

# NO-Dismutase-Aktivität siebenfach koordinierter Mangan(II)-Komplexe von Pentaazamakrocyclen\*\*

Miloš R. Filipović, Katharina Duerr, Miloš Mojović, Vladica Simeunović, Robert Zimmermann, Vesna Niketić\* und Ivana Ivanović-Burmazović\*

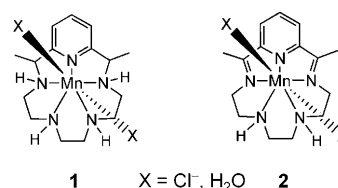
Siebenfach koordinierte  $\text{Mn}^{\text{II}}$ -Komplexe von Pentaazamakrocyclen sind die stärksten synthetischen Mimetika der natürlichen Superoxiddismutase (SOD). Sie katalysieren die Dismutierung von Hyperoxid ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) zu  $\text{O}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  mit einer Effizienz, die die der mitochondrialen MnSOD übertreffen kann.<sup>[1]</sup> Mehrere Studien belegten die Fähigkeit dieser SOD-Mimetika, Zellen und Gewebe vor oxidativer Schädigung durch Hyperoxid (und/oder Peroxynitrit, das Produkt aus der Reaktion von Hyperoxid mit Stickstoffmonoxid) zu schützen, z. B. bei Entzündungsprozessen und Reperfusionsschäden.<sup>[2a-c]</sup> Diese Verbindungsklasse befindet sich in den USA in klinischen Studien der Phase II.<sup>[2d]</sup> Es wurde betont, dass der hauptsächlichste Vorteil der  $\text{Mn}^{\text{II}}$ -Pentaazamakrocyclen gegenüber anderen SOD-Mimetika in der hohen Selektivität für  $\text{O}_2^{\cdot-}$  und der fehlenden Reaktivität mit NO besteht.<sup>[1,2d-g]</sup> NO ist ein Schlüsselmolekül in biologischen Prozessen.<sup>[3]</sup> Jedoch gibt es bis jetzt noch keine direkten Studien über die Reaktion von NO mit dieser Komplexklasse zur Untermauerung der obigen Aussage.

Viele Metallkomplexe, darunter auch Manganverbindungen,<sup>[4a-d]</sup> reagieren bereitwillig mit NO, entweder zu Metallnitrosylen oder durch NO-Disproportionierung zu  $\text{N}_2\text{O}$  und Metall-Nitrit-Komplexen.<sup>[4a,b]</sup> In Metallnitrosylen kann

koordiniertes NO in einem seiner drei formalen Redoxzustände  $\text{NO}^+$ , NO und  $\text{NO}^-$  [4a,c,d] existieren. Einige der  $\text{NO}^+$ - und  $\text{NO}^-$ -Komplexe sind für ihre Reaktionen mit bestimmten Nucleophilen bzw. Elektrophilen bekannt.<sup>[4d]</sup> Wir zeigten kürzlich, dass natürliche MnSOD-Enzyme mit NO nach einem definierten katalytischen NO-Disproportionierungsmechanismus (Dismutierung) reagieren, der zu beiden reaktiven Spezies  $\text{NO}^+$  und  $\text{NO}^-$  führt.<sup>[5-7]</sup>

All dies führte uns dazu, die Reaktion dieser Komplexe mit NO erneut zu untersuchen. Unsere Studie hatte zum Ziel, erstens die Reaktivität der Komplexe gegenüber NO zu ergründen, zweitens die mechanistischen Details der Reaktion aufzuklären und drittens die Bedeutung der Komplexreaktion mit NO in biologischer Umgebung zu demonstrieren.

In der vorliegenden Studie verwendeten wir  $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{pyane})\text{Cl}_2]$  (**1**)<sup>[8]</sup> als allgemeinen Vertreter dieser Klasse von SOD-Mimetika<sup>[9]</sup> sowie sein SOD-inaktives Imin-Analogon



$[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{pydiene})\text{Cl}_2]$  (**2**), um klären zu können, ob der Unterschied an Reaktivität gegenüber  $\text{O}_2^{\cdot-}$  Auswirkungen auf Reaktion mit NO hat. Wir präsentieren hier Belege, dass  $\text{Mn}^{\text{II}}$ -Pentaazamakrocyclen mit NO reagieren und die NO-Dismutierung anregen.<sup>[7]</sup> Wir schlagen einen Mechanismus vor, der mit den Beobachtungen in Einklang ist. Des Weiteren wird die Beeinflussung der NO-Reaktionen durch die  $\text{Mn}^{\text{II}}$ -Pentaazamakrocyclen in biologischen Ex-vivo-Modellen gezeigt.

