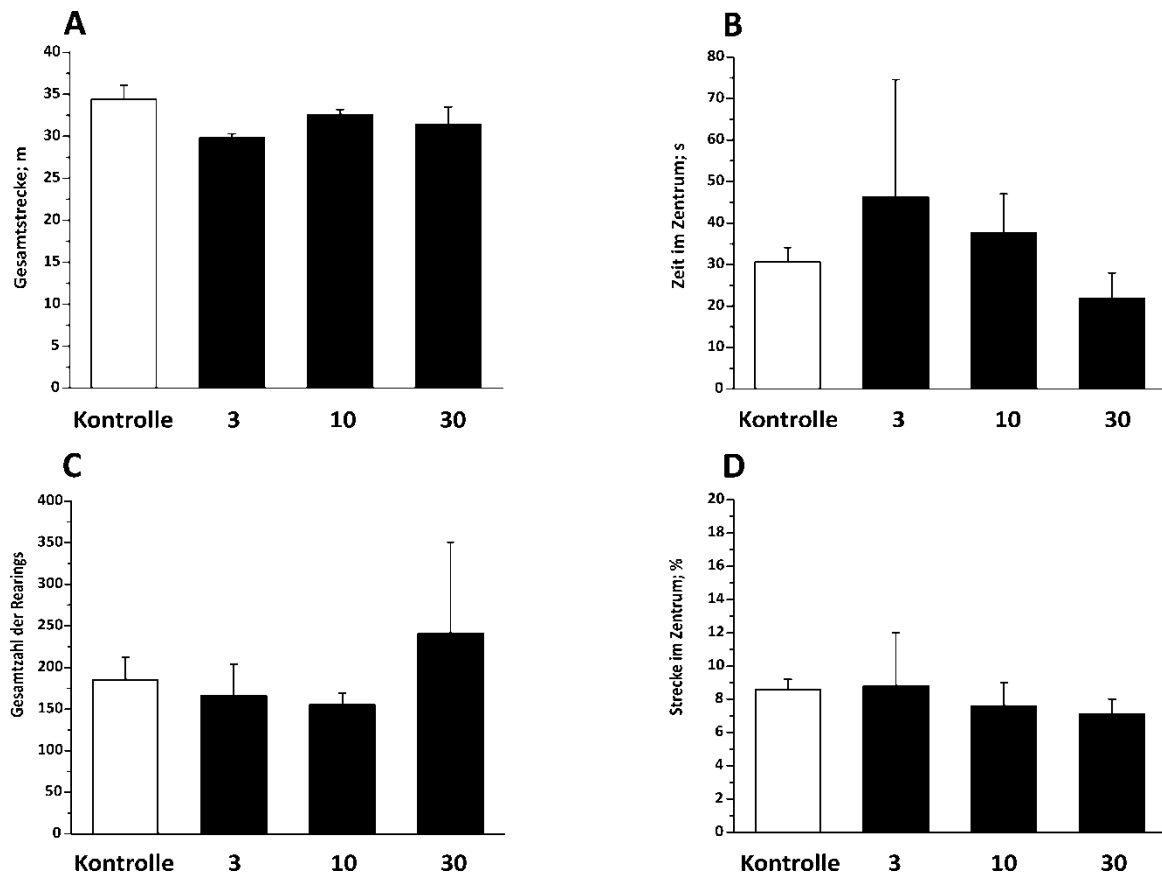


Abbildung 33: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-11 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Die zurückgelegte Gesamtstrecke entsprach bei mittlerer bis hoher Dosierung von LJS-11 in etwa jener der Kontrollgruppe (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 10 mg/kg LJS-11: $32,6 \pm 0,6$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-11: $31,4 \pm 2,1$ m, $n=4$). In niedriger Dosis appliziert, führte LJS-11 mit einer zurückgelegten Distanz von $29,8 \pm 0,5$ m ($n=4$) zu einer leichten Reduktion der Aktivität der Mäuse.

Während Tiere der Kontrollgruppe im Schnitt $30,2 \pm 3,5$ s ($n=15$) im Zentrum verbrachten, kam es unter LJS-11 in niedrigen Dosen zunächst zu einer Zunahme und in höheren Dosierungen zu einer Abnahme der Aufenthaltsdauer in der zentralen Zone (3 mg/kg LJS-11: $46,3 \pm 28,3$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-11: $37,6 \pm 9,4$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-11: $21,8 \pm 6,2$ s, $n=4$).

Weiters konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der Rearings bei Mäusen, die 3 mg LJS-11/kg Körpergewicht erhalten hatten, ungefähr jener der Kontrollgruppe entsprach. (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-11: $166,0 \pm 38,1$, $n=4$). Bei der 10 mg/kg LJS-11-Gruppe nahm die Zahl der Rearings hingegen etwas ab und bei der 30 mg/kg LJS-11-Gruppe deutlich zu (10 mg/kg LJS-11: $155,5 \pm 13,7$, $n=4$; 30 mg/kg LJS-11: $241,0 \pm 109,7$, $n=4$).

Bezüglich der zurückgelegten Strecke im Zentrum konnten allerdings keine wesentlichen Unterschiede in den vier Gruppen beobachtet werden (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-11: $8,82 \pm 3,18$ %, $n=4$; 10 mg/kg LJS-11: $7,63 \pm 1,40$ %, $n=4$; 30 mg/kg LJS-11: $7,09 \pm 0,88$ %, $n=4$).

4.2.9 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-12 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-12				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$31,9 \pm 4,9$	$53,1 \pm 23,9$	$180,3 \pm 59,9$	$9,80 \pm 2,53$	4
10 mg/kg	$33,8 \pm 3,1$	$35,4 \pm 7,9$	$98,5 \pm 13,4$	$8,11 \pm 0,19$	4
30 mg/kg	$34,4 \pm 2,5$	$29,9 \pm 8,7$	$193,3 \pm 19,2$	$7,79 \pm 1,93$	4

Tabelle 12: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-12 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

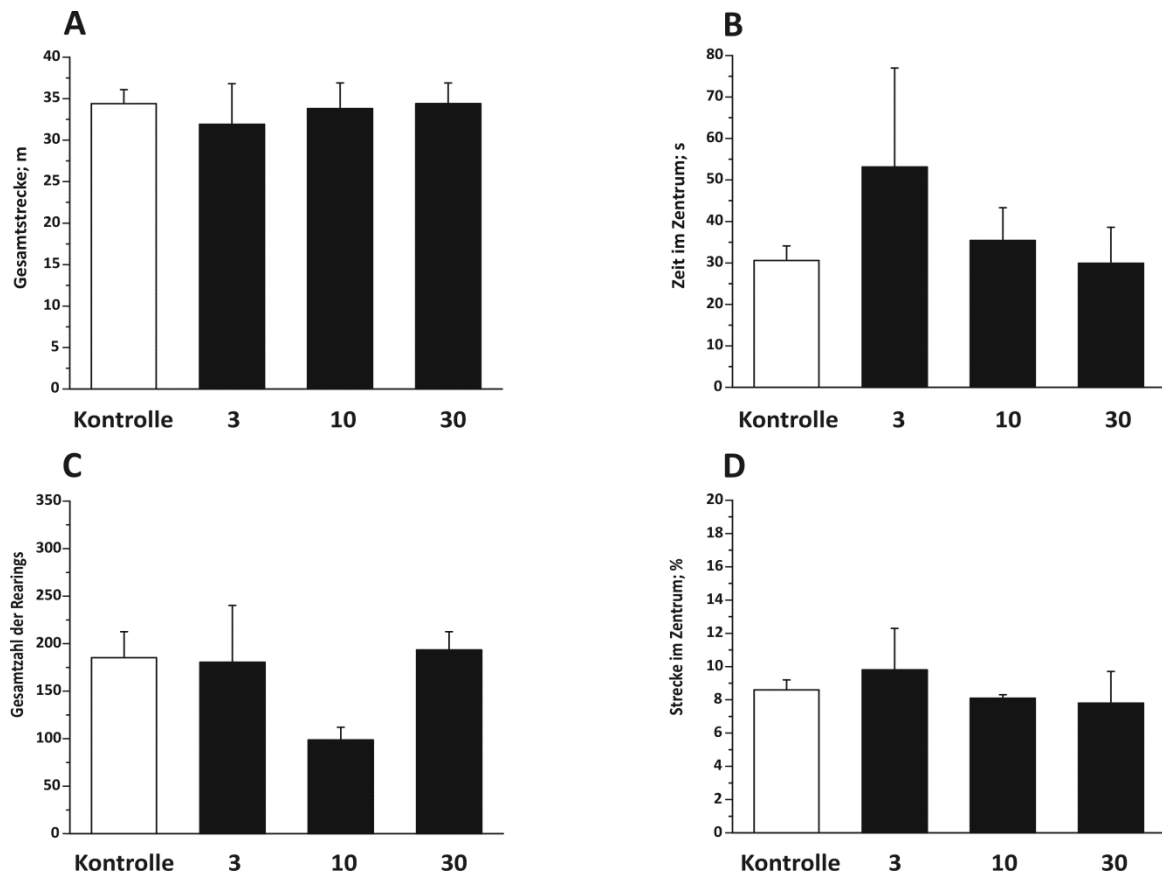


Abbildung 34: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-12 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Wie in Abbildung 34 und Tabelle 12 ersichtlich, wurden in allen vier Gruppen ähnlich große Distanzen zurückgelegt (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 3 mg/kg LJS-12: $31,9 \pm 4,9$ m, $n=4$; 10 mg/kg LJS-12: $33,8 \pm 3,1$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-12: $34,4 \pm 2,5$ m, $n=4$).

Verglichen mit der Kontrollgruppe führte LJS-12 in niedrigen Dosen zunächst zu einer Zunahme und in höheren Dosierungen zu einer Abnahme der Aufenthaltsdauer im zentralen Bereich (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-12: $53,1 \pm 23,9$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-12: $35,4 \pm 7,9$ s, $n=4$; 30 mg/kg LJS-12: $29,9 \pm 8,7$ s, $n=4$).

Mit Ausnahme der Mäuse, die 10 mg LJS-12/kg Körpergewicht erhalten hatten und eine deutlich geringere Anzahl an Rearings aufwiesen, konnte kein Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den LJS-12-Gruppen hinsichtlich dieses Parameters beobachtet

werden (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg LJS-12: $180,3 \pm 59,9$, $n=4$; 10 mg/kg LJS-12: $98,5 \pm 13,4$, $n=4$; 30 mg/kg LJS-12: $193,3 \pm 19,2$, $n=4$).

Bezüglich der zurückgelegten Strecke im Zentrum unterschieden sich die vier Gruppen ebenfalls nicht wesentlich (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-12: $9,80 \pm 2,53$ %, $n=4$; 10 mg/kg LJS-12: $8,11 \pm 0,19$ %, $n=4$; 30 mg/kg LJS-12: $7,79 \pm 1,93$ %, $n=4$).

4.2.10 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-13 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-13				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$36,5 \pm 1,9$	$28,5 \pm 4,3$	$154,3 \pm 37,3$	$8,99 \pm 0,80$	4
10 mg/kg	$33,7 \pm 3,3$	$29,5 \pm 6,4$	$147,8 \pm 30,9$	$9,52 \pm 1,34$	4
30 mg/kg	$36,9 \pm 3,2$	$42,2 \pm 10,8$	$153,8 \pm 44,1$	$9,65 \pm 0,80$	4

Tabelle 13: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-13 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

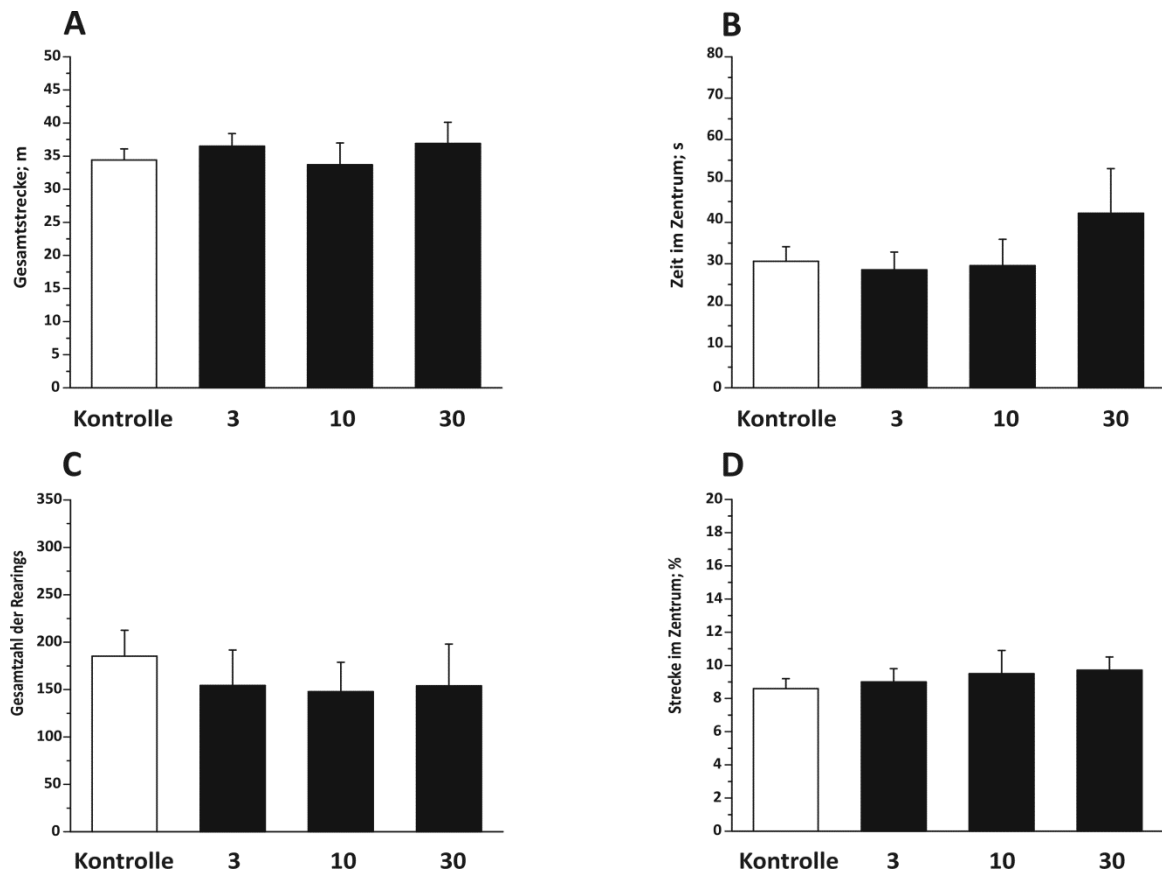


Abbildung 35: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-13 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte ± SEM.

