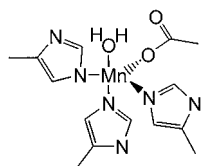


Das pharmazeutische Potential manganhaltiger Superoxid-Dismutase-Mimetika

Roland Krämer*

Ein beträchtlicher Teil des Sauerstoffs, der im menschlichen Körper umgesetzt wird, wird durch Einelektronenreduktion in das hochreaktive Superoxid-Radikalanion $O_2^{\cdot-}$ umgewandelt. Quellen der Superoxidproduktion im menschlichen Organismus sind z.B. Lecks im Cytochrom-c-Oxidase-vermittelten Elektronentransfer bei der Umwandlung von O_2 in H_2O in den Mitochondrien, verschiedene autoxidative Reaktionen (z.B. von Glutathion in den roten Blutkörperchen), aber auch die kontrollierte Produktion von $O_2^{\cdot-}$ durch membrangebundene NAD(P)H-Oxidase in den Phagozyten, welche die Immunabwehr gegen Bakterien- und Pilzinfektionen unterstützen.

Die endogene Überproduktion von $O_2^{\cdot-}$ (und eine Reihe anderer Oxidationsmittel, die daraus entstehen) in Verbindung mit einer verminderten Fähigkeit, Radikale zu eliminieren (=oxidativer Stress), kann beträchtlichen Schaden an biologischen Systemen verursachen.^[1] Besonders die protonierte Form von HO_2 ($pK_s=4.8$) ist ein wirkungsvoller Initiator der selektiven Autoxidation von Membranlipiden an den Allylpositionen ungesättigter Fettsäuren und ein hochaktives Reagens für die Abstraktion eines Ribose-H-Atoms in der DNA, die stark mutagene DNA-Schäden verursacht.



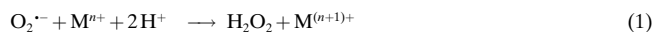
Schema 1. Koordinationssphäre des Mn^{II} in der Mangan-Superoxid-Dismutase aus menschlichen Mitochondrien.^[7]

Die Gegenwart von Superoxid in biologischen Systemen wurde erstmals 1969 mit der Entdeckung einer Superoxid-Dismutase (SOD) durch McCord und Fridovich^[2] nachgewiesen. In gesunden Lebewesen wird die Anreicherung von Radikalen durch solche Enzyme unterdrückt, die im aktiven Zentrum entweder ein Mangan-Ion (Mn-SOD, Schema 1, in Mitochondrien) oder ein zweikerniges Cu/Zn-Zentrum haben (Cu/Zn-SOD, im Cytosol und interzellulären Raum).

Die Geschwindigkeitskonstante 2. Ordnung für die spontane Disproportionierung von $O_2^{\cdot-}$ zu O_2 und H_2O_2 ist $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ bei $21^\circ C$ und einem pH-Wert von 7.4. Dies

entspricht einer Halbwertszeit von etwa 0.2 s bei einer anfänglichen $O_2^{\cdot-}$ -Konzentration von $10^{-5} M$ ($t_{1/2}$ ist umgekehrt proportional zu $[O_2^{\cdot-}]$) und ist ausreichend, um ernsthafte Schäden an Zellkomponenten hervorzurufen. SODs beschleunigen den $O_2^{\cdot-}$ -Zerfall in drastischer Weise mit katalytischen Geschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung von bis zu $2 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$ für die Cu/Zn-SOD (diffusionskontrollierte Reaktion).

Die reduzierte Form des Metalls (Mn^{II} oder Cu^I) überführt Superoxid durch Einelektronenreduktion in H_2O_2 [Gl. (1)], woraufhin ein zweites Äquivalent $O_2^{\cdot-}$ durch Mn^{III} bzw. Cu^{II} zu O_2 oxidiert wird [Gl. (2)]. Das weniger aggressive H_2O_2 wird durch andere Enzyme wie die Katalase abgebaut.



