

Rüdiger Hardeland

Melatonin – Nachthormon, pleiotroper Regulator und protektives Agens

Vortrag in der Klasse für Naturwissenschaften am 14. September 2006

Das Indolamin Melatonin (Abb. 1) wurde zunächst auf Grund seiner hautaufhellenden Wirkung bei Fischen und Amphibien als Hormon des Pinealorgans (Epiphysis cerebri, Zirbeldrüse) entdeckt, einer Ausstülpung des Zwischenhirns [1]. Diese Funktion lässt sich nicht auf alle Wirbeltiere übertragen, nicht einmal auf alle Fische. Eine wesentlich weiter verbreitete Wirkung, die als nächstes aufgeklärt wurde, besteht in der Vermittlung des Signals „Dunkelheit“ [2,3], was dem Melatonin den Beinamen „Troll unter den Hormonen“ einbrachte. Diese Rolle ist nur unter der folgenden Voraussetzung möglich, nämlich dass das Melatonin in der Nacht vermehrt sezerniert wird und am Tage niedrige Spiegel aufweist. Diese Bedingung ist bei den meisten Wirbeltieren erfüllt, und zwar bemerkenswerterweise sowohl bei tag- als auch nachtaktiven Spezies, die in anderen tagesperiodischen Funktionen eine entsprechend unterschiedliche Phasenlage besitzen, wie Körpertemperatur, Exkretionsraten, Enzymaktivitäten, Konzentrationen anderer Hormone, Schlaf-Wach-Verhalten usw. Melatonin vermag folglich bei allen diesen Organismen Informationen über die Dunkelzeit zu vermitteln. Nachts wird die Synthese des Melatonins im Pinealorgan hochreguliert und das Hormon sowohl in die Blutzirkulation [2,3] als auch über seine Verbindung zum Zwischenhirn, den Recessus pinealis, in die cerebrospinale Flüssigkeit des 3. Hirnventrikels entlassen, letzteres sogar in erheblich höherer Konzentration als ins Blut [4,5]. Bildung und Sekretion des Melatonins unterliegen einem circadianen Rhythmus, d.h. einem endogenen, vom Organismus hervorgebrachten Tagesrhythmus, den das Melatonin beim Säuger seinerseits durch eine Rückkopplung auf den circadianen Schrittmacher, den Suprachiasmatischen Nucleus (SCN), zu beeinflussen vermag. Der Rhythmus des Melatonins beinhaltet zweierlei Art von Zeitinformation, zum einen jene über die Phasenlage der Dunkelheit innerhalb des Tageszyklus, zum anderen aber auch

über die saisonal variierende Länge der Nacht, also eine Jahreszeitinformation, die

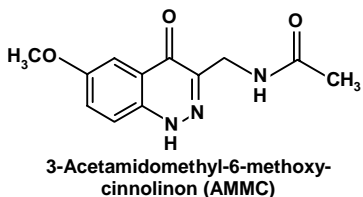
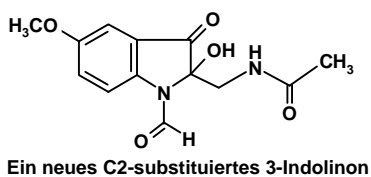
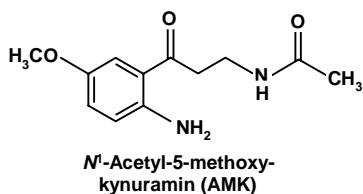
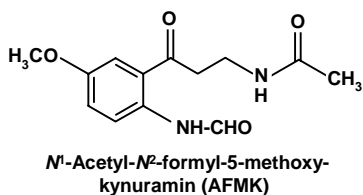
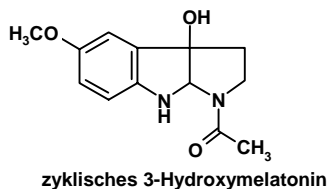
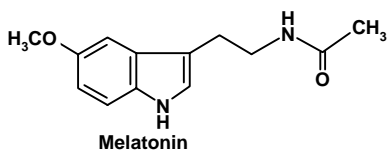


Abb. 1: Melatonin und einige seiner z.T. neuentdeckten Metabolite

von einigen Tieren für das Ansteuern von Reproduktionsfunktionen, Winterschlaf, Fellwechsel usw. genutzt wird [3].

