

**"Dexamethason und Selenige Säure als
Beispiele für ultraschnell wirksame direkte
Radikalfänger: Quantenpharmakologische
Untersuchungen"**

Manfred Müsse

**Institut für Physikalische und Theoretische Chemie,
Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 8, 72076 Tübingen
e-mail: manfred.muesse@iptc.uni-tuebingen.de**

Anmerkung:

Der Text der Autoren **Mack, Hans-Georg, Müsse, Manfred (2013) (/xmlui/handle/10900/49940)** wurde 2014 / 2015 von M. Müsse im Einverständnis mit dem Erstautor vollständig revidiert sowie ergänzt. Sowohl der **Titel** als auch die auf Zitat 7 der vorliegenden Arbeit beruhenden **quantenpharmakologischen Berechnungen** des am 28. 03. Diesen Jahres verstorbenen PD Dr. Hans–Georg Mack wurden jedoch unverändert übernommen. Der ursprüngliche Text (siehe Auflistung TOBIAS-lib Publikationen und Dissertationen nach Autor) grundsatz_papier_07_08_2013 pdf.ist damit hinfällig.

Neue e-mail: manfred.muesse@iptc.uni-tuebingen.de

Eine alternative e-mail Anschrift lautet; m.muesse@t-online.de.

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und **reaktive Stickstoffspezies (RNS)** sind sowohl radikalische (z.B. Hydroxyl-Radikal, HO[•], Stickstoffmonoxid, NO[•]) als auch nicht-radikalische Verbindungen (wie Wasserstoffperoxid, H₂O₂). Radikale sind Molekülteile, Moleküle oder Atome mit mindestens einem ungepaarten Elektron, das in einer chemischen Bindung einen Partner benötigt. Sie sind deshalb in der Regel sehr reaktiv und in unphysiologisch hohen Konzentrationen für den gesamten pflanzlichen und tierischen Organismus schädlich ¹ . Entsprechende Stoffwechsellagen sind als **oxidativer** bzw. **nitrosativer Stress** bekannt. Freie Radikale, ROS und RNS entstehen exogen (u.a. bei der Ozonspaltung durch UV-Licht, der Radiolyse von Wasser, infolge Strahlentherapie oder in Glimmzonen von Tabak). Die unvollständige Reduktion von Sauerstoff in der mitochondrialen Atmungskette oder die Aktivierung von Eosinophilen und Makrophagen bei Entzündungsprozessen sind Beispiele für endogene Quellen reaktiver Spezies (vgl. Tabelle 1) ² .

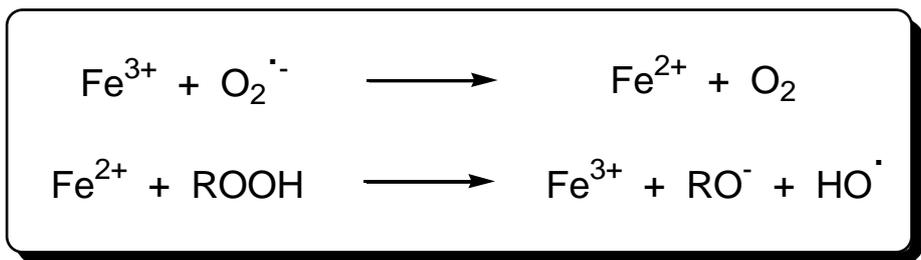
Tabelle 1: Verschiedene ROS und deren mögliche Quellen

Singulett-Sauerstoff, ¹ O ₂	Elektromagnetische Strahlung, Entzündungsprozesse
Superoxidradikal-Anion, O ₂ ^{•-}	Mitochondriale Atmungskette, Makrophagen (Entzündungen), Photosynthese in Chloroplasten
Wasserstoffperoxid, H ₂ O ₂	Mitochondriale Atmungskette, Makrophagen
Hydroxyl-Radikal, HO [•]	Umweltverschmutzung und Ozonolyse, Elektromagnetische Strahlung, Radioaktive Strahlung, Mitochondrien, Makrophagen, Chloroplasten
Stickstoffmonoxid, NO [•]	Zigarettenrauch, Makrophagen
Peroxynitrit, ONOO ⁻	Makrophagen (aus O ₂ ^{•-} und NO [•])

Ein plötzlicher Anstieg der Sauerstoffaufnahme von Eosinophilen und Makrophagen bei Entzündungsprozessen ("respiratory burst") führt u.a. zur Bildung von Superoxidanionen (O₂^{•-}), Wasserstoffperoxid, Hydroxylradikalen, Stickstoffmonoxid

