

Katalitični antioksidanti kot nove zdravilne učinkovine

Catalytic antioxidants as new drugs

Andrej Perdih, Slavko Pečar

Avtorja posvečata članek prof. dr. Alešu Krbavčiču, mag. farm., ob njegovem 70. življenjskem jubileju.

Povzetek: Veliko bolezenskih stanj je povezanih s prekomernim nastajanjem reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS). Z manganovimi spojinami, ki oponašajo reakcijo dismutacije, ki jo katalizira encim superoksid dismutaza (SOD), se odpira možnost nevtralizacije reaktivnosti ROS. Ti katalitični antioksidanti, ki so manganove ione vsebujoče učinkovine, so mimetiki encima SOD. Razlikujejo se po *in vitro* selektivnosti odstranjevanja superoksidnega radikala. Najbolj selektivni so makrociklični mimetiki SOD, manj selektivni pa saleni in metaloporfirini. Predstavljene učinkovine so učinkovite pri zdravljenju kardiovaskularnih, nevrodegenerativnih in respiratornih boleznih, pri vnetnih procesih in pri modlaciji bolečine ter predstavljajo pomemben poskus začetka zdravljenja z uporabo katalitičnih antioksidantov.

Ključne besede: antioksidanti, superoksid dismutaza, katalitični antioksidanti, reaktivne kisikove zvrsti, mimetiki SOD.

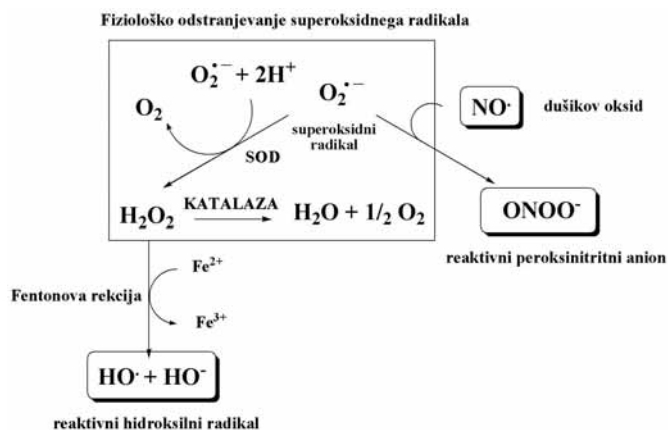
Abstract: Several pathological states involve the overproduction of reactive oxygen species (ROS). Manganese-containing compounds that mimic the dismutation reaction catalyzed by superoxide dismutase (SOD) disclose a novel class of potential scavengers of reactive oxygen species. These catalytic antioxidants represented by manganese-containing active agents are SOD mimetics divided into three groups by their *in vitro* selectivity towards the scavenging of superoxide free-radical. The class of selective catalytic antioxidants includes macrocyclics, whereas the non-selective catalytic antioxidants comprise salens and metalloporphyrins. Cardiovascular, neurodegenerative and inflammatory lung disorders are all potential targets for the future catalytic antioxidant therapy presented herein.

Key words: antioxidants, superoxide dismutase, catalytic antioxidants, reactive oxygen species, SOD mimetics.

1 Uvod

Oksidativni stres je posledica porušanja ravnotežja med prooksidativnimi in antioksidativnimi procesi v celici. Radikali in reaktivni intermediati (reaktivne kisikove in dušikove spojine - RONS), ki pri tem prekomerno nastajajo, pomembno prispevajo k sproženju začetka bolezenskega procesa. Sam začetek procesa je največkrat posledica nekontrolirane in prekomerne tvorbe superoksidnega radikala. Na opisano situacijo je organizem v omejenem obsegu pripravljen, ker ima encime, sposobne pretvorbe superoksidnega radikala v manj nevarne kemijske zvrsti. Tako se superoksidni radikal v seriji dveh zaporednih reakcij, ki ju katalizirata superoksid dismutaza (SOD) in katalaza, pretvori do vode in kisika. V primeru prekomernega nastajanja ROS pa se omenjena obramba zasiti; nastajati začno drugi reaktivni radikali in intermediati (npr.: hidroksilni radikal in peroksinitritni anion), ki toksično delujejo na celico (slika 1) (1, 2).