Mit dieser gut etablierten Rolle des Melatonins waren jedoch viele Befunde nicht ohne weiteres vereinbar. Es stellte sich heraus, dass das Melatonin nicht allein im Pinealorgan, sondern auch in diversen anderen Zellen und Geweben synthetisiert wird [6–9]. Im Falle der Retina, ebenfalls eine Ausstülpung des Zwischenhirns, welche auch einen circadianen Rhythmus des Melatonins hervorbringt, konnte man dies noch als eine Variante desselben Themas auffassen. Dies ist jedoch bei weiteren Organen kaum vorstellbar, wie etwa dem Verdauungstrakt, der im Vergleich zum Pinealorgan das Mehrhundertfache an Melatonin enthält [10,11], oder der Harderschen Drüse von Nagern, welche keinen robusten Tagesrhythmus des Melatonins aufweist. Die Synthese von Melatonin in Leukocyten und im Knochenmark ist im Zusammenhang mit immunmodulatorischen Effekten des Hormons von Interesse.

Ebenfalls über die klassischen Funktionen hinaus ging die zuerst in unserem Labor gemachte Entdeckung, dass Melatonin auch außerhalb der Tiere weit verbreitet ist, bei diversen Einzellern, Makroalgen, höheren Pflanzen, Pilzen und Bakterien vorkommt, manchmal in sehr hohen Konzentrationen [12–16]. Während in einigen Fällen das Melatonin stark ausgeprägte Tagesrhythmen zeigte, z.B. bei Dinoflagellaten [12], verhielt es sich bei anderen Organismen wie etwa Hefe arhythmisch [15,16].

Sowohl hinsichtlich extrapinealer Synthesorte des Melatonins bei Wirbeltieren als auch bei vielen Nichtvertebraten mussten demnach dieser Substanz zusätzliche, zuvor unbekannte Funktionen zukommen.

Pleiotropie des Melatonins

Melatonin besitzt beim Wirbeltier eine ungewöhnlich große Zahl von Zielorganen und Zielzellen [6,17]. Abgesehen vom Adrenalin existiert kein anderes Hormon mit ähnlichem Spektrum an Wirkorten. Aufgrund seiner Amphiphilie, der Fähigkeit sich sowohl im wässrigen wie auch im Lipidmilieu zu lösen, vermag es in alle Zellen, Zellkompartimente und Körperflüssigkeiten zu gelangen und auch die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Die Wirkungen des Melatonins beschränken sich nicht auf wenige rezeptorvermittelte Signaltransduktionsmechanismen, sondern umfassen Bindungen an weitere Proteine wie Calmodulin, Calreticulin oder Chinonreductase 2, mitochondriale Wirkungen, direkte chemische Reaktionen sowie Folgeeffekte durch seine Metabolite [8,9,18]. Die Interaktion mit Calmodulin, an welches Melatonin

in einer zentralen Tasche mit hoher Affinität bindet [19], sollte sich bei hohen physiologischen Konzentrationen in vielen Zellen bemerkbar machen, u.a. in der Architektur des Cytoskeletts. Dies wurde in der Tat nicht nur bei tierischen Zellen gefunden, sondern auch bei einzelligen und bei Pflanzenzellen (Zwiebelschuppe, Endospermzellen).

Die klassischen Rezeptoren des Melatonins, MT1 und MT2, sind membranbounden und vom G-Protein-gekoppelten Typus. Diese finden sich in hoher Dichte im SCN [20–22], beeinflussen/resynchronisieren dort den circadianen Schrittmacher, kommen aber auch an diversen anderen Orten im Wirbeltierkörper vor und sind z.B. an immunmodulatorischen Prozessen und der Regulation der cerebralen Vasomotorik beteiligt [9,22]. Die Vielfalt der hier bekannten Effekte kann in diesem Rahmen nicht umfassend dargestellt werden. Zusätzlich existieren nach derzeitigem Stand weitere, im Zellkern lokalisierte Rezeptoren (ROR α 1, ROR α 2, RZR β), die ebenfalls an vielen Orten im Körper vorkommen, aber deren Rolle noch Gegenstand von Debatten ist.