Nettoreaktion:



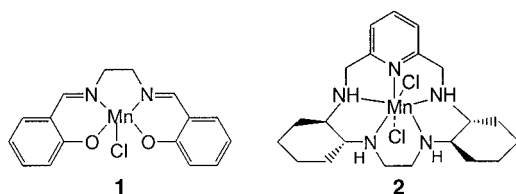
Superoxid-vermittelte Oxidationen werden gegenwärtig für die Pathogenese einer Reihe von wichtigen degenerativen Erkrankungen verantwortlich gemacht.

Der typische Verlauf eines Herzinfarktes oder Hirnschlags beginnt mit einer vorübergehenden Ischämie von Geweberegionen, der das Wiedereinströmen sauerstoffreichen Blutes folgt. Da die betroffenen Zellen während der Sauerstoff-Unterversorgung fortwährend Reduktionsäquivalente aufbauen, werden beim Wiedereinströmen des Blutes beträchtliche Mengen Superoxid produziert, das wesentlich für Zelltod und Gewebsschädigungen verantwortlich ist. Im Rahmen von Autoimmunkrankheiten können die Oxidantien, die von aktivierten Neutrophilen bei Entzündungen produziert werden, den Organismus massiv schädigen; ein Beispiel sind Gelenkschäden bei Arthrose. Schwere neurologische Funktionsstörungen wie die amyotrophe Lateralsklerose (ALS), die Parkinsonsche und die Alzheimersche Krankheit stehen möglicherweise mit der Zerstörung von Nervenzellen durch Superoxid in Zusammenhang. Es gibt Hinweise darauf, dass bestimmte Formen von Krebs durch Onkogen-Mutation infolge oxidativer Zerstörung der DNA hervorgerufen werden.

[*] Prof. Dr. R. Krämer
Anorganisch-Chemisches Institut
Im Neuenheimer Feld 270, 69120 Heidelberg (Deutschland)
Fax: (+49) 6221-548599
E-mail: roland.kraemer@urz.uni-heidelberg.de

Bei der Behandlung von Tieren mit SODs können für einige der oben erwähnten Erkrankungen deutliche Besserungen erzielt werden. Cu/Zn-SOD-Präparate (Handelsnamen: Palosein, Orotein) werden gegen entzündliche Erkrankungen von Hunden und Pferden eingesetzt. Trotz der ermutigenden Ergebnisse im Tierversuch werden SODs nach Komplikationen in ersten klinischen Studien (allergische Reaktionen) bisher nicht zur Behandlung des Menschen eingesetzt.

Präparate mit geringem Molekulargewicht könnten gegenüber SODs möglicherweise signifikante Vorteile haben wie das Ausbleiben von Immunreaktionen, eine längere Halbwertszeit im Blut, die effizientere Aufnahme in Zellen und den Zellzwischenraum, orale Verabreichbarkeit und geringe Herstellungskosten. Das Verhalten von SOD-Mimetika in Biosystemen wird seit etwa zwei Jahrzehnten untersucht,^[3–5] eine Verbindung, die das Potential zum Medikament hat, muss jedoch eine Reihe von Voraussetzungen erfüllen: hohe kinetische und metabolische Stabilität, SOD-ähnliche Aktivität und Spezifität unter physiologischen Bedingungen, geringe Toxizität und geeignete Biodistribution. Unter diesem Aspekt zählen die Mangankomplexe **1** und insbesondere **2**



(von der Arbeitsgruppe um D. Salvemini und P. Riley bei MetaPhore Pharmaceuticals^[6]) zu den vielversprechendsten Vertretern. **2** wurde mit Hilfe von Molecular-Modeling-Studien entwickelt. Diese Studien haben für **2** besonders vorteilhafte Eigenschaften, innerhalb der sich vom 1, 4, 7, 10, 13-Pentaazacyclopentadecan-Gerüst ableitenden Gruppe von Koordinationsverbindungen, prognostiziert.

