

DIETER STEINHILBER, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Leukotriene – Botenstoffe von allergischen und entzündlichen Reaktionen

Leukotriene sind hochwirksame Mediatoren entzündlicher und allergischer Reaktionen, die von der 5-Lipoxygenase und nachgeschalteten Enzymen aus Arachidonsäure gebildet werden (Bild 1) [1]. Die Arachidonsäure wird durch die cytosolische Phospholipase aus der Kernmembran freigesetzt. Leukotriene spielen bei verschiedenen Erkrankungen wie Asthma, Atherosklerose und bestimmten Krebserkrankungen eine signifikante Rolle [2]. Die 5-Lipoxygenase wird v.a. in Leukocyten exprimiert. Die zelluläre 5-Lipoxygenase-Aktivität wird durch Phosphorylierung des Enzyms, durch Diglyceride, Ca²⁺ und dem zellulären Redox-Status reguliert (Bild 2). Die Phosphorylierung erfolgt durch die p38 MAPK-regulierte MAPKAP-Kinase und die extrazellulär Signal-regulierten Kinasen (ERKs). Dagegen wird die 5-Lipoxygenase-Aktivität durch die Proteinkinase A-vermittelte Phosphorylierung gehemmt. Bei der Aktivierung transloziert das Enzym an den Zellkern, wo FLAP Arachidonsäure als Substrat zur Verfügung stellt.

Sowohl der zelluläre Peroxidstatus als auch der Phosphorylierungszustand der 5-LO wirkt sich auf die 5-Lipoxygenase-Pharmakologie aus [3]. Ein erhöhter zellulärer Peroxidstatus und die Phosphorylierung der 5-LO vermindert die Sensitivität des Enzyms gegenüber den publizierten Nonredox-Inhibitoren. Ein Fokus unserer Arbeitsgruppe besteht darin, redox-insensitive und phosphorylierungsunabhängige 5-Lipoxygenaseinhibitoren zu entwickeln.

LEUKOTRIENE UND 5-LIPOXYGENASEINHIBITOREN

Stoffe, welche die 5-Lipoxygenase hemmen sind aufgrund ihrer entzündungshemmenden Effekte bzw. ihrer Hemmung der Bronchokonstriktion bei asthmatischen Prozessen von großem pharmazeutischen Interesse. Bis heute ist es nicht gelungen, 5-Lipoxygenasehemmer mit ausreichender klinischer Wirksamkeit zu entwickeln. Dabei haben sich in den letzten Jahren durch zahlreiche Arbeiten auf dem Sektor Anhalts-

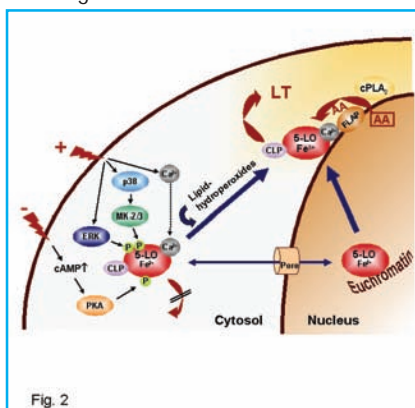


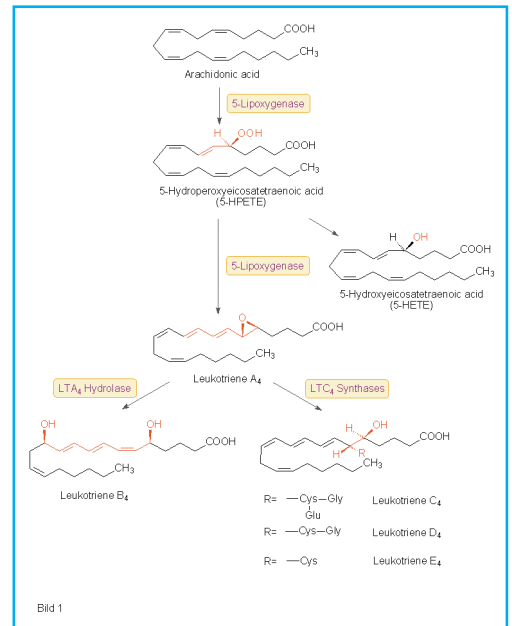
Abb. 2: Mechanismen der 5-Lipoxygenase-Aktivierung (5-LO=5-Lipoxygenase, cPLA₂=cytosolische Phospholipase A₂, FLAP=5-Lipoxygenase aktivierendes Protein, LT=Leukotriene, AA=Arachidonsäure)

Fig. 2: Mechanisms of 5-lipoxygenase activation (5-LO=5-lipoxygenase, cPLA₂=cytosolic phospholipase A₂, FLAP=5-lipoxygenase activating protein, LT=leukotrienes, AA=arachidonic acid)

DIETER STEINHILBER, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

Leukotrienes – mediators of allergic and inflammatory reactions

Abb. 1: Der 5-Lipoxygenasestoffwechsel
Fig. 1: The 5-lipoxygenase pathway



Leukotriene are mediators of inflammatory and allergic reactions which are synthesized by 5-lipoxygenase from arachidonic acid (Figure 1). They are involved in various diseases such as asthma, atherosclerosis and certain types of cancer. 5-Lipoxygenase is mainly expressed in leukocytes and is activated by Ca²⁺ and/or phosphorylation by p38 MAPK-regulated MAPKAP kinases and the extracellular signal regulated kinases (ERKs) (Figure 2). During activation, 5-lipoxygenase translocates to the nuclear envelope where it interacts with FLAP which provides arachidonic acid as substrate.

