

# Peptide aus Mambagift als Schmerzmittel\*\*

David J. Craik\* und Christina I. Schroeder

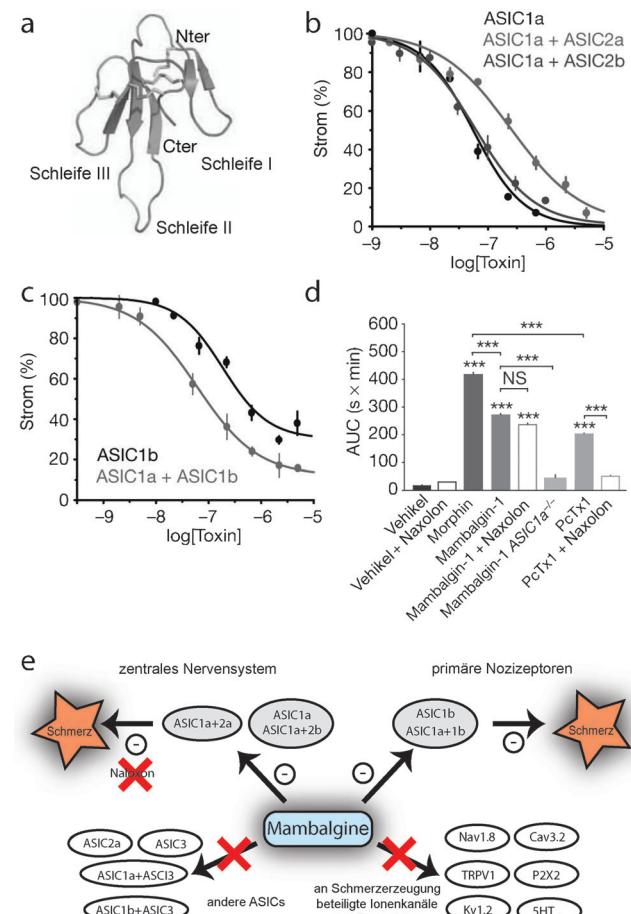
Ionenkanäle · Peptide · Schlangengifte · Schmerz · Toxine

**G**iftschlangen verspritzen ein Toxingemisch, um ihre Beute schnell zu töten oder zu lähmen oder um sich selbst gegen Feinde zu verteidigen. Da diese Zusammentreffen von Beute und Räuber über Leben und Tod entscheiden, haben sich die Toxine notwendigerweise zu schnell wirkenden und hochwirksamen Molekülen entwickelt. Aus diesem Grund richtete sich das Interesse von Chemikern und Pharmakologen auf viele Toxine als potenzielle Leitstrukturen für Arzneimittel und pharmakologische Hilfsmittel. Peptide sind in tierischen Giften besonders weit verbreitet. Kürzlich berichteten Diochot et al. über zwei Peptide aus dem Gift der schwarzen Mamba (*Dendroaspis polylepis*), die sich überraschenderweise im Mausmodell als wirksame Schmerzmittel erwiesen haben.<sup>[1]</sup> Sie nannten diese Peptide Mambalgin-1 und -2, und da sich diese beiden Peptide nur durch eine Aminosäure voneinander unterscheiden, konzentrierten sie sich hauptsächlich auf eines von ihnen, nämlich Mambalgin-1, als Modellpeptid zur Erforschung ihrer pharmakologischen Wirkung.

Das Gift der schwarzen Mamba wirkt sehr schnell. Ein Mensch kann innerhalb von 30 min nach der Vergiftung sterben, wenn er nicht mit einem Gegengift behandelt wird, da verschiedene Bestandteile des Gifts das zentrale Nervensystem zum Erliegen bringen und eine Atemlähmung hervorrufen sowie eine große Reihe von anderen physiologisch wichtigen Rezeptoren blockieren. Anstatt sich mit dieser Vielfalt an biologischen Wirkungen zu befassen, untersuchten Diochot et al. das Gift der schwarzen Mamba insbesondere auf Peptide, die auf säureempfindliche Ionenkanäle (acid-sensing ion channels, ASICs) abzielen, die früher schon in der Schmerzforschung als interessante Zielstrukturen ausgemacht worden waren.