Antioksidant je vsaka snov, ki že v zelo nizki koncentraciji zmanjša oksidacijo drugih snovi v celici največkrat tako, da prepreči nastajanje radikalov. Pojav antioksidantov predstavlja nujno evolucijsko prilagoditev organizmov na pojav kisika v zemeljski atmosferi. Največ antioksidantov najdemo v rastlinah, ki so vir antioksidantov tudi za živali in človeka. Poznamo tri mehanizme delovanja antioksidantov. Preventivni antioksidanti vežejo nase ione kovin prehoda (najpomembnejša sta železo in baker) in s tem preprečijo njihovo interakcijo z vodikovim peroksidom in superoksidnim radikalom, ki



Slika 1: Razstrupljanje superoksidnega radikala in nastanek reaktivnih kisikovih in dušikovih spojin - RONS (prirejeno po 4)

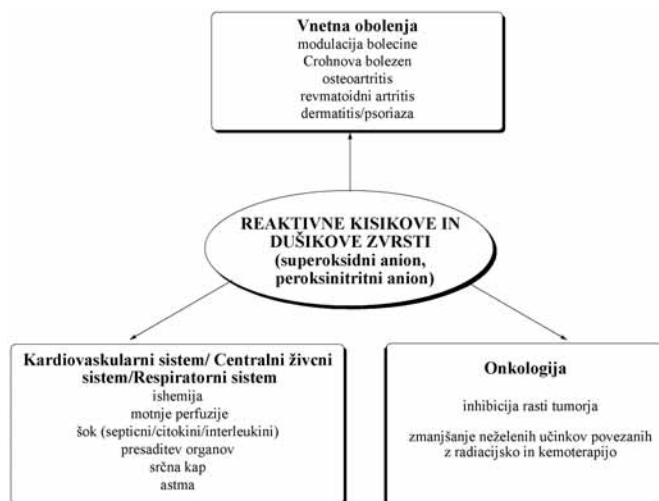
Figure 1: The detoxification of the superoxide and formation of reactive oxygen and nitrogen species - RONS (based on ref. 4)

Andrej Perdih, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

prof. dr. Slavko Pečar, mag. farm., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana in Inštitut Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana

vodi do nastanka nevarnih hidroksilnih radikalov. V to skupino uvrščamo železo-vezajoči protein transferin in proteine, ki vežejo baker, kot sta ceruloplazmin in albumin. V drugi skupini so encimski antioksidanti: superoksidna dismutaza (SOD), glutation peroksidaza ter katalaza, ki se nahajajo v celicah. Ti encimi katalizirajo pretvorbo radikalov in RONS v manj reaktivne produkte. V tretjo skupino uvrščamo »žrtvene« (sacrificial) antioksidante. To so donorji elektronov, ki reagirajo z radikali, preden le-ti reagirajo z drugimi molekulami. Tak antioksidant se oksidira v relativno stabilen in nereaktiven radikal, ki se bodisi regenerira ali pa izloči iz organizma. V tej skupini je mnogo predstavnikov: vitamin C, vitamin E, ubikinol 10, različni betakaroteni, bilirubin, tiolne spojine, organske kisline, flavoni, polifenoli itd. (3).

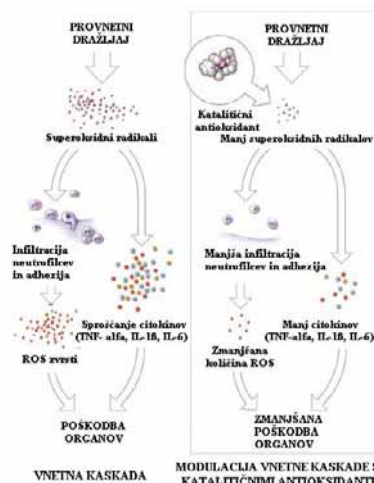
Vpletenost antioksidantov v preprečevanje razvoja patoloških procesov in zaviranje procesov staranja povečuje pomen razvoja antioksidantov kot zdravilnih učinkovin. Z njihovo pravilno uporabo bi razvoj mnogih bolezni preprečili ali upočasnili že na samem začetku (4). Na sliki 2 prikazujemo bolezenska stanja, kjer bi bila smiselna pravočasna preventiva z antioksidanti (1, 5).