Zuerst untersuchten wir die Reaktion von **1** und **2** mit einem großen NO-Überschuss, wobei der NO-Verbrauch durch die untersuchten Komplexe in anaeroben wässrigen Lösungen gemessen wurde.<sup>[10]</sup> Da die Mangan-Nitrosyl-Komplexe lichtempfindlich sein könnten,<sup>[11a]</sup> wurden alle Experimente unter Lichtausschluss durchgeführt. Die Zugabe einer mit Ar gespülten Lösung von **1** oder **2** zu einer anaeroben wässrigen NO-Lösung führte zum raschen Verschwinden des NO (Abbildung 1 sowie SI1 in den Hintergrundinformationen). Der Effekt war in Gegenwart von reduziertem Glutathion (GSH) (Abbildung 1 und SI1) deutlich größer: In Gegenwart von GSH wurde die mehr als zehnfache Menge an NO im Vergleich zur Menge an **1** oder **2** ver-

[\*] Dipl.-Chem. K. Duerr, Prof. Dr. I. Ivanović-Burmazović

Department Chemie und Pharmazie  
Universität Erlangen-Nürnberg  
Egerlandstraße 1, 91058 Erlangen (Deutschland)  
Fax: (+49) 9131-85-27387  
E-Mail: ivana.ivanovic@chemie.uni-erlangen.de

Dr. M. R. Filipović, Prof. Dr. V. Niketić  
Department Chemie, Universität Belgrad (Serbien)

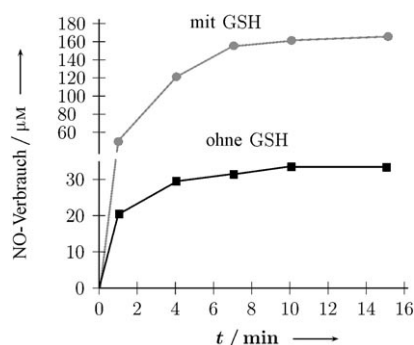
Dr. M. R. Filipović  
ICTM-Center für Chemie, Universität Belgrad (Serbien)

Dr. M. Mojović  
Department für Physikalische Chemie  
Universität Belgrad (Serbien)

V. Simeunović, PD Dr. R. Zimmermann  
Transfusionsmedizinische und Hämostaseologische Abteilung  
in der Chirurgischen Klinik, Universitätsklinikum Erlangen  
(Deutschland)

[\*\*] Die Autoren danken für die finanzielle Unterstützung aus dem Serbischen Forschungsfonds (Förderung 142017G) und der DFG im Rahmen des SFB 583 sowie für ein Promotionsstipendium der serbischen Regierung (M.F.). Dank gilt außerdem Alisa Gruden-Movsesijan und Žanka Bojić-Trbojević (INEP, Belgrad) für ihre Hilfe bei den Zellkulturen sowie Milka Jadranin und Ljubodrag Vujisić (Zentrum für Chemie, ICTM, Belgrad) für die Aufnahme von MS- bzw. ATR-FTIR-Spektren.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200801325> zu finden.



**Abbildung 1.** Anaerober NO-Abbau (250 µM), angeregt durch **1** bei pH 7.4 und 23 °C ohne und mit GSH (250 µM), gemessen mit NO-Elektrode.

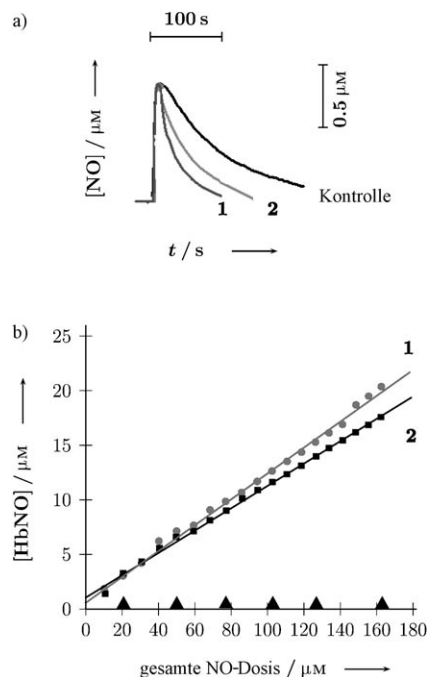
braucht, was auf einen Katalysezyklus hinweist. In einer Kontrollreaktion von GSH mit NO (ohne Komplexe) wurde kein NO-Verbrauch beobachtet, was eine Reaktion des GSH mit NO<sup>[12]</sup> als Grund für den NO-Verbrauch ausschließt. Wir überprüften, ob **1** oder **2** die NO-Dismutierung anregen,<sup>[5,6]</sup> indem wir in der Reaktionslösung den Gehalt an S-Nitrosoglutathion (GSNO) und Hydroxylamin, den Reaktionsprodukten von GSH mit NO<sup>+</sup>- bzw. HNO/NO<sup>-</sup>-Spezies, bestimmten<sup>[13,14]</sup> (Reaktionsbedingungen siehe Hintergrundinformationen). Wir bestimmten 80 µM an S-Nitrosoglutathion (GSNO) und 65 µM an Hydroxylamin in Gegenwart von **1** (10 µM) sowie 55 µM an GSNO und 45 µM an Hydroxylamin in Gegenwart von **2** (10 µM). Dies entspricht den Mengen des während der Reaktion mit **1** oder **2** verbrauchten NO (Abbildung 1 und SI1).