In diesem Versuch hatte LJS-13 keinen nennenswerten Einfluss auf die zurückgelegte Gesamtstrecke (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 3 mg/kg LJS-13: $36,5 \pm 1,9$ m, $n=4$; 10 mg/kg LJS-13: $33,7 \pm 3,8$ m, $n=4$; 30 mg/kg LJS-13: $36,9 \pm 3,2$ m, $n=4$).

Bezüglich der Aufenthaltsdauer in der zentralen Zone führte LJS-13 in niedriger beziehungsweise mittlerer Dosierung ebenfalls zu ähnlichen Ergebnissen wie die Kontrollgruppe (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-13: $28,5 \pm 4,3$ s, $n=4$; 10 mg/kg LJS-13: $29,5 \pm 6,4$ s, $n=4$). Allerdings blieben Mäuse, die 30 mg LJS-13/kg Körpergewicht erhalten hatten, im Schnitt etwas länger im Zentrum, als Tiere der restlichen Gruppen (30 mg/kg LJS-13: $42,2 \pm 10,8$ s, $n=4$).

Bei allen drei LJS-13-Gruppen konnte, verglichen mit der Kontrollgruppe, eine Reduktion der Gesamtzahl der Rearings beobachtet werden (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 3 mg/kg

LJS-13: $154,3 \pm 37,3$, n=4; 10 mg/kg LJS-13: $147,8 \pm 30,9$, n=4; 30 mg/kg LJS-13: $153,8 \pm 44,1$, n=4).

Außerdem nahm die zurückgelegte Strecke im Zentrum mit steigender Dosis an LJS-13 im Vergleich zur Kontrollgruppe geringfügig zu (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61\%$, n=15; 3 mg/kg LJS-13: $8,99 \pm 0,80\%$, n=4; 10 mg/kg LJS-13: $9,52 \pm 1,34\%$, n=4; 30 mg/kg LJS-13: $9,65 \pm 0,80\%$, n=4).

4.2.11 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-14 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-14				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchstiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
3 mg/kg	$35,1 \pm 1,4$	$46,4 \pm 10,7$	$190,6 \pm 18,8$	$10,05 \pm 1,01$	12
10 mg/kg	$33,5 \pm 2,1$	$57,2 \pm 11,1$	$172,9 \pm 26,2$	$11,26 \pm 1,18$	12
30 mg/kg	$29,7 \pm 1,6$	$53,6 \pm 12,7$	$229,3 \pm 37,2$	$10,37 \pm 1,31$	12

Tabelle 14: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-14 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

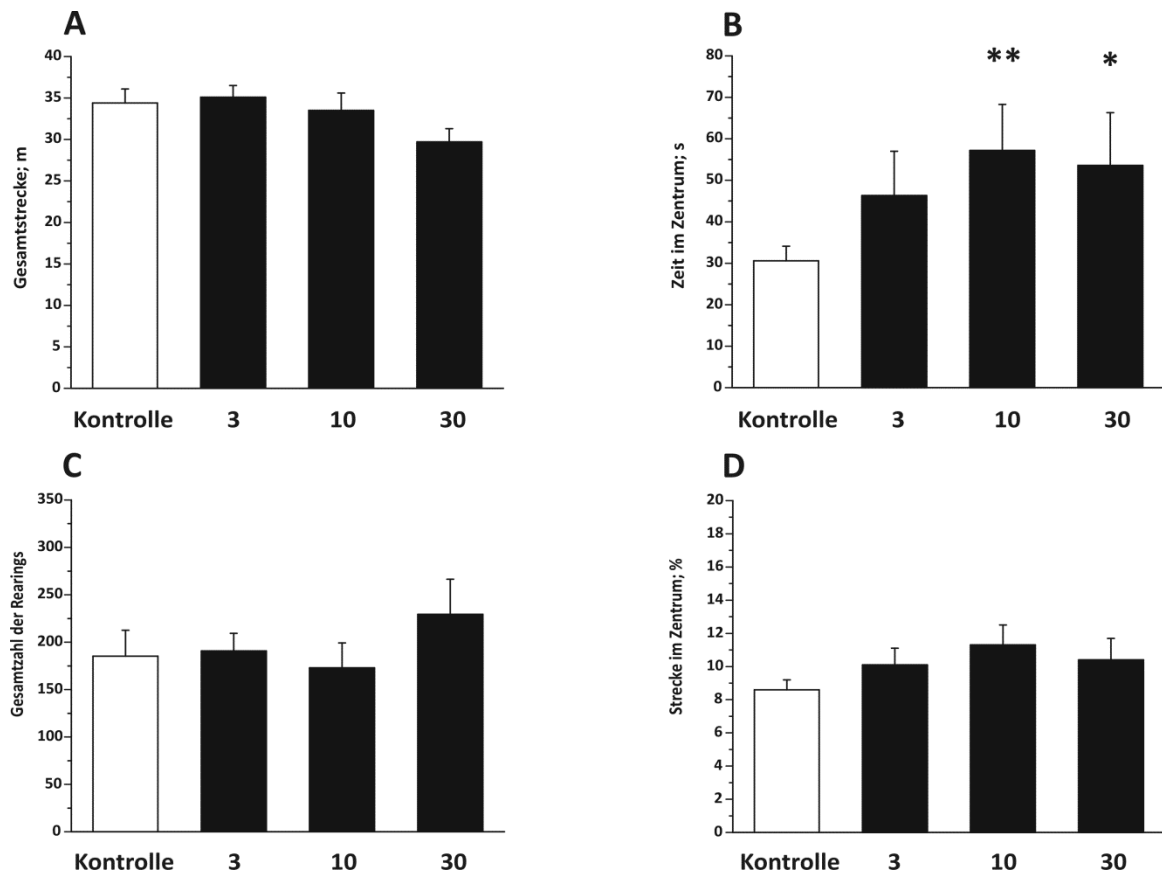


Abbildung 36: Vergleich des Effekts von 3 mg/kg, 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-14 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$). (**) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,01$).

Bezogen auf die Kontrollgruppe führte LJS-14 in einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht zunächst zu einer schwachen Steigerung der zurückgelegten Gesamtstrecke (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 3 mg/kg LJS-14: $35,1 \pm 1,4$ m, $n=12$). Allerdings konnte beobachtet werden, dass bei zunehmender Dosis die zurückgelegte Distanz wieder kleiner wurde (10 mg/kg LJS-14: $33,5 \pm 2,1$ m, $n=12$; 30 mg/kg LJS-14: $29,7 \pm 1,6$ m, $n=12$).

Weiters zeigte sich, dass Mäuse, die LJS-14 bekamen, deutlich mehr Zeit im Zentrum verbrachten als Versuchstiere der Kontrollgruppe (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 3 mg/kg LJS-14: $46,4 \pm 10,7$ s, $n=12$; 10 mg/kg LJS-14: $57,2 \pm 11,1$ s, $n=12$; 30 mg/kg LJS-14: $53,6 \pm 12,7$ s, $n=12$). Während bei einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht der Effekt noch

eher gering ausfiel, entfaltete er bei einer Dosierung von 10 mg/kg Körpergewicht sein volles Ausmaß, wodurch hier ein signifikanter ($p < 0,01$) Unterschied zur Kontrollgruppe zustande kam. Trotz der Tatsache, dass die Aufenthaltsdauer im Zentrum bei weiterer Dosissteigerung wieder etwas abnahm, weist auch dieses Ergebnis statistische Signifikanz ($p < 0,05$) auf.

Hinsichtlich der Rearings lagen die Werte der Kontrolle mit $185,2 \pm 27,4$ ($n=15$), die der 3 mg/kg LJS-14-Gruppe mit $190,6 \pm 18,8$ ($n=12$) und die der 10 mg/kg LJS-14-Gruppe mit $172,9 \pm 26,2$ ($n=12$) in einem sehr ähnlichen Bereich. Nur Mäuse, die LJS-14 in einer Dosierung von 30 mg/kg Körpergewicht bekommen hatten, richteten sich etwas häufiger auf, als jene der anderen Gruppen (30 mg/kg LJS-14: $229,3 \pm 37,2$, $n=12$).

Analog zur Aufenthaltsdauer im Zentrum, war auch die zurückgelegte Strecke in diesem Bereich bei den LJS-14-Gruppen etwas höher als bei der Kontrollgruppe (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, $n=15$; 3 mg/kg LJS-14: $10,05 \pm 1,01$ %, $n=12$; 10 mg/kg LJS-14: $11,26 \pm 1,18$ %, $n=12$; 30 mg/kg LJS-14: $10,37 \pm 1,31$ %, $n=12$). Allerdings hat LJS-14 diesen Parameter nicht ganz so deutlich wie die Aufenthaltsdauer beeinflusst.

4.2.12 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-15 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF

	OF LJS-15				
	Gesamtstrecke; m	Zeit im Zentrum; s	Rearings	Strecke im Zentrum; %	Versuchs- tiere; n
Kontrolle	$34,4 \pm 1,7$	$30,2 \pm 3,5$	$185,2 \pm 27,4$	$8,55 \pm 0,61$	15
10 mg/kg	$24,5 \pm 2,7$	$45,1 \pm 13,4$	$77,1 \pm 14,6$	$8,76 \pm 1,31$	12
30 mg/kg	$17,7 \pm 6,5$	$114,0 \pm 95,2$	$113,2 \pm 41,7$	$20,13 \pm 13,01$	6

Tabelle 15: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-15 im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

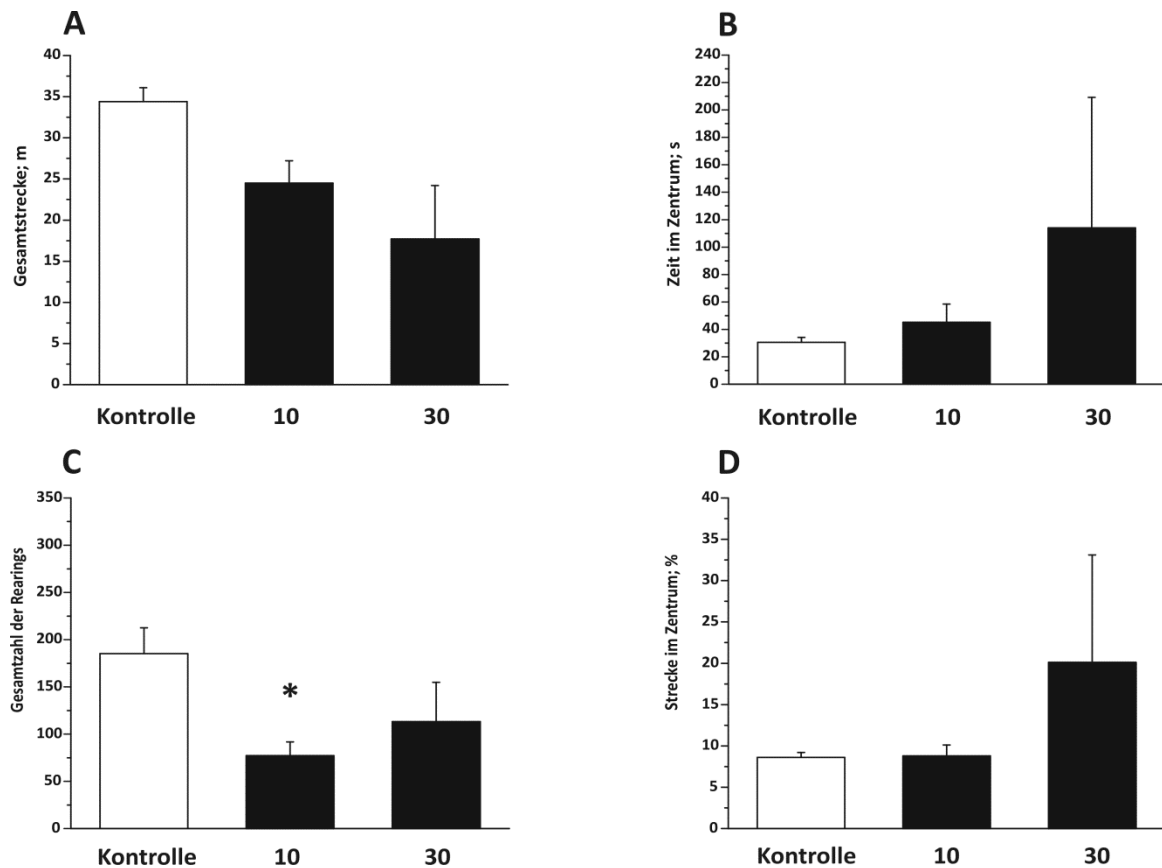


Abbildung 37: Vergleich des Effekts von 10 mg/kg und 30 mg/kg LJS-15 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im OF 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. **B:** Zeit im Zentrum in Sekunden.