(NO^\cdot) sowie Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$)² . Letzterer stellt eine elektronisch angeregte Form des "normalen" atmosphärischen Sauerstoffs $^3\text{O}_2$ dar, den ja der Organismus zum Leben braucht. Dieser sogenannte Triplett-Sauerstoff ist ein Biradikal mit entgegengesetzten und damit sich reduzierenden elektronischen Effekten. Er ist im Vergleich zum aggressiven Singulett-Sauerstoff wesentlich reaktionsträger. $^1\text{O}_2$ führt demgegenüber u.a. zu Schäden an der DNA und spielt auch bei der Lipidperoxidation (Zerstörung von Zellmembranen, s.u.) eine wichtige Rolle¹. Beim "respiratory burst" bildet sich aus dem Superoxidanion $\text{O}_2^{\cdot-}$ und NO^\cdot ferner das Peroxynitrit-Anion, ONOO^- als weiteres gefährliches Zellgift. Es zerstört mitunter stoffwechselrelevante Proteine und Enzyme. Da jede Entzündung mit der Aktivierung von Eosinophilen und Makrophagen einhergeht, wird in der aktuellen Medizin das weiße Blutbild als eine Hauptquelle der Genese von freien und sessilen Radikalen diskutiert³⁻⁶.

Das bei weitem reaktivste und aggressivste Teilchen ist das Hydroxylradikal, HO^\cdot ³. Es hat bei einem physiologischen pH-Wert von Blut bzw. Serum (ca. 7.37 - 7.45) eine nur kurze Lebenszeit von etwa 10^{-8} s. Lebensdauer und Konzentration steigen mit sinkendem pH-Wert, was oft mit der Aktivierung von Phagozyten durch Erreger beim Entzündungsgeschehen einhergeht. In einem hypoxisch-azidotischen Milieu führen Hydroxylradikale und protonierte radikalische Lewis-Basen wie $\text{HO}_2^{\cdot-}$ und HNO^\cdot neben anderen reaktiven Spezies rasch zur Oxidation von poly-ungesättigten Fettsäuren (PUFA) sowie Steroiden in Körperflüssigkeiten und Membranen (Lipidperoxidation). Aus den gebildeten Lipidhydroperoxiden (ROOH) können mittels der gekoppelten Haber-Weiss- / Fenton-Reaktion, katalysiert durch kleinste Mengen von Übergangsmetallionen (z.B. Fe^{2+} oder Cu^+), schnell enorme Mengen von Hydroxylradikalen gebildet werden^{1,2}:



Die Lipidperoxidation wird so zu einem sich selbst steigernden Prozess. In Kettenreaktionen gehen viele Mehrfachbindungen mit Hydroxylradikalen selbst wieder in radikalische Zustände über. Man spricht dann von Radikalketten-Propagation.

Hauptangriffspunkte der ROS sind u.a. auch DNA und RNA bzw. deren Bausteine (Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin), Proteine und Enzyme sowie Lipide beliebiger Biomembranen (von Zellorganellen, Zellen und Gewebekompartimenten). Hier spielt die Aktivierung von Komplementproteinen eine Rolle, die einhergehend mit der Ausbildung von Ionenkanälen, zum Einstrom von Ca^{2+} -Ionen und damit zur Zellnekrose führt. ROS sind nicht nur bei Nekrosen und beim programmierten Zelltod (Apoptose) wirksam sondern z.B. folgenschwer bei Punktmutationen (Abb. 1)³⁻⁶:

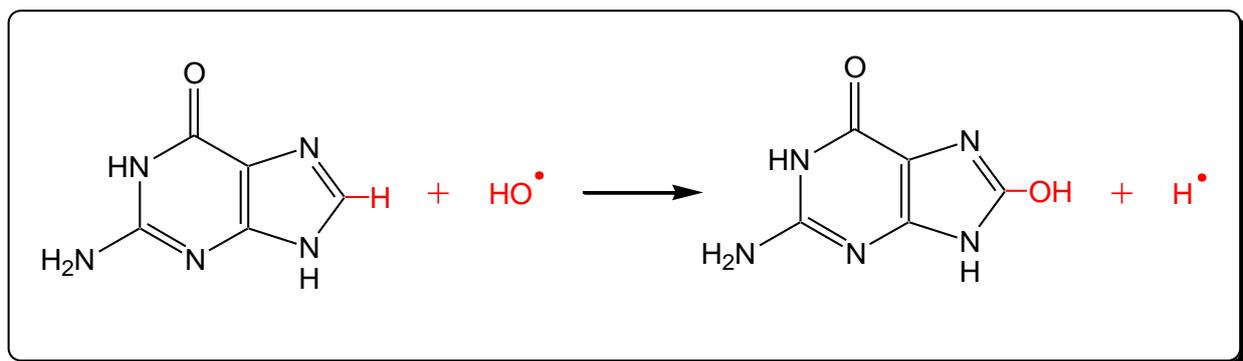


Abb. 1: Umwandlung von Guanin in 8-Hydroxy-Guanin durch ein Hydroxylradikal. 8-Hydroxy-Guanin paart sich nicht mehr mit Cytosin, sondern mit Adenin. Dies entspricht somit einer $\text{G} \rightarrow \text{T}$ Transversion.

Das durch Reaktion eines Hydroxylradikals mit Guanin gebildete 8-Hydroxy-Guanin paart sich bei der DNA-Replikation nicht mehr mit seinem "Standard-Partner" Cytosin, sondern "falsch" mit Adenin, das normalerweise mit Thymin Wasserstoffbrückenbindungen eingeht. Man spricht in diesem Fall von $\text{G} \rightarrow \text{T}$ Transversion. Es ist daher wichtig, dass einer Störung der DNA-Biosynthese durch ROS in der Zelle besondere Reparaturmechanismen entgegenwirken. Weitere DNA- und RNA-Defekte durch Radikale sind z.B. Strangbrüche, die ebenfalls zu Schädigungen des Erbgutes führen. Punktmutationen und Ablesefehler bei der DNA-Replikation können über Erbkrankheiten hinaus in Tumorwachstum und Onkogenese einmünden⁵.

Neben direkten chemischen Schäden wirken ROS auch über Signale ⁶. Solche Signaltransduktionen verlaufen im Organismus mit unterschiedlichsten Geschwindigkeiten und in verschiedenen Richtungen ab. Sprungmechanismen bilden dabei den schnellsten Weg, auf dem Radikal-Eigenschaften zur Peripherie gelangen können. ROS-Effekte sind zentrifugal aber auch mittels Reizleitung in Randbereiche zu vermitteln ⁶.

Radikale können also Zellmembranen und ganze Zellen zerstören. Jedoch sind diese schädlichen Aktionen bei der phagocytären Abwehr von Einzellern, Bakterien und anderen Infekterregern durchaus erwünscht. Darüber hinaus werden sie radioonkologisch kurativ oder zumindest palliativ sinnvoll genutzt ^{1,2}.

ROS können durch **Radikalfänger** (**Antioxidantien**) abgefangen und "vernichtet" werden. Neben dem bekannten Abbau giftiger Peroxide durch Enzyme (Katalasen und Peroxidasen, z.B. der Glutathion-Peroxidase) oder antioxidativ wirksame Vitamine sowie indirekt über Chelat-Bildner (Abbruch bzw. Verhinderung der gekoppelten Haber-Weiss- / Fenton-Reaktion in der Lipidperoxidation), gibt es Reaktionen zur "Entsorgung" von Radikalen, die auch aus intensivmedizinischer Sicht Interesse finden ⁷.

Bei Wirkungsmechanismen von Radikalfängern muss man zwischen zwei Reaktionsschemata unterscheiden: (i) katalytischen Mechanismen sowie (ii) "verbrauchenden Reaktionen". Bei einer primär katalytischen Reaktion (i) bleibt der Radikalfänger "unbeschädigt". Ein Beispiel ist **Dexamethason** (Abb. 2). Entsprechend den Ergebnissen erstmaliger quantenpharmakologischer Untersuchungen (ab initio- und Dichtefunktional-Methoden) ^{7, 8} verläuft die Entsorgung von Hydroxylradikalen durch Dexamethason (**1**) über folgenden katalytischen Zyklus: Der Angriff eines Hydroxylradikals an der Carbonylgruppe des Ringes A von (**1**) führt zur Bildung eines kurzlebigen, wenig stabilen radikalischen Intermediates (**2**). Der Angriff eines zweiten HO[•]-Radikals an diesem Peroxid (**2**) führt zu einer weiteren kurzlebigen Spezies (**3**), die in (**1**) und **Wasserstoffperoxid** (**HO-OH**) zerfällt. Das **Shell-Verfahren** und das **Anthrachinon-Verfahren** zur **technischen Gewinnung von Wasserstoffperoxid** liefern Beispiele für die genannten katalytischen Mechanismen ⁷. Bei massiver Einwirkung von Hydroxylradikalen wird Dexamethason