Die geringere Reaktivität von NO gegenüber **1** und **2** bei Abwesenheit von GSH (Abbildung 1 und SI1) verdient nähere Erklärung. Wir beobachteten, dass **1** seine SOD-Aktivität nach anaerober Behandlung mit NO ohne GSH verliert, was auf eine Strukturänderung des Komplexes hinweist, die dazu führt, dass der Komplex als Dismutierungskatalysator gegenüber sowohl O<sub>2</sub><sup>•-</sup> als auch NO inaktiv wird. Zur Aufklärung der Strukturänderung von **1** wurde NO in die anaerobe Lösung ([**1**] = 10 mM) in THF eingeleitet, und die Reaktionsprodukte wurden massenspektrometrisch analysiert. Das ESI-Massenspektrum (Positivionendetektion) des mit NO behandelten Komplexes **1** (Abbildung SI2 in den Hintergrundinformationen) zeigt einen großen Moleküllonenpeak bei *m/z* 139.6, der aus der Kombination  $M^{3+} = \{1-3H+3NO\}^{3+}$  resultiert, sowie einen kleinen Peak bei *m/z* 365.2, der dem modifizierten Liganden ohne Mangan,  $M^+ = \{(\text{pyane})-3H+3NO\}^+$ , entspricht. Daher interpretieren wir das Produkt als dreifach (wahrscheinlich N-) nitrosyliertes Derivat von **1**. Zum Vergleich dazu zeigt das ESI-Massenspektrum (Positivionendetektion) von **1** einen Moleküllonenpeak bei *m/z* 110.6, was  $M^{3+} = \{1\}^{3+}$  entspricht. Die anaerobe Behandlung von **2** (0.5 mg in 1 mL of THF) mit NO ergab unlösliche Reaktionsprodukte, die nicht weiter analysiert wurden.

Die Ergebnisse belegen klar, dass GSH, das effektiv die bei der anaeroben Behandlung von **1** und **2** mit einem großen Überschuss an NO entstehenden reaktiven NO-Spezies beseitigt, die Komplexe vor Strukturmodifikationen schützt, die

zu ihrer Desaktivierung führen würden. Dadurch wird die Erhöhung des NO-Umsatzes in Gegenwart von GSH verursacht. Zu beachten ist dabei, dass der SOD-aktive Komplex **1** etwas effizienter in der NO-Dismutierung als der SOD-inaktive Komplex **2** ist, verursacht durch seine größere Stabilität in Lösung.<sup>[8]</sup>

O<sub>2</sub> reagiert bereitwillig in Wasser mit NO zu NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.<sup>[15]</sup> Wir prüften daher, ob **1** und **2** mit O<sub>2</sub> um NO unter aeroben Bedingungen konkurrieren können. Abbildung 2a belegt, dass



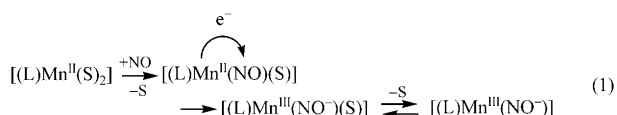
**Abbildung 2.** Aerobe Reaktion von **1** und **2** mit NO. a) NO-Abbau (1 µM) unter aeroben Bedingungen, verursacht durch die Reaktion mit O<sub>2</sub> (Kontrollreaktion) sowie nach Zugabe von **1** und **2** (je 15 µM). Die Reaktionen wurden an einer NO-Elektrode verfolgt (pH 7.4, 23 °C). b) Reduktive Nitrosylierung von MetHb (50 µM) zu HbNO. Die aeroben Lösungen von **1** (●) und **2** (■) (je 15 µM, pH 7.4, 23 °C) sowie die Kontrollreaktion (ohne Komplexe; ▲) wurden um MetHb ergänzt, und aufeinanderfolgende Zugaben (je 10 µL) an NO-Lösung wurden vorgenommen, bis eine Konzentration von [NO] = 10 µM erreicht war.

