

# Каталитические антиоксиданты: потенциальные терапевтические средства для коррекции патологий, вызываемых оксидативным стрессом

Лыско А.И., Дудченко А.М.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Патогенная роль свободнорадикальных процессов к настоящему времени выявлена приблизительно для ста заболеваний человека. Металлсодержащие каталитические антиоксиданты (КА) представляют собой новый класс потенциальных терапевтических средств. КА это комплексные соединения, которые обладают действием, подобным супероксиддисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и пероксидазе, основных ферментов, которые эффективно защищают ткани млекопитающих от оксидативного стресса. Применение КА открывает новый подход для коррекции патологических процессов, обусловленных оксидативным стрессом. Одно из наиболее ценных свойств КА состоит в том, что они являются сквенджерами пероксинитрита. Имеются различные классы металлсодержащих КА, показавших свою эффективность на ряде моделей оксидативного стресса человека. Наиболее важными приложениями КА-терапии могут быть сердечно-сосудистые, нейродегенеративные и воспалительные заболевания. В настоящее время некоторые фармацевтические компании («Metaphore Pharmaceuticals», «Eukarion», «Aeolus Pharmaceuticals») проводят клинические испытания КА.

**Ключевые слова:** каталитические антиоксиданты, оксидативный стресс, свободнорадикальные процессы, коррекция патологических процессов

## Введение

Участие свободнорадикальных процессов в патогенезе многих заболеваний становится все более очевидным. При этом в инициации этих процессов принимают участие активные формы кислорода, АФК (супероксидный анион радикал и перекись водорода). Показано, что свободные радикалы и АФК играют фундаментальную роль в механизме развития около ста заболеваний человека [30]. Достаточно указать на такие патологии, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, воспалительные явления (как следствие избыточного образования супероксидного аниона), реперфузионное поражение тканей мозга и миокарда. Основываясь на данных о механизмах патогенеза того или иного заболевания, возникает вопрос: какие потенциальные фармакологические средства могут быть использованы в целях противодействия этим патологическим процессам. В связи с этим внимание исследователей привлекает широкий класс соединений, называемых *антиоксидантами*.

В природе существуют антиоксиданты двух основных типов. Во-первых, это относительно низкомолекулярные соединения — сквенджеры (scavengers), или «ловушки» свободных радикалов (в частности, они устраняют гидроксильный радикал  $\text{OH}^\bullet$ ). Их много и, очевидно, этот список будет увеличиваться [4].

Во-вторых, это ферментативные антиоксиданты: супероксиддисмутазы; каталаза, глутатион-пероксидаза и гемовые пероксидазы. Они устраняют не полностью восстановленные формы кислорода ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

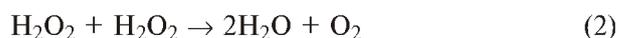
Исключительно важную роль при этом играет супероксиддисмутазы, катализирующая реакцию:



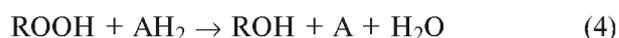
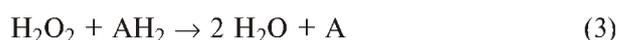
Супероксиддисмутазы составляют класс оксидоредуктаз, содержащих в своем активном центре либо Cu/Zn (SOD1, SOD3), либо Mn (SOD2 или MnSOD), а также ион

железа, Fe [66]. MnSOD сконцентрирована в митохондриях, SOD I — в цитозоле, а SOD3 во внеклеточной среде.

Образующаяся перекись водорода является субстратом для каталазы (2).



Кроме того, для защиты от перекиси водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), и гидроперекисей (в том числе и гидроперекисей липидов) современные аэробные клетки располагают пероксидазами. При этом  $\text{H}_2\text{O}_2$  восстанавливается до воды (3), а гидроперекиси — до соответствующих спиртов (ROH) (4) с использованием разнообразных восстановителей ( $\text{AH}_2$ ):



В животной клетке восстановление гидроперекисей до спиртов происходит главным образом при участии глутатионпероксидазы. Эту реакцию могут катализировать и гемовые пероксидазы, широко распространенные в тканях растений. Гемовые пероксидазы имеются и в организме человека и животных, например: лактопероксидаза, пероксидазы эозинофилов, тироидная пероксидаза, миелопероксидаза нейтрофилов.

Уровень ферментативных антиоксидантов находится под генетическим контролем. *In vivo*, как правило, соотношение активностей этих ферментов сопряжено и сбалансировано.

Ферментативные антиоксиданты интересны тем, что на 4–5 порядков более эффективны по сравнению с неферментными антиоксидантами. Они играют решающую роль в защите от активных форм кислорода (АФК) *in vivo*.

Наиболее часто используемыми в экспериментальной практике являются Cu/Zn-SOD или SOD-1. При этом результаты оказываются неоднозначными, особенно при использовании нативной формы фермента [42].

К настоящему времени разработаны и применяются в клинической практике лишь препараты на основе супероксиддисмутазы. Данные экспериментов свидетельствуют об эффективности использования препаратов Cu/Zn-SOD в терапии различных патологий [5]. Разработан также отечественный препарат, получаемый из эритроцитов человека (Патент РФ №2111754).

Была показана также возможность сочетанного использования различных комбинаций SOD и CAT, а также их конъюгатов на модели артериального тромбоза у крыс [1].

В доклинических испытаниях на животных было показано защитное действие MnSOD при моделировании ряда патологий (ишемия-реперфузия, воспалительные процессы, различные тканевые поражения, болезнь Паркинсона, онкологические модели, иммунодефицитные состояния, а также — поражение тканей, как неизбежное следствие радиационной терапии) [59].

Наиболее известен препарат под торговым наименованием *peroxinorm* (Grüntahl, Германия) международное название *orgotein*. Действующим началом препарата является Cu/Zn-SOD из печени крупного рогатого скота. Клинические исследования препарата *orgotein* показали положительный эффект у пациентов, страдающих ревматоидным артритом, остеоартритом, а также при воспалительных заболеваниях кишечника, поражениях, вызываемых радиационной терапией (например, фиброз легких) [24].

