

Mn-SOD 模拟物及其在神经退行性疾病中的药用前景

丁 隽 林 骏 陈兰明 郭子建*

(南京大学配位化学国家重点实验室,
南京大学生物医药技术国家重点实验室, 南京 210093)

本文通过分析神经退行性疾病与线粒体机能障碍、自由基损伤的关系, 主要讨论了 Mn-SOD 模拟物作为自由基清除剂对活性氧化化合物的清除机理、药用优势, 并总结了近年来有关 Mn-SOD 模拟物在神经退行性疾病防治方面的研究近况及潜在应用前景。

关键词: Mn-SOD 模拟物 自由基清除剂 神经退行性疾病
分类号: O641.4

近年来, 无机药物化学已经逐渐形成一门独立的、新兴交叉学科, 无机化合物在医学中的应用得到了广泛的重视^[1~3]。在金属药物的研究方面, 超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)模拟物由于在功能方面的重要性以及其与天然产物相比所具有的显著优势而备受人们的关注^[4]。最近几年, Melov^[5]和 Salvemini^[6]等学者分别在 Nature Gene. 和 Science 上发表了有关 Mn-SOD 模拟物生物活性的研究成果。他们的工作推动了该领域的快速发展。毫无疑问, Mn-SOD 模拟物, 尤其是 Mn^{II}和 Mn^{III}大环化合物所表现出的药用潜力将有望在神经退行性疾病的防治方面取得突破。

1 神经退行性疾病和线粒体机能障碍

近年来, 阿尔茨海默氏症 (Alzheimer's Disease, AD), 帕金森氏症 (Parkinson's Disease, PD) 等多种神经退行性疾病对人类健康产生了日益严重的影响, 从而引起人们的广泛关注。虽然它们的临床表现和遗传病因各不相同, 但随着科学研究的不断深入, 大量事实表明线粒体机能障碍可能是神经退行性疾病最终的共同致病原因^[7]。总的说来, 线粒体机能障碍可引起一系列生理功能的变化, 如导致能量产生受损, 细胞中 Ca²⁺浓度变化, 蛋白酶和磷脂酶的激活, NO 合成酶的激活以及自由基的产生等。

线粒体是真核细胞内的一种重要而独特的细胞器, 其主要功能是进行氧化磷酸化, 即催化代谢物氧化释放的电子通过一系列电子传递体从 NADH 或 FADH₂ 传到 O₂, 同时将 ADP 磷酸化产生 ATP。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 编码 13 种多肽, 它们都是线粒体电子传递链的亚基。如果 mtDNA 突变太多, 而且这种突变引起了电子传递链中重要成分的改变, 氧化磷酸化有可能降低到不能维持细胞新陈代谢的程度。神经元是一类需要大量能量的细胞, 因此

收稿日期: 2001-02-14。收修改稿日期: 2001-03-29。

国家自然科学基金资助项目 (No. 29925102)。

* 通讯联系人。

第一作者: 丁 隽, 男, 22 岁, 硕士; 研究方向: 生物无机化学。

在这种情况下神经元尤其容易受到损伤。

2 自由基清除与疾病防治

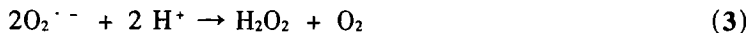
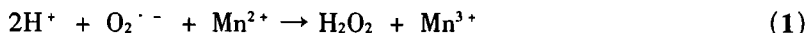
自由基是含有未成对电子的原子、原子团或分子,它们一般有很高的反应活性。绝大多数自由基是不稳定的,它们可以从周围的分子中夺取一个电子,从而导致氧化损伤。细胞内有多处产生自由基的场所,但线粒体被认为是最最重要的一个。mtDNA 由于靠近呼吸链,只有有限的修复机制和很少的非编码序列,并且缺少组蛋白等诸多原因,对氧化损伤尤其敏感。

因此,自由基对线粒体的损伤受到了科学家们的广泛重视。目前已知的实验数据表明活性氧化合物毒性的积累程度是决定寿命长短的一个重要因素,而神经系统,尤其是运动神经元,可能是重要的靶点^[8]。所以具有清除自由基和抗氧化损伤能力的化合物将有望成为治疗这些疾病的潜在药物。SOD 已被证明可以保护细胞免于多种氧化损伤,果蝇中 SOD 和过氧化氢酶的共同过量表达可以延缓多种衰老变化的发生^[9]。