Wegen ihrer potentiellen Bedeutung sei auch die Funktion von Melatonin im Immunsystem angesprochen. Seine Effekte, soweit sie von Zellen innerhalb des Immunsystems ausgehen, dürften sich in hohem Maße mit jenen des zirkulierenden Melatonins aus dem Pinealorgan überlagern, im Darm vielleicht auch mit solchen des lokalen gastrointestinalen Indolamins. Sowohl membranständige als auch nukleare Melatonin-Rezeptoren wurden, oft nebeneinander, u.a. in Lymphocyten und anderen lymphoiden Zellen gefunden, ferner wurden blastogene Reaktionen sowie Antagonisierungen von Glucocorticoid-Effekten, Aktivierungen von T-, B- und NK-Zellen wiederholt beschrieben [6,7,9,22–24]. Abgesehen von Wirkungen auf cAMP und cGMP sowie Potenzierungen von Effekten des vasoaktiven intestinalen Peptids (VIP) scheint eine wichtige Rolle der Freisetzung von Cytokinen und Immunoopoiden zuzukommen. Gleichwohl ist die präzise Rolle von Melatonin im Netzwerk des Immunsystems noch immer schwer zu durchschauen.

Ein weiterer Aspekt der Melatonin-Wirkungen betrifft seine chemischen Reaktionen, ist damit unabhängig von Rezeptoren und anderen Bindungsproteinen. In erster Linie sind hier die Interaktionen mit freien Sauerstoff-, Stickstoff- und organischen Radikalen zu nennen. Unter quantitativen Aspekten sind diese Reaktionen für das Entgiften freier Radikale entweder in Melatonin-produzierenden Zellen, die über entsprechend hohe Spiegel verfügen (Pinealocyten, Harderocyten, aber auch Dinoflagellaten, Hefen) von Bedeutung, bei externer Gabe sonst aber wohl nur in pharmakologischen Konzentrationen. Ein unter dem bloßen stöchiometrischen Aspekt leicht übersehener

Punkt betrifft hingegen die Bildung von radikalisch erzeugten Metaboliten, von denen manche hochinteressante Eigenschaften besitzen und biologisch aktiv sind.

Nicht-enzymatische Metabolite des Melatonins

Die bemerkenswerte Fähigkeit von Melatonin, als effizienter Elektronendonator und Radikalfänger zu fungieren [8,13,17,18,25–28], führt zwangsläufig zur Frage nach den Produkten, die in solchen nicht-enzymatischen Prozessen entstehen. Die wichtigsten von diesen sind charakterisiert, von denen die quantitativ bedeutendsten angesprochen sein sollen (Abb. 1). Bei hohen Bildungsraten von Hydroxylradikalen entsteht zyklisches 3-Hydroxymelatonin. Dieses vermag – ebenso wie Melatonin – in ein weiteres Produkt überzugehen, *N*¹-Acetyl-*N*²-formyl-5-methoxykynuramin (AFMK). Letzteres kann sodann, entweder durch eine Arylaminformamidase oder durch Hämoperoxidase, zu *N*¹-Acetyl-5-methoxykynuramin (AMK) deformyliert werden. Kynuramine, die durch Öffnung des Pyrrolrings aus Indolaminen entstehen, stellen eine eigene, oft vernachlässigte Klasse von biogenen Aminen dar. AFMK und AMK wurden vom Akademie-Mitglied Osamu Hayaishi 1974 entdeckt [29], jedoch wegen mangelnder kommerzieller Verfügbarkeit für lange Zeit wenig bearbeitet. Dies wäre schon von Beginn an sehr wichtig gewesen, denn bereits bei der Entdeckung wurde gezeigt, dass es sich bei AFMK und AMK um Hauptmetabolite des Melatonins im Gehirn handelt.

Zunächst wurde nur eine enzymatische Bildung von AFMK angenommen, doch inzwischen hat sich vor allem durch Arbeiten aus unserem Labor herausgestellt, dass AFMK auf sehr vielen Wegen entsteht, einschließlich pseudoenzymatischer, photokatalytischer und diverser radikalischer Prozesse [8,13,17,18,27,30–32]. Das Bemerkenswerte ist hierbei, dass AFMK unter Bedingungen, die den physiologischen Verhältnissen nahekommen, typischerweise das bei weitem dominierende Oxidationsprodukt darstellt. Auch AFMK, welches ebenso wie Melatonin protektive Wirkungen besitzt, kann radikalisch weiteroxidiert werden [8], doch erst jüngst gelang die Identifikation von Produkten, die sich überraschenderweise als C2-substituierte 3-Indolinone erwiesen [33] (ein Beispiel in Abb. 1).