Однако в настоящее время данный препарат отозван с фармацевтического рынка из-за вызываемых им серьезных побочных эффектов. Были выявлены следующие недостатки, характерные для препаратов такого рода [24]:

1. Иммуногенность;
2. Неспособность проникать через мембраны во внутриклеточное пространство, где и образуется  $O_2^{\bullet-}$ . Неспособность проникать через гематоэнцефалический барьер;
3. Короткий биологический полупериод существования (6 часов);
4. Колоколообразная форма кривой доза — эффект;
5. Большая стоимость препарата.

Именно наличие большого числа аллергических реакций, связанных с применением такого рода препаратов, а также, ряда других потенциальных опасностей, сильно ограничивают терапевтическое использование препаратов на основе нативной SOD.

Эти недостатки и ограничения привели к мысли о создании препаратов, обладающих в той или иной степени свойствами указанных ферментативных антиоксидантов, но у которых отсутствуют эти очевидные недостатки. Такие препараты получили название *каталитических антиоксидантов*, *КА*, (catalytic antioxidants) [16] или миметиков (mimics, mimetics) ферментативных антиоксидантов.

Хотя в англоязычной научной литературе прошлых лет каталитическим антиоксидантам был посвящен ряд обзоров [19, 54, 60], в отечественной научной литературе это важное направление обошли вниманием.

Цель разработки каталитических антиоксидантов — разработка фармацевтических препаратов для коррекции патологических состояний, обусловленных свободнорадикальными процессами.

Одним из самых перспективных направлений исследований, проводимых за рубежом, стали поиски миметиков антиоксидантных ферментов, — супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы.

*Микропероксидазы (гем-пептиды)*. К первым работам по каталитическим антиоксидантам следует отнести серию исследований, проведенных в 70-х годах прошлого века японскими исследователями М. Мурата с соавторами, термин «каталитические антиоксиданты» тогда не использовался.

Они показали [47, 48], что гем-октапептид, получаемый из дрожжевого цитохрома С, обладает антигипоксической активностью. Авторы предположили, что известный к тому времени фармакологический эффект цитохрома С обусловлен не его редокс-свойствами как переносчика электронов в митохондриях, а действием продуктов его протеолитического разложения — гем-пептидов.

Гем-пептиды были получены в качестве продуктов протеолитического гидролиза цитохрома С [69]. Они представляют собой ковалентно связанные с гемом участки аминокислотной последовательности цитохрома С. На рис. 1 представлены структурные формулы трех наиболее известных гем-пептидов цитохрома С.

Гем-пептиды существенно отличаются по своим физико-химическим свойствам от цитохрома С. Они могут накапливаться в организме. Меченые гем-пептиды медленно выводятся из организма, адсорбируются на поверхности клеток и связываются со стенками сосудов [47].

Первое применение на практике гем-пептиды, благодаря их относительно малому молекулярному весу (около 2 нанометров), нашли в качестве маркеров для визуализации ультраструктуры клеток в световой и электронной микроскопии [25, 64] вместо широко используемой пероксидазы хрена. Благодаря своим относительно малым размерам, гем-пептиды получили название «микропероксидазы».

М. Мурата с соавторами провели изучение антигипоксического действия гем-октапептида на модели гемической гипоксии у кроликов и нормобарической гипоксии у крыс. Было показано его антигипоксическое действие [48]. Нами также было показано антигипоксическое действие гем-нонапептида на мышцах при профилактическом введении и в период восстановления после острой гипобарической гипоксии [2].

Спектор с соавторами [67] показали, что микропероксидазу II можно использовать в качестве потенциального средства для лечения катаракты.

В норме во внутриглазной жидкости концентрация перекиси водорода составляет около 24 мкМ, а у больных катарактой — 69 мкМ [66]. В других же органах ее концентрация поддерживается на наномолярном уровне. Это указывает на исключительно важную роль перекиси водорода в процессе катарактогенеза. Полагают, что перекись водорода является главным оксидантом, вызывающим потерю прозрачности хрусталика. В норме существует равновесие между скоростью образования поперечных сшивок молекул кристаллина и активностью ленткулярных пептидаз, устраняющих эти сшивки, а при нарушении этого равновесия наступают драматические последствия.

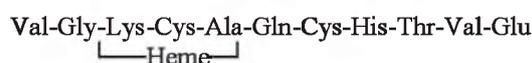
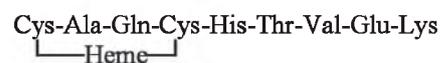
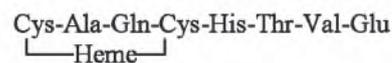


Рис. 1. Структурные формулы трех наиболее известных гем-пептидов цитохрома С

То есть, авторы использовали ранее показанную пероксидазную активность гем-пептидов на модели катарактогенеза. В качестве донора электронов применялся дигидроаскорбат. Стоит отметить, что гем-пептиды могут использовать также в качестве доноров электронов и восстановленные пиридиннуклеотиды (НАД(Ф)Н) [3].

Известно, что среди немногих средств для лечения катаракты уже давно используется цитохром С. Это препарат ОФТАН КАТАХРОМ (OFTAN CATACHROM), действующим началом которого является цитохром С (675 мг/мл). Логично предположить, что в данном случае действует не сам цитохром С как таковой, а продукты его протеолитического разложения, — гем-пептиды, обладающие пероксидазной активностью и устраняющие избыток перекиси водорода.

#### SOD-миметики

Наибольший интерес в качестве SOD-миметиков вызывают комплексные соединения, содержащие медь, железо и марганец [7, 8, 9, 13, 15, 20, 22, 27, 31, 34, 35, 37, 39, 43, 44, 50, 56, 57, 62, 65, 68, 72].