Slika 2: Bolezenska stanja, povezana z nastankom reaktivnih kisikovih in dušikovih spojin (prirejeno po ref. 5)

Figure 2: Different pathological states connected with the generation of reactive oxygen and nitrogen species (based on ref. 5)

Največji napredek k uresničitvi tega cilja je bil dosežen pri razvoju mimetikov encimskih antioksidantov, predvsem encima SOD, ki z reakcijo dismutacije pretvarja superoksidni radikal v kisik in vodikov peroksid. S tem se poveča hitrost odstranjevanja superoksida in hitrejša vzpostavitev homeostaznega ravnotežja. Veliko spojin, ki jih bomo predstavili, oponaša še delovanje antioksidantnega encima katalaze, zato to skupino širše opredelimo kot katalitične antioksidante. Mimetiki SOD predstavljajo katalitične antioksidante, ki selektivno oponašajo delovanje SOD (6). Na sliki 3 prikazujemo protivnetni mehanizem delovanja katalitičnih antioksidantov.



Slika 3: Mehanizem protivnetnega delovanja katalitičnih antioksidantov kot mimetikov SOD (prirejeno po 7)

Figure 3: Mechanism of antiinflammatory action of the catalytic antioxidants as SOD mimetics (based on ref. 7)

Običajno zdravilne učinkovine vplivajo na aktivnost encimov, na procese prenosa signalov ali na strukturo in funkcijo pomembnih celičnih sestavin. Katalitične antioksidante pa uvrščamo med umetne encime, saj so nadomestek nativnega encima. Primeren je tudi izraz encimomimetiki (ang. synzymes - sintezni encimi) (5). Prve potencialne učinkovine so v fazah kliničnega testiranja na ljudeh. V prispevku bomo predstavili lastnosti SOD in podali aktualni pregled katalitičnih antioksidantov, načrtovanih kot mimetiki encimskih antioksidantov.

2 Superoksidna dismutaza (SOD) in reakcija dismutacije

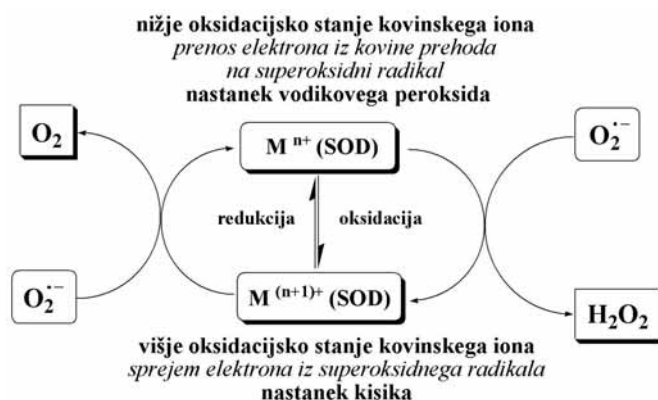
Superoksid dismutaza, skupaj s hidroksiperoxidazami (katalaza in glutationska peroksidaza), s katerimi je funkcijsko sklopljena, tvori skupino encimskih antioksidantov iz družine metaloproteinov. Glede na prisoten ion kovine prehoda (Fe, Zn, Cu, Mn) v aktivnem mestu razlikujemo 3 tipe SOD encimov: Cu/Zn-SOD, Mn-SOD in Fe-SOD. Slednji je prisoten le v prokariotskih celicah (6).

SOD katalizira reakcijo dismutacije, v kateri iz dveh molekul superoksida nastane molekula vodikovega peroksida in kisika /1/. Dismutacija je reakcija disproporcionacije, saj se ista kemijska zvrst (superoksidni radikal) v reakciji oksidira in reducira hkrati (7).