C: Gesamtzahl der Rearings. **D:** Zurückgelegte Strecke im Zentrum in Prozent von der Gesamtstrecke.

Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$).

In Tabelle 15 und Abbildung 37 ist gut zu sehen, dass die Gabe von LJS-15 dosisabhängig die zurückgelegte Gesamtstrecke im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich vermindert hat (Kontrolle: $34,4 \pm 1,7$ m, $n=15$; 10 mg/kg LJS-15: $24,5 \pm 2,7$ m, $n=12$; 30 mg/kg LJS-15: $17,7 \pm 6,5$ m, $n=6$).

Allerdings hielten sich Mäuse, die LJS-15 bekommen hatten, abhängig von der Dosierung im Schnitt länger im Zentrum auf (Kontrolle: $30,2 \pm 3,5$ s, $n=15$; 10 mg/kg LJS-15: $45,1 \pm 13,4$ s, $n=12$; 30 mg/kg LJS-15: $114,0 \pm 95,2$ s, $n=6$).

Weiters konnte beobachtet werden, dass bei Mäusen, die 10 mg LJS-15/kg Körpergewicht bekommen hatten, die Anzahl der Rearings signifikant ($p < 0,05$) zurückging (Kontrolle: $185,2 \pm 27,4$, $n=15$; 10 mg/kg LJS-15: $77,1 \pm 14,6$, $n=12$). Bei einer

Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht lag die Anzahl der Rearings mit $113,2 \pm 41,7$ (n=6) ebenfalls unter der der Kontrollgruppe, jedoch war der Einfluss nicht so groß wie bei der vorigen Dosis.

Während die zurückgelegte Strecke im Zentrum bei der 10 mg/kg LJS-15-Gruppe ähnlich groß war wie bei der Kontrollgruppe, führte LJS-15 in einer Dosierung von 30 mg/kg zu einer Zunahme dieses Parameters (Kontrolle: $8,55 \pm 0,61$ %, n=15; 10 mg/kg LJS-15: $8,76 \pm 1,31$ %, n=12; 30 mg/kg LJS-15: $20,13 \pm 13,01$ %, n=6).

4.3 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 und -Derivaten auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT

4.3.1 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-0 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT

	LDT LJS-0				
	Zeit im Hellen; %	Besuche Hell;	Strecke im Hellen; %	Gesamtstrecke; m	Versuchstiere; n
Kontrolle	$33,97 \pm 4,61$	$25,7 \pm 2,6$	$36,14 \pm 2,90$	$55,7 \pm 3,6$	6
0,3 mg/kg	$34,46 \pm 4,74$	$32,4 \pm 6,6$	$40,41 \pm 2,72$	$61,5 \pm 4,3$	13
1 mg/kg	$40,83 \pm 6,18$	$38,6 \pm 7,4$	$43,83 \pm 4,45$	$59,5 \pm 3,8$	11
3 mg/kg	$43,06 \pm 4,78$	$43,7 \pm 7,6$	$44,73 \pm 3,10$	$66,3 \pm 4,6$	10

Tabelle 16: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-0 im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

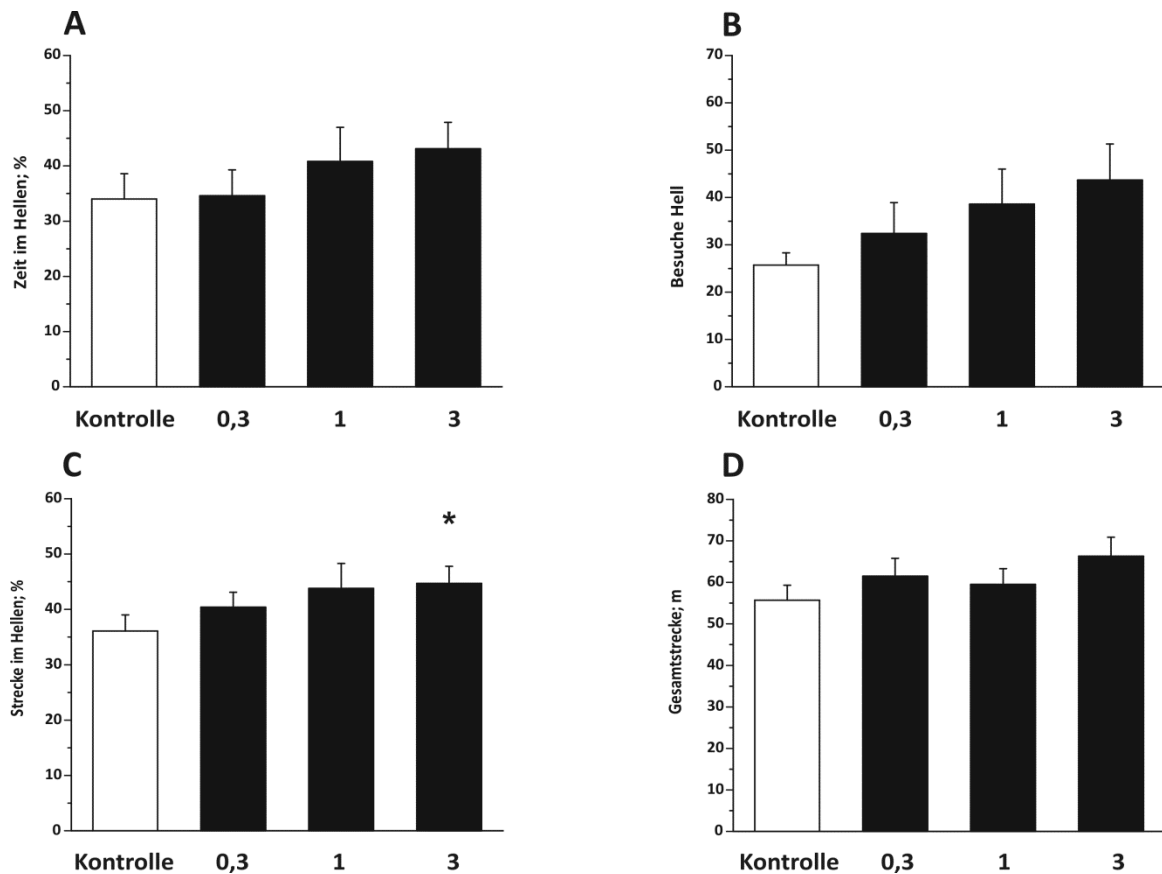


Abbildung 38: Vergleich des Effekts von 0,3 mg/kg, 1 mg/kg und 3 mg/kg LJS-0 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zeit im Hellen in Prozent von der gesamten Versuchsdauer. **B:** Besuche der hellen Zone. **C:** Strecke im Hellen in Prozent von der Gesamtstrecke. **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

(*) bedeutet statistisch signifikant ($p < 0,05$).

In Abbildung 38 und Tabelle 16 ist sehr gut zu sehen, dass eine Dosis von 0,3 mg LJS-0/kg Körpergewicht keine nennenswerte Veränderung im Bereich der verbrachten Zeit im Hellen verglichen mit der Kontrollgruppe zur Folge hatte (Kontrolle: $33,97 \pm 4,61$ %, $n=6$; 0,3 mg/kg LJS-0: $34,46 \pm 4,74$ %, $n=13$). Allerdings nahm die Aufenthaltsdauer im ausgeleuchteten Bereich mit steigender Dosis stetig zu (1 mg/kg LJS-0: $40,83 \pm 6,18$ %, $n=11$; 3 mg/kg LJS-0: $43,06 \pm 4,78$ %, $n=10$).

Hingegen kam es bereits bei niedrigen Dosierungen von LJS-0 zu einem Anstieg der Besuche der hellen Zone im Vergleich zur Kontrollgruppe (Kontrolle: $25,7 \pm 2,6$, $n=6$; 0,3 mg/kg LJS-0: $32,4 \pm 6,6$, $n=13$; 1 mg/kg LJS-0: $38,6 \pm 7,4$, $n=11$; 3 mg/kg LJS-0: $43,7 \pm 7,6$, $n=10$).

Analog dazu zeigte sich, dass Mäuse, die LJS-0 bekommen hatten, eine größere Distanz im Hellen zurückgelegt haben, als jene der Kontrollgruppe (Kontrolle: $36,14 \pm 2,90$ %, $n=9$; 0,3 mg/kg LJS-0: $40,41 \pm 2,72$ %, $n=13$; 1 mg/kg LJS-0: $43,83 \pm 4,45$ %, $n=11$; 3 mg/kg LJS-0: $44,73 \pm 3,10$ %, $n=10$). Auch bei diesem Effekt konnte eine Dosisabhängigkeit beobachtet werden, wobei die höchste hier getestete Dosierung zu einer statistisch signifikanten ($p<0,05$) Steigerung dieses Parameters geführt hat.

Die gelaufene Gesamtstrecke der Kontrollgruppe betrug im Schnitt $55,7 \pm 3,6$ m ($n=6$). Mäuse aller LJS-0-Gruppen legten bei diesem Versuch eine größere Strecke zurück. Auch hier zeigte sich der größte Effekt bei einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht (0,3 mg/kg LJS-0: $61,5 \pm 4,3$ m, $n=13$; 1 mg/kg LJS-0: $59,5 \pm 3,8$ m, $n=11$; 3 mg/kg LJS-0: $66,3 \pm 4,6$ m, $n=10$).

4.3.2 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-6 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT

	LDT LJS-6				
	Zeit im Hellen; %	Besuche Hell;	Strecke im Hellen; %	Gesamt- strecke; m	Versuchstiere; n
Kontrolle	$33,97 \pm 4,61$	$25,7 \pm 2,6$	$36,14 \pm 2,90$	$55,7 \pm 3,6$	6
0,3 mg/kg	$30,69 \pm 3,78$	$44,9 \pm 15,6$	$37,83 \pm 3,08$	$62,2 \pm 8,1$	7
1 mg/kg	$39,96 \pm 5,51$	$39,8 \pm 10,3$	$39,01 \pm 3,57$	$65,5 \pm 6,3$	6
3 mg/kg	$49,68 \pm 4,98$	$43,0 \pm 7,6$	$49,84 \pm 3,58$	$66,5 \pm 5,5$	10

Tabelle 17: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-6 im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

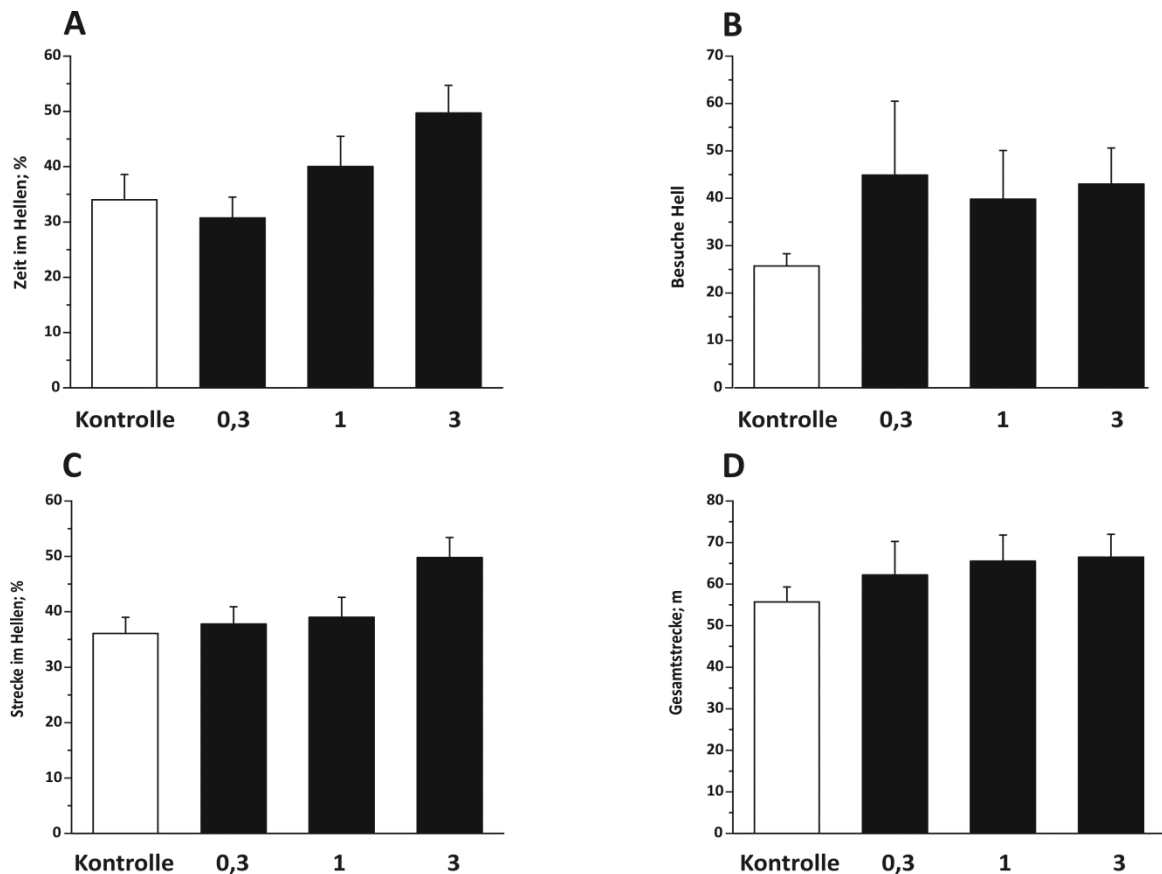


Abbildung 39: Vergleich des Effekts von 0,3 mg/kg, 1 mg/kg und 3 mg/kg LJS-6 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zeit im Hellen in Prozent von der gesamten Versuchsdauer. **B:** Besuche der hellen Zone. **C:** Strecke im Hellen in Prozent von der Gesamtstrecke. **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Niedrig dosiert führte eine Gabe von LJS-6 im Vergleich zur Kontrollgruppe zunächst zu einer Reduktion der Aufenthaltsdauer im Hellen (Kontrolle: $33,97 \pm 4,61$ %, $n=6$; 0,3 mg/kg LJS-6: $30,69 \pm 3,78$ %, $n=7$). Allerdings konnte bei Dosissteigerung eine Zunahme im Bereich dieses Parameters beobachtet werden (1 mg/kg LJS-6: $39,96 \pm 5,51$ %, $n=6$; 3 mg/kg LJS-6: $49,68 \pm 4,98$ %, $n=10$).