Среди указанных комплексных соединений в качестве SOD-миметиков наибольшее внимание привлекли металлопорфирины и их производные [7, 8, 9, 15, 37, 56, 65].

В частности, в качестве центрального иона был выбран марганец (III), поскольку при этом обеспечивалась высокая стабильность комплекса металл-лиганд. И, кроме того, марганец (III)-порфирины обеспечивали достаточно высокую константу скорости реакции, порядка  $4 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [21, 52]. К тому же свободные ионы Mn менее токсичны по сравнению с ионами железа или меди, так как не участвуют в реакциях Фентона.

И еще один интересный факт заключается в том, что мыши, дефицитные по Mn-SOD, имеют значительно меньшую продолжительность жизни по сравнению с мышами, у которых отсутствует Cu/Zn-SOD [14], что наводит на мысль об особой роли MnSOD.

В принципе, соответствующий SOD-миметик должен иметь стандартный редокс-потенциал, близкий к таковому для нативной SOD, должен обладать высокой химической стабильностью, а также иметь достаточно большую константу реакции дисмутации супероксидного аниона, и, кроме всего прочего, должен хорошо проникать через биологические мембраны и гематоэнцефалический барьер [54, 42].

Mn-содержащие SOD-миметики делятся на селективные (макроциклические) и неселективные, куда включены селены и порфирины (рис. 2).

#### Макроциклические (селективные) миметики

Структура макроциклических миметиков представляет собой пента-аза-макроциклический лиганд, в центре которого расположен ион марганца, Mn (II) (разрабатывается компанией «Metaphore Pharmaceuticals», <http://www.metaphore.com>). Эти пентакоординированные соединения имеют только одно свободное координационное место, что позволяет осуществляться переносу только одного электрона [58]. (Для восстановления перекиси водорода и пероксинитрита необходим перенос двух электронов). При реакции дисмутации ион марганца претерпевает циклический переход между двумя валентными состояниями:  $\text{Mn(II)} \leftrightarrow \text{Mn(III)}$ .

Уникальность этого класса соединений заключается в том, что они являются специфическими сквенджерами  $\text{O}_2^{\bullet-}$ .

Доклинические испытания, проведенные компанией «Metaphore Pharmaceuticals», на стандартных моделях на животных показали, что селективные миметики, значительно снижают эрозию хрящевой и костной ткани, а также — хроническое воспаление. Они значительно снижали повышенный уровень двух провоспалительных цитокинов и других факторов, вовлеченных в развитие артритов у человека. Исследователи пришли к выводу, что селективные КА представляют собой потенциально новые средства для лечения ревматоидного артрита.

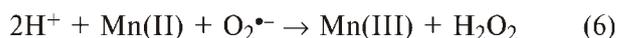
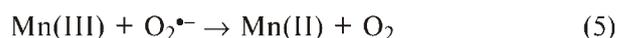
Под названием Imisopasem manganese, M40403 прошел клинические испытания (I и II фаза) примерно на 700 пациентах. В испытаниях принимали участие больные раком кожи и раком почек на конечной стадии (неоперабельные формы меланомы и карциномы почек). При этом препарат показал хорошую переносимость и безопасность.

Кроме того, препарат предлагается в качестве радиопротекторного агента, а также для терапии различных сердечно-сосудистых заболеваний, где существенную роль играют свободнорадикальные процессы.

#### Mn(III) Саленовые комплексы

На рис.1 представлена также структура антиоксиданта саленового класса (компания «Eukarion», <http://www.eukarion.com>). Они представляют собой ароматические замещенные этилендиаминовые металлокомплексы и относятся к неселективным КА. В частности, утверждается, что Mn (III)-содержащие саленовые комплексы могут устранять как  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , так и  $\text{H}_2\text{O}_2$  [18]. Кроме того, было показано, что Mn(III)-саленовые комплексы демонстрируют как супероксиддисмутазную, так и каталазную активность [61].

Хотя механизм действия саленов окончательно не выяснен, полагают, что он может выглядеть следующим образом:



Особое внимание компания уделяет саленовому миметику EUK-134, который обладает SOD-активностью, эквивалентной ранее описанному миметику EUK-8, но имеет значительно более выраженную каталазную активность. Его, в частности, планируют использовать в качестве терапевтического агента при инсульте. В экспери-

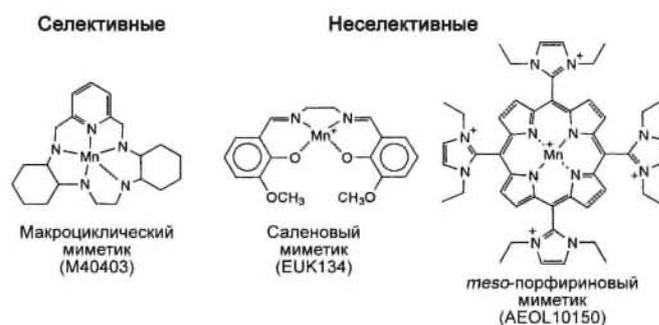


Рис. 2. Структуры каталитических антиоксидантов различных классов. Селективность определялась в экспериментах *in vitro* [16]

ментах на животных было показано, что спустя три часа после окклюзии срединной мозговой артерии, введение EUK-134 значительно снижало размер зоны инфаркта мозга.

Выпущен в продажу препарат «Neostrata», содержащий в качестве действующего начала EUK-134. Средство предназначено для защиты кожи от УФ-лучей.

Однако следует отметить работу [29], в которой авторы приходят к выводу, что Mn-селеновые комплексы не обладают SOD-активностью, а действуют только как сквенджер  $O_2^{\bullet-}$  (измерения проводились с использованием метода стоп-флоу).