ASICs wurden 1997 entdeckt.<sup>[2]</sup> Sie werden als primäre Schmerzsensoren betrachtet und mit einer Reihe von physiologischen Zuständen wie Entzündung, Ischämie und physikalem Trauma in Verbindung gebracht.<sup>[3,4]</sup> Diochot et al. berichteten, dass Mambalgin zur Familie der Drei-Finger-

Toxine gehören (Abbildung 1a). Es besteht jedoch keine Sequenzhomologie mit PCTx1<sup>[5]</sup> oder APETx2<sup>[6]</sup> zwei Drei-Finger-Toxinen, von denen die Autoren in der Vergangenheit



**Abbildung 1.** a) Modell der dreidimensionalen Struktur von Mambalgin-1.<sup>[1]</sup> b) Elektrophysiologische Messdaten, die die Wirksamkeit des Peptids auf Ionenströme bei ASIC-Kanälen im zentralen Nervensystem und c) in peripheren Nozizeptoren bei ASIC-Kanälen von Ratten in COS-7-Zellen zeigen. d) Analgesie bei Mäusen nach intratrathekaler Injektion von Mambalginen wird nicht durch Naloxon beeinflusst, im Unterschied zu PCTx1<sup>[5]</sup> (Schmerzreaktion, gemessen als Fläche unter der Kurve, in Form von Wegziehen des Schwanzes nach thermischer Reizung (Tail-Flick-Test)). e) Mambalginen sind bei einer Unterart von ASICs hochselektiv und nicht aktiv bei einer Reihe von Nicht-ASIC-Ionenkanälen und Rezeptoren, die auch an der Schmerzerzeugung beteiligt sind. Teile dieser Abbildung wurden mit Genehmigung der Nature Publishing Group (Lit. [1]) abgedruckt.

[\*] Prof. D. J. Craik, C. I. Schroeder  
Institute for Molecular Bioscience  
The University of Queensland  
Brisbane, Qld 4072 (Australia)  
E-Mail: d.craik@imb.uq.edu.au

[\*\*] Die Untersuchungen zu Toxinen und Schmerz im Labor der Autoren werden vom Australian Research Council (DP1093115) und dem National Health and Medical Research Council (631457, 1010552 und 1026501) gefördert.

berichtet hatten, dass sie ASICS-wirksam seien. Die Mambalgine sind wirksame, schnelle und reversible Inhibitoren mit nanomolekularer Wirksamkeit gegen die rekombinanten homomeren und heteromeren Ratten-ASIC-Unterarten ASIC1a, ASIC1a + ASIC2a und ASIC1a + ASIC2b, die normalerweise im zentralen Nervensystem vorkommen (Abbildung 1b), sowie ASIC1b und ASIC1a + ASIC1b, die in den primären Nozizeptoren gefunden wurden (Abbildung 1c). Sie wirken als Gating-Modifizierer und binden somit an den Kanal in seinem geschlossenen und/oder nicht-aktivierten Zustand. Die Mambalgine blockieren auch menschliche ASICS.

Im Unterschied zu anderen Drei-Finger-Toxinen scheinen die Mambalgine bei Injektion keine neurotoxische Wirkung auf Tiere zu haben, z.B. in Form von motorischen Störungen, Krämpfen oder Tod. Im Gegenteil, die beobachtete schmerzstillende Wirkung der Peptide bei akuten und entzündungsbedingten Schmerzen war in einigen Fällen so effektiv wie die von Morphin. Die schmerzstillende Wirkung wurde nicht durch Naloxon, einen Morphinantagonisten, gehemmt, und die intrathekale Verabreichung der Peptide führte bei Mäusen nicht zu Atemnot oder Tod (Abbildung 1d). Es hat sich gezeigt, dass die Mambalgine bezüglich der ASICS hochselektiv sind, aber keine Wirkung gegen eine Reihe von anderen Ionenkanälen oder Rezeptoren haben, die bei der Analgesie eine Rolle spielen (Abbildung 1e). Die Selektivität dieser Moleküle ist vielleicht ihr größter Vorteil. Zur Veranschaulichung dieser Selektivität: Ein Toxin der Texas-Korallenschlange wirkt an anderen peripheren ASICS und löst Schmerzen aus, anstatt sie zu lindern,<sup>[7]</sup> wie es von den Bestandteilen eines chemischen Verteidigungssystems auch eher zu erwarten ist.