Verglichen mit Mäusen aus der Kontrollgruppe, die durchschnittlich $25,67 \pm 2,55$ Mal ($n=6$) in den hellen Bereich eintraten, besuchten Mäuse, die LJS-6 erhalten hatten, deutlich häufiger diese Zone (0,3 mg/kg LJS-6: $44,9 \pm 15,6$, $n=7$; 1 mg/kg LJS-6: $39,8 \pm 10,3$, $n=6$; 3 mg/kg LJS-6: $43,0 \pm 7,6$, $n=10$).

Während die Ergebnisse hinsichtlich der zurückgelegten Strecke im Hellen in Prozent von der gelaufenen Gesamtstrecke der 0,3 mg/kg LJS-6- und der 1 mg/kg LJS-6-Gruppe in

etwa jenen der Kontrollgruppe entsprachen, führte eine höhere Dosierung von LJS-6 zu einem Anstieg dieses Parameters (Kontrolle: $36,14 \pm 2,90 \%$, $n=6$; 0,3 mg/kg LJS-6: $37,83 \pm 3,08 \%$, $n=7$; 1 mg/kg LJS-6: $39,01 \pm 3,57 \%$, $n=6$; 3 mg/kg LJS-6: $49,84 \pm 3,58 \%$, $n=10$). Weiters konnte beobachtet werden, dass die gelaufene Gesamtstrecke bei Mäusen, die LJS-6 bekommen hatten, deutlich höher lag, als bei jenen der Kontrollgruppen (Kontrolle: $55,7 \pm 3,6$ m, $n=6$; 0,3 mg/kg LJS-6: $62,2 \pm 8,1$ m, $n=7$; 1 mg/kg LJS-6: $65,5 \pm 6,3$ m, $n=6$; 3 mg/kg LJS-6: $66,5 \pm 5,5$ m, $n=10$).

4.3.3 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-13 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT

	LDT LJS-13				
	Zeit im Hellen; %	Besuche Hell;	Strecke im Hellen; %	Gesamt- strecke; m	Versuchstiere; n
Kontrolle	$33,97 \pm 4,61$	$25,7 \pm 2,6$	$36,14 \pm 2,90$	$55,7 \pm 3,6$	6
0,1 mg/kg	$45,39 \pm 7,47$	$31,6 \pm 4,3$	$46,68 \pm 4,39$	$61,7 \pm 4,1$	10
0,3 mg/kg	$35,41 \pm 5,33$	$34,6 \pm 8,0$	$43,86 \pm 4,09$	$55,3 \pm 3,9$	10
1 mg/kg	$41,61 \pm 8,61$	$33,2 \pm 7,6$	$46,45 \pm 7,10$	$55,4 \pm 4,6$	9
3 mg/kg	$48,00 \pm 5,79$	$41,4 \pm 6,9$	$49,03 \pm 4,33$	$67,3 \pm 5,0$	13

Tabelle 18: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert $\pm$ SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-13 im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

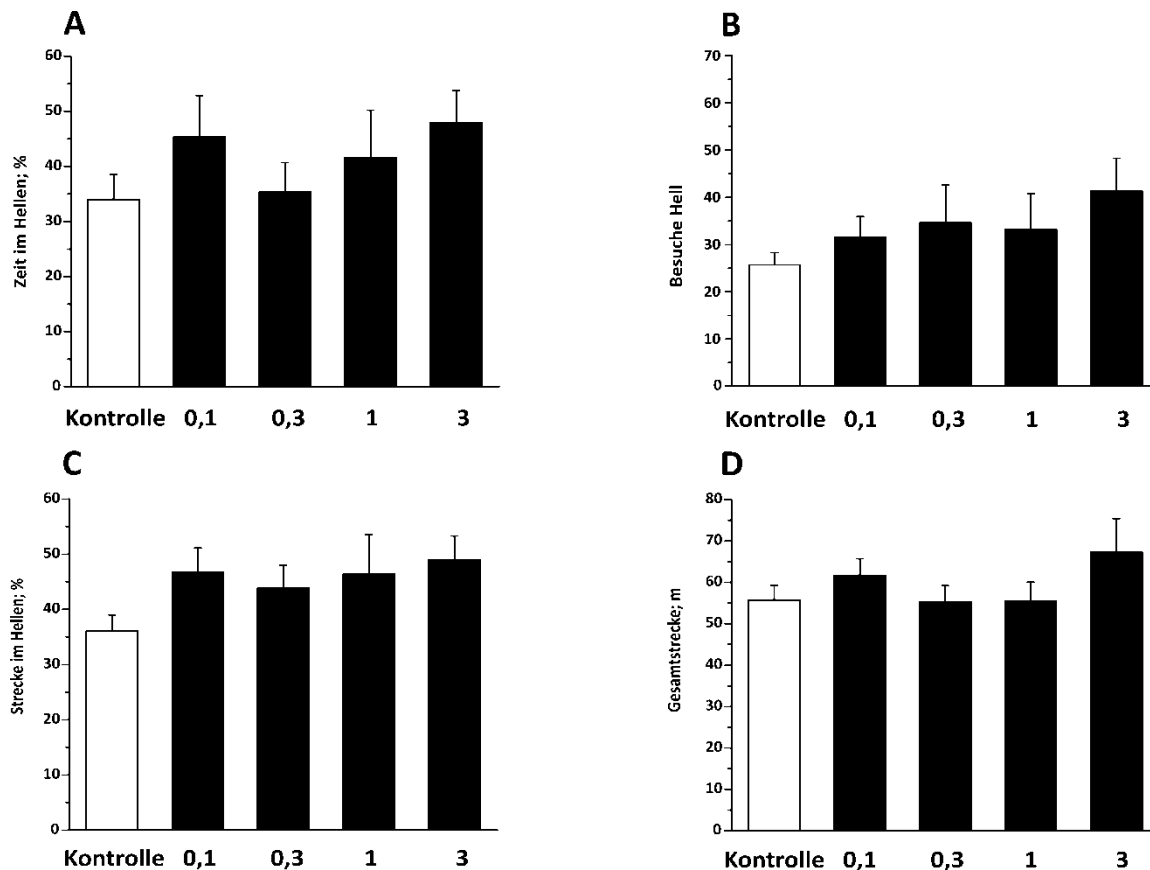


Abbildung 40: Vergleich des Effekts von 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg und 3 mg/kg LJS-13 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zeit im Hellen in Prozent von der gesamten Versuchsdauer. **B:** Besuche der hellen Zone. **C:** Strecke im Hellen in Prozent von der Gesamtstrecke. **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Durchschnittlich verbrachten Tiere der Kontrollgruppe $33,97 \pm 4,61$ % ($n=6$) der gesamten Versuchsdauer im hellen Bereich. Die Applikation von 0,1 mg LJS-13/kg Körpergewicht führte mit $45,39 \pm 7,47$ % ($n=10$) zu einer Steigerung der Aufenthaltsdauer im ausgeleuchteten Bereich. Allerdings kam es bei einer Dosierung von 0,3 mg/kg Körpergewicht zu einem Rückgang dieses Parameters auf das Niveau der Kontrollgruppe, um anschließend bei weiterer Dosissteigerung erneut anzusteigen (0,3 mg/kg LJS-13: $35,41 \pm 5,33$ %, $n=10$; 1 mg/kg LJS-13: $41,61 \pm 8,61$ %, $n=9$; 3 mg/kg LJS-13: $48,00 \pm 5,79$ %, $n=13$).

In Abbildung 39 und Tabelle 18 ist gut zu sehen, dass die Gabe von LJS-13 verglichen mit der Kontrollgruppe zu häufigeren Besuchen des hellen Bereiches geführt hat (Kontrolle:

25,7 ± 2,6, n=6; 0,1 mg/kg LJS-13: 31,6 ± 4,3, n=10; 0,3 mg/kg LJS-13: 34,6 ± 8,0, n=10; 1 mg/kg LJS-13: 33,2 ± 7,6, n=9; 3 mg/kg LJS-13: 41,4 ± 6,9, n=9). Am stärksten ausgeprägt war dieser Effekt bei der höchsten hier getesteten Dosierung.

Auch die zurückgelegte Strecke im Hellen war bei den LJS-13-Gruppen deutlich größer als bei der Kontrollgruppe (Kontrolle: 36,14 ± 2,90 %, n=6; 0,1 mg/kg LJS-13: 46,68 ± 4,39 %, n=10; 0,3 mg/kg LJS-13: 43,86 ± 4,09 %, n=10; 1 mg/kg LJS-13: 46,45 ± 7,10 %, n=9; 3 mg/kg LJS-13: 49,03 ± 4,33 %, n=13). Allerdings konnte hier keine Dosisabhängigkeit beobachtet werden.

Die gelaufene Gesamtstrecke der 0,3 mg/kg LJS-13- und der 1 mg/kg LJS-13-Gruppe entsprach im Wesentlichen jener der Kontrollgruppe (Kontrolle: 55,7 ± 3,6 m, n=6; 0,3 mg/kg LJS-13: 55,3 ± 3,9 m, n=10; 1 mg/kg LJS-13: 55,4 ± 4,6 m, n=9). Bei einer Dosierung von 0,1 beziehungsweise 3 mg/kg Körpergewicht konnte allerdings ein Anstieg dieses Parameters verzeichnet werden (0,1 mg/kg LJS-13: 61,7 ± 4,1 m, n=10; 3 mg/kg LJS-13: 67,3 ± 5,0 m, n=13).

4.3.4 Untersuchung der dosisabhängigen Effekte von LJS-15 auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT

	LDT LJS-15				
	Zeit im Hellen; %	Besuche Hell;	Strecke im Hellen; %	Gesamt- strecke; m	Versuchstiere; n
Kontrolle	33,97 ± 4,61	25,7 ± 2,6	36,14 ± 2,90	55,7 ± 3,6	6
0,1 mg/kg	37,70 ± 5,89	41,9 ± 6,6	41,42 ± 3,86	61,5 ± 4,9	11
0,3 mg/kg	43,86 ± 5,52	39,2 ± 5,2	43,95 ± 3,62	62,7 ± 4,8	14
1 mg/kg	45,83 ± 6,11	53,5 ± 12,0	50,01 ± 4,97	62,8 ± 3,6	15
3 mg/kg	28,41 ± 3,43	38,5 ± 8,8	35,42 ± 2,45	54,0 ± 3,9	13

Tabelle 19: Zusammenfassung der Ergebnisse (als Mittelwert ± SEM) von unterschiedlichen Dosen von LJS-15 im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

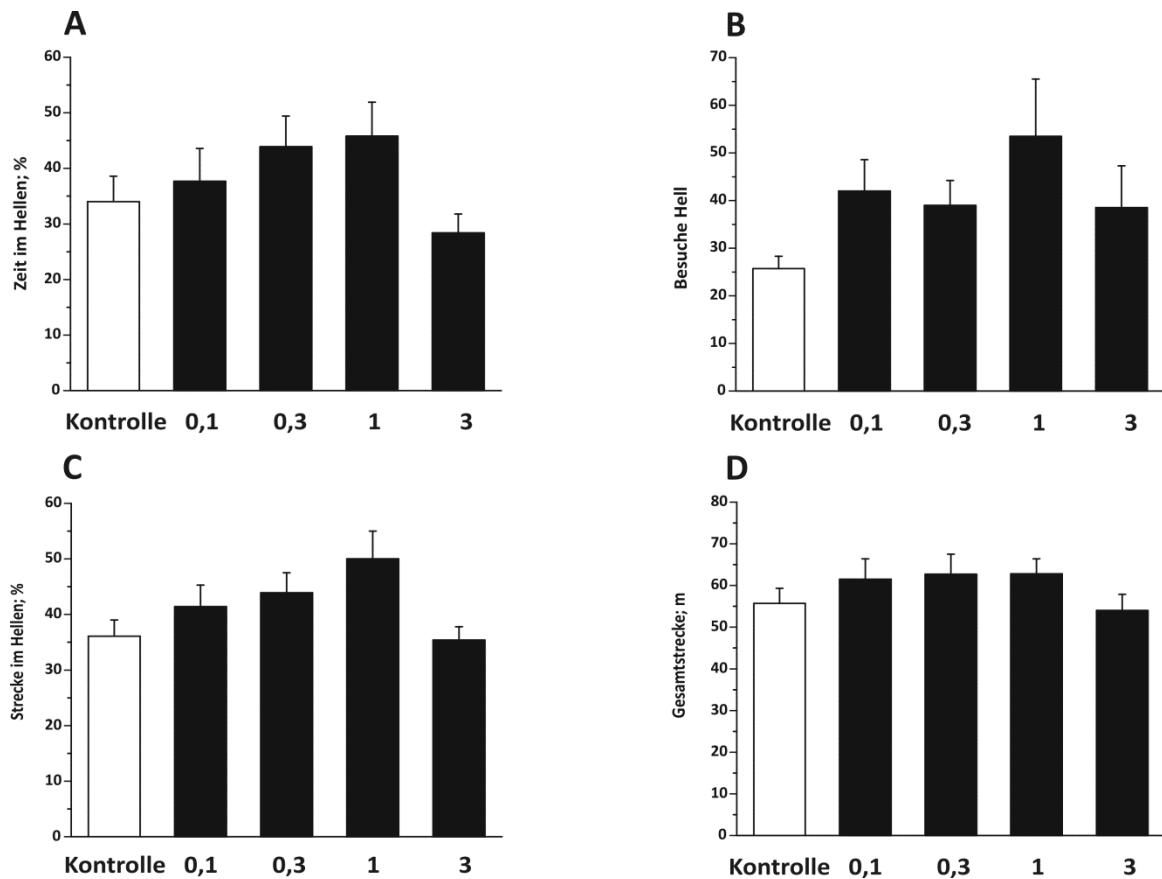


Abbildung 41: Vergleich des Effekts von 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg und 3 mg/kg LJS-15 mit einer Kontrollgruppe (0,9 % Kochsalz) auf das Verhalten von c57Bl/6N Mäusen im LDT 30 Minuten nach i.p. Applikation.