Das deformylierte Folgeprodukt AMK vermag freie Radikale mit erheblich höherer Effizienz zu fangen als AFMK [8,31,34]. Es reagiert nicht allein mit freien Sauerstoffradikalen, sondern auch sehr leicht mit reaktiven Stickstoffspezies. Bereits die geringen Spuren von •NO und •NO₂ in der Raumluft reichten aus, um auf Kieselgel AMK umzusetzen [35]. Eines der Produkte er-

wies sich als 3-Nitro-AMK, ein weiteres stellte sich als Vertreter der Cinnoline heraus, einer Substanzklasse, von der man zuvor angenommen hatte, sie könne biologisch nicht entstehen. Es handelte sich um 3-Acetamidomethyl-6-methoxycinnolinon (AMMC, Abb. 1), welches sehr rasch unter dem Einfluss von $\bullet\text{NO}$ oder auch NO^+ generiert wird. Beide Verbindungen wurden von uns auch in ihrer Synthese im wässrigen Milieu studiert und dürften biologisch ebenfalls leicht gebildet werden. Cinnolinone sind potentiell pharmakologisch interessant [35]. Für AMMC ist das diesbezügliche Potenzial noch auszuloten. Es handelt sich hierbei übrigens um ein relativ stabiles Molekül, welches anders als übliche Nitrosierungsprodukte nicht ohne weiteres wieder reaktive Stickstoffe freisetzt.

AMK fängt nicht nur sehr leicht $\bullet\text{NO}$, sondern beeinflusst auch dessen Bildung. Die neuronale NO-Synthase wurde durch AMK bereits in einer Konzentration von 10^{-11} M nachweisbar gehemmt [36]. Darüber hinaus besitzt AMK interessante entzündungshemmende Eigenschaften. Es inhibiert Cyclooxygenasen und damit die Bildung von Prostaglandinen als Entzündungsmediatoren mit weitaus höherer Effizienz als Aspirin [37]. Ferner wird die Expression der Cyclooxygenase 2 bei Makrophagen durch AMK herunterreguliert [38]. Melatonin mag in diesem Sinne sogar als „prodrug“ angesehen werden [18], wobei die pharmakologische Nutzbarkeit von AMK eine interessante zukünftige Perspektive darstellt.

Antioxidative Protektion und gerontologische Herausforderungen

Der Melatoninrhythmus mit einem bei jungen Menschen eindrucksvollen nächtlichen Maximum kann sich mit fortschreitendem Alter erheblich abschwächen [39,40]. Hier existieren zwar große interindividuelle Unterschiede, vielleicht Ausdruck des biologischen Alters, doch ist die Tendenz zur Reduktion der Schwingungsamplitude vielfach dokumentiert worden. Möglicherweise noch bedeutender ist die Beobachtung, dass das nächtliche Melatonin auch bei einer Reihe von altersassoziierten Erkrankungen abnimmt. Dies wurde im Vergleich zu Personen derselben Altersgruppe bei Diabetes Typ II, Coronarerkrankungen, aber noch stärker bei neurodegenerativen Krankheiten, vor allem Alzheimer deutlich [39–41].

Auf diesem Hintergrund sind die immunmodulatorischen, antiinflammatorischen und die antioxidativen Wirkungen von Melatonins bzw. seinen Produkten von besonderem Interesse, gerade mit Blick auf gerontologische Prozesse und Neuroprotektion. Oxidative Schäden nehmen mit fortschreitendem Alter zu und sind mindestens Begleiterscheinung vieler degenerativer,

insbesondere neurodegenerativer Vorgänge [40,41]. Antioxidative Protektion durch Melatonin oder seine Metabolite ist natürlich weitaus mehr als nur direktes Radikalfangen. Vielfach wurde das Heraufregulieren antioxidativer Enzyme wie Glutathionperoxidase, Superoxiddismutasen und manchmal auch Catalase beschrieben; einige prooxidative Enzyme wie NO-Synthasen und Lipoxygenasen werden hingegen herunterreguliert [8,28,41].

