

Kleine Organoselenverbindungen: mehr als nur Mimetika der Glutathion-Peroxidase

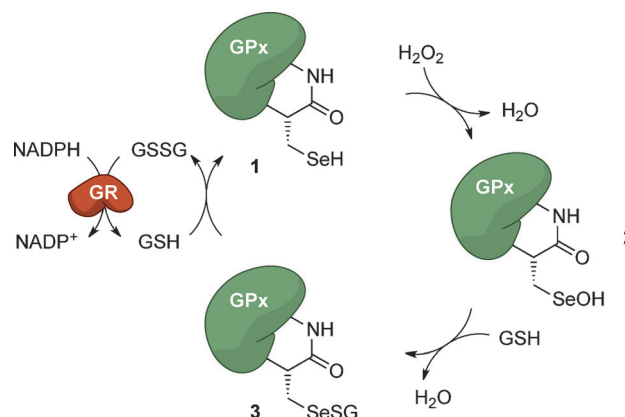
Thomas Wirth*

Antioxidantien · Ebselen · Glutathion-Peroxidase ·
Reaktive Sauerstoffverbindungen · Selen

Reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS) werden in biologischen Systemen als Nebenprodukte von Stoffwechselprozessen oder durch äußere Einflüsse gebildet und in der Regel von normal arbeitenden Zellen mittels verschiedener Antioxidationssysteme in Schach gehalten. Obwohl ROS zu zellulären Funktionen wie Genexpression beitragen und die Bildung von Superoxid-Radikalanionen aus Sauerstoff für den katabolischen Mechanismus wichtig ist, kann jegliches Ungleichgewicht zu schweren Problemen wie Neurodegeneration, Krebs, Diabetes, Altersbeschwerden oder anderen Störungen durch Lipidoxidation oder zu oxidativen Schäden an der lebenden Zelle führen.

Glutathion-Peroxidase (GPx) ist eines der antioxidativen Enzyme in Säugetieren, die mithilfe von Glutathion (GSH) oder anderen verwandten Thiolen als Cofaktoren ROS wie Peroxide in der Zelle zu Wasser oder Alkoholen zersetzen können. Die menschlichen GPx-Enzyme besitzen eine für die katalytische Aktivität verantwortliche Selenocystein-Einheit im aktiven Zentrum. Diese Enzyme wurden erstmals 1973 von Flohé und Mitarbeitern isoliert, die damit auch belegten, dass das Enzym Selen enthält.^[1] Die Röntgenstrukturanalyse bestätigte dann die Position der Selenatome im aktiven Zentrum.^[2] Thioredoxin (Trx) und Peroxiredoxin (Prx) sind ähnlich wichtige Proteine mit antioxidativen Aktivitäten. Ihre Funktion basiert auf den Schwefelatomen der Aminosäure Cystein in den aktiven Zentren mit verschiedenen Wirkmechanismen für die Entgiftung von ROS.

Die Entdeckung, dass die Seleneinheit in GPx für die Redoxeigenschaften verantwortlich ist, etablierte Selen als ein essentielles Spurenelement. Etwa 70 µg Selen werden durch die WHO zur durchschnittlichen täglichen Aufnahme empfohlen. Allerdings wurde schon vorher beobachtet, dass Selen eine positive Wirkung auf lebende Organismen hat.^[3] Ein typischer Katalysezyklus für GPx ist in Schema 1 gezeigt, dort fungiert Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel. Nach der Reaktion von Wasserstoffperoxid mit dem Selenol (Enz-SeH) **1** der Aminosäure Selenocystein wird die Selenensäure **2** (Enz-SeOH) gebildet. Die Selenensäure **2** reagiert mit zellulären Thiolen wie GSH zunächst zum Selenenylsulfid **3** (E-



Schema 1. Möglicher Katalysezyklus der Glutathion-Peroxidase (GPx) für die Reduktion von Wasserstoffperoxid mit Regeneration von Glutathion (GSH) durch Glutathion-Reduktase (GR).