A: Zeit im Hellen in Prozent von der gesamten Versuchsdauer. **B:** Besuche der hellen Zone. **C:** Strecke im Hellen in Prozent von der Gesamtstrecke. **D:** Zurückgelegte Gesamtstrecke in Meter. Bei den abgebildeten Werten handelt es sich um Mittelwerte $\pm$ SEM.

Während die Kontrollgruppe im Schnitt $33,97 \pm 4,61$ % ($n=6$) der Gesamtdauer im Hellen verbracht hat, nahm die Aufenthaltsdauer in der ausgeleuchteten Zone bei Mäusen, die LJS-15 erhalten hatten, dosisabhängig bis zu einer Dosierung von 1 mg/kg Körpergewicht stetig zu (0,1 mg/kg LJS-15: $37,70 \pm 5,89$ %, $n=11$; 0,3 mg/kg LJS-15: $43,86 \pm 5,52$ %, $n=14$; 1mg/kg LJS-15: $45,83 \pm 6,11$ %, $n=15$). Gaben von 3 mg LJS-15/kg Körpergewicht führten allerdings zu einer deutlichen Reduktion der Aufenthaltszeit in diesem Bereich (3 mg/kg LJS-15: $28,41 \pm 3,43$ %, $n=13$).

Weiters hat sich gezeigt, dass unter LJS-15 verglichen mit der Kontrollgruppe die Anzahl der Besuche im Hellen deutlich angestiegen sind (Kontrolle: $25,7 \pm 2,6$, $n=6$; 0,1 mg/kg LJS-15: $41,9 \pm 6,6$, $n=11$; 0,3 mg/kg LJS-15: $39,2 \pm 5,2$, $n=14$; 3 mg/kg LJS-15: $38,5 \pm 8,8$,

n=13). Der höchste Wert konnte hier bei einer Dosierung von 1 mg/kg Körpergewicht mit $53,5 \pm 12,0$ Besuchen (n=15) erzielt werden.

Analog zur verbrachten Zeit in der ausgeleuchteten Zone, konnte auch bei der zurückgelegten Strecke in diesem Bereich durch LJS-15 eine dosisabhängige Steigerung im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Dieser Effekt ging jedoch bei einer Gabe von 3 mg LJS-15/kg Körpergewicht deutlich zurück. (Kontrolle: $36,14 \pm 2,90$ %, n=6; 0,1 mg/kg LJS-15: $41,42 \pm 3,86$ %, n=11; 0,3 mg/kg LJS-15: $43,95 \pm 3,62$ %, n=14; 1 mg/kg LJS-15: $50,01 \pm 4,97$ %, n=15; 3 mg/kg LJS-15: $35,42 \pm 2,45$ %, n=13).

Durchschnittlich legten Mäuse, die LJS-15 hoch dosiert erhalten hatten, ähnliche Distanzen zurück wie Tiere der Kontrollgruppe (Kontrolle: $55,7 \pm 3,6$ m, n=6; 3 mg/kg LJS-15: $54,0 \pm 3,9$ m, n=13). Versuchstiere der anderen LJS-15-Gruppen waren allerdings im Schnitt etwas aktiver (0,1 mg/kg LJS-15: $61,5 \pm 4,9$ m, n=11; 0,3 mg/kg LJS-15: $62,7 \pm 4,8$ m, n=14; 1 mg/kg LJS-15: $62,8 \pm 3,6$ m, n=15).

5. Diskussion

Wie bereits häufiger erwähnt, stellen Angststörungen ein sozialmedizinisches, aber auch ökonomisches Problem der heutigen Gesellschaft dar (Möhler, 2006; Hoffman et al., 2008). Da herkömmliche Behandlungen wie die Verhaltenstherapie oder auch pharmakologische Maßnahmen über einige, zum Teil schwerwiegende Nachteile verfügen (Lane und Baldwin, 1997; Lader, 2011; Gutteling et al., 2012; Hood et al., 2012; Möhler, 2012), ist man auf der Suche nach neuen Wirkstoffen und Substanzen, die unter anderem über einen schnelleren Wirkungseintritt, längere beziehungsweise kürzere Wirkdauer und weniger Nebenwirkungen verfügen.

Dabei stieß man auf einen vielversprechenden Naturstoff, LJS-0, der vor allem anxiolytische Eigenschaften aufweist, ohne sedierend zu wirken. Um das pharmakologische und pharmakodynamische Profil dieser Substanz zu verbessern, wurden neue Serien von LJS-0-Derivaten synthetisiert.

Im Rahmen meiner Arbeit sollte ich zum einen die Wirkung und den Zeitverlauf (mit Wirkungseintritt und Wirkdauer) der LJS-0-Prodrugs (LJS-1 bis LJS-4) untersuchen. Dazu wurden die Substanzen c57Bl/6N Mäusen i.p. verabreicht und die Effekte auf das angstassoziierte Verhalten 15, 30 beziehungsweise 60 Minuten nach Applikation im EPM im Vergleich zu einer Kontroll- und einer LJS-0-Gruppe untersucht.

Der Effekt von LJS-0 wurde nur 30 und 60 Minuten nach Applikation gemessen. Dabei zeigte sich, dass Mäuse aus der LJS-0-Gruppe nach 30 Minuten um ein Viertel mehr Zeit in den OA verbrachten, als Tiere der Kontrollgruppe. Bei der Messung nach 60 Minuten konnte allerdings kein wesentlicher Unterschied mehr festgestellt werden. Auch die zurückgelegte Gesamtstrecke der beiden Gruppen lag zu beiden Zeitpunkten in einem ähnlichen Bereich, was darauf hindeutet, dass LJS-0 nicht sedierend wirkt.

Bei der Analyse 15 Minuten nach Applikation, wiesen sowohl LJS-1 als auch LJS-2 anxiolytische, aber keine sedierenden Eigenschaften auf. Die Anxiolyse war nach 30 Minuten bei LJS-2 in ähnlichem und nach 60 Minuten sogar in größerem Ausmaß vorhanden, wobei der Effekt um 10-20 %, gemessen an der Aufenthaltsdauer in den OA und den Besuchen der GA, stärker war als jener von LJS-0. 60 Minuten nach i.p.

Applikation führte LJS-2 außerdem zur Sedierung der Versuchstiere, was in Abbildung 25 an der erheblichen Abnahme der Gesamtstrecke zu sehen ist.

Im Gegensatz dazu konnten bei LJS-3 keine schlaffördernden Effekte beobachtet werden. Das anxiolytische Wirkmaximum von LJS-3 lag nach 30 Minuten vor und fiel danach deutlich ab. Damit war der Effekt von LJS-3 bezogen auf die verbrachte Zeit in den OA um circa ein Drittel stärker als der von LJS-0 (siehe Abbildung 24).

LJS-4 führte nach 30 Minuten zu ähnlichen Effekten wie LJS-2. Nach einer weiteren halben Stunde zeigten Mäuse, die LJS-4 erhalten hatten, jedoch etwas weniger Angst als Versuchstiere aus der LJS-2-Gruppe. LJS-4-Mäuse liefen eine circa 30 % kürzere Strecke, als die Versuchstiere aus der Kontrollgruppe und zeigten auch eine um etwa 10 % verminderte Aktivität verglichen mit der LJS-2-Gruppe. Daraus folgt, dass LJS-4 nach 60 Minuten den größten sedierenden Effekt der hier getesteten Substanzen aufweist.

Daraus ergibt sich, dass alle getesteten LJS-0-Prodrugs über anxiolytisches Potential verfügen. Da LJS-1 nur 15 Minuten nach i.p. Applikation analysiert wurde, kann keine Aussage über den zeitabhängigen Wirkungsverlauf getroffen werden. Deswegen sind hier auf jeden Fall weitere Studien notwendig. Für LJS-2 und LJS-4 konnte gezeigt werden, dass diese Substanzen besonders 60 Minuten nach i.p. Gabe zur Reduktion von Angst führen, wobei sie zusätzlich sedierende Eigenschaften aufweisen. Bei LJS-3 hingegen kam es zu keiner Sedierung und auch der Wirkungsverlauf unterscheidet sich von dem von LJS-2 und LJS-4. Ähnlich zu LJS-0 entfaltet Derivat 3 nach 30 Minuten seine volle Wirkung, die nach 60 Minuten zwar nach wie vor vorhanden ist, jedoch in deutlich geringerem Ausmaß. Da die Wirkung von LJS-3 und LJS-4 nicht nach 15 Minuten getestet wurden, sollte dies Thema von weiteren Untersuchungen sein. Außerdem sollten die Effekte von LJS-0 ebenfalls 15 Minuten nach Applikation analysiert werden, um sie mit denen der Derivate vergleichen zu können.

Das zweite Ziel meiner Arbeit war es, dosisabhängige Änderungen im angstassoziierten Verhalten sowie in der Motoraktivität durch 11 LJS-0-Derivate 30 Minuten nach Applikation im Vergleich zur Kontrollgruppe und LJS-0 im OF zu testen.

Dabei wies LJS-0 in sämtlichen Dosierungen nur sehr geringes anxiolytisches Potential auf. Lediglich beim Parameter „Rearings“ war zu sehen, dass niedrige Dosen von LJS-0 angsthemmende Effekte vermittelten, die bei Dosissteigerung nachließen (siehe

Abbildung 26). Analog zum EPM konnten auch beim OF keine sedierenden Effekte durch LJS-0 beobachtet werden.

Anhand der zurückgelegten Strecke und der verbrachten Zeit im Zentrum hat sich für LJS-5 gezeigt, dass dieses besonders bei Dosen von 3 mg/kg Körpergewicht anxiolytische Eigenschaften aufwies, die um circa 10 % stärker ausfielen als jene von LJS-0. Wurde LJS-5 höher oder niedriger dosiert, nahm der Effekt entweder ab oder blieb aus. Versuchstiere, die LJS-5 bekommen hatten, zeigten keine Anzeichen von Sedierung.

Zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Reduktion des angstassoziierten Verhaltens kam es bei der Gabe von 10 mg LJS-6/kg Körpergewicht verglichen mit der Kontrollgruppe. Damit ist der anxiolytische Effekt von LJS-6 in dieser Dosierung um circa ein Viertel stärker als jener von LJS-0. Bei den anderen getesteten Dosierungen trat die angsthemmende Wirkung jedoch weniger deutlich hervor. Ähnlich wie bei LJS-5 gab es auch hier keine Hinweise auf sedierende Eigenschaften von LJS-6.

Wie in Abbildung 29 gut zu erkennen ist, führte LJS-7 bei diesen Untersuchungen dosisabhängig zur Anxiolyse, die in etwa 20 % stärker ausfiel als unter LJS-0. Auch bei dieser Substanz konnte kein sedierender Einfluss auf die Tiere festgestellt werden.

Analog zu LJS-7 verhielt sich LJS-8, dessen angsthemmende Wirkung ebenfalls von der Dosis abhängig war, jedoch etwas schwächer ausfiel als bei LJS-7. Im Gegensatz zu LJS-7 zeigte Derivat 8 zusätzlich sedierende Effekte, da Mäuse aus dieser Gruppe im Schnitt 25-30 % weniger liefen als Tiere der Kontrollgruppe.

Die Gabe von LJS-9 führte weder zur Angstreduktion noch zu Sedierung.

LJS-10 zeigte in diesem Versuch kein anxiolytisches Potential. Allerdings nahmen sedative Effekte mit steigender Dosis immer weiter zu. Dies war gut an der Verminderung der Laufstrecke um circa ein Zehntel, verglichen mit der Kontrollgruppe, zu sehen.

Außerdem wurde nach Applikation von LJS-11 besonders in niedriger Dosierung eine Angstreduktion, die um 15 % stärker war als bei LJS-0, bei den Versuchstieren beobachtet. Dieser Effekt nahm aber mit steigender Dosierung ab und fiel bei einer Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht vollends weg. Wie bei den meisten anderen untersuchten Derivaten gab es auch hier keine Hinweise auf sedierende Eigenschaften.

