

## Carbonylmetall-Pharmazeutika

# Carbonylmetallkomplexe – eine neue Klasse von Pharmazeutika?\*\*\*

Tony R. Johnson, Brian E. Mann,\* James E. Clark, Roberta Foresti, Colin J. Green und Roberto Motterlini\*

**Stichwörter:**

Bioanorganische Chemie · Herz-Kreislauf-Wirkstoffe · Kohlenmonoxid · Medizinische Chemie · Wirkstoff-Design

Mittlerweile steht fest, dass NO trotz seiner hohen Toxizität in Säugetieren als Botenstoff fungiert. Da  $\text{NO}^+$  und CO isoelektronisch sind, sollte es nicht überraschen, dass CO eine gleichartige Funktion zukommt. Der Mensch produziert selbst etwa  $3\text{--}6\text{ cm}^3$  CO pro Tag, wobei bestimmte Entzündungszustände sowie pathologische Bedingungen, die mit der Hämolyse der roten Blutkörperchen verbunden sind, die produzierte Menge merklich erhöhen. In den letzten zehn Jahren ist das Interesse an den biologischen Wirkungen von CO stark gestiegen und inzwischen gilt es in der medizinischen Literatur als gesichert, dass CO in Säugetieren eine wesentliche Rolle als Signalmolekül spielt. Dabei ist der Hauptwirkungsbereich das Herz-Kreislauf-System, z. B. bei der Unterdrückung von Abstoßungsreaktionen bei Organtransplantationen und beim Schutz des Gewebes vor ischämischer Schädigung und Apoptose. Vor kurzem wurde gezeigt, dass Carbonylmetallkomplexe im Organismus CO freisetzen und ähnliche biologische Wirkungen wie CO selbst zeigen können. Dies eröffnet die Möglichkeit, pharmazeutisch wichtige Carbonylmetallkomplexe zu entwickeln.

## 1. Einleitung

Kohlenmonoxid (CO) ist ein farb-, geruch- und geschmackloses, nichtkorrosives Gas von nahezu gleicher Dichte wie Luft. Es ist das am häufigsten anzutreffende und überall vorhandene Gift in unserer Umwelt.<sup>[1]</sup> Paradox wirkt da, dass sich vor mehr als einem halben Jahrhundert herausstellte, dass

im Menschen ständig in geringen Mengen CO gebildet wird<sup>[2]</sup> und dass diese endogene Produktion unter bestimmten pathophysiologischen Bedingungen erheblich ansteigt.<sup>[3]</sup> Die Entdeckung, dass Hämoglobin, ein Häm-abhängiges Protein, als Substrat für die Produktion von CO in vivo benötigt wird,<sup>[4]</sup> und die Identifizierung des Enzyms Häm-Oxygenase als entscheidend für die Bildung dieser gasförmigen Verbindung in Säugetieren<sup>[5]</sup> lieferten die Basis für die frühen Untersuchungen der unerwarteten Funktion von CO in den Gefäßen.<sup>[6]</sup> Das darauf folgende Klonen<sup>[7]</sup> und die Charakterisierung konstitutiver (HO-2) und induzierbarer (HO-1) Isoformen der Häm-Oxygenase<sup>[8]</sup> sowie Studien zur Kinetik und Gewebeverteilung dieser Enzyme<sup>[9]</sup> enthüllten eine zentrale Rolle dieses Weges beim physiologischen Abbau von Häm, d.h., die Endprodukte des Hämabbaus (CO, Biliverdin und Bilirubin) könnten letztendlich entscheidende biologische Aktivitäten aufweisen.<sup>[10]</sup> Dies brachte viele Forschungsgruppen dazu, sich mit der Funktion von CO zu

[\*] Prof. B. E. Mann, T. R. Johnson  
Department of Chemistry  
The University of Sheffield  
Sheffield, S3 7HF (Großbritannien)  
Fax: (+44) 114-2738673  
E-mail: b.mann@sheffield.ac.uk

Dr. R. Motterlini, J. E. Clark, R. Foresti, Prof. C. J. Green  
Department of Surgical Research  
Northwick Park Institute for Medical Research  
Harrow, Middlesex, HA1 3UJ (Großbritannien)  
Fax: (+44) 208-8693270  
E-mail: r.motterlini@ic.ac.uk