Auch wenn diese Effekte den Erklärungsspielraum für antioxidative Protektion durch Melatonin beträchtlich erweitern, so scheint uns dennoch in der Vergangenheit ein wichtiger Aspekt lange übersehen worden zu sein. Aus unserer Sicht geht es nicht allein um das Eliminieren bereits gebildeter freier Radikale, was die gängige Vorstellung von der Funktion eines Antioxidans ist. Unser neues Paradigma ist eines der Radikalvermeidung [42]. Es geht also darum, bereits die Bildung von Radikalen zu vermindern. Melatonin ist hier in mehrfacher Hinsicht wirksam. Als Regulator circadianer Rhythmen beeinflusst es die zeitliche Koordination oszillierender Körperfunktionen untereinander und mit der Außenwelt. Wir haben zeigen können, dass Störungen des circadianen Oszillatorsystems, z.B. auf Grund von Mutationen, zu erhöhten oxidativen Schäden führen [42]. Ferner wirkt Melatonin Übererregungen von Neuronen entgegen, hierdurch auch der exzitatorisch/exzitotoxisch bedingten Radikalbildung [42]. Ein dritter, aktueller Bereich, der besonderes Interesse auf sich zieht, ist jener der mitochondrialen Wirkungen von Melatonin und auch AMK [8,18,40–42].

Mitochondrien sind bei tierischen Zellen eine der Hauptquellen freier Radikale, die hier primär durch „*electron leakage*“ aus der Atmungskette entstehen und zum Superoxidanion, O_2^- , führen sowie Folgeradikalen. Sodann ist die Schlüsselrolle der Mitochondrien in der Apoptose-Induktion von Interesse. Und schließlich sei auf das zunehmende Bewusstsein der Bedeutung von Erkrankungen verwiesen, die mit mitochondrialen Dysfunktionen zusammenhängen.

Die Erniedrigung mitochondrialer Aktivität unter dem Einfluss von Oxidotoxinen wurde durch Melatonin in mehreren Studien verhindert [Zusf. in 8,18,40–42]. Die mögliche Bedeutung solcher Befunde mag ferner daran deutlich werden, dass Erhöhungen des mitochondrialen Elektronenflusses durch Melatonin auch ohne Verabreichung von Oxidotoxinen bei seneszenz-akzelerierten Mäusen gefunden wurden [43–45]. Solche Effekte wurden schon mit geringen Melatonin-Dosen, bei Verabreichung im Trinkwasser [44,45] oder *in vitro* bei 10^{-9} M [46] gefunden.

Besondere Beachtung sollten hier Konstellationen verdienen, die unter Gesichtspunkten von Pathophysiologie oder Altern das Überleben von Zellen bedrohen, wenn das mitochondriale Membranpotential als Konsequenz von Übererregung, Calcium-Überladung – eventuell auch in Folge von Proteinfehlfaltung – zusammenbricht und damit durch Öffnung der mitochondrialen Permeabilitätstransitions-pore (mtPTP) die Apoptose initiiert. In der Tat vermochte Melatonin in so verschiedenen Zellen wie Cardiomyocyten, Astrocyten und striatalen Neuronen Calcium-Überladung [47,48] und Zusammenbrechen des mitochondrialen Membranpotentials nach Gabe von H_2O_2 [47], Doxorubicin [49] oder in Folge von Sauerstoff/Glucose-Deprivation [48] zu verhindern, und außerdem die Öffnung der mtPTP zu hemmen [47,48]. Zusätzlich zu seinen antioxidativen Effekten hemmte Melatonin direkt die mtPTP-Ströme [48], was mindestens von pharmakologischem Interesse wäre.

Unsere Arbeitshypothese zur Erklärung der mitochondrialen Wirkung von Melatonin und AMK geht davon aus, dass diese Substanzen als gute Elektronendonatoren an die Atmungskette Elektronen abgeben (Reduktion von Cytochrom c durch Melatonin wurde bereits gezeigt) und dann als resonanzstabilisierte Kationradikale lange genug existieren, um mit molekularem Sauerstoff um Elektronen zu konkurrieren, die an den „leakage“-Orten übertragen werden können [8,42]. Mehr Elektronen blieben in der Atmungskette verfügbar, weniger freie Sauerstoffradikale würden gebildet.

Literatur

1. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958; 80: 2057–2058.
2. Reiter RJ. Melatonin: The chemical expression of darkness. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 79: C153–C159.
3. Reiter RJ. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia* 1993, 49: 654–664.
4. Tricoire H, Locatelli A, Chemineau P, Malpoux B. Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess. *Endocrinology* 2002; 143: 84–90.
5. Tricoire H, Møller M, Chemineau P, Malpoux B. Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. *Reprod Suppl* 2003; 61: 311–321
6. Hardeland R. The pleiotropy of melatonin. In: Hardeland R, ed, *Metabolism and Cellular Dynamics of Indoles*. University of Göttingen, Göttingen 1996, pp 23–46.