beide Komplexe unter aeroben Bedingungen die Geschwindigkeit des NO-Abbaus erhöhen. Die Auftragungen der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten als Funktion der Komplexkonzentrationen ist linear, wobei die Steigungen den Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung für die aerobe Reaktion von NO mit **1** (891 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) und **2** (466 M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) entsprechen (23 °C; Bedingungen pseudo-erster Ordnung, Komplex im Überschuss). Der Achsenabschnitt entspricht der Geschwindigkeit des ausschließlich von O<sub>2</sub> verursachten NO-Abbaus (Abbildung SI3 in den Hintergrundinformationen).

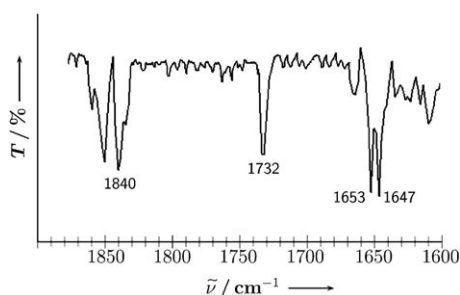
Da Stickstoffoxide, die bei der Reaktion von NO mit O<sub>2</sub><sup>[15]</sup> gebildet werden, eine Quelle für NO<sup>+</sup>-Spezies sind,<sup>[13]</sup> untersuchten wir nur die Umsetzung von NO zu HNO/NO<sup>+</sup>-Spezies durch aerobe Reaktion von **1** und **2** mit NO. Sowohl die reduktive Nitrosylierung von MetHb (Methämoglobin) zu

HbNO,<sup>[14]</sup> dem NO-Addukt von Hämoglobin (Abbildung 2b und Abbildung SI4a in den Hintergrundinformationen), als auch die thiolabhängige Bildung von Hydroxylamin<sup>[14]</sup> (Abbildung SI4b) untermauern die Bildung der HNO/NO<sup>+</sup>-Spezies durch aerobe Reaktion von **1** und **2** mit NO.

Basierend auf der Literaturinformation zu den Reaktionen von NO mit anderen Metallkomplexen, die die Substitution labiler Lösungsmittelmoleküle einschließen,<sup>[4c,e]</sup> schlagen wir vor, dass **1** und **2** mit NO nach den Gleichungen (1) und (2) (L = Pentaazamakrocyclen, S = Lösungsmittelmolekül) zu labilen Mangan-NO-Addukten reagiert, die als „Träger“ von NO<sup>+</sup> und NO<sup>-</sup> fungieren. Die Ergebnisse unserer IR- und EPR-Studien stützen vollständig diese Annahme.

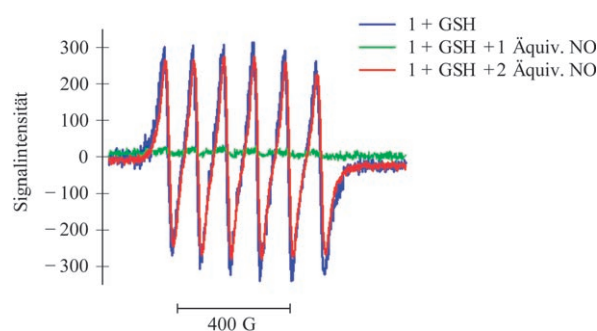


Da **1** keine IR-Banden<sup>[16]</sup> im für NO-Streckschwingungen charakteristischen Bereich zeigt (1900–1630 cm<sup>-1</sup>),<sup>[4a-d]</sup> konnte ATR-FTIR-Spektroskopie zur Verfolgung der Reaktion von **1** mit NO in THF angewendet werden. Wird eine Lösung von **1** (5 mM) in THF an Luft NO (10 mM) ausgesetzt, erscheinen drei deutliche Banden von NO-Streckschwingungen (bei 1840 cm<sup>-1</sup>, 1732 cm<sup>-1</sup> und ein Dublett bei 1653 und 1647 cm<sup>-1</sup>), die den Mn-Nitrosyl-Spezies aus den Gleichungen (1) und (2) entsprechen (Abbildung 3).<sup>[17]</sup> Die Banden können folgenden Spezies zugeordnet werden: Mn<sup>II</sup>-NO<sup>+</sup> (1840 cm<sup>-1</sup>), Mn<sup>II</sup>-NO (1732 cm<sup>-1</sup>) sowie den sechs- (1653 cm<sup>-1</sup>) und siebenfach koordinierten Formen (1647 cm<sup>-1</sup>)<sup>[18]</sup> des Mn<sup>III</sup>-NO<sup>-</sup>-Addukts [Gl. (1) und (2)].<sup>[4a-d,11]</sup>



**Abbildung 3.** ATR-FTIR-Spektrum (1600–2000 cm<sup>-1</sup>) nach Zugabe der NO-Lösung in THF zu einer Lösung von **1** in THF (Anfangskonzentrationen in der Reaktionslösung: [NO] = 10 mM, [**1**] = 5 mM) an Luft bei Raumtemperatur.