Ein ähnliches Wirkprofil konnte für LJS-12 gezeigt werden, bei dem ebenfalls der stärkste anxiolytische Effekt, der sogar noch etwas stärker ausgeprägt war als bei LJS-11, bei

einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht auftrat. Weiters zeigten die Mäuse keinerlei Anzeichen von Sedierung.

Während LJS-13 niedrig beziehungsweise mittel dosiert zu keiner Reduktion des angstassoziierten Verhaltens bei c57Bl/6N Mäusen geführt hat, zeigte die Substanz bei einer Dosierung von 30 mg/kg Körpergewicht ähnlich großes anxiolytisches Potential wie LJS-0. Sedierende Effekte konnten allerdings nicht beobachtet werden.

Bei meinen Untersuchungen im OF wurde deutlich, dass Derivat 14 am stärksten anxiolytisch wirkt. Gemessen an der verbrachten Zeit im Zentrum, entsprach der angsthemmende Effekt von LJS-14 in etwa jenen von LJS-7 und LJS-8. Bei Dosissteigerung kam es allerdings zu einer Zunahme der Aufenthaltsdauer um 20 %, was bedeutet, dass Mäuse, die diese Menge an LJS-14 bekommen hatten, sich fast doppelt so lang im Zentrum aufhielten wie Versuchstiere der Kontrollgruppe. Hohe Dosen, wie 30 mg LJS-14/kg Körpergewicht, führten jedoch zu einer leichten Abnahme dieses Effekts. Während des Versuchs zeigten die Tiere keine Anzeichen von Sedierung.

Unter dem Einfluss von LJS-15 konnte dosisabhängig eine Reduktion des angstassoziierten Verhaltens beobachtet werden. So hielten sich die Mäuse dieser Gruppen deutlich länger im zentralen Bereich des OF auf. Allerdings kam es bei Tieren, die LJS-15 erhalten hatten zu einer Reduktion der Motoraktivität: Während im Vergleich zur Kontrollgruppe bei einer Dosierung von 10 mg LJS-15/kg Körpergewicht die zurückgelegte Gesamtstrecke um circa ein Drittel abnahm, liefen Mäuse, 30 mg/kg Körpergewicht sogar nur die Hälfte dieser Distanz. Daraus folgt, dass LJS-15 stark sedierendes Potential aufweist, was eventuell die Ursache für die lange Aufenthaltsdauer im Zentrum ist. Um abzuklären, ob und in welchem Ausmaß LJS-15 tatsächlich anxiolytisch wirkt, sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Das heißt, dass bei den Substanzen LJS-0, LJS-5, LJS-6, LJS-7, LJS-11, LJS-12, LJS-13 und LJS-14 nur anxiolytische Eigenschaften beobachtet wurden, während LJS-8 und LJS-15 zusätzlich über sedierendes Potential verfügten. Hingegen führte die Gabe von LJS-10 zur Sedierung der Mäuse ohne einen Einfluss auf das angstassoziierte Verhalten zu üben. Bei LJS-9 konnten weder anxiolytische noch sedierende Effekte beobachtet werden.

Da bei den Derivaten 6, 9, 10, 11, 12 und 13 die Anzahl der getesteten Tiere mit vier äußerst niedrig liegt und die Werte zum Teil eine große Schwankungsbreite aufweisen,

sollten vor allem mit diesen Substanzen noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Als Abschluss meiner praktischen Arbeit wurden schließlich noch die dosisabhängigen Effekte einiger ausgewählter und bereits im OF getesteter Substanzen auf das angstassoziierte Verhalten von Mäusen mit Hilfe des LDT genauer analysiert.

In diesem Versuch zeigte LJS-0 im Gegensatz zum OF deutliche, dosisabhängige anxiolytische Eigenschaften. Wie bei den anderen Tests auch, konnte auch hier keine Sedierung der Versuchstiere dokumentiert werden.

Ähnlich angsthemmend wie LJS-0 wirkte niedrig beziehungsweise mittel dosiertes LJS-6. Bei einer Gabe von 3 mg/kg Körpergewicht lag dieser Effekt aber 15 % über jenem von LJS-0. Analog zum Ergebnis aus dem OF-Test, konnte auch im LDT kein sedierendes Potential für LJS-6 nachgewiesen werden.

Auch die Untersuchung von LJS-13 im LDT bestätigte im Großen und Ganzen die Ergebnisse aus dem OF. Zwar kam es hier, wie in Abbildung 40 ersichtlich, bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg Körpergewicht zu einer deutlichen Zunahme bei der Aufenthaltsdauer und der zurückgelegten Strecke im Zentrum, was auf eine Anxiolyse hindeutet, allerdings kann davon ausgegangen werden, dass es sich hier um statistische Ausreißer handelt und somit weitere Untersuchungen erforderlich sind. Bei den anderen Dosierungen konnten ähnlich starke angsthemmende Effekte beobachtet werden wie bei LJS-0, was auch aus dem OF hervorgegangen ist. Weiters wiesen Mäuse aus der LJS-13-Gruppe im LDT, wie auch schon im OF, keine Anzeichen von Sedierung auf.

Auch bei Derivat 15 kam es zu einem dosisabhängigen Anstieg der anxiolytischen Eigenschaften. Allerdings fällt dieser Effekt bei einer Gabe von 3 mg/kg Körpergewicht wieder weg. Anders als im OF führten die hier verwendeten Dosierungen nicht zur Sedierung der Mäuse.

Daraus ergibt sich, dass die Ergebnisse des LDT über weite Strecken mit jenen aus dem OF übereinstimmen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass LJS-15 in niedrigen Dosen anxiolytische Effekte verursacht, wohingegen die Applikation von hohen Dosen, wie sie im OF getestet wurden, vor allem eine Sedierung der Versuchstiere zur Folge hatte.

Eigenartigerweise lieferte gerade LJS-0 in den beiden verhaltenspharmakologischen Tests abweichende Ergebnisse. Während im OF eher eine milde Anxiolyse zu

beobachten war, kam dieser Effekt im LDT deutlich stärker zum Vorschein. Um eine endgültige Aussage treffen zu können, in welchem Ausmaß LJS-0 das angstassoziierte Verhalten von Mäusen beeinflusst, sollten auch hier noch einige Studien folgen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass mit LJS-2 und LJS-4 zwei Substanzen synthetisiert wurden, die über einen verzögerten Wirkungseintritt und eine verlängerte Wirkdauer im Vergleich zu LJS-0 verfügen. Weiters konnte im Zuge meiner Diplomarbeit gezeigt werden, dass LJS-3 besonders 30 Minuten nach Applikation anxiolytisches Potential aufweist und somit mittelfristig wirksam ist. Auch die Gabe von LJS-1 führte zur Angstreduktion. Allerdings fehlen hier Daten, die 30 beziehungsweise 60 Minuten nach i.p. Applikation aufgenommen werden sollten, um Auskunft über den Wirkungsverlauf geben zu können. Deswegen sollten weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet durchgeführt werden.

Im OF zeigte LJS-13 (30 mg/kg) ähnlich starke anxiolytische Eigenschaften wie LJS-0 in gleicher Dosierung. Etwas deutlicher kamen diese Effekte bei LJS-5 (3 mg/kg) zum Vorschein. Die Derivate 7 und 8 wiesen dosisabhängig um circa 10-20 % größeres angsthemmendes Potential auf als LJS-0. Ähnliche Wirkstärke konnte bei LJS-11 und LJS-12 bei einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht beobachtet werden. Bei LJS-6 war die Anxiolyse sogar um 25 % stärker ausgeprägt als bei LJS-0. Zur effektivsten Reduktion des angstassoziierten Verhaltens führte allerdings die Gabe von 10 mg LJS-14/kg Körpergewicht. Hier konnten Werte, die ungefähr 30 % über jenen von LJS-0 lagen, erzielt werden. Bei LJS-15 ist fraglich, ob die Reduktion des angstassoziierten Verhaltens tatsächlich mit den anxiolytischen Eigenschaften der Substanz zusammenhing oder doch eher ein Produkt der starken sedierenden Wirkung war. Neben LJS-15 führte auch LJS-8 zusätzlich zu einer Sedierung der Versuchstiere. Ausschließlich sedierend wirkte hingegen LJS-10. Dieser Effekt war hier auch von der Dosis abhängig. Weder sedierende noch angsthemmende Eigenschaften wies LJS-9 auf.

Die Ergebnisse des LDT zeigten für LJS-0 deutlich stärkeres anxiolytisches Potential als im OF. Um mehr über die Wirkstärke dieser Substanz zu erfahren, sollten in dieser Hinsicht noch weitere Untersuchungen folgen. Bei LJS-6 passten die erhaltenen Daten im Wesentlichen zu jenen aus dem OF. Bis auf die Gruppe, die LJS-13 in einer Dosierung von 0,1 mg/kg Körpergewicht erhalten hatte, zeigten Mäuse nach Applikation dieses

Derivats im LDT ähnliches Verhalten wie jene, die für den OF Test herangezogen wurden. Anders als im OF wirkte LJS-15 in den im LDT getesteten, niedrigeren Dosierungen nicht sedierend. Allerdings konnte auch hier eine Reduktion des angstassoziierten Verhaltens beobachtet werden, woraus man schließen kann, dass in niedrigen Dosen die Anxiolyse und in hohen Dosen die sedierenden Effekte bei dieser Substanz überwiegen.

6. Zusammenfassung

γ -Aminobuttersäure (GABA) ist der wichtigste inhibitorische Neurotransmitter im Säugetiergehirn. Veränderungen im GABAergen System können zu einer Reihe von Erkrankungen, wie beispielsweise Angststörungen, Insomnie, Depressionen und Epilepsie führen. Deswegen stellt der GABA_A-Rezeptor bei solchen Dysfunktionen einen wichtigen Angriffspunkt diverser Arzneistoffe dar.

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass ein Naturstoff, LJS-0, anxiolytisches Potential im Tierversuch aufweist. Um dieses noch weiter zu verbessern, wurden Derivat-Serien von LJS-0 hergestellt, die ich im Rahmen meiner Diplomarbeit mit Hilfe verhaltenspharmakologischer Tests im Tiermodell untersucht habe.

Dabei zeigte sich, dass nach i.p. Applikation der getesteten Prodrugs, LJS-1, LJS-2, LJS-3 und LJS-4 (3 mg/kg Körpergewicht), die Mäuse generell mehr Zeit in den offenen Armen (OA) des Elevated-Plus-Maze-Tests (EPM) verbrachten und die Derivate somit ein höheres, anxiolytisches Potential als der Naturstoff aufwiesen. Wobei Unterschiede in Anflutung und Wirkdauer des Effekts zu beobachten waren: Bereits 15 Minuten nach Applikation von LJS-2 verbrachten die Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe mehr Zeit in den OA. Dieser anxiolytische Effekt war nach 30 Minuten stärker ausgeprägt und erreichte sein Maximum nach 60 Minuten. Ein ähnliches Wirkprofil wurde für LJS-4 beobachtet: auch dieses prodrug war 60 Minuten nach Applikation stärker anxiolytisch als nach 30 Minuten. Im Gegensatz dazu zeigte LJS-3 maximales anxiolytisches Potential bereits 30 Minuten nach Applikation, danach kam es zu einer Abnahme der Anxiolyse. Der Effekt von LJS-1 auf das angstassoziierte Verhalten der Tiere im EPM wurde nur 15 Minuten nach Applikation untersucht, daher fehlen Daten zu den späteren Zeitpunkten, weswegen jetzt noch keine Aussage über den Wirkverlauf getroffen werden kann.

Im Open-Field-Test (OF) konnte beobachtet werden, dass Tiere, die LJS-0, LJS-5, LJS-6, LJS-7, LJS-11, LJS-12, LJS-13 oder LJS-14 i.p. bekommen hatten, 30 Minuten nach Applikation mehr Zeit im Zentrum des OF verbrachten als die Kontrollgruppe und diese Derivate daher unterschiedlich starke Anxiolyse induzieren. Bei Mäusen, die LJS-8 oder LJS-15 erhalten hatten, konnte neben anxiolytischer Wirkung auch eine signifikante

Reduktion der Laufstrecke (Sedierung) beobachtet werden. LJS-10 wirkte ausschließlich sedierend. LJS-9 zeigte keinen Effekt.

Weiters wurden die Effekte von LJS-0, LJS-6, LJS-13 und LJS-15 im Light-Dark-Choice-Test (LDT) untersucht. Mäuse, denen LJS-6 ($\geq 0,3$ mg/kg) oder LJS-13 ($\geq 0,1$ mg/kg) i.p. appliziert wurde, verbrachten mehr Zeit im Hellen als die Kontroll- und LJS-0 Gruppe. Dosen $\geq 0,1$ mg/kg LJS-15 induzierten Anxiolyse, wobei bis zu einer Dosis von 3 mg/kg keine Sedierung zu beobachten war.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass durch die Derivatisierung von LJS-0 neue Substanzen mit stärkerer anxiolytischer Wirkung ohne begleitender Sedierung synthetisiert wurden.

7. Abstract

γ -Aminobutyric acid (GABA) is the major inhibitory neurotransmitter in the mammalian brain. Therefore, changes in the GABAergic system are commonly associated with multiple diseases such as anxiety disorders, insomnia, depressions or epilepsy. Consequently, GABA_A-receptors represent an important target for clinically and pharmacologically relevant drugs.

Recent studies on animals have shown, that the natural compound, LJS-0, displays anxiolytic properties. In order to enhance the compound's efficiency, novel derivatives of LJS-0 were synthesized and their effects on mice anxiety-related behavior and activity were analyzed.