Der Komplex ist thermodynamisch stabil, die Konstante für seine Bildung aus dem Makrocyclus und Mn^{II} -Ionen ist >17 ($\lg K$). Nach intravenöser Injektion in Ratten wird er in Herz, Lunge, Gehirn, Leber und Nieren aufgenommen und unzerstört ausgeschieden. Die Geschwindigkeitskonstante 2. Ordnung für die katalytische Superoxid-Zersetzung beträgt $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bei pH 6 und 21°C und ist vergleichbar mit der der Mangan-SOD. Es handelt sich hier um ein seltenes Beispiel für ein niedermolekulares Enzymmodell, das strukturelle Analogien zum aktiven Zentrum des Enzyms ($\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Mn}^{\text{III}}$ -Zyklus, N-Donoren) aufweist und gleichzeitig Katalysege-

schwindigkeiten unter physiologischen Bedingungen erreicht, die denen des Enzyms entsprechen. **2** zeigt eine hohe Selektivität für Superoxid und reagiert nicht mit NO und H_2O_2 .

Der entzündungshemmende Effekt von **2** wurde an Ratten untersucht, bei denen eine Schwellung der Pfote durch lokale Injektion von Carrageenan (einem Polysaccharid) ausgelöst wurde.^[6] Das Anschwellen der Pfote infolge der Immunreaktion und die Infiltration neutrophiler Blutzellen konnte fast vollständig verhindert werden, wenn 30 min vor der Carrageenan-Injektion 10 mg kg^{-1} des Komplexes **2** verabreicht wurden.

In einer zweiten Versuchsreihe an Ratten wurden spezielle Arterien abgeklemmt, um eine längere Ischämie des Intestinalgewebes hervorzurufen. Der anschließende Wiedereinfluss des Blutes löst die Einwanderung von neutrophilen Blutkörperchen in das Intestinalgewebe aus, verursacht einen Anstieg der Konzentration von Lipid-Peroxidationsprodukten und Cytokinen im Blutplasma und führt zu stark erniedrigtem Blutdruck und schließlich zum Kreislaufkollaps. Das Resultat ist eine hohe Mortalität innerhalb der ersten beiden Stunden. Alle diese Symptome werden erheblich reduziert, wenn 15 min vor dem Wiedereinstrom des Blutes der Komplex **2** injiziert wird (1 mg kg^{-1} Ratte), die Überlebensrate nach 4 h beträgt dann 90%. Das Superoxid-Radikalanion scheint also an der Entwicklung der oben geschilderten Symptomatik beteiligt zu sein.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das SOD-Mimetikum **2**, das etwa 60-mal kleiner ist als das natürliche Enzym, stark entzündungshemmende und zellprotektive Effekte bei Ratten zeigt. Mit **2** steht ein wichtiges pharmakologisches Werkzeug zur Verfügung, mit dem die Rolle des Superoxids bei physiologischen Prozessen untersucht werden kann. Das Potential von SOD-Mimetika wie **2** für die Behandlung einer Reihe von entzündlichen und kardiovaskulären Erkrankungen muss in klinischen Studien erforscht und mit dem etablierter Antioxidantien verglichen werden.

- [1] A. Petkau, *Cancer Treat. Rev.* **1986**, *13*, 17–44.
- [2] J. M. McCord, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6049–6055.
- [3] D. P. Riley, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2573–2587.
- [4] D. P. Riley, *Adv. Supramol. Chem.* **2000**, *6*, 217–244.
- [5] K. M. Faulkner, I. Fridovich, *Antiox. Health Dis.* **1997**, *4*, 375–407.
- [6] D. Salvemini, Z.-Q. Wang, J. L. Zweier, A. Samouilov, H. Macarthur, T. P. Misko, M. G. Currie, S. Cuzzocrea, J. A. Sikorski, D. P. Riley, *Science* **1999**, *286*, 304–306.
- [7] G. E. Borgstahl, H. E. Parge, M. J. Hickey, W. F. Beyer, Jr., R. A. Halliwell, J. A. Trainer, *Cell* **1992**, *71*, 107–118.