an verschiedenen Positionen angegriffen und strukturell verändert ⁹, was u.a. den Verlust therapeutischer Effekte bei sehr starken und persistierenden Entzündungen verständlich macht. Dennoch wird auch in diesem Fall die Carbonylfunktion des A-Rings nicht verändert, was ihre katalytische Potenz zu bestätigen scheint ⁹. Die erstmaligen Berechnungen zeigen weiterhin, dass am Carbonyl-Sauerstoff Hydroxylradikale auch durch „Dimerisierung“ mittels Wasserstoffbrückenbindungen die Bildung von Wasserstoffperoxid ermöglichen ^{10,7}. H_2O_2 lebt etwa 10^5 bis 10^6 mal länger als das Hydroxylradikal. Andere Peroxide sind noch stabiler. Peroxide wie das H_2O_2 können u.a. durch Enzyme wie Katalasen oder Peroxidasen entsorgt und unschädlich gemacht werden ^{1,3,6}.

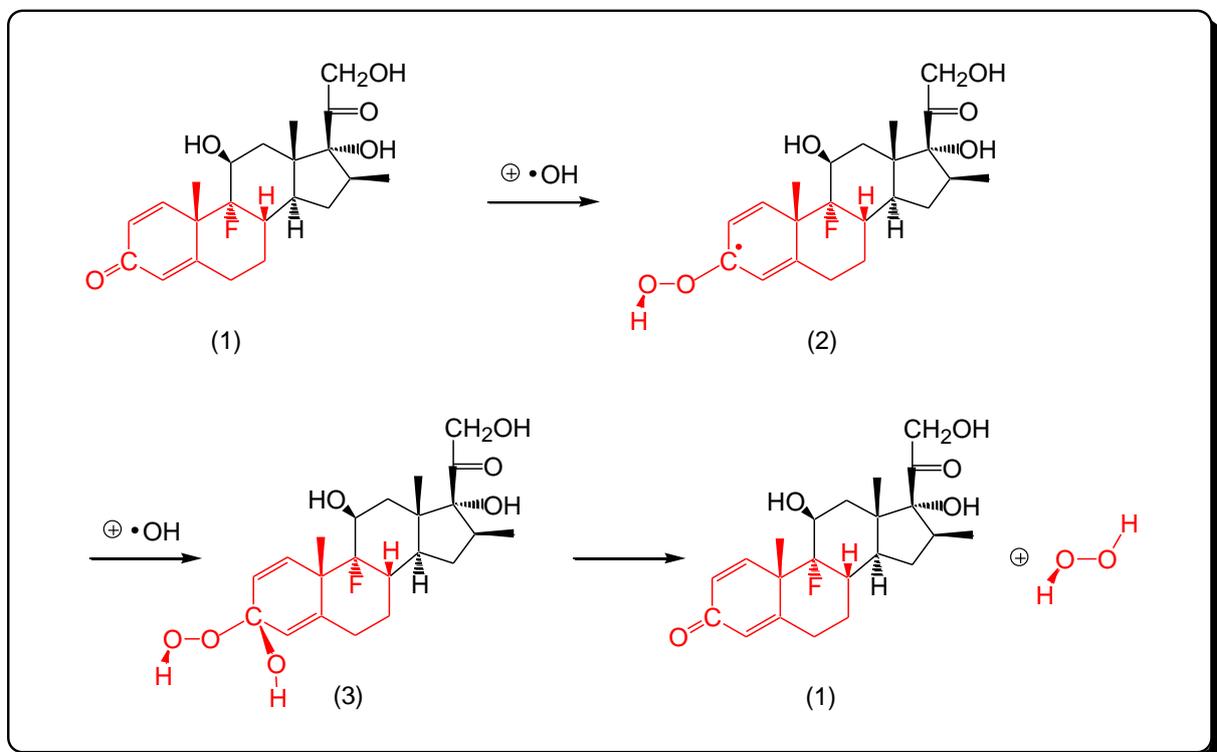


Abb. 2.: Katalytische Entsorgung (i) der Hydroxylradikale durch Dexamethason nach quantenpharmakologischen Berechnungen