Se-SG), um dann mit einem zweiten Thiol-Äquivalent, welches für die Spaltung der Selen-Schwefel-Bindung benötigt wird, Selenol **1** zu regenerieren. Bei diesem Katalysezyklus wird ein Äquivalent Glutathiondisulfid (GSSG) erzeugt, welches durch die NADPH-abhängige Glutathion-Reduktase (GR) wieder zu GSH reduziert wird, um die GSH-Konzentration in der Zelle aufrechtzuerhalten. Große Mengen von ROS können in Gegenwart von GSH zur reversiblen Bildung von Seleninsäure (Enz-SeO₂H) führen. Allerdings führt eine weitere Oxidation zur Selenensäure (Enz-SeO₃H) zur irreversiblen Inaktivierung des Enzyms.

Auch kleine selenhaltige Moleküle können eine Wirkung auf biologische Systeme haben. Die Verbindung Ebselen **4** (Abbildung 1) war eines der ersten Moleküle, die GPx-Ak-

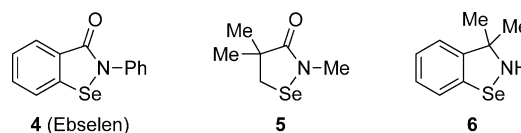
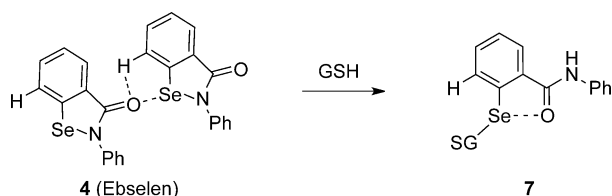


Abbildung 1. Ebselen **4** und verwandte GPx-Mimetika.

[*] Prof. Dr. T. Wirth
School of Chemistry, Cardiff University
Park Place, Main Building, Cardiff CF10 3AT (Großbritannien)
E-Mail: wirth@cf.ac.uk
Homepage: <http://blogs.cardiff.ac.uk/wirth/>

tivität zeigten und daraufhin systematisch untersucht wurden.^[4] Auch verwandte aliphatische Verbindungen **5**^[5] und aromatische cyclische Verbindungen **6**^[6] wurden evaluiert. Viele andere Verbindungen wurden ebenfalls als mögliche GPx-Mimetika untersucht.^[7]

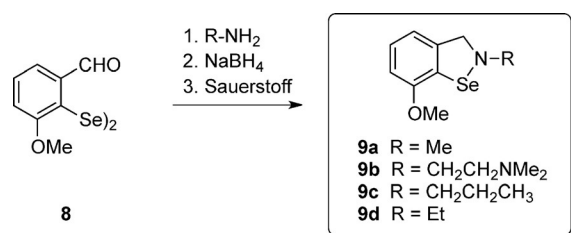
Die geringe Entfernung der Stickstoffeinheit zum Selenatom in den Verbindungen **4–6** ist vergleichbar mit den strukturellen Merkmalen der Aminosäure Selenocystein im aktiven Zentrum von GPx. Dort stabilisieren die Stickstoffatome eines Tryptophans (Trp158) und eines Glutamins (Gln80) das Selenatom während des Redoxprozesses. Neuere Untersuchungen zum Wirkmechanismus von Ebselen und verwandten Verbindungen zeigen, dass die erste Reaktion von Thiolen wie GSH und Ebselen zur Bildung von Selenenysulfiden führt, die, wie in Verbindung **7** in Schema 2 ge-



Schema 2. Reaktion von Ebselen **4** mit GSH.

zeigt, zusätzlich durch nicht-kovalente Selen-Sauerstoff-Wechselwirkungen stabilisiert werden. Die Stärke dieser nichtkovalenten Se...O-Wechselwirkung verhindert tatsächlich die Bildung des katalytisch aktiven Selenols und erklärt die relativ schlechte GPx-Aktivität dieser Verbindungen. Eine aktuelle Untersuchung von Mugesh, Row und Mitarbeitern zeigt, dass diese Se...O-Wechselwirkungen im festen Zustand von Ebselen und Derivaten ungewöhnlich kurz sind. So wird die Spaltung der N-Se-Bindung begünstigt und liefert einen Beitrag zur leichteren Reaktion mit GSH.^[8] Dies ist in der Struktur **4** in Schema 2 gezeigt, wo durchschnittliche Se...O-Abstände von 2.5 Å und CH...O-Abstände von 2.35 Å beobachtet werden.