以维生素 E、抗坏血酸、谷胱甘肽、茶多酚以及硒代蛋氨酸为代表的天然抗氧化剂是首先应用在神经退行性疾病防治研究中的几类化合物。它们的共同特点是具有强的还原能力和自由基清除能力。以有机硒化合物为例,它们的一个重要作用是其抗氧化功能。除谷胱甘肽过氧化物酶外,许多含硒有机化合物均具有很强的自由基清除功能^[10]。最近的研究表明硒代蛋氨酸和硒代胱氨酸具有类似于 GSH-Px 的效能,它们可以保护 DNA 免受 ONOO⁻等自由基的损伤^[11]。众所周知的含硒化合物的免疫作用也与其自由基清除功能有关。所以含硒有机化合物在退行性疾病防治研究中具有一定的应用前景。

SOD 模拟物与天然 SOD 相比有着更显著的优点。首先是获取和制备比天然 SOD 要简单得多。天然 SOD 要从人或生物中提取,这就决定了天然 SOD 的提取必然困难重重而且产量不高。而模拟 SOD 可以从化学方法来人工合成,其物质和能量消耗率低且产量不会受到限制。其次,天然 SOD 作为一种生物大分子,在进入体内时存在着诸如进入细胞能力弱;细胞渗透性差;在血中半衰期短(在人体中 SOD 只是在很短的时间内稳定,其半衰期为分钟级);不能口服;价格昂贵等缺点^[4]。另外,对于非人体 SOD,还存在着造成免疫损伤的可能。所以人们把目光投向了 SOD 模拟物,尤其是低分子量模拟物上。

早期的研究工作大都集中在 Cu, Zn-SOD 的模拟上,有的模拟物在体外具有与天然 Cu, Zn-SOD 相近的活性,但在体内却不稳定,易为生物配体所取代^[12]。另外,游离的 Cu 离子在体内有较高的毒性。与 Cu, Zn-SOD 相比,Mn-SOD 的活性中心结构简单,而且在生物体内 Mn 离子的毒性最小,因此 Mn-SOD 模拟物的合成研究最近受到广泛关注。Mn 离子在模拟物中起活性中心的作用,处于还原态的 Mn^{II}能通过单电子还原过程将 O₂^{·-}转变为 H₂O₂,而自身变为 Mn^{III}(反应式 1)。同时,Mn^{III}也能氧化 O₂^{·-}为 O₂,自己则被还原为 Mn^{II}(反应式 2)。因而 Mn-SOD 模拟物的催化过程的总反应就是将体内的超氧化物歧化为 O₂ 和毒性较小的 H₂O₂(反应式 3)。最后 H₂O₂ 可以通过体内其他一些酶的作用而被生物体代谢掉。



近年来,一系列具有高 SOD 活性的锰的配合物被合成出来,为 SOD 模拟物在临床上的应用开发奠定了基础。从目前报道的情况看,比较成功的 Mn 模拟物可以概括为以下三类^[4]。值

得注意的是其中一些模拟物的活性已经接近或超过天然 SOD 的活性,其中下面将要讨论的配合物 EUK-8 和 M40403 是最被看好的两个化合物,它们有望成为临床药物^[13]。

3 Mn-SOD 模拟物

3.1 Mn(III) salen 模拟物

Eucarion 公司申请了一系列含水杨酸和胺的希夫碱衍生物和 Mn(III)的配合物(图 1, 2) 临床应用的专利^[14]。通过动物实验证明,这一系列模拟物对由超氧阴离子产生的心肌梗塞、缺血再灌注损伤和神经错乱等疾病有疗效。其中 Bruce 等的工作^[15]表明 EUK-8 这种模拟物对由 β 淀粉样蛋白(β -amyloid peptide, β -AP)引起的海马切片组织中的神经元损伤起到保护作用。同时,在帕金森氏症的两个小鼠模型中,EUK-8 能保护纹状体的多巴胺能细胞。而另一种模拟物 EUK-134 被认为具有 SOD 和过氧化氢酶的双重活性,它在中风的鼠模型中能起治疗作用^[4]。