Bei der verbrauchenden Reaktion (ii) werden die Radikalfänger stufenweise abgebaut. Beispielhaft ist **Selenige Säure** (Abb. 3). Entsprechende Berechnungen weisen darauf hin, dass im Verlauf der Hydroxylradikal-Entsorgung Se^{4+} der Selenigen Säure bis zur Stufe des atomaren Selens $\text{Se}^{+/-0}$ gelangt. Dieses **Se** im "status nascendi" wird dann zur Stufe Se^{2-} des extrem giftigen **Selenwasserstoffs** (H_2Se)

reduziert. Bevor jedoch Selenwasserstoff im Organismus als Noxe wirkt, kann H_2Se über **Biomethylierung** oder **Glykosylierung** entgiftet werden ¹¹⁻¹³. Bei der Trimethylierung entsteht das nierengängige **Trimethylselenoniumchlorid** ($(\text{CH}_3)_3\text{SeCl}$). Selenüberschuss assoziiert mit unzureichender Methylierungskapazität und beginnender Selenvergiftung führt dagegen zu **Monomethylselenwasserstoff** (CH_3SeH) und **Dimethylselen** ($(\text{CH}_3)_2\text{Se}$). Diese flüchtigen Verbindungen können jedoch partiell über die Lunge (mit Geruch nach faulem Rettich) abgeatmet werden.

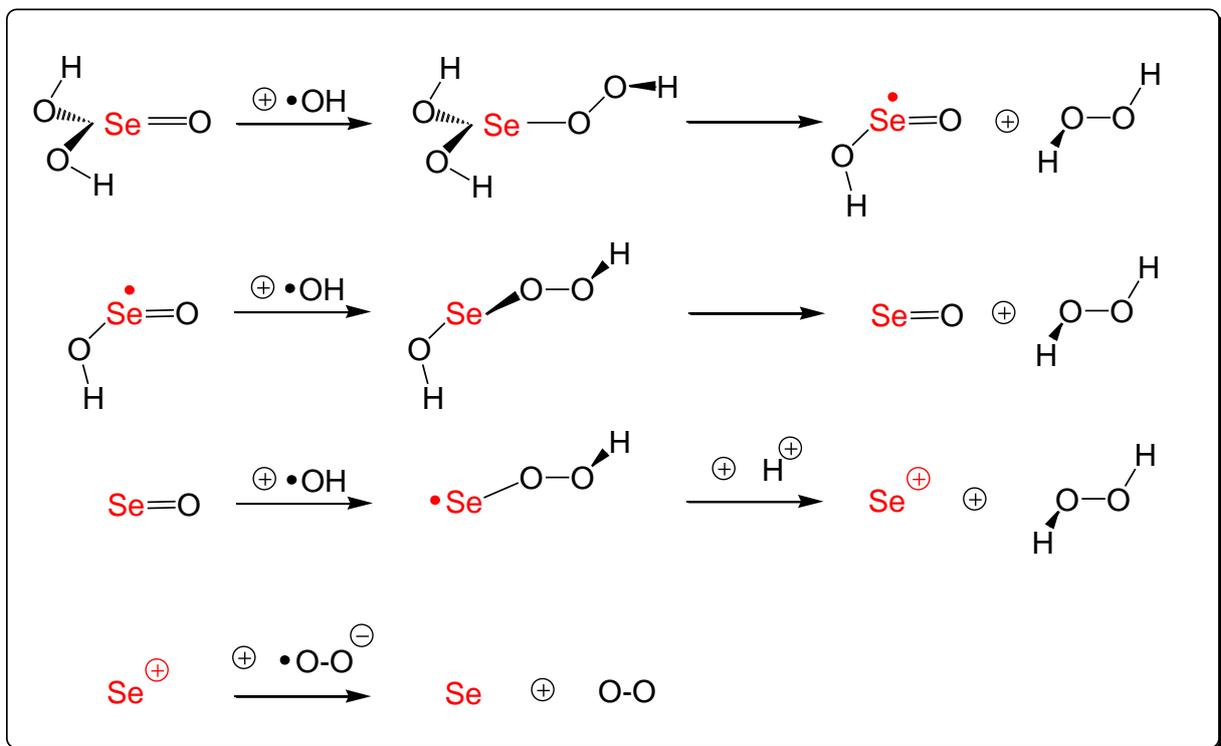


Abb. 3.: Verbrauchende Entsorgung (ii) der Hydroxylradikale durch Selenige Säure nach quantenpharmakologischen Berechnungen

Bei normaler Stoffwechsellage wird Selen nach jüngsten analytischen Untersuchungen durch Glykosylierung entgiftet und renal entsorgt ¹⁴. Dagegen werden Biomethylierungen nach neuerer Literatur als erste Anzeichen einer noch tolerablen Selenvergiftung folglich pathologischen Vorgängen zugeordnet ¹³⁻¹⁵. Geringere Anteile von Selen werden bilirubär oder transdermal (mit dem Schweiß) ausgeschieden ¹⁶.