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse hat die Suche nach neuen GPx-Mimetika, die das Potenzial zum Schutz von Säugerzellen vor oxidativen Schäden besitzen, vor kurzem einen wichtigen Durchbruch erzielt: D'Silva und Mugesh et al. synthetisierten hocheffiziente Isoselenazole des Typs **9** (Schema 3).^[9] Diese Verbindungen sind in wenigen Syntheseschritten aus dem leicht zugänglichen Diselenid **8**^[10] durch



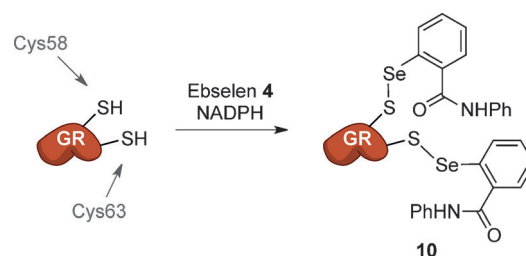
Schema 3. Synthese neuer GPx-Mimetika **9a–d**.

Iminbildung und Reduktion, gefolgt von spontaner Cyclisierung erhältlich.^[11] Während Verbindungen mit aromatischen Substituenten R nicht spontan cyclisieren und als Diselenide stabil sind, können die hier vorgestellten Verbindungen **9a–d** nur als Isoselenazole isoliert werden. Ähnliche Diselenide^[12] und andere selenhaltige Verbindungen^[13] wurden ebenfalls als potentielle GPx-Mimetika untersucht.

Verbindungen **9a–d** haben eine bemerkenswerte Aktivität als GPx- und Prx-Mimetika und sind etwa 2- bis 3-mal aktiver als Ebselen **4**. Verschiedene Testsysteme (unterschiedliche Wasserstoff-Peroxide und Thiole) wurden evaluiert, aber D'Silva, Mugesh und Mitarbeiter untersuchten auch das antioxidative Potential der Verbindungen **9** in menschlichen Zelllinien. Durch die Hemmung des antioxidativ wirkenden Enzyms Katalase in der Zelle waren die Autoren in der Lage, zelluläre ROS-Konzentrationen mit einer Fluoreszenzsonde zu messen. Dadurch konnten sie zwischen den drei wichtigsten Komponenten des Antioxidationsystems durch selektive Hemmung von GSH, Trx und Glutaredoxin (Grx) unterscheiden. Die Behandlung der Zellen mit den Verbindungen **9** ergab eine verminderte Fluoreszenz, was auf die Abfangfähigkeit von ROS hindeutet. Es wurde festgestellt, dass GSH oder Trx wesentlich für die antioxidative Aktivität von Isoselenazolen **9** ist, wobei Trx eine wichtige Rolle bei der Förderung der antioxidativen Aktivität spielt.

Zudem wurde die Schädigung von zellulären Hauptkomponenten wie DNA, Proteinen oder Lipiden durch ROS in Abwesenheit sowie in Gegenwart von Verbindungen **9** unter die Lupe genommen. Hier wurde das Ausmaß der DNA-Schädigung mithilfe eines Antikörpertests untersucht. Während Ebselen **4** einen etwa 70%igen Schutz liefert, zeigen Verbindungen **9a** und **9c** eine bemerkenswerte Vermeidung von DNA-Schäden von über 95%.