Die Chemie kann eine wichtige Rolle bei der Nutzung der Mambalgine spielen. Mit nur 57 Aminosäuren sind sie durch Festphasen-Peptidsynthese zugänglich oder könnten auch in Bakterien unter Verwendung von rekombinanten Methoden produziert werden. Bei beiden Ansätzen stellt sich die Herausforderung, bei 105 möglichen Disulfidisomeren genau die richtigen Disulfidbindungen im natürlichen Peptid zwischen den acht Cys-Resten zu bilden. Andere Toxine mit acht Cys-Resten, z.B. Chlorotoxin, aus Skorpionsgift sind kürzlich im Labor chemisch synthetisiert worden.<sup>[8]</sup> Sowohl chemische als auch rekombinante Methoden würden eine Quelle für diese Peptide liefern, mit der das gefährliche Melken der Mamba umgangen werden könnte. So könnte auch die Herstellung im Großmaßstab realisiert werden, falls sich die Peptide bei klinischen Versuchen auch am Menschen als wirksam erweisen sollten. Mithilfe chemischer Synthese wäre auch die Synthese einer Reihe von Analoga möglich, um Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zu erforschen. Zum Beispiel könnte die Hypothese, dass die positiv geladenen Reste die Bindung an negativ geladene ASIC-Kanäle unterstützen, geprüft werden, indem Mutanten hergestellt werden, um einige dieser Ladungen zu neutralisieren.

Ein besonders vielversprechender Aspekt der Mambalgine ist, dass sie weniger Nebenwirkungen als konventionelle Schmerzmittel haben. Obwohl es sich bei Morphin um ein häufig verwendetes Schmerzmittel handelt, hat es eine Reihe von Nebenwirkungen, darunter Atemdepression, Übelkeit,

Verstopfung, Toleranzentwicklung und das Risiko von Abhängigkeit oder Missbrauch. Dass Mambalgine keine Nebenwirkungen haben, liegt an ihrem einzigartigen Zielprofil und vor allem an ihrer Unwirksamkeit gegen Opiatrezeptoren, auf die Morphin abzielt.

Ein weiterer Forschungsaspekt mit großem Potenzial ist die Verwendung von Mambalginen als neurowissenschaftliche Hilfsmitteln, um die Mechanismen zu erforschen, die zur Schmerzentwicklung beim Menschen beitragen. Bei In-vitro-Untersuchungen gelang es, die Aktivität von Mambalgin-1, einem spezifischen ASIC des zentralen Nervensystems, zuordnen, das als ASIC1a bekannt ist. Transgene Mäuse, denen dieser Kanal fehlt, verspürten die schmerzlindernde Wirkung der Mambalgine nicht. Im Unterschied dazu zielen die Peptide in primären Nozizeptoren auf ASIC1b ab, einen Kanal, dessen Rolle bei der Schmerzentstehung bisher unklar war.

Schlangen sind nicht die einzigen Tiere, die Gifte einsetzen. Eine Vielzahl von Spinnen, Skorpionen, Seeanemonen und Kegelschnecken hat in ähnlicher Weise Versuche zur Entwicklung von schmerzlindernden Medikamenten angestoßen. Einige von diesen Tieren produzieren Toxine, die mit den ASICS in Wechselwirkung treten, z.B. Pctx1 und APETx2 von der Tarantel bzw. der Seeanemone. Diese Peptide wechselwirken mit verschiedenen ASIC-Unterarten. Daher ist es sinnvoll, sie für die weitere Aufklärung der Pharmakologie der ASICS sowie als potenzielle Leitstrukturen für Arzneimittel zur Behandlung von verschiedenen schmerzverursachenden Zuständen zu nutzen. Das beste schmerzstillende Peptid, das aus einem Gift gewonnen wurde, stammt überraschenderweise jedoch nicht von Schlangen, Spinnen oder anderen terrestrischen Quellen, sondern von einer fleischfressenden Meeresschnecke mit einer besonderen Vorliebe für Fisch. Ziconotid, ein 25 Aminosäuren umfassendes Peptidtoxin von der *Conus magus*, ist seit 2004 auf dem Markt und wird für die Behandlung von starken neuropathischen Schmerzen verwendet.<sup>[9]</sup> Im Unterschied zu den Mambalginen zielt es nicht auf die ASICS ab, sondern ist auf eine spezifische Unterart von Calciumkanälen ausgerichtet, mit deren Hilfe es die Fischbeute lähmt. Zufälligerweise sind dieselben Kanäle auch an der Übertragung von Schmerzsignalen im Rückenmark von Säugetieren, auch beim Menschen, beteiligt. Dies führte zur Entwicklung von Ziconotid als Mittel gegen neuropathische Schmerzen beim Menschen (d.h. Schmerzen in Verbindung mit Nervenschäden). Wie die Mambalgine muss auch dieses Peptid direkt zum Rückenmark transportiert werden. Beim Menschen geschieht dies mithilfe einer chirurgisch implantierten Pumpe.