Wie vollzieht sich nun die Reduktion des elementaren Selen bis zur Stufe des hochtoxischen Selenwasserstoffs; und wie verlaufen möglicherweise entgiftende Biomethylierungsreaktionen bis hin zur Exkretion von Trimethylselenonium-Ionen?

Ausgehend von biologischen und biochemischen Grundlagen wurden früher verschiedene Modellvorstellungen entwickelt: (i) Der von F. Challenger¹² bereits 1945 vorgeschlagene Mechanismus sieht eine stufenweise gekoppelte Reduktion und Methylierung vor (siehe Abb. 4). (ii) Neuere medizinische Forschungsansätze verweisen auf anorganische Teilreduktionen bei einer Dominanz enzymatisch katalysierter biochemischer Reduktionsschritte bis zum Selenwasserstoff¹⁷, der anschließend durch Methylierungsreaktionen entgiftet wird. Da einige pharmazeutische

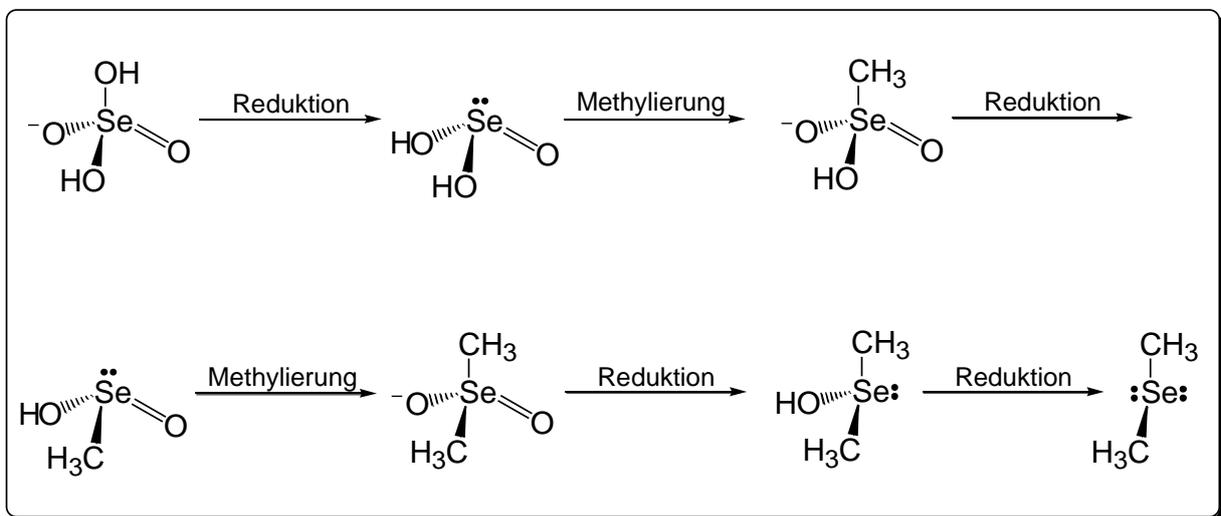
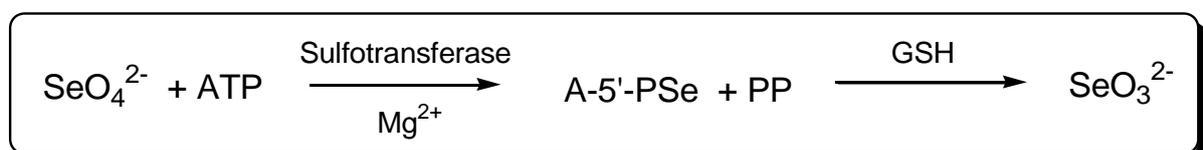
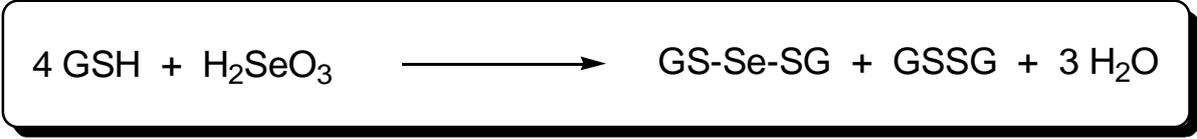