Um die Änderung des Oxidationszustandes des Mangananzentrums bei der Komplexbildung mit NO [Gl. (1) und (2)] zu bestätigen, wurden die EPR-Spektren von **1** und **2** (nicht abgebildet) nach deren Reaktion mit NO aufgenommen. Abbildung 4 zeigt, dass die Peakhöhen im EPR-Spek-



**Abbildung 4.** Änderungen im EPR-Spektrum während der Reaktion von NO mit **1** (100 μM) in Gegenwart von GSH (1 mM) (25 °C, 50 mM Kaliumphosphat (KPi)-Puffer bei pH 7.4). Als NO-Quelle wurde der synthetische NO-Donor 2-(N,N-Diethylamino)diazennolat-2-oxid (DEA-NONOat) verwendet (1 Äquiv. = 50 μM). Geräteeinstellungen: Mikrowellenfrequenz 9.51 GHz, Leistung 10 mW, Modulationsamplitude 2 G, Verstärkung 2 × 10<sup>4</sup>.

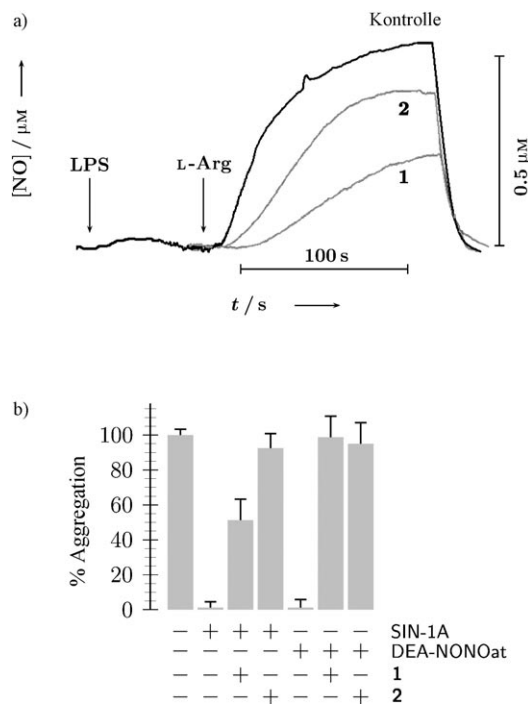
trum von **1** (mit GSH) nach Zugabe des ersten Äquivalents von synthetischem NO-Donor (bezogen auf **1**) abnehmen. Dies deutet an, dass die Oxidation des Mn<sup>II</sup> zur mit EPR nicht detektierbaren Mn<sup>III</sup>-Form von **1** stattfindet.<sup>[2a]</sup> Wichtig ist dabei, dass der hohe Überschuss an GSH in der Reaktionslösung diesen Prozess nicht stört. Gibt man ein zweites Äquivalent NO-Donor zu, wird Mn<sup>III</sup> fast quantitativ zur EPR-aktiven Mn<sup>II</sup>-Form von **1** umgesetzt (Abbildung 4). Analoge Ergebnisse wurden erhalten, wenn das Experiment mit der Mn<sup>III</sup>-Form von **1** begonnen wurde (Abbildung SI5 in den Hintergrundinformationen).