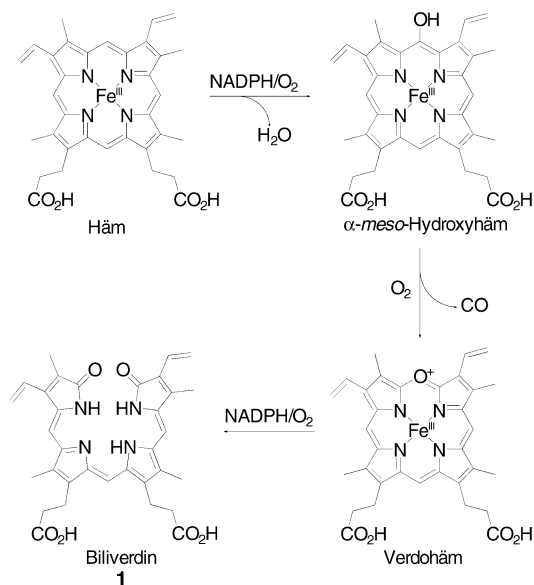
[\*\*] Wir danken dem MRC, der British Heart Foundation, dem Dunhill Medical Trust, dem Northwick Park Institute for Medical Research und der University of Sheffield für finanzielle Unterstützung.

beschäftigen. Ein Buch, das den Einfluss von CO auf Herz-Kreislauf-Funktionen beschreibt, ist erschienen<sup>[11]</sup> und über die Funktion von CO als Signalmolekül wurde zusammenfassend berichtet.<sup>[12]</sup>

Die Rolle von CO in Organismen könnte ihren Ursprung in der prähistorischen Umwelt haben, die reich an CO war,<sup>[13]</sup> und ist eventuell mit biologischen Mechanismen verbunden, die sich während des Frühstadiums der Entwicklung des Lebens herausbildeten. Nach einem neueren Vorschlag leistete CO einen signifikanten Beitrag zur Synthese der ersten Amino- und Nucleinsäuren.<sup>[14]</sup>

## 2. CO-Quellen im menschlichen Körper

Die Hauptquelle von CO (86 %) im menschlichen Körper ist die 1969 entdeckte,<sup>[16]</sup> durch die Häm-Oxygenase<sup>[15]</sup> katalysierte Oxidation von Häm. Im ersten Schritt entsteht dabei Biliverdin (**1**, Schema 1).<sup>[17]</sup> Normalerweise wird Biliverdin (**1**) von der Biliverdin-Reduktase zu Bilirubin (**2**)



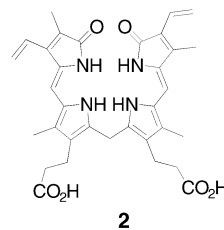
**Schema 1.** Zwischenprodukte der durch Häm-Oxygenase katalysierten Oxidation von Häm zu Biliverdin.<sup>[17]</sup>

reduziert und nach Konjugation mit Glucuronsäure ausgeschieden.<sup>[18]</sup>

Die Wirkung der Häm-Oxygenase kann man gut bei Quetschungen beobachten. Bei der durch die Quetschung verursachten Verletzung wird Hämoglobin aus zerstörten roten Blutkörperchen freigesetzt, was zu dunkelroten/violetten Bereichen unter der Haut durch desoxygeniertes Hämoglobin führt. Die Häm-Oxygenase im vaskulären Gewebe oxidiert das aus dem Hämoglobin freigesetzte Häm dann unter Freisetzung von CO und Eisenionen zu Biliverdin. Dies hat mehrere offensichtliche Folgen: Im Bereich außerhalb der Gefäße wird Sauerstoff verbraucht, wobei blaues, sauerstofffreies Hämoglobin entsteht, und in dem darunter liegenden Gewebe erscheint eine grüne Farbe, die auf die Anwesenheit von Biliverdin hindeutet. Die Reduktion des Biliverdins zu Bilirubin ruft eine gelbe Färbung hervor, die dann allmählich verblasst (Abbildung 1). Ein Teil des gebildeten CO bindet an das Eisenzentrum von Hämoglobin und führt zu dem in Abbildung 1d deutlich sichtbaren, leuchtend roten Kohlenmonoxidhämoglobin.