Abb 4: Stufenweise Reduktion und Methylierung von Selenat bzw. Selenit nach Challenger¹²

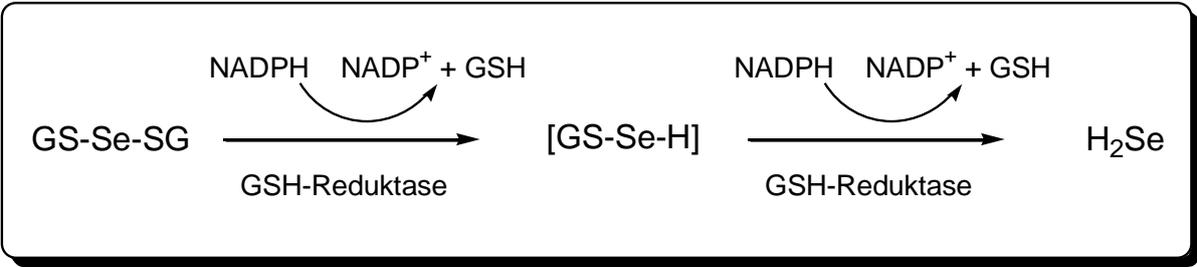
Präparate, insbesondere Mikronährstoffe, auch **Selenat** (SeO_4^{2-}) enthalten, muss diese Oxidationsstufe (+6) des Selen bei der Entsorgung ebenfalls berücksichtigt werden. Dabei wird zunächst Selenat ATP-abhängig mittels Glutathion (GSH) zu **Selenit** (SeO_3^{2-}) reduziert¹⁷. Die Sulfotransferase katalysiert bei dieser Reaktion Mg^{2+} -abhängig den Se-Transfer unter Bildung von Adenosyl-5'-phospho-selenat (A-5'-PSe), welches dann durch GSH zum Selenit reduziert wird:



Im nächsten Schritt überführt reduziertes Glutathion Selenit im sauren Milieu in Selenodiglutathion:



In einem NADP-abhängigen Prozess katalysiert die Glutathionreduktase die Reduktion des Selenodiglutathions über Glutathionylselenwasserstoff ("Seleno-persulfid") als Zwischenstufe zum Selenwasserstoff, der wiederum durch entsprechende Biomethylierung entsorgt werden muss:



Die Biomethylierung verläuft sowohl gemäß dem Challenger-Mechanismus ¹² als auch entsprechend neueren Untersuchungen ^{13, 14, 17} über **Methylokationen**, wobei **Hydridanionen** das entsprechende Reduktionsmittel darstellen. Bei den beschriebenen Mechanismen ergeben sich aber folgende Probleme:

- (a) Die pH-Abhängigkeit der Reduktion von Selen-Sauerstoffverbindungen wurde biologisch-biochemisch bisher nicht untersucht.
- (b) Zur Selen-Biomethylierung unter pathobiochemischen Bedingungen existieren weder relevante biologisch- humanmedizinische Befunde noch überzeugende Modellvorstellungen.
- (c) Entsprechend den hier diskutierten konventionellen Betrachtungen sind Reduktion und oxidative Methylierung ausschließlich ionische Vorgänge, bei denen **Hydridanionen** und **Methylgruppen** (als **Carbokationen**) übertragen werden. Es ist aber davon auszugehen, dass Methylierungen als Haupt-entgiftungsreaktionen **radikalischen Mechanismen** folgen. Vorläufige quantenchemische Berechnungen für Modellsubstanzen (z.B. einfache

Carbokationen und entsprechende anionische Strukturen) zeigen, dass die **Ionen energetisch weniger stabil** sind als entsprechende **radikalische Intermediate**.- **Hydridanionen** erfordern eine **extrem alkalische Umgebung**. Daher ist z.B. die **Hydridwanderung** biochemisch nicht realisierbar.

- (d) Radikale bzw. radikalische Zwischenstufen mit **ungeraden Oxidationszahlen** für Selen-Sauerstoff- und -Wasserstoffverbindungen (Se^{5+} , Se^{3+} , Se^{1-}) werden bisher **nicht in Betracht** gezogen.