Die intrathekale Zuführung von Ziconotid und Mambalginen ist wegen der invasiven Natur, der Kosten und des Infektionsrisikos natürlich weniger vielversprechend als die orale Verabreichung. Es besteht jedoch die Hoffnung, dass es den Chemikern gelingen wird, diese Einschränkung zu überwinden, indem sie die Toxine dahingehend modifizieren, dass sie stabiler und oral wirksam sind. Zum Beispiel wurde von uns gezeigt, dass ein anderes Peptid aus dem Kegelschnecken-Gift, Vc1.1, durch Cyclisierung des Gerüsts stabilisiert und somit oral verabreicht werden kann.<sup>[10]</sup>

Diese Beispiele für die erfolgreiche Überführung eines Giftpeptids in ein klinisch zugelassenes Medikament und die Rolle der Chemie bei der Verbesserung der biopharmazeutischen Eigenschaften lassen darauf hoffen, dass eines Tages weitere Peptide, einschließlich der Mambalbine, nützliche Therapeutika sein werden. Zwar sind die Mambalbine bisher noch nicht am Menschen getestet worden, und es bleibt noch viel zu tun – allerdings ist die Diochot-Studie ein vielversprechender Beginn, und mit zunehmender Entschlüsselung der Schmerzmechanismen besteht durchaus das Potenzial, ein Medikament für die Behandlung eines Problems zu entwickeln, das weltweit viele Millionen Menschen betrifft. Es ist eine Ironie des Schicksals, dass in Afrika Mäuse zur Lieblingsbeute der Mambas gehören und somit in vollem Umfang die tödlichen Eigenschaften des Gifts zu spüren bekommen, während es ebenfalls Mäuse waren, die in Frankreich als Versuchstiere für die Untersuchung der positiven Eigenschaften des Mambagifts dienten. Wir sind optimistisch, dass die Menschen, von denen in der Vergangenheit viele der Mamba zum Opfer fielen, in Zukunft von einer winzigen Komponente ihres Giftgemisches profitieren werden.

Eingegangen am 10. Dezember 2012  
Online veröffentlicht am 4. Februar 2013

- 
- [1] S. Diochot, A. Baron, M. Salinas, D. Douguet, S. Scarzello, A.-S. Dabert-Gay, D. Debayle, V. Friend, M. Lazdunski, E. Lingueglia, *Nature* **2012**, *490*, 552–555.
  - [2] R. Waldmann, G. Champigny, F. Bassiliana, C. Herteaux, M. Lazdunski, *Nature* **1997**, *386*, 173–177.
  - [3] K. A. Sluka, O. C. Winter, J. A. Wemmie, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2009**, *12*, 693–704.
  - [4] E. Deval, X. Gasull, J. Noël, M. Salinas, A. Baron, S. Diochot, E. Lingueglia, *Pharmacol. Ther.* **2010**, *128*, 549–558.
  - [5] P. Escoubas, J. R. De Weille, A. Lecoq, S. Diochot, R. Waldmann, G. Champigny, D. Moinier, A. Ménez, M. Lazdunski, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 25116–25121.
  - [6] S. Diochot, A. Baron, L. D. Rash, E. Deval, P. Escoubas, S. Scarzello, M. Salinas, M. Lazdunski, *EMBO J.* **2004**, *23*, 1516–1525.
  - [7] C. J. Bohlen, A. T. Chesler, R. Sharif-Naeini, K. F. Medziradszky, S. Zhou, D. King, E. E. Sanchez, A. L. Burlingame, A. I. Basbaum, D. Julius, *Nature* **2011**, *479*, 410–414.
  - [8] M. Akcan, H. R. Stroud, S. J. Hansen, R. J. Clark, N. L. Daly, D. J. Craik, J. M. Olsen, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 782–787.
  - [9] G. Miljanich, *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 3029–3040.
  - [10] R. J. Clark, J. Jensen, S. T. Nevin, B. P. Callaghan, D. J. Adams, D. J. Craik, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 6695–6698; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6545–6548.