7. Hardeland R. Melatonin: Multiple functions in signaling and protection. In: Altmeyer P, Hoffmann K, Stücker M, eds, *Skin Cancer and UV Radiation*. Springer, Berlin – Heidelberg 1997, pp. 186–198.
8. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin – Multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine* 2005; 27: 119–130.
9. Hardeland R, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP. Molecules in focus – Melatonin. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 313–316.
10. Bubenik GA. Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal melatonin. *Biol Signals Recept* 2001; 10: 350–366.
11. Bubenik GA. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2336–2348.
12. Poeggeler B, Balzer I, Hardeland R, Lerchl A. Pineal hormone melatonin oscillates also in the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*. *Naturwissenschaften* 1991; 78: 268–269.
13. Hardeland R, Fuhrberg B. Ubiquitous melatonin – Presence and effects in unicells, plants and animals. *Trends Comp Biochem Physiol* 1996, 2: 25–45.
14. Hardeland R. Melatonin and 5-methoxytryptamine in non-metazoans. *Reprod Nutr Dev* 1999; 39: 399–408.
15. Hardeland R, Poeggeler B. Non-vertebrate melatonin. *J Pineal Res* 2003; 34: 233–241.
16. Sprenger J, Hardeland R, Fuhrberg B, Han S-Z. Melatonin and other 5-methoxylated indoles in yeast: Presence in high concentrations and dependence on tryptophan availability. *Cytologia* 1999; 64: 209–213.
17. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D-X. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993; 17: 347–357.
18. Hardeland R, Pandi-Perumal SR. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr Metab (Lond)* 2005; 2: article no. 22 [DOI 10.1186/1743-7075-2-22].
19. Antón-Tay F, Martínez I, Tovar R, Benitez-King G. Modulation of the subcellular distribution of calmodulin by melatonin in MDCK cells. *J Pineal Res* 1998; 24: 35–42.
20. Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 1994; 13: 1177–1185.
21. Jin X, von Gall C, Pieschl RL, Gribkoff VK, Stehle JH, Reppert SM, Weaver DR. Targeted disruption of the mouse Mel_{1b} melatonin receptor, *Mol Cell Biol* 2003; 23: 1054–1060.
22. Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine* 2005; 27: 101–110.
23. Guerrero JM, Reiter RJ. Melatonin-immune system relationships. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 167–179.

24. Pozo D, Garcia-Maurino S, Guerrero JM, Calvo JR. Related mRNA expression of nuclear receptor RZR/RORalpha, melatonin membrane receptor MT, and hydroxindole-O-methyltransferase in different populations of human immune cells. *J Pineal Res* 2004; 37: 48–54.
25. Tan, D-X, Chen L-D, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57–60.
26. Poeggeler B, Reiter RJ, Hardeland R, Tan D-X, Barlow-Walden LR. Melatonin and structurally-related, endogenous indoles act as potent electron donors and radical scavengers *in vitro*. *Redox Rep* 1996; 2: 179–184.
27. Poeggeler B, Thuermann S, Dose A, Schoenke M, Burkhardt S, Hardeland R. Melatonin's unique radical scavenging properties — Roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *J Pineal Res* 2002; 33: 20–30.
28. Tan D-X, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 181–197.
29. Hirata F, Hayaishi O, Tokuyama T, Senoh S. *In vitro* and *in vivo* formation of two new metabolites of melatonin. *J Biol Chem* 1974; 249: 1311–1313.
30. Hardeland R, Balzer I, Poeggeler B, Fuhrberg B, Urfia H, Behrmann G, Wolf R, Meyer TJ, Reiter RJ. On the primary functions of melatonin in evolution: Mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation and scavenging of free radicals. *J Pineal Res* 1995, 18: 104–111.
31. Hardeland R, Ressemeyer A-R, Zelosko V, Burkhardt S, Poeggeler B. Metabolites of melatonin: Formation and properties of the methoxylated kynuramines AFMK and AMK. In: Haldar C, Singh SS, eds, *Recent Advances in Endocrinology and Reproduction: Evolutionary, Biotechnological and Clinical Applications*. Banaras Hindu University, Varanasi 2004, pp 21–38.
32. Hardeland R. Melatonin, eine ubiquitäre Substanz. Vorkommen, Wirkungen und Metabolismus außerhalb seiner klassischen Rolle. *Abh Sächs Akad Wiss, Math-Nat Kl, Bd. 63, Heft 2 „Endokrinologie II“*, Peschke E, ed. Verl Sächs Akad Wiss/Hirzel, Stuttgart – Leipzig 2005, pp 75–106.
33. Rosen J, Than NN, Koch D, Poeggeler B, Laatsch H, Hardeland R. Interactions of melatonin and its metabolites with the ABTS cation radical: extension of the radical scavenger cascade and formation of a novel class of oxidation products, C2-substituted 3-indolinones. *J Pineal Res* 2004; online advance publ. [DOI 10.1111/j.1600-079X.2006.00379.x].
34. Ressemeyer A-R, Mayo JC, Zelosko V, Sáinz RM, Tan D-X, Poeggeler B, Antolín I, Zsizsik BK, Reiter RJ, Hardeland R. Antioxidant properties of the melatonin metabolite *N*¹-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK): scavenging of free radicals and prevention of protein destruction. *Redox Rep* 2003; 8: 205–213.