Bei der Entwicklung von Verbindungen mit antioxidativen Eigenschaften ist die Bestimmung der Toxizität besonders wichtig. So wurde auch die Wirkung der Verbindungen auf durch oxidativen Stress verursachten Zelltod untersucht. Es wurde gefunden, dass die Toxizität der Verbindungen **9** um ein Vielfaches niedriger liegt als die von Ebselen **4**. Die Letalität stieg jedoch bei Erschöpfung des zellulären GSH und Trx. Die Toxizität von Ebselen **4** ist vermutlich auf der Hemmung der GR durch Ebselen zurückzuführen, da die Existenz des entsprechenden Selenenysulfides **10** spektrometrisch bestätigt wurde (Schema 4). Damit scheint der erste experimentelle Nachweis für eine von Selenverbindungen wie **4** verursachte GR-Hemmung in Säugerzellen gelungen zu sein.



Schema 4. Vorgeschlagene Inhibierung von GR durch Ebselen **4**.

Durch die ausgezeichneten antioxidativen Aktivitäten sind die neuartigen Isoselenazole **9** in der Lage, effizient mit ROS in Gegenwart von GSH und Trx zu reagieren und DNA-Schädigungen zu verhindern. Das sehr niedrige Toxizitätsprofil legt nahe, dass diese Verbindungen das Potential für weitere Entwicklungen therapeutischer Mittel haben. So

können in Zukunft mit oxidativem Stress verbundene Krankheiten behandelt werden, da diese Verbindungen die antioxidativen Systeme in Säugertierzellen unterstützen.

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10074–10076
Angew. Chem. **2015**, *127*, 10212–10214

-
- [1] L. Flohé, E. A. Günzler, H. H. Schock, *FEBS Lett.* **1973**, *32*, 132.
 - [2] O. Epp, R. Ladenstein, A. Wendel, *Eur. J. Biochem.* **1983**, *133*, 51.
 - [3] a) J. Pinsent, *Biochem. J.* **1954**, *57*, 10; b) G. N. Schrauzer, *Selen, Johann Ambrosius Barth, Heidelberg*, **1998**.
 - [4] a) A. Müller, E. Cadenas, P. Graf, H. Sies, *Biochem. Pharmacol.* **1984**, *33*, 3235; b) A. Wendel, M. Fausel, H. Safayhi, G. Tiegs, R. Otter, *Biochem. Pharmacol.* **1984**, *33*, 3241.
 - [5] H. J. Reich, C. P. Jasperse, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5549.
 - [6] J. Chaudiere, J.-C. Yadan, I. Erdelmeier, C. Tailhan-Lomont, M. Moutet in *Oxidative Processes and Antioxidants* (Hrsg.: R. Paoletti), Raven Press, New York, **1994**, S. 165.
 - [7] a) B. J. Bhuyan, D. S. Lamani, G. Mugesh, T. Wirth in *Handbook of Chalcogen Chemistry, Vol. 2* (Hrsg.: F. Devillanova, W.-W. du Mont), RSC, Cambridge, **2013**, S. 25; b) C. Santi, C. Tidei, C. Scalera, M. Piroddi, F. Galli, *Curr. Chem. Biol.* **2013**, *7*, 25.
 - [8] S. P. Thomas, K. Satheeshkumar, G. Mugesh, T. N. G. Row, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 6793.
 - [9] D. Bhowmick, S. Srivastava, P. D'Silva, G. Mugesh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *53*, 8449; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 8569.
 - [10] D. J. Press, N. M. R. McNeil, M. Hambrook, T. G. Back, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 9394.
 - [11] K. P. Bhabak, G. Mugesh, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1408.
 - [12] V. Nascimento, N. L. Ferreira, R. F. S. Canto, K. L. Schott, E. P. Waczuk, L. Sancineto, C. Santi, J. B. T. Rocha, A. L. Braga, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 131.
 - [13] D. Bartolini, M. Piroddi, C. Tidei, S. Giovagnoli, D. Pietrella, Y. Manevich, K. D. Tew, D. Giustarini, R. Rossi, D. M. Townsend, C. Santi, F. Galli, *Free Radical Biol. Med.* **2015**, *78*, 56.
-
- Eingegangen am 3. Juni 2015
Online veröffentlicht am 16. Juli 2015