Celokupna reakcija dimutacije /1/ je sestavljena iz dveh sklopljenih enoelektronskih redoks reakcij (slika 4). Aktivno mesto encima lahko naenkrat sprejme eno molekulo superoksidnega radikala, zato je produkt encimske redoks reakcije odvisen od oksidacijskega stanja

iona kovin prehoda. V primeru višjega oksidacijskega števila ($M^{(n+1)+}$) pride do prenosa elektrona iz superoksidnega radikala na kovinski kation in oksidacije do kisika. Kovinski kation M^{n+} v sproščenem aktivnem mestu nato pritegne naslednjo molekulo superoksidnega radikala, ji odda elektron in jo reducira v vodikov peroksid. Katalitični cikel, znan tudi kot »ping-pong« mehanizem, se nato ponovi (7).



Slika 4: Reakcija dismutacije, ki jo katalizira SOD - »ping-pong« mehanizem

Slika 4: The dismutation reaction catalysed by SOD - »the ping-pong« mechanism

Reakcija dismutacije je učinkovita in za svoj potek ne potrebuje dodatnih reductentov in energije. Kinetično je SOD znan kot eden najhitrejših encimov v naravi. Kinetične konstante velikosti $2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ kažejo, da je hitrost dismutacije omejena le z difuzijo superoksidnega radikala v aktivno mesto encima (7).

2.1 Izoencimi superoksid dismutaze

V človeških celicah najdemo 3 izoencime SOD, ki so v različnih predelih celice. SOD 1 je pretežno v citosolu in v aktivnem mestu vsebuje kationski par Cu/Zn. SOD 2 ima v svojem aktivnem mestu manganov ion (Mn) in jo najdemo v mitohondrijih, kjer je raven oksidativnega stresa največja. SOD 3 ima Cu/Zn kationski par in jo

celica izloča v zunajcelični prostor. Splošne lastnosti izoencimov SOD strnjeno predstavljamo v preglednici 1 (6).

Mutacija SOD 1 je pokazala na pomembnost encima pri preprečevanju razvoja nevrodegenerativnih bolezni (Alzheimerjeva in Parkinsonova bolezen). Pomanjkanje SOD 1 vodi v povečano nitriranje tirozinskih fenilnih obrobov, kot posledica povečane količine peroksinitritnega aniona. Prekomerna ekspresija SOD 1 ščiti cerebralno tkivo v patoloških pogojih, kot sta ishemija in Parkinsonova bolezen (5).

Izguba SOD 2 je za organizem smrtna, saj odsotnost le-te povzroči povečano produkcijo superoksidnega radikala, ki inhibira dihalno verigo zaradi inhibicije kompleksa I in II. Zmanjšana aktivnost SOD 2 poveča lipidno peroksidacijo in mitohondrijsko vakuolizacijo, kar vodi do nevrodegeneracije in odpovedi srca. SOD 2 izkazuje genski polimorfizem in v primeru »up-regulacije« pride do močno izraženega protektivnega delovanja (5).

Poznavanje izoencima SOD 3 je še zelo omejeno. SOD 3 je pomemben dejavnik pri razvoju fokalne cerebralne ishemije, poveča občutljivost miši za hipoksijo in posledično zmanjša sposobnost učenja. V primeru »up-regulacije« SOD 3 se poveča koncentracija v predelih alveolov tipa II in bronhialnih epitelialnih celicah, kar kaže na pomen SOD 3 pri hipoksičnih respiratornih boleznih (8).

Aktivnost izoencimov SOD je tkivno specifična. Največja encimska aktivnost SOD je v jetrih, kjer je obremenitev z radikali zaradi intenzivnega metabolizma visoka. Ekstracelularna aktivnost SOD pa je največja v pljučih, kar kaže na njeno fiziološko vlogo v medceličnih prostorih pljuč pri preprečevanju pljučnih obolenj (8).