#### Металлопорфирины

Металлопорфирины, разработанные компанией «Aeolus Pharmaceuticals», по структуре отличаются от эндогенных порфиринов и относятся к классу синтетических *meso*-замещенных порфиринов. Было показано, что они обладают, по крайней мере, четырьмя типами антиоксидантной активности. Они устраняют  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $ONOO^-$ , а также — пероксидазной активностью (восстанавливают гидроперекиси липидов). За последние годы компания протестировала около 200 соединений этого класса. Как и селены, они содержат ион марганца, который закреплен в комплексе четырьмя координационными связями. Эти не-селективные антиоксиданты осуществляют дисмутацию  $O_2^{\bullet-}$  через последовательное восстановление и окисление иона марганца, подобно тому, как это происходит в нативной Mn-SOD. Каталазная активность указанных металлопорфиринов обеспечивается конъюгированной системой макроцикла, что эквивалентно системе гема эндогенной каталазы и пероксидазы. Как правило, металлопорфирины с более высокой SOD-активностью имеют и более высокую каталазную активность, хотя каталазная активность большей части металлопорфиринов составляет не более 1% от активности нативной каталазы. Несмотря на это, Mn-содержащие порфирины в состоянии защитить клетки от токсичности, вызываемой перекисью водорода [17].

Следует отметить, что среди фталоцианинов также имеются соединения, обладающие одновременно как функцией SOD-миметиков, так и каталазной активностью. В частности это было показано для четырех фталоцианинов (железо-тетракарбокситфалоцианин, медь-тетракарбокситфалоцианин, марганец-тетракарбокситфалоцианин и кобальт-тетракарбокситфалоцианин [26]).

С целью выявления SOD-активности исследовались также марганец-содержащие фталоцианины. В частности было проведено исследование семи Mn-фталоцианинов [46]. Оказалось, что они устраняют  $O_2^{\bullet-}$  не менее эффективно по сравнению с Mn(III)-порфириновыми миметиками. А четыре из них хорошо проникали внутрь клеток.

Относительно механизма, благодаря которому металлопорфирины устраняют пероксинитрит, полагают, что в начале происходит образование комплекса *oxo*-Mn(IV), который затем восстанавливается до Mn(III) с использованием различных эндогенных восстановительных эквивалентов (например аскорбата, глутатиона или даже  $O_2^{\bullet-}$ ) [41].

В качестве центрального иона Mn(III) обеспечивает высокую стабильность комплекса, и достаточно высокую константу скорости реакции (порядка  $4 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [21, 52]).

За последние годы компания «Aeolus Pharmaceuticals», протестировала около 200 соединений этого класса. Предполагается применение этих КА для лечения патологий ЦНС, респираторных и иммунологических заболеваний, а также — при лечении злокачественных новообразований. В настоящее время особые надежды возлагаются на миметик AEOL10150 (рис. 2), предполагается его использование в качестве эффективного защитного средства в условиях острого радиационного облучения и для предотвращения отдаленных последствий поражения здоровых клеток при радиационной терапии злокачественных опухолей.

Реакцию каталитического устранения пероксинитрита могут опосредовать также водорастворимые Fe-порфирины, например: железо (III) *meso*-тетра(2,4,6-триметил-3,5-дисульфonato) порфин (FeTMPS) хлорид, а также — железо (III) *meso*-тетра(*N*-метил-4-пиридил)порфин хлорид (FeTMPyP) [63]. Устранение пероксинитрита является важным свойством металлосодержащих порфиринов. Поэтому стратегия поиска таких средств, которые устраняют пероксинитрит, может оказаться перспективной.

#### Проблема пероксинитрита

Пероксинитрит взаимодействует с липидами, ДНК, белками. Образование пероксинитрита *in vivo* является ключевым звеном таких патологических процессов как инсульт, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность, диабет, циркуляторный шок, хронические воспалительные процессы, онкологические болезни, а также — нейродегенеративные болезни [51].

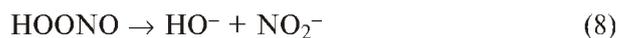
Распадаясь при физиологических pH, пероксинитрит образует такие вредные продукты как нитроний ион ( $NO_2^+$ ), двуокись азота ( $NO_2^{\bullet-}$ ), а также гидроксильный радикал ( $OH^{\bullet}$ ).

В настоящее время становится все более очевидной роль пероксинитрита в развитии различных нейродегенеративных процессов, поэтому актуальной задачей становится поиск фармакологических средств защиты от действия этого мощного прооксиданта и нитрозилирующего агента.

Необходимо выявлять такие КА, которые могли бы вызывать реакцию изомеризации пероксинитрита с образованием нитрата



или, — восстанавливать пероксинитрит до нитрита с использованием соответствующих восстановительных эквивалентов (восстановленного глутатиона, аскорбата, НАД(Ф)Н, или того же супероксидного аниона)



С точки зрения фармакологии такие соединения могут быть интересны, в частности, в связи с проблемой толерантности к опиатным анальгетикам. Вещества, вызывавшие каталитическое расщепление пероксинитрита (при одновременном введении опиатных анальгетиков), значительно тормозили биохимические изменения, вызывающие привыкание к наркотическим препаратам. Своевременное устранение пероксинитрита в нервных клетках значительно усиливало противоболевое действие наркотических анальгетиков [49, 53].

Супероксидный анион-радикал ( $O_2^{\bullet-}$ ) не является сильным прооксидантом. Пара( $O_2/O_2^{\bullet-}$ ) имеет достаточно низкий стандартный редокс-потенциал ( $E_0' = -330$  mV).  $O_2^{\bullet-}$  легко отдает электрон. В азробных системах  $O_2^{\bullet-}$  вырабатывается в митохондриях за счет того, что образующийся при обратном переносе электрона радикал семихинона (например, в условиях аноксии) в состоянии восстанавливать молекулярный кислород до  $O_2^{\bullet-}$ .

Кроме того, следует отметить, что источником образования супероксида может служить также продукт одноэлектронного восстановления окисленной формы пиридиннуклеотидов NAD(P)<sup>•</sup>. Стандартный редокс потенциал пары NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)<sup>•</sup> составляет  $-0,92 - -0,94$  в [6, 23]. В условиях реперфузии процесс образования  $O_2^{\bullet-}$  становится лавинообразным.