Die angesprochenen Punkte zeigen deutlich, dass auf diesem Gebiet weitere umfangreiche Grundlagenforschung unumgänglich ist. Insbesondere können **quantenpharmakologische Methoden** (ab initio- und Dichtefunktional-Verfahren) zu einem tiefergehenden Verständnis derjenigen metabolischer Reaktionsmechanismen führen, die beim oxidativen und nitrosativen Stress von Bedeutung sind. Berechnungen dieser Art werden seit Jahren in der Physik, Chemie und Biologie erfolgreich zur Voraussage und Bestätigung experimenteller Daten eingesetzt. Sie erweisen sich insbesondere bei der **Erforschung ultraschneller Prozesse** in der **Intensiv-, Notfall- und Katastrophenmedizin** jeglichen experimentellen Untersuchungen als **überlegen** und unverzichtbar, zumal **äußerst kurzlebige Metabolite nicht isoliert** werden können. Auf dieser Basis aber schließlich auch aus ethischen Gründen sind klinisch randomisierte prospektive crossover-Studien aktuell weder mit Erkenntnisgewinn durchzuführen noch vertretbar. Somit ergeben sich aus den obigen Darlegungen als weitere Zielsetzungen:

- 1.) **Die Erkenntnisse der konventionellen aber forschungsoffenen Intensiv-, Notfall- und Katastrophenmedizin lassen sich bedeutend erweitern.**
- 2.) **Eine verantwortungsbewusste Kassenmedizin wird in die Lage versetzt in absehbarer Zeit kostengünstige Therapieverfahren anzubieten und so zu erheblichen Einsparungen im Gesundheitswesen beizutragen.**
- 3.) **Erstrebenswert ist eine umgehende internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Quantenpharmakologie als einer wichtigen Grundlage der heutigen Medizin.**

Literatur:

- 1 (a) J.A. Knight, "Free Radicals, Antioxidants, Aging, and Disease", AACC Press, Washington, DC, 1999; (b) E.F. Elstner, "Sauerstoffabhängige Erkrankungen und Therapien", BI Wissenschaftsverlag, Mannheim, 1993.
- 2 C. Borek, "Antioxidants and Cancer", Science&Medicine, Nov./ Dec. 1997, 52.
- 3 S. Chen, P. Schopfer, "Hydroxyl-radical production in physiological reactions", Eur. J. Biochem., **260** (1999) 726.
- 4 K.Z. Guyton, T.W. Kensler, "Oxidative mechanisms in carcinogenesis", Brit. Med. Bull., **49** (1993) 523.
- 5 J. Cadet, T. Delatour, T. Douki, D. Gasparutto, J.-P. Pouget, J.-L. Ravanat, S. Sauvaigo, "Hydroxyl radicals and DNA base damage", Mutat. Res., **424** (1999), 9.
- 6 W. Dröge, "Free radicals in the physiological control of cell function", Physiol. Rev., **82** (2002) 47.
- 7 M. Müsse, "Der Glucocorticoide einsparende Effekt von Natriumselenit - Eine Näherung", TOBIAS-lib Publikationen und Dissertationen nach Autor (/xmlui/handle/10900/46062) Tübingen 2013.
- 8 Maier V, Mack H.-G, Müsse M.: "Dexamethasone a free radical scavenger?" AACC Kongress Philadelphia, 2003; PA; 03-A-409 Kongress Abstract 1/14/2003
- 9 P. Calza, E. Pelizzetti, M. Brussino, C. Baiocchi, "Ion Trap Tandem Mass Spectrometry Study of Dexamethasone Transformation Products on Light Activated TiO₂ Surface", J. Am. Mass. Spectrom. **12** (12), 2001,1286.
- 10 H.-G. Mack, Privatmitteilung. Siehe auch in Zit.7 Abb. 11.
- 11 T.G. Chasteen, R. Bentley, "Biomethylation of Selenium and Tellurium: Micrororganisms and Plants", Chem. Rev., **103** (2002), 1, sowie die dort angegebene Literatur.
- 12 F. Challenger, Chem. Rev., **36** (1945) 315.
- 13 Suzuki KT, Orga Y, Food Addit Conta. **19**(10), (2002), 974.
- 14 Suzuki KT et al. Toxicology and applied Pharmacology **206**(1), (2005), 1.

- 15 Kühnelt D et al., *Anal Bioanal Chem* **383**(2), (2005), 235.
- 16 Simonova A, Pfannhauser W, *Ernährung/Nutrition* **32**(9) (2008), 364.
- 17 (a) G.F. Combs Jr., S.B. Combs, "The Role of Selenium in Nutrition", Academic Press, Inc., Orlando, Florida, 1986; (b) C. Reilly, "Selenium in Food and Health", Blackie Academic & Professional, London, 1996; (c) R.A. Sunde, "Molecular Biology of Selenoproteins", *Ann. Rev. Nutr.*, **10** (1990) 451.