After i.p. application of the prodrugs, LJS-1, LJS-2, LJS-3 and LJS-4 (3 mg/kg bodyweight), mice spent significantly more time in the open arms (OA) of the Elevated-Plus-Maze-Test (EPM), indicating the more pronounced anxiolytic potential compared to LJS-0. However, differences in onset and duration of the effect were observed: 15 minutes after application of LJS-2, mice spent more time in the OA compared to control littermates. The anxiolytic effect was even stronger after 30 minutes and reached its maximum after 60 minutes. Similar effects were observed for compound LJS-4: the anxiolytic effect also saturated 60 min after application. In contrast, LJS-3 displayed its strongest anxiolytic effect 30 minutes after application, while after 60 min anxiolytic effect diminished. The anxiolytic potential of LJS-1 on the anxiety-related behaviour of mice was only tested 15 minutes after application. Therefore, data of latter moments are currently missing, this circumstance warrants further studies.

In the Open-Field-Test (OF) animals spent more time in the center of the OF compared to control 30 minutes after i.p. application of compounds LJS-0, LJS-5, LJS-6, LJS-7, LJS-11, LJS-12, LJS-13 or LJS-14, respectively, at different doses. LJS-8 as well as LJS-15 induced anxiolysis and a reduction on the traveled distance (sedation). For LJS-10 only sedative effects were observed. LJS-9 showed no effect.

Furthermore, effects of LJS-0, LJS-6, LJS-13 and LJS-15 were analyzed in the Light-Dark-Choice-Test (LDT). Mice spent more time in the lit area compared to control and LJS-0-group upon i.p. application of LJS-6 ($\geq 0,3$ mg/kg) or LJS-13 ($\geq 0,1$ mg/kg). At dosages of

$\geq 0,1$ mg/kg anxiolytic effects of LJS-15 were observed that were not accompanied by sedation up to a dose of 3 mg/kg.

Taken together, my data suggest that derivatisation of LJS-0 results in compounds that display stronger anxiolytic effects mostly lacking sedative action.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Maria Magdalena MÜLLNER
Geburtsdatum: 18. April 1989
Geburtsort: Wien

Ausbildung

1995 – 1999 Volksschule Unserfrau
1999 – 2007 Bundesgymnasium Gmünd
seit Oktober 2007 Studium der Pharmazie an der Universität Wien
10. Februar 2009 1. Diplomprüfung
28. September 2012 2. Diplomprüfung

Beruflicher Werdegang

Ferialjobs: 2009: Apotheke „Zum Auge Gottes“ (Gmünd)
Kuenringer-Apotheke (Zwettl)
2010: Apotheke „Zum Auge Gottes“ (Gmünd)
2011: Apotheke „Zum schwarzen Adler“ (Weitra)
Apotheke „Zum Auge Gottes“ (Gmünd)
2012: Apotheke „Zum Auge Gottes“ (Gmünd)

Tutorium: WS10/11: PR „Mikrobiologie und Hygiene“ am Department für
Pharmakologie & Toxikologie
WS11/12: PR „Mikrobiologie und Hygiene“ am Department für
Pharmakologie & Toxikologie
WS12/13: PR „Mikrobiologie und Hygiene“ am Department für
Pharmakologie & Toxikologie

Literaturverzeichnis

- Arida, R.M., Cavaleiro, E.A. und Scorza, F.A. (2012). From depressive symptoms to depression in people with epilepsy: Contribution of physical exercise to improve this picture. *Epilepsy Research* 99, 1–13.
- Bali, M. und Akabas, M.H. (2004). Defining the propofol binding site location on the GABAA receptor. *Mol. Pharmacol.* 65, 68–76.
- Bali, M. und Akabas, M.H. (2012). Gating-induced conformational rearrangement of the γ -aminobutyric acid type A receptor β - α subunit interface in the membrane-spanning domain. *J. Biol. Chem.* 287, 27762–27770.
- Baumann, S.W., Baur, R. und Sigel, E. (2003). Individual Properties of the Two Functional Agonist Sites in GABAA Receptors. *J. Neurosci.* 23, 11158–11166.
- Baur, R. und Sigel, E. (2005). Benzodiazepines Affect Channel Opening of GABAA Receptors Induced by Either Agonist Binding Site. *Mol Pharmacol* 67, 1005–1008.
- Beesdo, K., Pine, D.S., Lieb, R. und Wittchen, H.-U. (2010). Incidence and risk patterns of anxiety and depressive disorders and categorization of generalized anxiety disorder. *Arch Gen Psychiatry* 67, 47–57.
- Belelli, D., Harrison, N.L., Maguire, J., Macdonald, R.L., Walker, M.C., and Cope, D.W. (2009). Extrasynaptic GABAA Receptors: Form, Pharmacology, and Function. *J. Neurosci.* 29, 12757–12763.
- Belelli, D. und Lambert, J.J. (2005). Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 565–575.
- Benke, D., Fakitsas, P., Roggenmoser, C., Michel, C., Rudolph, U. und Mohler, H. (2004). Analysis of the Presence and Abundance of GABAA Receptors Containing Two Different Types of α Subunits in Murine Brain Using Point-mutated α Subunits. *J. Biol. Chem.* 279, 43654–43660.
- Bettler, B., Kaupmann, K., Mosbacher, J. und Gassmann, M. (2004). Molecular Structure and Physiological Functions of GABAB Receptors. *Physiol Rev* 84, 835–867.
- Bharathi, C., Prabahar, K.J., Prasad, C.S., Kumar, M.S., Magesh, S., Handa, V.K., Dandala, R. und Naidu, A. (2007). Impurity profile study of zaleplon. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44, 101–109.
- Bierman, E.J.M., Comijs, H.C., Gundy, C.M., Sonnenberg, C., Jonker, C. und Beekman, A.T.F. (2007). The effect of chronic benzodiazepine use on cognitive functioning in older persons: good, bad or indifferent? *International Journal of Geriatric Psychiatry* 22, 1194–1200.
- Biermann, B., Ivankova-Susankova, K., Bradaia, A., Abdel Aziz, S., Besseyrias, V., Kapfhammer, J.P., Missler, M., Gassmann, M. und Bettler, B. (2010). The Sushi Domains of GABAB Receptors Function as Axonal Targeting Signals. *Journal of Neuroscience* 30, 1385–1394.

Bloch, M.D., Landeros-Weisenberger, M.D., Rosario, M.D., Pittenger, M.D. und Leckman, M.D. (2008). Meta-Analysis of the Symptom Structure of Obsessive-Compulsive Disorder. *Am J Psychiatry* 165, 1532–1542.

Bocca, M.-L., Marie, S., Lelong-Boulouard, V., Bertran, F., Couque, C., Desfemmes, T., Berthelon, C., Amato, J.-N., Moessinger, M., Paillet-Loilier, M., Coquerel, A. und Denise, P. (2011). Zolpidem and zopiclone impair similarly monotonous driving performance after a single nighttime intake in aged subjects. *Psychopharmacology* 214, 699–706.

Boileau, A.J., Newell, J.G. und Czajkowski, C. (2002). GABAA Receptor β 2Tyr97 and Leu99 Line the GABA-binding Site INSIGHTS INTO MECHANISMS OF AGONIST AND ANTAGONIST ACTIONS. *J. Biol. Chem.* 277, 2931–2937.

Bowery, N.G. und Smart, T.G. (2006). GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *British Journal of Pharmacology* 147, S109–S119.

Brakoulias, V. (2013). Diagnostic subtyping of obsessive–compulsive disorder: Have we got it all wrong? *Aust N Z J Psychiatry* 47, 23–25.

Brambilla, P., Perez, J., Barale, F., Schettini, G. und Soares, J.C. (2003). GABAergic dysfunction in mood disorders. *Molecular Psychiatry* 8, 721–737.

Breese, G.R., Criswell, H.E., Carta, M., Dodson, P.D., Hanchar, H.J., Khisti, R.T., Mameli, M., Ming, Z., Morrow, A.L., Olsen, R.W., Otis, T.S., Parsons, L.H., Penland, S.N., Roberto, M., Siggins, G.R., Valenzuela, C.F. und Wallner, M. (2006). Basis of the Gabamimetic Profile of Ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30, 731–744.

Breslau, N., Chilcoat, H.D., Kessler, R.C. und Davis, G.C. (1999). Previous Exposure to Trauma and PTSD Effects of Subsequent Trauma: Results From the Detroit Area Survey of Trauma. *Am J Psychiatry* 156, 902–907.

Buddhala, C., Suarez, M., Modi, J., Prentice, H., Ma, Z., Tao, R. und Wu, J.Y. (2012). Calpain cleavage of brain glutamic acid decarboxylase 65 is pathological and impairs GABA neurotransmission. *PLoS ONE* 7, e33002.

Bunnell, B.E., Joseph, D.L. und Beidel, D.C. (2013). Measurement invariance of the Social Phobia and Anxiety Inventory. *Journal of Anxiety Disorders* 27, 84–91.

Carland, J.E., Moorhouse, A.J., Barry, P.H., Johnston, G.A.R. und Chebib, M. (2004). Charged Residues at the 2' Position of Human GABAC ρ 1 Receptors Invert Ion Selectivity and Influence Open State Probability. *J. Biol. Chem.* 279, 54153–54160.

Cederholm, J.M.E., Schofield, P.R. und Lewis, T.M. (2009). Gating mechanisms in Cys-loop receptors. *Eur. Biophys. J.* 39, 37–49.

Chan, C.M., Mitchell, A.L. und Shorr, A.F. (2012). Etomidate is associated with mortality and adrenal insufficiency in sepsis: a meta-analysis*. *Crit. Care Med.* 40, 2945–2953.

Charych, E.I., Liu, F., Moss, S.J. und Brandon, N.J. (2009). GABAA receptors and their associated proteins: implications in the etiology and treatment of schizophrenia and related disorders. *Neuropharmacology* 57, 481–495.

Clay, E., Falissard, B., Moore, N. und Toumi, M. (2012). Contribution of prolonged-release melatonin and anti-benzodiazepine campaigns to the reduction of benzodiazepine and z-drugs consumption in nine European countries. *Eur J Clin Pharmacol* 1–10.

Connolly, C.N. und Wafford, K.A. (2004). The Cys-loop superfamily of ligand-gated ion channels: the impact of receptor structure on function. *Biochem. Soc. Trans.* 32, 529–534.

Conti, F., Melone, M., Fattorini, G., Bragina, L. und Ciappelloni, S. (2011). A role for GAT-1 in presynaptic GABA homeostasis? *Front. Cell. Neurosci.* 5, 2.

Crestani, F., Martin, J.R., Möhler, H. und Rudolph, U. (2000). Mechanism of action of the hypnotic zolpidem in vivo. *British Journal of Pharmacology* 131, 1251–1254.

Cryan, J.F. und Kaupmann, K. (2005). Don't worry "B" happy!: a role for GABA(B) receptors in anxiety and depression. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 36–43.

Curley, A.A. und Lewis, D.A. (2012). Cortical basket cell dysfunction in schizophrenia. *J Physiol* 590, 715–724.

Doengi, M., Hirnet, D., Coulon, P., Pape, H.-C., Deitmer, J.W. und Lohr, C. (2009). GABA uptake-dependent Ca²⁺ signaling in developing olfactory bulb astrocytes. *PNAS* 106, 17570–17575.

Engelhard, I.M., Van den Hout, M.A. und Schouten, E.G.W. (2006). Neuroticism and low educational level predict the risk of posttraumatic stress disorder in women after miscarriage or stillbirth. *General Hospital Psychiatry* 28, 414–417.

Epstein, R.S., Fullerton, C.S. und Ursano, R.J. (1998). Posttraumatic Stress Disorder Following an Air Disaster: A Prospective Study. *Am J Psychiatry* 155, 934–938.

Ernst, M., Bruckner, S., Boresch, S. und Sieghart, W. (2005). Comparative Models of GABAA Receptor Extracellular and Transmembrane Domains: Important Insights in Pharmacology and Function. *Mol Pharmacol* 68, 1291–1300.

Farrant, M. und Nusser, Z. (2005). Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABAA receptors. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 215–229.

Feng, H.-J. und Macdonald, R.L. (2010). Barbiturates Require the N Terminus and First Transmembrane Domain of the δ Subunit for Enhancement of $\alpha 1\beta 3\delta$ GABAA Receptor Currents. *J Biol Chem* 285, 23614–23621.

Ferando, I. und Mody, I. (2012). GABA(A) receptor modulation by neurosteroids in models of temporal lobe epilepsies. *Epilepsia* 53 Suppl 9, 89–101.

Fisher, R.S., Boas, W. van E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P. und Engel, J. (2005). Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46, 470–472.

Follesa, P., Biggio, F., Talani, G., Murru, L., Serra, M., Sanna, E. und Biggio, G. (2006). Neurosteroids, GABAA receptors, and ethanol dependence. *Psychopharmacology (Berl.)* 186, 267–280.

Forman, S.A. (2011). Clinical and Molecular Pharmacology of Etomidate. *Anesthesiology* 114, 695–707.

Goodwin, G.M. (2011). Symptom relief and facilitation of emotional processing. *European Neuropsychopharmacology* 21, *Supplement 4*, S710–S715.

Gos, T., Steiner, J., Biela, H., Dobrowolny, H., Günther, K., Mawrin, C., Krzyżanowski, M., Hauser, R., Brisch, R., Bernstein, H.-G., Jankowski, Z., Braun, K. und Bogerts, B. (2012). Differences between unipolar and bipolar I depression in the quantitative analysis of glutamic acid decarboxylase-immunoreactive neuropil. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 262, 647–655.