Ни супероксидный анион, ни NO *in vivo* сами по себе не вызывают токсического воздействия, поскольку существуют эффективные механизмы, не позволяющие им накапливаться в избыточных количествах [10, 11]. В норме супероксидный анион устраняется с участием СОД, находящейся повсеместно. NO эффективно удаляется за счет диффузии через ткани в эритроциты [12, 36], где с большой скоростью превращается в нитрат в реакции с оксигемоглобином. В то же время, если образование  $O_2^{\bullet-}$  и NO *in situ* происходит на достаточно близком друг от друга расстоянии (порядка расстояния, занимаемого несколькими клетками), они взаимодействуют со скоростью, контролируемой диффузией, приводя к образованию пероксинитрита ( $ONOO^-$ ) [33].



Ситуация может усугубляться в условиях лавинообразного роста концентрации супероксидного аниона в период реперфузии после гипоксии, когда в тканях (или пересаживаемых органах) неизбежно создается избыток восстановительных эквивалентов, причем в системе кровообращения в результате реакции (9) может наступить резкое падение концентрации NO<sup>•</sup> (мощного вазодилатора) и, как следствие, — вазоконстрикция кровеносных сосудов. По-видимому, не в последнюю очередь именно этим обусловлены явления реперфузионного поражения и так называемый эффект «no reflow».

Хотя СОД обладает исключительно высокой константой скорости реакции ( $k_{SOD} = 10^9$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>), скорость образования пероксинитрита на порядок ( $k = 1,9 \times 10^{10}$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) выше, поэтому нативная SOD не может конкурировать с реакцией (9). Тем более не могут конкурировать с этой реакцией и известные в настоящее время СОД-миметики, имеющие константу скорости порядка  $4 \times 10^7$  M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> [21, 52]. Поэтому, хотя стратегия поиска соединений, устраняющих образвавшийся пероксинитрит, безусловно является правильной, но еще более актуальной проблемой является разработка новых SOD-миметиков, обладающих еще более высокой константой дисмутации  $O_2^{\bullet-}$ .

Необходимо отметить работы, в которых показано, что свойствами каталитических антиоксидантов обладают также наночастицы оксида церия. Они проявляют как SOD-, так и CAT-активности [40, 55], причем константа скорости каталитического устранения  $O_2^{\bullet-}$  превосходит таковую для нативной SOD.

Оказалось также [28], что каталитическими антиоксидантами являются наночастицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Они обладают пероксидазной активностью (РА). Наибольшей РА-актив-

ностью обладали частицы наименьшего размера (30 нм). В определенных условиях их РА-активность даже превышала активность пероксидазы хрена (ПОХ). По сравнению ПОХ, они имели более высокую стабильность по отношению к величине pH и температуре. Присутствие в этих наночастицах в определенном соотношении ферро- и ферри- ионов являлось наиболее важным условием их каталитического действия.

Супероксиддисмутазной, каталазной и пероксидазной активностями обладают также наночастицы благородных металлов [32, 38, 70]. Результаты экспериментов *in vitro* показали, что наночастицы платины оказались более мощными SOD-, CAT-миметиками по сравнению с ЕUK-8 (хорошо известным миметиком фармацевтической компании «Eukagion»).

Становится все более очевидной роль активных форм кислорода (супероксидный анион-радикал, перекись водорода), как ключевых медиаторов поражения тканей и органов при заболеваниях различного патогенеза, что однозначно указывает на перспективу применения каталитических антиоксидантов в качестве фармакологических препаратов.

В первую очередь в качестве потенциальных мишеней для терапии с использованием КА следует рассматривать те заболевания, в патогенезе которых четко установлена роль АФК.

Особо следует выделить аутоиммунные заболевания, при которых возможно избыточное образование супероксидного аниона, запускаемое защитной системой хозяина.

Воспалительные заболевания легких, кишечника, сердечно-сосудистой системы, — могут оказаться потенциальными мишенями для терапии с использованием каталитических антиоксидантов.

### Список литературы

1. Ваваев А.В., Тищенко Е.Г., Бурячковская Л.И., Голубых В.Л., Максименко А.В. Сосудистая стенка: оксидативное поражение и внеклеточная защита антиоксидантными ферментами // Кардиологический Вестник. — 2007. — Т. 2, №1. — С. 41—45.
2. Лосев А.С., Бобков Ю.Г., Лыско А.И., Арутюнян А.М., Миронов А.Ф., Румянцев В.Д., Евстигнеева Р.П. Антигипоксическая активность гем-пептидов цитохрома С // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1987. — СIII. — Вып 6. — С. 685—687.
3. Лыско А.И., Лукьянова Л.Д., Дудченко А.М., Арутюнян А.М., Журавлева Д.В., Кулиш М.А., Миронов А.Ф., Евстигнеева Р.П. О механизме антиоксидантного эффекта гем-нонапептида цитохрома С // ДОКЛАДЫ АН СССР. — 1990. — Т. 315, №2. — С. 500—504.
4. Трегубова И.А., Косолапов В.А., Спасов А.А. Антиоксиданты: Современное состояние и перспективы // Успехи физиологических наук. — 2012. — Т. 43, №1. — С. 75—94.
5. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике. Теоретическое обоснование и стратегия проведения. — СПб.: ЭЛБИ, 2003.
6. Anderson R.F., Energetics of the one-electron steps of the NAD<sup>+</sup> / NADH redox couple // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 590. — P. 277.
7. Batinic-Haberle I., Spasojevic I., Hambright R.P., Benov L., Crumbliss A.L., Fridovich I. Relationship among Redox Potentials, Proton Dissociation Constants of Pyrrolic Nitrogens and *in Vivo* and *in Vitro* Superoxide Dismutating Activities of Manganese (III) and Iron(III) Water-Soluble Porphyrins // Inorg. Chem. — 1999. — Vol. 38. — P. 4011—4022.
8. Batinic-Haberle I., Spasojevic I., Stevens R.D., Hambright P., Fridovich I. Manganese(III) meso-tetrakis(ortho-N-alkylpyridyl)porphyrins. Synthesis, characterization and catalysis of  $O_2^{\bullet-}$  dismutation // J. Chem. Soc Dalton Trans. — 2002. — Vol. 13. — P. 2689—2696.