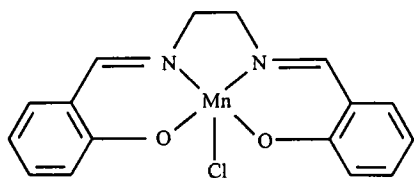


图 1 配合物 EUK-8 的结构图

Fig. 1 Structure of complex EUK-8

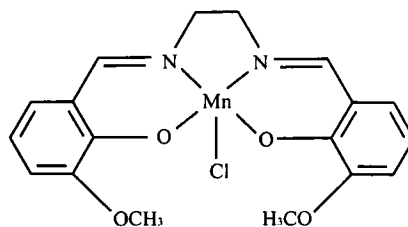


图 2 配合物 EUK-134 的结构图

Fig. 2 Structure of complex EUK-134

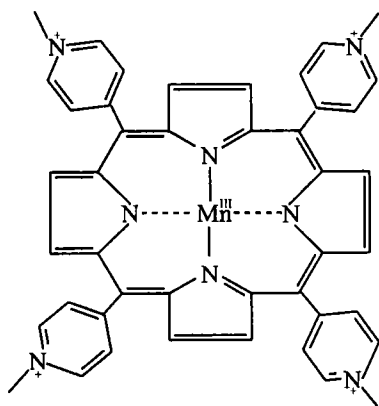


图 3 配合物 Mn(TMPyP) 的结构图

Fig. 3 Structure of complex Mn(TMPyP)

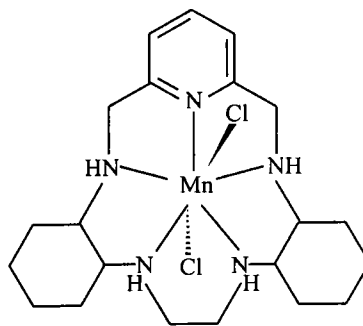


图 4 配合物 M40403 的结构图

Fig. 4 Structure of complex M40403

3.2 Mn(III)卟啉模拟物

杜克大学申请了覆盖一系列含卟啉的 Mn(III)化合物(图 3)的结构和临床应用的专利^[16]。实验结果表明它具有 Mn-SOD 模拟物的作用和抗炎作用。其中 Mn(TMPyP)[manganese tetrakis(1-methyl-4-pyridyl) porphyrin]能够抑制氧化损伤,同时能保护 Mn-SOD 和 Fe-SOD 缺陷的大肠杆菌。另一模拟物 MnTBAP[manganese tetrakis(4-benzoic acid) porphyrin]也受到广泛关注。Melov 等科学家^[5]用 MnTBAP 处理 SOD 基因缺失的转基因小鼠[Sod2^{tmCje}(-/-)]发现 MnTBAP 处理的转基因鼠与对照小鼠相比脑部病变症状得到缓解,寿命得到明显延长。这一实验为研究

自由基与神经退行性疾病间的关系以及筛选治疗这些疾病的新药建立了极好的模型。但卟啉类模拟物作为药物的不足在于它们的副作用,它们存在着多种还原途径,且容易与体内的 DNA 及 RNA 键合,毒性较大,目前尚未用于临床试验。

3.3 Mn(Ⅲ)的 1, 4, 7, 10, 13- 五亚胺环十五烷配合物的衍生物(M40403)

含氮大环作为配体的各种模拟物也是当前研究的热点之一(图 4)。这类模拟物在活性上已经达到甚至超过天然 SOD(表 1),在动物实验中也已取得理想的效果,可望成为新型抗炎药物。M40403 不仅有较高的 SOD 活性,而且在体内有着很好的化学和生物稳定性。将其注射入患有炎症或缺血再灌注损伤的老鼠体内可以防止组织损伤^[6]。当 M40403 被注入到老鼠体内后,它扩散到心脏、肺、大脑、肝脏和肾脏等器官而不发生任何分解反应。通过对 M40403 的代谢研究发现在体内不会因与一氧化氮(NO)、过氧化氢(H₂O₂)和过亚硝酸根(OONO⁻)发生作用而产生其它有毒物质。因而 Mn-SOD 模拟物具备药物所应有的体内安全性。