3 Katalitični antioksidanti

Na začetku razvoja katalitičnih antioksidantov so terapevtsko uporabljali kar sam encim, vendar zaradi nezaželenih imunskih reakcij ni bilo pričakovanih rezultatov (9). Poleg tega so nadaljni razvoj omejevali tudi: velikost in naboj SOD, nizka permeabilnost, kratek razpolovni čas ($t_{1/2}$), nizka biološka uporabnost in alergičnost. Zato je razvoj stekel v smeri peroralnih mimetikov SOD. Odkrili so več skupin kompleksov, ki vsebujejo ion kovine prehoda, največkrat mangan, koordinativno vezan v različna ciklična ogrodja, in s katerimi oponašajo delovanje encimskih antioksidantov (4).

Preglednica 1: Osnovne značilnosti SOD izoencimov

Table 1: The basic characteristics of SOD isoenzymes

	SOD 1	SOD 2	SOD 3
Lokacija v celici	citosol	mitohondriji	zunajcelični prostor
Masa proteina	32,000	88,000	120,000
Struktura	dimer	tetramer	tetramer
Kovina prehoda	Cu 1 Zn 1	Mn 1	Cu 1 Zn 1
Utišanje gena	neletalno	letalno	neletalno
Lokacija (kromosom)	21	6	neznana
Bolezenska stanja povezana z zmanjšano aktivnostjo posameznega podtipa	srčni infarkt ishemija nevrodegenerativne bolezni	srčna kap odpoved srca nevrodegenerativne bolezni	respiratorne bolezni vnetja cerebralna ishemija

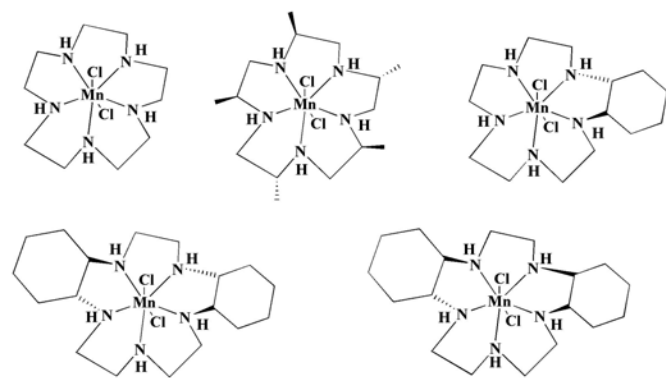
Katalitične antioksidante delimo na selektivne in neselektivne. Selektivni so reakcijsko specifični za reakcijo s superoksidnim radikalom v *in vitro* pogojih. V to skupino uvrščamo makrociklične katalitične antioksidante. Skupino neselektivnih katalitičnih antioksidantov pa predstavljajo saleni in metaloporfirini (4).

Glavna omejitev hitrejšega razvoja skupine katalitičnih antioksidantov je nizka korelacija med *in vitro* aktivnostjo in aktivnostjo v biološkem sistemu, kjer so reakcijske hitrosti zaradi velikega števila potencialnih interakcij lahko bistveno drugačne (4). Navkljub temu imajo nekatere spojine odlično aktivnost v *in vivo* študijah na živalih in človeku. Ker imajo RONS pomembno vlogo tudi v nekaterih fizioloških procesih, pri transdukciji signalov, izražanju genov in imunskem odgovoru, je zagotavljanje selektivnosti katalitičnih antioksidantov prav tako nujen pogoj za uspešen nadaljnji razvoj (10).

3.1 Selektivni katalitični antioksidanti

Makrociklične spojine

Pri makrocikličnih mimetikih SOD je Mn^{3+} koordinativno vezan v center 15-členskega obroča s petimi dušiki (pentaaza makrocikel). Tak sistem omogoča prenos le enega elektrona v redoks reakciji, zato so tovrstni makrociklični kompleksi selektivni le za odstanjevanje superoksidnega radikala. Lovljenje peroksinitrilnega radikala in vodikovega peroksida zahteva namreč prenos dveh elektronov. Kemijske strukture nekaterih sintetiziranih predstavnikov so na sliki 5 (11).