9. Batinic-Haberle I., Spasojevic I., Stevens R.D., Hambright P., Neta P., Okato-Matsumoto A., Fridovich I. New case of potent catalyst of O<sub>2</sub><sup>•-</sup> dismutation. Mn (III) ortho-methoxyethylpyridyl- and di-ortho-methoxyethylimidazolopyrrothins // Dalton Trans. — 2004. — Vol. 11. — P. 1696—1702.
10. Beckman J.S. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite // Chem. Res. Toxicol. — 1996. — Vol. 9. — P. 836—844.
11. Beckman J.S. The physiological and pathological chemistry of nitric oxide // Nitric Oxide: Principles and Actions / Ed. By Lancaster J.R. Orlando, FL: Academic. — 1996. — P. 1—82.
12. Butler A.R., Megson I.L., Wright P.G., Diffusion of nitric oxide and scavenging by blood in the vasculature // Biochem. Biophys. Acta. — 1998. — Vol. 1425. — P. 168—176.
13. Collman J.P., Zhang X., Lee J.V., Uffelman E.S., Brauman J.I. Regioselective and enantioselective epoxidation catalyzed by metalloporphyrins // Science. — 1993. — Vol. 261. — P. 1404—1411.
14. Cuzzocrea S., Riley D.P., Achille P.C., Salvemini D. Antioxidant therapy: A new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury // Pharmacol. Rev. — 2001. — Vol. 53. — P. 135—159.
15. Day B.J., Batinic-Haberle I., Capro J.D. Metalloporphyrins are potent inhibitors of lipid peroxidation // Free Radic. Biol. Med. — 1999. — Vol. 26. — P. 730—736.
16. Day B.J. Catalytic antioxidants: a radical approach to new therapeutics // DDT (Drug Discovery Today). — 2004. — Vol. 9. — P. 557—566.
17. Day B.J., Fridovich I., Crapo J.D. 1997 Manganic porphyrins possess catalase activity and protect endothelial cell against hydrogen peroxide-mediated injury // Arch. Biochem. Biophys. — 1997. — Vol. 347. — P. 256—262.
18. Doctrow S.R., Huffman K., Marcus C., Musleh W., Bruce A., Baudry M., Malfroy B. Salen-manganese complexes: combined superoxide dismutase/catalase mimics with broad pharmacological efficacy // Adv. Pharmacol. — 1997. — Vol. 38. — P. 247—269.
19. Doctrow S.R., Huffman K., Marcus C.B., Tocco G., Malfroy E., Adinolfi C.A., Kruk H., Baker K., Lazarowych N., Mascarenhas J., Malfroy D. Salen-manganese complexes as catalytic scavengers of hydrogen peroxide and cytoprotective agents: structure-activity relationship studies // J. Mol. Chem. — 2002. — Vol. 45. — P. 4549—4558.
20. Egner P.A., Kensler T.W. Effects of biomimetic superoxide dismutase on complete and multistage carcinogenesis in mouse skin // Carcinogenesis. — 1985. — Vol. 6. — P. 1167—1172.
21. Faraggi M., Oxygen Radicals in Chemistry and Biology. Walter de Gruyter Publishers: Berlin. — 1984.
22. Farokhzad O.C., Jon S., Khademhosseini A., Tran T.N., Lavan D.A., Langer R., Nanoparticle-Aptamer Bioconjugates: A new Approach for Targeting Prostate Cancer Cells // Cancer Res. — 2004. — Vol. 64. — P. 7668—7672.
23. Farrington J.A., Land E.J., Swallow A.J. The one-electron reduction potentials of NAD // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 590. — P. 273.
24. Faulkner K. M., Liochev S.I., Fridovich I. Stable Mn(III) porphyrins mimic superoxide dismutase *in vitro* and substitute for it *in vivo* // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269. — P. 23471—23476.
25. Feder J. Heme-peptide as an ultrastructural tracer // J. Hist. Cytochem. — 1970. — Vol. 18. — P. 911—913.
26. Feng Q, Liu L., He Y., Wang H., Wu M., Mei F. Studies on metal phthalocyanine as a dual functional mimic enzyme // J. Tongji Med. Univ. — 2001. — Vol. 21 (1). — P. 13—16.
27. Fernandes A.S., Gaspar J., Cabral M.F., Caneiras C., Guedes R., Rueff J., Castro M., Costa J., Olivera N.G. Macrocyclic copper (II) complexes: Superoxide scavenging activity, structural studies and cytotoxicity evaluation // J. Inorg. Biochem. — 2007. — Vol. 101. — P. 849—858.
28. Gao L., Zhuang J., Nie L., Zhang J., Gu N., Wang T., Perrett S., Yan X. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles // Nature Nanotechnol. — 2007. — Vol. 2. — P. 577—583.
29. Goldstein S., Czapski G. Comparison between different assay for superoxidase-like activity // Free Rad. Res. Commun. — 1991. — Vol. 12. — P. 5—10.
30. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine, edn. 3. — 1999. — Oxford University Press. Oxford.
31. Haniman A., Porter G. Photochemistry of manganese porphyrins. Part 1. Characterization of some water soluble complexes // J. Chem. Soc. Faraday Trans. — 1979. — Vol. 275. — P. 1532—1542.