Die verbleibenden 14 % an erzeugtem CO stammen aus unterschiedlichen Quellen, darunter die Photooxidation, die Lipidperoxidation, Xenobiotika und Bakterien.<sup>[15]</sup>

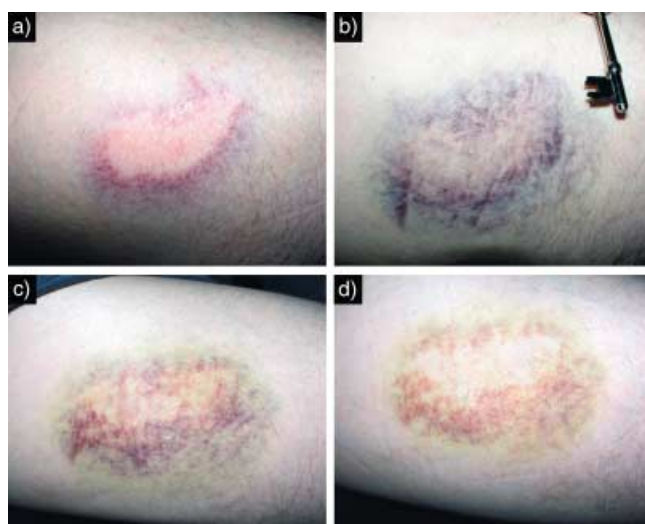
Die Basisproduktion an CO im menschlichen Körper beträgt unter Normalbedingungen ungefähr 20 μmol h<sup>-1</sup>; dabei stammt der Großteil aus dem Umsatz des Hämoleküls und dem Abbau von auf Häm angewiesenen Proteinen wie Hämoglobin und Myoglobin.<sup>[10]</sup> Unter Stressbedingungen kann jedoch die induzierbare Isoform der Häm-Oxygenase (HO-1), die im Säugetiergewebe ubiquitär verbreitet ist, stark nach oben reguliert werden, was zu einem deutlichen Anstieg an endogen produziertem CO führt.<sup>[19]</sup> Deshalb ist es nicht überraschend, dass erhöhte CO-Werte im Atem des Menschen messbar und als Indikation medizinischer Zustände verwendbar sind. Die Gasmenge steht in Beziehung zur Schwere einiger Krankheitszustände,<sup>[20]</sup> z.B. Asthma,<sup>[21]</sup> Bronchiektase,<sup>[22]</sup> zystische Fibrose,<sup>[23]</sup> Diabetes<sup>[24]</sup> und Rhinitis (Nasenschleimhautentzündung).<sup>[25]</sup> Die erhöhte CO-Produktion als Folge der Induktion von HO-1 während pathophysiologischer Zustände muss als eine dem Körper innewohnende Fähigkeit zur Antwort auf Stresssituationen



Brian E. Mann studierte in Oxford (BA (1965), MA, DPhil (1968, alle Chemie), DSc (1989)) und gehörte danach der University of Leeds an (1968–1973), bevor er an die University of Sheffield wechselte. Er ist Autor oder Coautor von über zweihundert Veröffentlichungen und drei Büchern. Er war Gastprofessor an acht Universitäten. In Sheffield leitete er den EPSRC-High-Field-NMR-Service von 1980–1986.



Roberto Motterlini ist Leiter der Vascular Biology Unit am Northwick Park Institute for Medical Research und ehrenamtlich Leitender Dozent (Honorary Senior Lecturer) am University College London. Er promovierte an der Mailänder Universität in Biologie (1986) und war Gastwissenschaftler an der University of California, San Diego (1991–1995). Er hat mehrere Arbeiten zur biologischen Bedeutung der Häm-Oxygenase und ihrer Metaboliten (Kohlenmonoxid und Bilirubin) für die Steuerung kardiovaskulärer Funktionen veröffentlicht. Er ist Mitglied der American Heart Association und der American Society for Biochemistry and Molecular Biology.



**Abbildung 1.** Die äußerlichen Veränderungen einer Quetschung mit der Zeit. Die Bilder zeigen den Oberschenkel eines Inline-Hockeyspielers zu verschiedenen Zeiten, nachdem dieser vom Puck getroffen wurde: a) nach 12 h; man sieht das Rot und Violett von Häm; b) nach 2 Tagen; die grünen Tönungen deuten die Bildung von Biliverdin an; c) nach 5 Tagen; die gelbe Färbung ist die Folge der Bildung von Bilirubin; d) nach 10 Tagen; es sind noch Reste von Bilirubin vorhanden. Die hellrote Farbe in (d) stammt von Kohlenmonoxidhämoglobin. (Mit freundlicher Genehmigung von LondonSkaters.com.)

angesehen werden, da HO-1 gegenwärtig als das empfindlichste induzierbare Protein mit zellschützenden und regulativen Funktionen angesehen wird.<sup>[26]</sup>