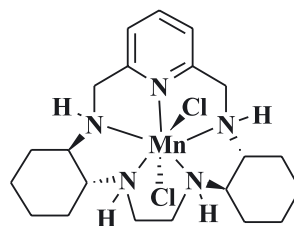


Slika 5: Predstavniki katalitičnih antioksidantov makrocikličnega tipa
Figure 5: Several catalytic antioxidants of the macrocyclic class

Makrocikli so kemijsko stabilni in selektivno odstranjujejo superoksidni radikal. Spojine z večjim številom substituentov na makrocikličnem obroču so termodinamsko in kinetično stabilnejše. Za aktivnost SOD ima pomembno vlogo tudi stereokemija vezave dodatnih obročev (11). M40403 je do sedaj najuspešnejši makrociklični antioksidant, ki je učinkovit pri zdravljenju mnogih patoloških stanj (preglednica 2). Spojina, ki ima katalitično aktivnost primerljivo s SOD, prehaja celične bariere in ne povzroča imunskih reakcij, zaključuje II. fazo kliničnih testiranj kot potencialni analgetik (9), ker so odkrili, da je superoksidni radikal mediator bolečine na ravni centralnega in perifernega živčevja, kar odpira nove možnosti modulacije bolečine (12).

Preglednica 2: Struktura mimetika SOD M 40403 ter bolezenska stanja, kjer se je spojina izkazala kot učinkovita (povzeto po 6)

Table 2: Structure of the SOD mimetic M40403 and pathological states where this compound was proved to be effective (based on ref. 6)

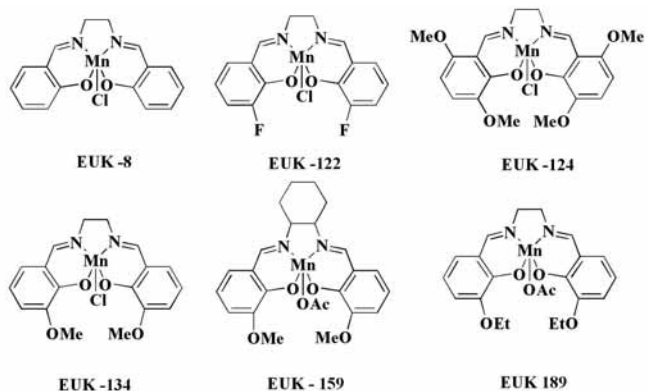


Bolezensko stanje	Živalska vrsta uporabljena v študiji
Srčna ishemija	podgane
Z endotoksinom povzročen šok	podgane
Hiperalgezija podgane	(izvajajo se že klinične študije na ljudeh)
Kolitis	podgane

3.2 Neselektivni katalitični antioksidanti

Saleni

Saleni so substituirani aromatski *N,N* – bis(saliciliden)etilendiaminski kovinski kompleksi, ki lahko odstranjujejo tako superoksid kot tudi vodikov peroksid (slika 6). Reagirajo tudi s peroksinitrilnim anionom in peroksidi v maščobah. Mangan je v salenovih spojinah koordiniran s štirimi aksialnimi ligandi. Strukturna posebnost salenskih antioksidantov je, da je centralni kation koordinativno vezan z dvema kisikovima in dvema dušikovima atomoma. To omogoča tvorbo več valenčnih stanj, ki vsa omogočajo odstanjevanje velikega števila ROS/RNS. (13)



Slika 6: Nekateri katalitični antioksidanti salenskega tipa
Figure 6: Several salen type catalytic antioxidants

Mehanizem delovanja salenskega tipa katalitičnih antioksidantov še ni znan. Čeprav imajo le 1 % SOD aktivnosti, so še vedno učinkoviti pri preprečevanju oksidativnega stresa. Spojina EUK 189 je bila v *in vivo* študijah učinkovita pri zaščiti mikroglije pred poškodbami z β -amiloidom in je pomemben kandidat za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni (14). Saleni so učinkoviti tudi pri terapiji endotoksičnega šoka in različnih kardiovaskularnih zapletih (15) (preglednica 3).