32. Hee W.W., Wu X., C., Liu J.B. et al. Design of AgM bimetallic alloy nanostructures (M=Au, Pd, Pt) with tunable morphology and peroxidase-like activity // Chem. Mater. — 2010. — Vol. 22. — P. 2988—2994.
33. Huie R.E., Padmaja S. The reaction rate of nitric oxide with superoxide // Free Rad. Res. Commun. — 1993. — Vol. 18. — P. 195—196.
34. Hyoudou K., Nishikawa M., Umeyama Y., Kobayashi Y., Yamashita F., Hashida M. Inhibition of metastatic tumor growth in mouse lung by repeated administration of polyethylene glycol-conjugated catalase: quantitative analysis with firefly luciferase-expressing melanoma cell // Clin. Cancer Res. — 2004. — Vol. 10. — P. 7685—7691.
35. Imaizumi S., Woolworth V., Fishman R.A., Chan P.H. Liposome-entrapped superoxide dismutase reduces cerebral infarction in cerebral ischemia in rats // Stroke. — 1990. — Vol. 21. — P. 1312—1317.
36. Joshi M.S., Ferguson T.B.Jr, Han T.H., Hydule D.R., Liao J.C., Rassaf T., Bryan N., Feelisch M., Lancaster J.R. Jr. Nitric oxide is consumed, rather than conserved, by reaction with oxyhemoglobin under physiological conditions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — P. 10341—10346.
37. Kachadourian R., Batinic-Haberle I., Fridovich I. Syntheses and Superoxide Dismutase Activities of Partially (1-4) beta-Chlorinated Derivatives of Manganese (III) meso-Tetrakis(N-ethylpyridinium-2-yl) porphyrin // Inorg. Chem. — 1999. — Vol. 38. — P. 391—396.
38. Kajita M., Hikosaka K., Iitsuka M., Kanayama A., Toshiyama N., Miyamoto Y. Platinum nanoparticle is a useful scavenger of superoxide anion and hydrogen peroxide // Free Radical Res. — 2007. — Vol. 41. — P. 615—626.
39. Kaul G., Amiji M.J. Biodistribution and targeting potential of poly(ethylene glycol)-modified gelatin nanoparticles in subcutaneous murine tumor model // Drug Target. — 2004. — Vol. 12. — P. 585—591.
40. Korsvik C., Patil S., Seal S., Self W.T. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles // Chemical Commun. — 2007. — P. 1056—1058.
41. Lee J., Groves J.T. Manganese porphyrins as redox-coupled peroxynitrite reductases // J. Am. Chem. Soc. — 1998. — Vol. 120. — P. 6053—6061.
42. Leveque V., Vance C.K., Nick H.S., Silverman D.N. Redox properties of human manganese superoxide dismutase and active-site mutants // Biochemistry. — 2001. — Vol. 40. — P. 10586—10591.
43. Lewis E.A., Lindsay-Smith J.R., Walton P.H., Archibald S.J., Foxo S.P., Giblin G.M.P. Tuning the metal-based redox potentials of manganese cis,cis-1,3,5-triaminocyclohexane complexes // J. Chem. Soc. Dalton Trans. — 2001. — Vol. 8. — P. 1159—1161.
44. Mackensen G.B., Patel M., Sheng H., Calvi C.L., Batinic-Haberle I., Day B.J., Liang L.P., Fridovich I., Carapo J.D., Pearlstein R.D., Warner D.S. Neuroprotection from delayed posts ischemic administration of a metalloporphyrin catalytic antioxidant // Journal of Neuroscience. — 2001. — Vol. 21. — P. 4582—4592.
45. Maksimenko A.V. Experimental antioxidant biotherapy for protection of the vascular wall by modified forms of superoxide dismutase and catalase // Curr. Pharm. Design. — 2005. — Vol. 11 (16). — P. 2007—2016.
46. Matemadombo F., Durmus M., Escriou V., Griveau S., Sherman D., Bedioui F. And Nyokong T. Evaluation of the Performance of Manganese Phthalocyanines as Superoxide Dismutase Mimics // Current Analytical Chemistry. — 2009. — Vol. 5. — P. 330—338.
47. Murata M., Okada M., Yasumura A., Nakajima E., Shindo H. Studies on metabolism of cytochrome C- hemoctapeptide (CHP). 1. Preparation of 3H- labeled CHP, and absorption, distribution and excretion of these compounds in the rats and mice by means of the tracer technique and whole body autoradiography // Yakugaku zasshi. — 1973. — Vol. 93. — P. 669—678.
48. Murata M., Baba Y., Matsuo E., Yasuda H., Okonogi T. Biological activities of cytochrome C hemoctapeptide (CHP): 1. Effects of CHP against tissue damage caused by experimental hypoxia // Yakugaku zasshi. — 1973. — Vol. 93. — P. 762—768.
49. Muscoli C., Cuzzocrea S., Ndengele M., Mollace V., Porreca F., Fabrizi F., Esposito E., Masini E., Matuschak G.M., Salvemini D. Therapeutic manipulation of peroxynitrite attenuates the development of opiate-induced antinociceptive tolerance in mice // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117(11). — P. 3530—3539.
50. Okado-Matsumoto A., Batinic-Haberle I., Fridovich I. Complementation of SOD-deficient Escherichia coli by manganese porphy-