Many of the developed 5-lipoxygenase inhibitors are only effective when cell stimulation occurs via an increase of the intracellular calcium concentration but the inhibitory potency of the drugs is strongly impaired when cellular 5-lipoxygenase stimulation is mediated by enzyme phosphorylation or an increased cellular peroxide tone. One focus of our group is to develop redox- and phosphorylation-insensitive 5-lipoxygenase inhibitors.

LEUKOTRIENES AND 5-LIPOXYGENASE INHIBITORS

The 5-lipoxygenase is activated either by an increase in intracellular calcium concentration or by phosphorylation via MK-2 and ERK1/2 and/or by an increase in the cellular peroxide tone (Figure 2). These enzyme phosphorylations play important roles during induction of cellular 5-lipoxygenase activity, in particular under conditions that do not lead to substantial Ca²⁺ mobilization in the cell. Compared to the Ca²⁺-mediated leukotriene formation using ionophore, enzyme activation involving 5-lipoxygenase phosphorylation events specifically and strongly alters the susceptibility of the enzyme towards many inhibitors in intact cells. Thus, we observed that enzyme phosphorylation and/or an increase in the cellular peroxide tone strongly impairs the efficacy of many 5-li-



punkte ergeben, dass 5-Lipoxygenasehemmer nicht nur ein therapeutisches Potential bei Entzündungen sondern bei einer ganzen Reihe weiterer Erkrankungen besitzen, dazu zählen Atherosklerose, Osteoporose und bestimmte Krebserkrankungen wie Prostatakarzinome und Neuroblastome. Allerdings war und ist die Suche nach effizienten 5-Lipoxygenase-Inhibitoren schwieriger als angenommen. 5-Lipoxygenase-Hemmer der zweiten Generation waren in klinischen Studien der Phase II nicht erfolgreich. Wie inzwischen von uns gezeigt werden konnte, sind die Wirkstoffe nur bei Zellstimuli wirksam, die auf einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration beruhen. Dagegen sind die Inhibitoren kaum noch effektiv, wenn die Stimulation der zellulären 5-Lipoxygenase-Aktivität auf der 5-Lipoxygenase-Phosphorylierung oder auf anderen Mechanismen wie der Erhöhung der intrazellulären Peroxidkonzentration beruht [3]. In Zusammenarbeit mit Prof. Schneider läuft gerade ein Screeningprogramm, um redox-insensitive und phosphorylierungsunabhängige 5-Lipoxygenaseinhibitoren zu entwickeln [4,5]. Die Identifizierung von B02 als potenter 5-Lipoxygenase-Inhibitor ist in Bild 3 dargestellt.

oxygenase inhibitors [3]. Therefore, we started a screening program to identify redox- and phosphorylation-insensitive 5-lipoxygenase inhibitors [4,5]. The identification of compound B02 as potent 5-lipoxygenase inhibitor is shown in Figure 3.

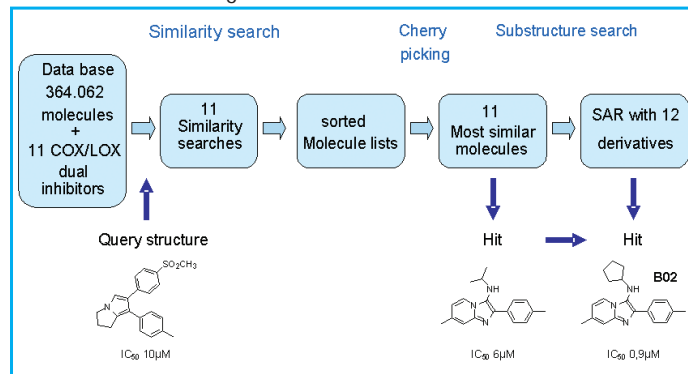


Abb. 3: Screening neuer 5-Lipoxygenase-Inhibitoren und Identifizierung von B02 als potenter 5-Lipoxygenase-Inhibitor

Fig. 3: Screening of new 5-lipoxygenase inhibitors and identification of B02 as potent 5-lipoxygenase inhibitor

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Rådmark, O., Werz, O., Steinhilber, D. and Samuelsson, B. (2007) 5-Lipoxygenase: regulation of expression and enzyme activity. *Trends Biochem Sci* **32**, 332-341.
- [2] Werz, O. and Steinhilber, D. (2006) Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacol Ther* **112**, 701-718.
- [3] Fischer, L., Szellas, D., Rådmark, O., Steinhilber, D. and Werz, O. (2003) Phosphorylation- and stimulus-dependent inhibition of cellular 5-lipoxygenase activity by nonredox-type inhibitors. *FASEB J* **17**, 949-951.
- [4] Hofmann, B., Franke, L., Proschak, E., Tanrikulu, Y., Schneider, P., Steinhilber, D. and Schneider, G. (2008) Scaffold-hopping cascade yields potent inhibitors of 5-lipoxygenase. *ChemMedChem* **3**, 1535-1538.
- [5] Werz, O., Greiner, C., Koeberle, A., Hoernig, C., George, S., Popescu, L., Syha, I., Schubert-Zsilavec, M. and Steinhilber, D. (2008) Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid. *J Med Chem* **51**, 5449-5453.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Dieter Steinhilber

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29324
 Fax: ++49 (0)69 798-29323
 E-Mail: steinhilber@em.uni-frankfurt.de
http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/Prof_Steinhilber/index.html