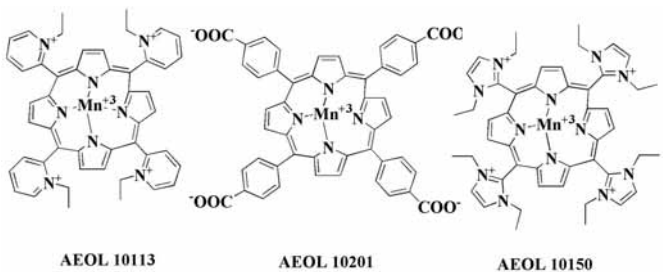
Preglednica 3: Bolezenska stanja, kjer so se salenski katalitični antioksidanti izkazali kot uspešni (povzeto po 4)

Table 3: Pathological states where salen-type catalytic antioxidants were particularly effective (based on ref. 4)

Bolezensko stanje	Živalska vrsta uporabljena v študiji	Oznaka katalitičnega antioksidanta
Hemoragični šok	podgane	EUK-8
Srčna ishemija	podgane	EUK-8
Hipoksična pljučna vazokonstrikcija	miši	EUK 8
Spongiformna encefalopatija	miši	EUK 134
ALS	miši	EUK134

Metaloporfirini

Metaloporfirini so najbolj raziskovana skupina katalitičnih antioksidantov. Ker se spojine strukturno razlikujejo od endogenih porfirinov, jih kemijsko uvrščamo v skupino mezo-substituiranih protoporfirinov z manganovim Mn^{3+} ionom v sredini porfirinskega obroča, ki ga koordinirajo štirje aksialni dušikovi atomi, kot vidno na sliki 7 (16).



Slika 7: Kemijske strukture metaloporfirinskega razreda katalitičnih antioksidantov

Figure 7: Chemical structures of the metaloporphyrin class of catalytic antioxidants

Metaloporfirini lahko odstranjujejo superoksidni radikal, vodikov peroksid, peroksinitritni anion in lipidne peroksidge (17). Spojine so učinkovite *in vivo* v primeru mnogih bolezenskih stanj (preglednica 4). Ker so inhibitorji lipidne peroksidacije, lahko zaščitno delujejo v primeru endotoksičnega in hemoragičnega šoka ter akutne odpovedi ledvic. Učinkoviti so v primeru vnetja ter uspešno zavirajo apoptozo.

Metaloporfirini (spojina AEOL-10113) zakasnijo klinično manifestacijo sladkorne bolezni tipa 1. Ugotovili so, da ni pomembno le katalitično odstranjevanje radikalov, ampak tudi inhibicija avtoimune reakcije, ki vodi do razvoja sladkorne bolezni. Metaloporfirini preprečujejo aktivacijo T-celic imunskega sistema in so tudi potencialni imunomodulatorji (18).

Pregledica 4: Bolezenska stanja, kjer so se metaloporfirinski katalitični antioksidanti izkazali kot učinkoviti (povzeto po 4)

Table 4: Pathological states where metaloporphyrin class of catalytic antioxidants were particularly effective (based on ref. 4)

Bolezensko stanje	Živalska vrsta uporabljena v študiji	Oznaka katalitičnega antioksidanta
Z antigenom izvana astma	miši	AEOL-10201
Radiacijska fibroza	miši	AEOL-10113
Nitratna toleranca	podgane	AEOL-10201
Cerebralna vazokonstrikcija	miši	AEOL-10201
Diabetes	miši	AEOL-10113
Kolitis	podgane	AEOL-11201