Zu betonen ist, dass diese Klasse von Mangankomplexen wegen ihres relativ hohen Redoxpotentials (+0.78 V gegen SHE)<sup>[2f,g]</sup> nicht mit NO reagiert. Das hohe Redoxpotential lässt die Außensphärenoxidation der Komplexe durch NO nicht zu (die Redoxpotentiale der NO/NO<sup>-</sup>- und NO/H<sup>+</sup>/HNO-Redoxpaare betragen -0.8 bzw. -0.5 gegen SHE).<sup>[19]</sup> Diese Komplexe neigen jedoch allgemein dazu, mit einzähnigen Liganden zu reagieren, und die NO-Koordination ist gut möglich.<sup>[4c]</sup> Sobald NO koordiniert ist, verschiebt sich sein Redoxpotential signifikant zu positiveren Werten. Dies ermöglicht den Innensphärenelktronentransfer, der zur Mn<sup>III</sup>-NO<sup>-</sup>-Nitrosylspezies [Gl. (1)] führt.<sup>[4c]</sup> Zum Vergleich reagiert [Fe<sup>II</sup>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup> (Redoxpotential +0.77 V gegen SHE) mit NO zu [Fe<sup>III</sup>(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>(NO<sup>-</sup>)]<sup>2+</sup>.<sup>[20]</sup> Auch wurde nachgewiesen, dass der Katalysezyklus der als SOD-Mimetika wirkenden Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen ebenfalls als Innensphärenmechanismus abläuft.<sup>[20b]</sup>

Unter pharmakologischen Bedingungen, die es erfordern, die Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen in Konzentrationen zu verabreichen,<sup>[2]</sup> die die höchste pathologische NO-Konzentration (mikromolar)<sup>[3]</sup> übersteigen, führt die Wechselwirkung der Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen mit NO zur Bildung des NO<sup>-</sup>-Komplexes. NO<sup>-</sup>-Spezies können mit verschiedenen Substraten reagieren, was vielfältige Bioeffekte hervorrufen kann,<sup>[14,21]</sup> und sie sind bekannt für ihre Reaktion mit Zellmasse und Proteinthiolen.<sup>[14,19,21]</sup>

Wir wollten daher aufklären, ob die Reaktion der Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen mit NO unter physiologisch relevanten Bedingungen ablaufen könnte. Wir untersuchten, ob **1** und **2**

mit in Zellkulturen aktivierter Makrophagen produziertem NO<sup>[22]</sup> reagieren und ob sie die NO-inhibierte Thrombozytenaggregation schwächen können.<sup>[23]</sup> Abbildung 5a zeigt, dass in Gegenwart von **1** und **2** die NO-Konzentration in den



**Abbildung 5.** Der Effekt von **1** und **2** auf a) die NO-Produktion in aktivierten Makrophagen und b) die NO-vermittelte Inhibition der Thrombozytenaggregation. a) Murine Makrophagen ( $3 \times 10^6$  Zellen) wurden in Respirationspuffer mit **1** oder **2** (je  $100 \mu\text{M}$ ) für 2 h bei  $37^\circ\text{C}$  vorinkubiert. Anschließend wurde der Puffer abgesaugt, und die Zellen wurden im Puffer unter Zugabe von Lipopolysaccharid (LPS) ( $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) und L-Arginin ( $50 \mu\text{M}$ ) resuspendiert. Die NO-Produktion wurde an einer NO-Elektrode 10 min lang gemessen. Anschließend wurde Hämoglobin-Lösung ( $20 \mu\text{M}$ ) zur Entfernung des restlichen NO zugegeben. b) Thrombozytenreiches Plasma (PRP) ( $500 \mu\text{L}$ ,  $2.5 \times 10^8$  Zellen  $\text{L}^{-1}$ ) wurde bei  $37^\circ\text{C}$  mit DEA-NONOat (NO-Donor) oder SIN-1 (NO- und  $\text{O}_2^{\cdot-}$ -Donor) (je  $10 \mu\text{M}$ ) vor der Aktivierung mit Kollagen vorinkubiert. PRP wurde mit  $10 \mu\text{M}$  **1** oder **2** vor Zugabe der NO-Donoren und des Kollagens vorinkubiert.

aktivierten Makrophagen signifikant niedriger als im Kontrollversuch ist. Dies deutet an, dass beide Komplexe mit in den aktivierten Zellen generiertem NO reagieren. Anders als bei den obigen Ergebnissen, die belegen, dass **1** reaktiver als **2** gegenüber NO ist, erkennt man in Abbildung 5a, dass der SOD-inaktive Komplex **2** effizienter als **1** im Verbrauch des in den aktivierten Makrophagen produzierten NO ist. Die Makrophagen erzeugen auch eine große Menge an  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , das sich schnell mit NO zu Peroxynitrit kombiniert.<sup>[22]</sup> Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass Mn<sup>II</sup>-Komplexe von Pentaazamakrocyclen mit NO in biologischer Umgebung reagieren könnten, sogar in Gegenwart von  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . Unter diesen Bedingungen zeigen SOD-aktive Komplexe, die sowohl mit  $\text{O}_2^{\cdot-}$  als auch mit NO reagieren, niedrigere Reaktivität gegenüber NO als SOD-inaktive Komplexe, die ausschließlich mit NO reagieren. Abbildung 5b belegt, dass sowohl **1** als auch **2** die NO-

inhibierte Thrombozytenaggregation als Reaktion auf Kollagen schwächen. In Gegenwart von SIN-1A, einem NO- und  $\text{O}_2^{\cdot-}$ -Donor, ist der SOD-inaktive Komplex **2** wieder effizienter in der Verhinderung NO-vermittelter Effekte als der SOD-aktive Komplex **1**.