- rin mimics of superoxide dismutase activity // *Free Radic. Biol. Med.* — 2004. — Vol. 37. — P. 401–410.
51. Pacher P., Beckman J.S., Liudet L. Nitric oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *Physiol Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 315–424.
  52. Pasternack R.F., Barth A., Pasternack J.M., Johnson C.S. Catalysis of the disproportionation of superoxide by metalloporphyrins. III // *J. Inorg. Biochem.* — 1981. — Vol. 15. — P. 261–267.
  53. Pasternak G.W. When it comes to opiates, just say NO // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117(11). — P. 3185–3187.
  54. Patel M., Day B.J. Metalloporphyrin class of therapeutic catalytic antioxidants // *Trends Pharmacol Sci.* — 1999. — Vol. 20(9). — P. 359–364.
  55. Pirmohamed T., Dowding J.M., Sigh S., Wasserman B., Heskert E., Karakoti A.S., King J.E.S., Seal S., Self W.T // *Chemical Commun.* — 2010. — Vol. 46. — P. 2736–2738.
  56. Rebucas J.S., DeFreitas-Silva G., Spasojevic I., Idemori Y.M., Benov L., Batinic-Haberle I. Impact of electrostatics in redox modulation of oxidative stress by Mn porphyrins: Protection of SOD-deficient *Escherichia coli* via alternative mechanism where Mn porphyrin acts as a Mn carrier // *Free Radic. Biol. Med.* — 2008. — Vol. 45. — P. 201–210.
  57. Riley D.P. Functional mimics of superoxide dismutase enzymes as therapeutic agents // *Chem. Rev.* — 1999. — Vol. 99. — P. 2573–2587.
  58. Riley D.P., Lennon P.J., Neumann L., Weiss R.H., 1997, Toward the rational design of superoxide dismutase mimics: mechanistic studies for the elucidation of substituent effects on the catalytic activity of macrocyclic manganese (II) complexes // *J. Am. Chem. Soc.* — 1997. — Vol. 119. — P. 6522–6528.
  59. Salvemini D., Muscolini C., Riley DP, Cuzzocrea S. Superoxide dismutase mimetics // *Pulm. Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 15(5). — P. 439–447.
  60. Salvemini D., Riley D.P., Cuzzocrea S. SOD mimetics are coming of age // *Nat. Rev. Drug Discov.* — 2002. — Vol. 1. — P. 367–374.
  61. Sharpe M.A., Ollsson R., Stewart V.C., Clark J.B. Oxidation of nitric oxide by oxomanganese-salen complexes: A new mechanism for cellular protection by superoxide dismutase/catalase mimetics // *Biochemical Journal.* — 2002. — Vol. 366. — P. 97–107.
  62. Sheng H., Enghild J., Bowler R., Patel M., Calvi C.L., Batinic-Haberle I., Day B.J., Pearlstein R.D., Capro J.D., Warner D.S. Effects of metalloporphyrin catalytic antioxidants in experimental brain ischemia // *Free Radic. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 33. — P. 947–961.
  63. Shimanovich R., Groves J.T. Mechanisms of peroxynitrite decomposition catalyzed by FeTMPDS, a bioactive sulfonated iron porphyrin // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* — 2001. — Vol. 387. — P. 307–317.
  64. Simonescu N., Simonescu M., Palade G.E. Permeability of muscle capillaries to small heme-peptides. Evidence for the existence of potent transendothelial channels // *J. Cell. Biol.* — 1975. — Vol. 64. — P. 588–607.
  65. Spasojevic I., Batinic-Haberle I. Manganese(III) complexes with porphyrins and related compounds as catalytic scavengers of superoxide // *Inorg. Chim. Acta.* — 2001. — Vol. 317. — P. 230–242.
  66. Spector A., Garner W.H. Hydrogen peroxide and human cataract // *Exp. Eye Res.* — 1981. — Vol. 33. — P. 673–681.
  67. Spector A., Zhou W., Ma W., Chignell C.F., Reszka K.J. Investigation of the mechanism of action of microperoxidase-11, (MP11), a potential anti-cataract agent, with hydrogen peroxide and ascorbate // *Exp. Eye Res.* — 2000. — Vol. 71. — P. 183–184.
  68. Tsang P.K.S., Sawyer D.T. Electron-transfer thermodynamics and bonding for superoxide ( $O_2^{\bullet-}$ ), dioxygen ( $O_2$ ) and hydroxy (OH) adducts of (tetrakis (2,6-dichlorophenyl) porphyrinato)iron-, manganese-, and -cobalt in dimethylformamide // *Inorg. Chem.* — 1990. — Vol. 29. — P. 2848–2855.
  69. Tuppy H., Paleus S. Study of peptic degradation product of cytochrome C // *Acta Chem. Scand.* — 1955. — Vol. 9. — P. 353.
  70. Watanabe A., Kajita M., Kim J., Kanayama A., Takahashi K., Mashino T., Miyamoto Y. In vitro free radical scavenging activity of platinum nanoparticles // *Nanotechnology.* — 2009. — Vol. 20. — P. 455105.
  71. Weiss R., Riley D.P. Manganese(II)-based superoxide dismutase mimetics: Rational drug design of artificial enzymes // *Drugs of the Future.* — 1996. — Vol. 21 (4). — P. 383–389.
  72. Wiedau-Pazos M., Goto J.J., Rabizadeh S., Gralla E.B., Roe J.A., Lee M.K., Valentine J.S., Bredsen D.E. Altered reactivity of superoxide dismutase in familial amyotrophic lateral sclerosis // *Science.* — 1996. — Vol. 271. — P. 515–518.

Посмунна 28.03.2013

## **Catalytic antioxidants are potential therapeutic agents for correction of oxidative stress-mediated pathologies**

**Lysko A.I., Dudchenko A.M.**

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences,  
Baltiyskaya Str. 8, 125315, Moscow, Russia

*Pathogenic role of overproduction of reactive oxygen species have been ascertained approximately for hundred human disorders. Metal-containing catalytic antioxidants (CA) present a novel class of potential therapeutic agents. CA are complex compounds which mimic the action of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase, three major mammalian enzymes which effectively protect tissues from oxidative stress. Use of CA opens up new approach for correction of oxidative stress-mediated pathologies. One of the most valuable properties of CA is scavenging of peroxynitrite. There are different classes of metal-containing CA that have shown efficacy in several oxidative stress models of human diseases. Most important targets of CA therapy are cardiovascular, neurodegenerative and inflammatory disorders. Several CA are currently under clinical studies by various pharmaceutical companies («Metaphore Pharmaceuticals», «Eukarion», «Aeolus Pharmaceuticals»).*

**Key words:** Catalytic antioxidants, oxidative stress, free radical processes, correction of pathological processes