4 Sklep

Pomembnost superoksidnega radikala in aktivnost SOD v patoloških stanjih sta temelja za razvoj mimetikov encimskih antioksidantov. Njihova uporaba bo smiselna v primerih, ko poznamo korelacijo med vlogo superoksidnega radikala pri nastanku in razvoju bolezenskega procesa. Nov pristop, kljub vzpodbudnim rezultatom, je še vedno v začetnih stopnjah razvoja, ker raziskovalci še nimajo standardiziranih postopkov za kvantifikacijo količine antioksidantov v *in vivo* pogojih ter za oceno stopnje oksidativnega stresa. Ob omenjenih problemih bo reševanje problema transporta in porazdelitve mimetika SOD po telesu verjetno lažjega značaja. V naslednjih letih bodo zaključene raziskave, ki bodo predstavljene mimetike SOD bodisi pripeljale med učinkovine bodisi se bodo morali raziskovalci ozreti po novih mimetiki antioksidantnih encimov, kot so npr. lipofilni ionofori (19) in nekateri peptidi (20). Ob sedanjí stopnji poznavanja biokemičnih procesov v organizmu, v katerih so udeleženi ROS ali RNS, lahko zaključimo, da so to tako pomembni fiziološki (npr. staranje) in patološki procesi, da bodo raziskovalci poskusili vse, da pridejo do »eliksirja mladosti«, kar pomeni, da na tem področju z veliko verjetnostjo pričakujemo nova zdravila.

5 Literatura

1. Manček B, Pečar S. Radikali in zaščita pred poškodbami z radikali v bioloških sistemih. *Farm Vestn* 2001; 52: 133-144.
2. Kreft S, Pečar S. Vloga radikalov pri obolenjih. *Farm. Vestn* 1998; 48: 476-481.
3. Maxwell SJM, Lip GYH. Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 307-317.
4. Day BJ. Catalytic antioxidants: A radical approach to new therapeutics. *Drug Discov Today* 2004; 9: 557-566.
5. Cuzzocrea S, Thiemermann C, Salvemini D. Potential Therapeutic Effect of Antioxidant Therapy in Shock and Inflammation. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1147-1162.
6. Salvemini D, Riley R. SOD Mimetics are coming of age. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1: 367-374.
7. <http://www.metaphore.com>
8. Kinnula VL, Carpo JD. Superoxide Dismutases in the Lung and Human Lung Diseases. *Am. J. Respir Crit Care Med* 2002; 167: 1600-1619.
9. Shaffer S G. Administration of bovine superoxide dismutase fails to prevent chronic pulmonary sequelae of neonatal oxygen exposure in the rat. *J Pediatr* 1987; 110: 942-946.
10. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi et al. Oxidative Stress and Cell Signalling. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1163-1182.
11. Riley DP, Lennon PJ, Neumann WL et al: Toward the Rational design of Superoxide Dismutase Mimics: Mechanistic Studies of the Elucidation of Substituent Effects on the Catalytic Activity of Macrocyclic Manganese(II) Complexes. *J Am Chem Soc* 119, 1997; 119: 6522-6528.
12. Wang ZG, Porreca F, Cuzzocrea S et al. A Newly Identified Role for Superoxide in Inflammatory Pain. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 869-878.
13. Doctrow SR, Huffman K, Marcus CM et al. Salen-Manganese Complexes as Catalytic Scavengers of Hydrogen Peroxide and Cytoprotective Agents: Structure – Activity Relationship studies. *J Med Chem* 2002; 45: 4549-4558.
14. Melov S, Wolf N, Strozyk D et al. Mice transgenic for Alzheimer disease β -amyloid develop lens cataracts that are rescued by antioxidant treatment. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 258-261.
15. McDonald MC, Di Villa Bianca R E, Wayman N S et al: A superoxide dismutase mimetic with catalase activity (EUK-8) reduces the organ injury an endotoxic shock. *Eur J Pharm* 2003; 466: 181-189.
16. Patel M, Day BJ. Metaloporphyrin class of therapeutic catalytic antioxidants. *TiPS* 1999; 20: 359-354.
17. Lee J, Hunt JA, Groves JT. Manganese Porphyrins as Redox-Coupled Peroxynitrite Reductase. *J Am Chem Soc* 1998; 120: 6053-6061.
18. Habeck M. Catalytic antioxidants prevent type 1 diabetes. *Drug Discov Today* 2002; 7: 933-943.
19. Fisher AEO, Lau G, Naughton, DP. Lipophilic ionophore complexes as superoxide dismutase mimetics. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005; 329: 930-933.
20. Fisher AEO, Naughton, DP. Metal ion chelating peptides with superoxide dismutase activity *Biomed Pharmacother* 2005; 59: 158-162.