### 3. Funktionen der Häm-Oxygenase-1 (HO-1)

Zu den günstigen Wirkungen der HO-1 liegen ausführliche Studien vor.<sup>[27]</sup> Sie umfassen eine Vielzahl von Krankheiten und physiologischen Funktionen, darunter Lungen-, Herz-Kreislauf-, Nieren- und neurologische Krankheiten. Im Mittelpunkt der Forschung stehen die Hämabbauprodukte Biliverdin, Bilirubin, Eisenionen und CO. Die während des Hämabbaus freigesetzten Eisenionen werden sofort an Ferritin gebunden, alle anderen Produkte des Hämabbaus haben eine antioxidative und/oder eine Signalfunktion.<sup>[26]</sup> Es gibt zwei Ansätze, die Vorteile der Häm-Oxygenase-Funktion medizinisch zu nutzen: die Induktion und das Hochregulieren des HO-1-Proteinspiegels im Gewebe sowie das Verabreichen von Verbindungen, die die Abbauprodukte liefern. In diesem Beitrag untersuchen wir einige nützliche Anwendungen von CO.

### 4. Medizinische Untersuchungen zur Anwendung von CO-Gas

Untersuchungen zur physiologischen Funktion von CO begannen in den frühen 1990er Jahren und betrafen überwiegend die Anwendung von CO-Gas, obwohl auch  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  als Vorstufe eingesetzt wird. Darüber hinaus gibt es eine

erhebliche Zahl an Veröffentlichungen, in denen HO-1 induziert wurde, um die Produktion von CO auszulösen.

Die Erkenntnis, dass CO vasodilatatorisch wirkt,<sup>[28]</sup> ist vielleicht der bedeutendste Beleg für eine pharmakologische Funktion dieser Substanz. Auch wenn die molekularen Mechanismen und die chemischen Modifizierungen, die nötig sind, um die durch CO vermittelten Signale in eine bestimmte biologische Wirkung umzusetzen, noch vollständig aufgeklärt werden müssen, existieren inzwischen überzeugende wissenschaftliche Berichte über die Signaleigenschaften von endogen erzeugtem CO.<sup>[29]</sup> Mittlerweile konnte eine Vielzahl physiologischer Wirkungen von CO nachgewiesen werden:

1. Es ist entzündungshemmend.
  - a) Es dämpft den endotoxischen Schock: Mäuse, die CO-Gas ausgesetzt waren, bevor ihnen ein Lipopolysaccharid (LPS) verabreicht wurde, hatten deutlich geringere Tumornekrosefaktor- $\alpha$ -Spiegel im Plasma und zeigten eine erhöhte Produktion an IL-10, einem schützenden oder entzündungshemmenden Cytokin.<sup>[30]</sup>
  - b) Es vermindert allergische Entzündungen: Das Verabreichen von CO an Mäuse, die Allergenen ausgesetzt wurden, blockierte den Eosinophilausfluss und die IL-5-Produktion.<sup>[31]</sup>
2. Es unterdrückt die Abstoßung von Organtransplantaten: Als Modell wurde eine Herztransplantation von Maus zu Ratte durchgeführt. Nur 2 Tage lang setzte man die Ratten nach der Transplantation 400 ppm CO aus; das Transplantat überlebte daraufhin 50 Tage. Die der Luft ausgesetzte Kontrollgruppe überlebte dagegen nur 5 bis 7 Tage.<sup>[32]</sup>
3. Es schützt vor Hyperoxidose: Die Vorbehandlung einer Ratte mit CO-Gas schützte deren Lunge vor einer oxidativen Schädigung.<sup>[33]</sup>
4. Es schützt vor Ischämie: CO-Gas wurde kürzlich zur Vermeidung einer Ischämie/Reperfusionsschädigung der Leber eingesetzt.<sup>[34]</sup>
5. Man hat CO-Gas zum Schutz pankreatischer B-Zellen vor Apoptose verwendet.<sup>[35]</sup>
6. Leydig-Zellen scheinen mithilfe von CO, das aus der HO-1-Aktivität stammt, die Apoptose prämeiotischer Keimzellen auszulösen und dadurch die Spermatogenese unter Stressbedingungen zu beeinflussen.<sup>[36]</sup>
7. Es setzt den Perfusionsdruck in isolierter menschlicher Plazenta herab.<sup>[37]</sup>
8. In Tiermodellen schützt es vor septischem Schock und Lungenschäden, wobei das mitogen aktivierte Proteinkinase-System diese zellschützende Wirkung zu vermitteln scheint.<sup>[38]</sup>
9. Es beeinflusst den vaskulären Ruhemuskeltonus.<sup>[19,39]</sup>
10. Es reguliert den Blutdruck unter Stressbedingungen.<sup>[19]</sup>
11. Es unterdrückt arteriosklerotische Läsionen, hervorgerufen durch chronische Transplantatabstoßung oder als Nebeneffekt einer Ballonangioplastie.<sup>[40]</sup>