35. Guenther AL, Schmidt SI, Laatsch H, Fotso S, Ness H, Ressmeyer A-R, Poeggeler B, Hardeland R. Reactions of the melatonin metabolite AMK (N^1 -acetyl-5-methoxykynuramine) with reactive nitrogen species: Formation of novel compounds, 3-acetamidomethyl-6-methoxycinnolinone and 3-nitro-AMK. *J Pineal Res* 2005; 39: 251–260.
36. León J, Escames G, Rodríguez MI, López LC, Tapias V, Entrena A, Camacho E, Carrión MD, Gallo MA, Espinosa A, Tan D-X, Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N^1 -acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin. *J. Neurochem.* 2006; 98: 2023–2033.
37. Kelly RW, Amato F, Seamark RF. N-Acetyl-5-methoxy kynurenamine, a brain metabolite of melatonin, is a potent inhibitor of prostaglandin biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 121: 372–379.
38. Mayo JC, Sainz RM, Tan D-X, Hardeland R, Leon J, Rodriguez C, Reiter RJ. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol* 2005; 165: 139–149.
39. Karasek M. Melatonin, human aging, and age-related diseases. *Exp Gerontol* 2004; 39: 1723–1729.
40. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Behav Brain Funct* (2006) 2, article no. 15 [DOI: 10.1186/1744-9081-2-15].
41. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJM, Esquifino AI, Hardeland R, Cardinali DP. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. *Neurotox Res* 2005; 7: 293–318.
42. Hardeland R, Coto-Montes A, Poeggeler B. Circadian rhythms, oxidative stress and antioxidative defense mechanisms. *Chronobiol Int* 2003; 20: 921–962.
43. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ. Melatonin protects hepatic mitochondrial respiratory chain activity in senescence-accelerated mice. *J Pineal Res* 2002; 32: 143–148.
44. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, Miyahara Y. Hepatic mitochondrial dysfunction in senescence-accelerated mice: correction by long-term, orally administered physiological levels of melatonin. *J Pineal Res* 2002; 33: 127–133.
45. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, Miyahara Y. Acutely administered melatonin restores hepatic mitochondrial physiology in old mice. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 367–375.
46. Martín M, Macías M, León J, Escames G, Khaldy H, Acuña-Castroviejo D. Melatonin increases the activity of the oxidative phosphorylation enzymes and the production of ATP in rat brain and liver mitochondria. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 348–357.

47. Jou M-J, Peng T-I, Reiter RJ, Jou S-B, Wu H-Y, Wen S-T. Visualization of the antioxidative effects of melatonin at the mitochondrial level during oxidative stress-induced apoptosis of rat brain astrocytes. *J Pineal Res* 2004; 37: 55–70.
48. Andrabi SA, Sayeed I, Siemen D, Wolf G, Horn TF. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. *FASEB J* 2004; 18: 869–871.
49. Xu M, Ashraf M. Melatonin protection against lethal myocyte injury induced by doxorubicin as reflected by effects on mitochondrial membrane potential. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 75–79.

Anmerkung: Ein ausführlicherer Beitrag zu dieser Thematik wird unter dem Titel „Pleiotropie und Metabolismus des Nachthormons Melatonin“ in einem chronobiologischen Band der „Abhandlungen der Leibniz-Sozietät“ erscheinen.