表 1 部分 Mn-SOD 模拟物的活性

Table 1 Activities of some Mn-SOD Mimics

	EUK-8	Mn(TMPyP)	M40403	natural Mn-SOD
pH value	8.0	7.4 ~ 7.8	6	
$k/(L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1})$	8×10^5	1×10^7	2×10^8	10^9

4 展 望

功能 SOD 模拟物在治疗由氧化应激所导致的疾病方面有着非常广阔的应用前景。低分子量 SOD 模拟物成为热点源于以下优点:无免疫损伤;低物质消耗性;组织渗透性好;潜在的口服性以及体内可能具有更高的稳定性等。合成具有更高活性和更好稳定性的模拟物将是未来工作的重点。Mn^Ⅲ(salen)复合物和 Mn^Ⅱ([15]aneN₅)衍生物在治疗很多疾病上有极强的潜力,它们也是迄今为止报道用于动物模型测试最多的两类化合物。

对这些新的 SOD 模拟物的探索使我们能更好地理解超氧阴离子、过氧亚硝基阴离子、一氧化氮等自由基的生物学功能,从而使我们对线粒体机能障碍在疾病中作用的理解不断深化。有理由相信,SOD 模拟物的研究将不仅在揭示与线粒体机能障碍相关疾病的机理方面发挥重要作用,而且将为发现对这些疾病具有治疗作用的特效药物奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Guo Z., Sadler P. J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, **38**, 1512.
- [2] Guo Z., Sadler P. J. *Advances Inorg. Chem.*, **2000**, **49**, 183.
- [3] *Chem. Rev.* **1999**, **99**(9), Special Issue on Medicinal Inorganic Chemistry.
- [4] Riley D. P. *Chem. Rev.*, **1999**, **99**, 2573.
- [5] Melov S., Schneider J. A., Pay B. J. et al *Nature Gene.*, **1998**, **18**, 159.
- [6] Salvemini D., Wang Z. Q., Zweier J. L. et al *Science*, **1999**, **286**, 304.
- [7] Beal M. F. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1998**, **1366**, 211.
- [8] Wallace D. C., Melov S. *Nature Gene.*, **1998**, **19**, 105.
- [9] Orr W. C., Sohal R. S. *Science*, **1994**, **263**, 1128.
- [10] XU Hui-Bi(徐辉碧), HUANG Kai-Xun(黄开勋) *Selenium: Its Chemistry, Biochemistry and Application in Life*

- Science* (硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用), Wuhan: Huazhong University of Science and Technology Press, 1994.
- [11] Roussyn I., Briviba K., Masumoto H. et al *Arch. Biochem. Biophys.*, **1996**, **330**(1), 216.
- [12] LUO Qin-Hui(罗勤慧) *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao*(*Chem. J. Chinese Universities*), **1997**, **18**, 1012.
- [13] Kramer R. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, **39**(24), 4469.
- [14] EUKARION, Inc. *U. S. Patent US5696109*, **1997**;
EUKARION, Inc. *PCT Int. Appl. WO9640148*, **1996**;
EUKARION, Inc. *PCT Int. Appl. WO9640149*, **1996**;
EUKARION, Inc. *PCT Int. Appl. WO9413300*, **1993**.
- [15] Bruce A. J., Malfroy B., Baudry M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, **93**(6), 2312.
- [16] Duke University *PCT Int. Appl. WO9609053*, **1996**;
Duke University *WO9640223*, **1996**;
Duke University *U. S. Patent US5227405*, **1993**.

Mn-SOD Mimics and their Potential Application in the Protection of Neurodegenerative Diseases

DING Jun LIN Jun CHEN Lan-Ming GUO Zi-Jian

(*State Key Laboratory of Coordination Chemistry and State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, Nanjing University, Nanjing 210093*)

This article has reviewed the latest advances in neurodegenerative diseases, focusing on their relationship with mitochondrial dysfunction and free radical damage. The latest research advances on the functional mimics of Mn-SOD as promising therapeutic agents to neurodegenerative diseases are summarized. The Mn-SOD mimics possess several advantages over native enzymes on stability, efficacy and toxicity. Progress in the field is heavily dependent on the understanding of the chemical bases of the diseases and the discovery of novel protective and therapeutic agents.

Keywords: Mn-SOD mimics free radical scavenger neurodegenerative diseases