Gutteling, B.M., Montagne, B., Nijs, M. und Van den Bosch, L.M.C. (Wies) (2012). Dialectical behavior therapy: is outpatient group psychotherapy an effective alternative to individual psychotherapy? *Comprehensive Psychiatry* 53, 1161–1168.

Hall, R.C.W. und Zisook, S. (1981). Paradoxical reactions to benzodiazepines. *Br J Clin Pharmacol* 11, 99S–104S.

Hanson, S.M. und Czajkowski, C. (2008). Structural Mechanisms Underlying Benzodiazepine Modulation of the GABAA Receptor. *J. Neurosci.* 28, 3490–3499.

Hanson, S.M. und Czajkowski, C. (2011). Disulphide trapping of the GABAA receptor reveals the importance of the coupling interface in the action of benzodiazepines. *British Journal of Pharmacology* 162, 673–687.

Henny, P. und Jones, B.E. (2006). Vesicular glutamate (VGLut), GABA (VGAT), and acetylcholine (VACht) transporters in basal forebrain axon terminals innervating the lateral hypothalamus. *The Journal of Comparative Neurology* 496, 453–467.

Heydorn, W.E. (2000). Zaleplon - a review of a novel sedative hypnotic used in the treatment of insomnia. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 9, 841–858.

Hoffman, D.L., Dukes, E.M. und Wittchen, H.-U. (2008). Human and economic burden of generalized anxiety disorder. *Depression and Anxiety* 25, 72–90.

Hoffman, E.J. und Mathew, S.J. (2008). Anxiety disorders: a comprehensive review of pharmacotherapies. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine* 75, 248–262.

Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54, 21–30.

Hood, S.D., Norman, A., Hince, D.A., Melichar, J. und Hulse, G.K. (2012). Benzodiazepine dependence and its treatment with low dose flumazenil. *Br J Clin Pharmacol*.

Hörtnagl, H., Tasan, R.O., Wieselthaler, A., Kirchmair, E., Sieghart, W. und Sperk, G. (2013). Patterns of mRNA and protein expression for 12 GABA(A) receptor subunits in the mouse brain. *Neuroscience*.

Hwang, T.-J., Ni, H.-C., Chen, H.-C., Lin, Y.-T. und Liao, S.-C. (2010). Risk predictors for hypnotic-related complex sleep behaviors: a retrospective, cross-sectional pilot study. *J Clin Psychiatry* 71, 1331–1335.

Jansen, M., Rabe, H., Strehle, A., Dieler, S., Debus, F., Dannhardt, G., Akabas, M.H. und Lüddens, H. (2008). Synthesis of GABAA Receptor Agonists and Evaluation of their α -Subunit Selectivity and Orientation in the GABA Binding Site. *J. Med. Chem.* 51, 4430–4448.

Javidi, H. und Yadollahie, M. (2011). Post-traumatic Stress Disorder. *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine* 3, 2–3.

Johnson, P.L., Truitt, W., Fitz, S.D., Minick, P.E., Dietrich, A., Sanghani, S., Träskman-Bendz, L., Goddard, A.W., Brundin, L. und Shekhar, A. (2010). A key role for orexin in panic anxiety. *Nature Medicine* 16, 111–115.

Karolewicz, B., Maciag, D., O'Dwyer, G., Stockmeier, C.A., Feyissa, A.M. und Rajkowska, G. (2010). Reduced level of glutamic acid decarboxylase-67 kDa in the prefrontal cortex in major depression. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 13, 411–420.

Keramidas, A., Kash, T.L. und Harrison, N.L. (2006). The pre-M1 segment of the $\alpha 1$ subunit is a transduction element in the activation of the GABAA receptor. *J Physiol* 575, 11–22.

Khom, S., Strommer, B., Ramharter, J., Schwarz, T., Schwarzer, C., Erker, T., Ecker, G.F., Mulzer, J. und Hering, S. (2010). Valerenic acid derivatives as novel subunit-selective GABAA receptor ligands - in vitro and in vivo characterization. *Br. J. Pharmacol.* 161, 65–78.

Lader, M. (2011). Benzodiazepines revisited—will we ever learn? *Addiction* 106, 2086–2109.

Lalive, A., Rudolph, U., Lüscher, C. und Tan, K. (2011). Is there a way to curb benzodiazepine addiction? *Swiss Med Wkly* 141, w13277.

Lane, R. und Baldwin, D. (1997). Selective serotonin reuptake inhibitor-induced serotonin syndrome: review. *J Clin Psychopharmacol* 17, 208–221.

Leng, G. und Ludwig, M. (2008). Neurotransmitters and peptides: whispered secrets and public announcements. *J Physiol* 586, 5625–5632.

Li, G.-D., Chiara, D.C., Cohen, J.B. und Olsen, R.W. (2009). Neurosteroids Allosterically Modulate Binding of the Anesthetic Etomidate to γ -Aminobutyric Acid Type A Receptors. *J Biol Chem* 284, 11771–11775.

López-Muñoz, F., Ucha-Udabe, R. und Alamo, C. (2005). The history of barbiturates a century after their clinical introduction. *Neuropsychiatr Dis Treat* 1, 329–343.

Lüscher, B.P., Baur, R., Goeldner, M. und Sigel, E. (2012). Influence of GABAA Receptor α Subunit Isoforms on the Benzodiazepine Binding Site. *PLoS One* 7, e42101.

Majewska, M.D., Harrison, N.L., Schwartz, R.D., Barker, J.L. und Paul, S.M. (1986). Steroid hormone metabolites are barbiturate-like modulators of the GABA receptor. *Science* 232, 1004–1007.

Malizia, A. und Cunningham, V. (1998). Decreased brain gabaa-benzodiazepine receptor binding in panic disorder: Preliminary results from a quantitative pet study. *Arch Gen Psychiatry* 55, 715–720.

Marowsky, A., Rudolph, U., Fritschy, J.-M. und Arand, M. (2012). Tonic Inhibition in Principal Cells of the Amygdala: A Central Role for $\alpha 3$ Subunit-Containing GABAA Receptors. *J. Neurosci.* 32, 8611–8619.

Marshall, F.H., Jones, K.A., Kaupmann, K. und Bettler, B. (1999). GABAB receptors – the first 7TM heterodimers. *Trends in Pharmacological Sciences* 20, 396–399.

Meera, P., Olsen, R.W., Otis, T.S. und Wallner, M. (2010). Alcohol- and Alcohol Antagonist-Sensitive Human GABAA Receptors: Tracking Subunit Incorporation into Functional Receptors. *Molecular Pharmacology* 78, 918–924.

Meldrum, B.S. und Rogawski, M.A. (2007). Molecular Targets for Antiepileptic Drug Development. *Neurotherapeutics* 4, 18–61.

Mihic, S.J., Ye, Q., Wick, M.J., Koltchine, V.V., Krasowski, M.D., Finn, S.E., Mascia, M.P., Valenzuela, C.F., Hanson, K.K., Greenblatt, E.P., Harris, R.A. und Harrison, N.L. (1997). Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA(A) and glycine receptors. *Nature* 389, 385–389.

Möhler, H. (2006). GABAA receptors in central nervous system disease: anxiety, epilepsy, and insomnia. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 26, 731–740.

Möhler, H. (2012). The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology* 62, 42–53.

Mokrab, Y., Bavro, V.N., Mizuguchi, K., Todorov, N.P., Martin, I.L., Dunn, S.M.J., Chan, S.L. und Chau, P.-L. (2007). Exploring ligand recognition and ion flow in comparative models of the human GABA type A receptor. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 26, 760–774.

Muroi, Y., Theusch, C.M., Czajkowski, C. und Jackson, M.B. (2009). Distinct Structural Changes in the GABAA Receptor Elicited by Pentobarbital and GABA. *Biophys J* 96, 499–509.

Newell, J.G. und Czajkowski, C. (2003). The GABAA Receptor $\alpha 1$ Subunit Pro174–Asp191 Segment Is Involved in GABA Binding and Channel Gating. *J. Biol. Chem.* 278, 13166–13172.

Nielsen, M., Hansen, E.H. und Gøtzsche, P.C. (2012). What is the difference between dependence and withdrawal reactions? A comparison of benzodiazepines and selective serotonin re-uptake inhibitors. *Addiction* 107, 900–908.

Olsen, R.W. und Li, G.-D. (2011). GABAA receptors as molecular targets of general anesthetics: identification of binding sites provides clues to allosteric modulation. *Can J Anaesth* 58, 206–215.

Olsen, R.W. und Sieghart, W. (2008). International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of γ -Aminobutyric AcidA Receptors: Classification on the Basis of Subunit Composition, Pharmacology, and Function. Update. *Pharmacol Rev* 60, 243–260.

Olsen, R.W. und Sieghart, W. (2009). GABAA receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology* 56, 141–148.

Owens, D.F. und Kriegstein, A.R. (2002). Is there more to gaba than synaptic inhibition? *Nature Reviews Neuroscience* 3, 715–727.

Perlstein, W.M., Carter, C.S., Noll, D.C. und Cohen, J.D. (2001). Relation of Prefrontal Cortex Dysfunction to Working Memory and Symptoms in Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 158, 1105–1113.

Pirker, S., Schwarzer, C., Wieselthaler, A., Sieghart, W. und Sperk, G. (2000). GABAA receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience* 101, 815–850.

- Pressman, M.R. (2011). Sleep driving: Sleepwalking variant or misuse of z-drugs? *Sleep Medicine Reviews* 15, 285–292.
- Rudolph, U. und Antkowiak, B. (2004). Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 709–720.
- Rudolph, U. und Knoflach, F. (2011). Beyond classical benzodiazepines: novel therapeutic potential of GABAA receptor subtypes. *Nature Reviews Drug Discovery* 10, 685–697.
- Sałat, K., Więckowska, A., Więckowski, K., Höfner, G.C., Kamiński, J., Wanner, K.T., Malawska, B., Filipek, B. und Kulig, K. (2012). Synthesis and pharmacological properties of new GABA uptake inhibitors. *Pharmacol Rep* 64, 817–833.
- Sancar, F. und Czajkowski, C. (2011). Allosteric modulators induce distinct movements at the GABA-binding site interface of the GABA-A receptor. *Neuropharmacology* 60, 520–528.
- Sanna, E., Mascia, M.P., Klein, R.L., Whiting, P.J., Biggio, G. und Harris, R.A. (1995). Actions of the general anesthetic propofol on recombinant human GABAA receptors: influence of receptor subunits. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274, 353–360.
- Schöne, C. und Burdakov, D. (2012). Glutamate and GABA as rapid effectors of hypothalamic “peptidergic” neurons. *Front. Behav. Neurosci* 6, 81.
- Sieghart, W., Ramerstorfer, J., Sarto-Jackson, I., Varagic, Z. und Ernst, M. (2012). A novel GABA(A) receptor pharmacology: drugs interacting with the $\alpha(+)$ $\beta(-)$ interface. *Br. J. Pharmacol.* 166, 476–485.
- Sigel, E., Baur, R., Rácz, I., Marazzi, J., Smart, T.G., Zimmer, A. und Gertsch, J. (2011). The major central endocannabinoid directly acts at GABAA receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 18150–18155.
- Sigel, E., Kaur, K.H., Lüscher, B.P. und Baur, R. (2009). Use of concatamers to study GABAA receptor architecture and function: application to δ -subunit-containing receptors and possible pitfalls. *Biochemical Society Transactions* 37, 1338.
- Siriwardena, A.N., Qureshi, M.Z., Dyas, J.V., Middleton, H. und Orner, R. (2008). Magic bullets for insomnia? Patients’ use and experiences of newer (Z drugs) versus older (benzodiazepine) hypnotics for sleep problems in primary care. *British Journal of General Practice* 58, 417–422.
- Smith, A.J. und Tett, S.E. (2010). Improving the use of benzodiazepines-Is it possible? A non-systematic review of interventions tried in the last 20 years. *BMC Health Services Research* 10, 321.
- Smith, M. (2011). Anesthetic agents and status epilepticus. *Epilepsia* 52 Suppl 8, 42–44.
- Stenberg, D. (2007). Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64, 1187–1204.
- Stickgold, R. und Walker, M.P. (2007). Sleep-dependent memory consolidation and reconsolidation. *Sleep Medicine* 8, 331–343.
- Thompson, S.A., Whiting, P.J. und Wafford, K.A. (1996). Barbiturate interactions at the human GABAA receptor: dependence on receptor subunit combination. *Br. J. Pharmacol.* 117, 521–527.

Uusi-Oukari, M. und Korpi, E.R. (2010). Regulation of GABAA Receptor Subunit Expression by Pharmacological Agents. *Pharmacol Rev* 62, 97–135.

Wafford, K.A. und Ebert, B. (2008). Emerging anti-insomnia drugs: tackling sleeplessness and the quality of wake time. *Nature Reviews Drug Discovery* 7, 530–540.

Wagner, D.A. und Czajkowski, C. (2001). Structure and Dynamics of the GABA Binding Pocket: A Narrowing Cleft that Constricts during Activation. *J. Neurosci.* 21, 67–74.

Wikner, B.N. und Källén, B. (2011). Are hypnotic benzodiazepine receptor agonists teratogenic in humans? *J Clin Psychopharmacol* 31, 356–359.

Wilson, S. und Nutt, D. (2007). Management of insomnia: treatments and mechanisms. *BJP* 191, 195–197.

Winsky-Sommerer, R. (2009). Role of GABAA receptors in the physiology and pharmacology of sleep. *European Journal of Neuroscience* 29, 1779–1794.