Zusammenfassend belegen unsere Ergebnisse, dass sowohl **1** als auch **2** die NO-Disproportionierung über den katalytischen Dismutierungsmechanismus anregen. Der Mechanismus umfasst die Bildung labiler Metall-Nitrosyl-Addukte, in denen an das Metallzentrum gebundenes NO den Charakter und die Reaktivität von NO<sup>-</sup> und NO<sup>+</sup>-Spezies zeigt, was sich aus dem Mn<sup>II</sup>/Mn<sup>III</sup>-Redoxzyklus ergibt [Gl. (1) und (2)]. Dieses unseres Wissens neue Reaktionsverhalten von Metallkomplexen mit NO scheint dem in früheren Studien beschriebenen Verhalten der natürlichen MnSOD<sup>[5,6]</sup> zu ähneln. Das Konzept der Selektivität der Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen gegenüber  $\text{O}_2^{\cdot-}$  und die fehlende Reaktivität gegenüber NO<sup>[2]</sup> wird durch diese chemische und Ex-vivo-Studie in Frage gestellt. Die Ergebnisse regen vielmehr an, die zellschützenden Wirkungen der Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen gegen oxidativen Stress<sup>[2]</sup> besser über deren Fähigkeit zu erklären, sowohl  $\text{O}_2^{\cdot-}$  als auch NO abzubauen und damit die Bildung des Zellgifts Peroxynitrit zu vermindern. Wir sind der Auffassung, dass die Hemmung der Hypotonie, die mit der Interleukin-Therapie durch Mn<sup>II</sup>-Pentaazamakrocyclen<sup>[24]</sup> in Verbindung gebracht wird, durch die Fähigkeit der Komplexe, den Überschuss an NO zu entfernen, verursacht wird. Wir erwarten, dass die biomedizinischen Folgerungen der vorliegenden Studie die weitere Suche nach wirklich selektiven SOD-Mimetika anregen wird.

## Experimentelles

Siehe die Hintergrundinformationen.

Eingegangen am 19. März 2008,  
veränderte Fassung am 3. Juni 2008

**Stichwörter:** Makrocyclische Liganden · Mangan · Nitroxylradikal · SOD-Mimetika · Stickstoffmonoxid

- [1] D. P. Riley, O. F. Schall, *Adv. Inorg. Chem.* **2006**, 59, 233–263.
- [2] a) 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; b) E. Masini, E. S. Cuzzocrea, E. Mazzon, C. Marzocca, P. F. Mannaioni, D. Salvemini, *Br. J. Pharmacol.* **2002**, 136, 905–917; c) C. Di Filippo, S. Cuzzocrea, R. Marfella, V. Fabbri, G. Scollo, L. Berrino, D. Giugliano, F. Rossi, M. D'Amico, *Eur. J. Pharmacol.* **2004**, 497, 65–74; d) D. Salvemini, T. M. Doyle, S. Cuzzocrea, *Biochem. Soc. Trans.* **2006**, 34, 965–970; e) S. Cuzzocrea, D. P. Riley, A. P. Caputi, D. Salvemini, *Pharmacol. Rev.* **2001**, 53, 135–159; f) C. Muscoli, S. Cuzzocrea, D. P. Riley, J. L. Zweier, C. Thiemermann, Z. Q. Wang, D. Salvemini, *Br. J. Pharmacol.* **2003**, 140, 445–460; g) D. Salvemini, E. Mazzon, L. Dugo, D. P. Riley, I. Serrano, A. P. Caputi, S. Cuzzocrea, *Br. J. Pharmacol.* **2001**, 132, 19–29.
- [3] a) S. Moncada, R. M. Palmer, E. A. Higgs, *Pharmacol. Rev.* **1991**, 43, 109–142; b) B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, Oxford, **2007**, S. 53–66; c) D. Salvemini, T. M. Doyle, S. Cuz-



- zocrea, *Biochem. Soc. Trans.* **2006**, *34*, 965–970; d) V. Calabrese, C. Mancuso, M. Calvani, E. Rizzarelli, D. A. Butterfield, A. M. Giuffrida Stella, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 766–775.
- [4] a) P. C. Ford, I. M. Lorkovic, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 993–1017; b) G. G. Martirosyan, A. S. Azizyan, T. S. Kurtikyan, P. C. Ford, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4079–4087; c) M. Wolak, R. van Eldik, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *230*, 263–282; d) F. Roncaroli, M. Videla, L. D. Slep, J. A. Olabe, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1903–1930; e) I. Ivanović-Burmazović, R. van Eldik, *Dalton Trans.* **2008**, 5259–5275.
- [5] V. Niketić, S. Stojanović, A. Nikolić, M. Spasić, A. M. Michelson, *Free Radical Biol. Med.* **1999**, *27*, 992–996.
- [6] M. R. Filipović, D. Stanić, S. Raičević, M. Spasić, V. Niketić, *Free Radical Res.* **2006**, *41*, 62–72.
- [7] Der Begriff NO-Dismutierung für die Umsetzung von NO zu NO<sup>+</sup>- und NO<sup>-</sup>-Spezies wurde vorgeschlagen (S. Stojanović, D. Stanić, M. Nikolić, M. Spasić, *Nitric Oxide* **2004**, *11*, 256–262), um eine Unterscheidung zu dem oben genannten Prozess der NO-Disproportionierung durch Übergangsmetallkomplexe vornehmen zu können.
- [8] In wässriger Lösung liegen alle Mn<sup>II</sup>-Komplexe dieser Klasse als Diaquo-Verbindungen vor (Eigenschaften in Lösung sowie Stabilität von **1** und **2** siehe: A. Dees, A. Zahl, R. Puchta, N. J. R. van Eikema Hommes, F. W. Heinemann, I. Ivanovic-Burmazovic, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 2459–2470).
- [9] D. Salvemini, PCT Int. Appl. WO 98/58636, **1998**.
- [10] Optische Spektroskopie konnte in unserer Studie nicht angewendet werden, da im UV/Vis-Spektrum der Lösungen von **1** und **2** nach Zugabe von NO keine Änderungen beobachtet werden konnten.
- [11] a) K. Ghosh, A. A. Eroy-Reveles, B. Avila, T. R. Holman, M. M. Olmstead, P. K. Mascharak, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 2988–2997; b) K. J. Franz, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9034–9040.
- [12] N. Hogg, R. J. Singh, B. Kalyanaraman, *FEBS Lett.* **1996**, *382*, 223–228.
- [13] J. Stamler, M. Feelisch in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: M. Feelisch, J. S. Stamler), Wiley, Chichester, **1996**, S. 521–540.
- [14] a) D. A. Wink, M. Feelisch in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: M. Feelisch, J. S. Stamler), Wiley, Chichester, **1996**, S. 403–412.
- [15] R. S. Lewis, W. M. Deen, *Chem. Res. Toxicol.* **1994**, *7*, 568–574.
- [16] G.-F. Liu, M. Filipović, F. W. Heinemann, I. Ivanović-Burmazović, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 8825–8835.
- [17] Wegen der niedrigen Löslichkeit von **2** in THF konnte diese Methode nicht für die Aufklärung der Reaktion von **2** mit NO angewendet werden.
- [18] Mn<sup>III</sup> ist in siebenfach koordinierter Geometrie nicht sehr stabil, und in Lösung existiert ein Gleichgewicht zwischen sechs- und siebenfach koordinierten Spezies (siehe auch Lit. [1]).
- [19] M. D. Bartberger, W. Liu, E. Ford, K. M. Miranda, C. Switzer, J. M. Fukuto, P. J. Farmer, D. A. Wink, K. N. Houk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 10958–10963.
- [20] A. Wanat, T. Schnepfensieper, G. Stochel, R. van Eldik, E. Bill, K. Wieghardt, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 4–10.
- [21] a) J. S. Stamler, D. J. Singel, J. Loscalzo, *Science* **1992**, *258*, 1898–1902; b) K. M. Miranda, *Coord. Chem. Rev.* **2005**, *249*, 433–455; c) A. Maroz, G. F. Kelso, R. A. J. Smith, D. C. Ware, R. F. Anderson, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 4929–4935.
- [22] S. Arbault, H. Ghandour, Y. Tong, K. Coffi, C. Bouton, J. C. Drapier, C. Amatore, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 653–661.
- [23] U. Forstermann, K. Ishii in *Methods in Nitric Oxide Research* (Hrsg.: M. Feelisch, J. S. Stamler), Wiley, Chichester, **1996**, S. 555–566.
- [24] W. E. Samlowski, R. Petersen, S. Cuzzocrea, H. MacArthur, D. Burton, J. R. McGregor, D. Salvemini, *Nat. Med.* **2003**, *9*, 750–755.