Die wissenschaftlichen Untersuchungen zur Funktion von CO im Körper befinden sich noch in der Anfangsphase. Die bisherigen Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass es auch in anderen Bereichen bedeutsam sein könnte, darunter der Transplantationschirurgie, dem neuronalen Schutz bei

Schlaganfällen und der Alzheimer-Krankheit<sup>[41]</sup> sowie dem Eisprung.<sup>[42]</sup> Endogenem CO und Bilirubin könnten wichtige Funktionen bei der Steuerung plazentarer vaskulärer Funktionen zukommen.<sup>[43]</sup>

Die positiven Wirkungen von CO im Körper hatten kürzlich drei Patentanmeldungen zur Folge. Eine beschreibt die Anwendung von CO-Gas in der Medizin.<sup>[44]</sup> Eine zweite betrifft die Verwendung sowohl von CO-Gas als auch von CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>;<sup>[45]</sup> letzteres wird zu CO metabolisiert und kann somit als CO-Quelle dienen. Im dritten werden Carbonylmetallkomplexe als CO-Quelle eingesetzt.<sup>[46]</sup>

## 5. Untersuchungen zum Einsatz von CO freisetzenden Carbonylmetallkomplexen in der Medizin

Die Untersuchungen zum Einsatz von Carbonylmetallkomplexen als CO freisetzende Moleküle (CO-RMs) befinden sich in der Anfangsphase. In einer Veröffentlichung wird der Einsatz von [Fe(CO)<sub>5</sub>], [Mn<sub>2</sub>(CO)<sub>10</sub>] und [{RuCl<sub>2</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>] als CO-RMs beschrieben.<sup>[47]</sup> Zur Freisetzung von CO war im Fall von [Fe(CO)<sub>5</sub>] und [Mn<sub>2</sub>(CO)<sub>10</sub>] eine Photolyse notwendig; dagegen gab [{RuCl<sub>2</sub>(CO)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>], in DMSO gelöst, CO direkt an Myoglobin ab und bildete CO-Mb. Weitere Tests wurden durchgeführt, nach denen CO-RMs

1. die Vasodilatation vorverengter Aortenringe bei Ratten bewirken,
2. die koronare Vasokonstriktion in Herzen ex vivo schwächen,
3. akute Hypertonie in vivo deutlich vermindern.

Das kürzlich veröffentlichte Patent<sup>[46]</sup> zeigt weitere Entwicklungen auf. So setzt eine große Zahl an {Ru<sup>II</sup>(CO)<sub>3</sub>}-Komplexen in Gegenwart von Myoglobin bereitwillig ein Äquivalent CO frei und verursacht eine Vasodilatation in vorverengten Aortenringen von Ratten. Einige Fe<sup>II</sup>-Carbonylkomplexe erwiesen sich ebenfalls als aktiv.

[Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] wurde für weitere Studien ausgewählt. In einer Lösung, die Myoglobin enthält, setzt es rasch CO frei (schnelle CO-Quelle): Nach dem Durchmischen wird innerhalb von 5 min ein Äquivalent CO abgegeben. Mehrere medizinische Anwendungen von [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] wurden untersucht:

1. An isolierten Rattenherzen wurde eine Ischämie erzeugt, indem man die Flüssigkeitsversorgung 30 min unterbrach. Nach Wiederaufnahme der Flüssigkeitsversorgung war das Herz zu etwa 50 %, in Gegenwart von [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] dagegen nicht geschädigt.
2. Bei Herztransplantationen an Mäusen starben ohne [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] alle Mäuse innerhalb von 8 Tagen, in Gegenwart von [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] dagegen waren 40 % der Mäuse nach 50 Tagen noch am Leben.
3. [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] inhibiert teilweise die Blutplättchenaggregation.
4. Mit [Ru(CO)<sub>3</sub>Cl(glycinat)] vorbehandelte Makrophagen produzierten bei nachfolgender Behandlung mit einem LPS deutlich weniger NO als nur mit dem LPS behandelte Makrophagen.

Unter den bisher untersuchten Verbindungen ist der Komplex [Fe(bpy)(SPh)<sub>2</sub>(CO)<sub>2</sub>] besonders bemerkenswert,

denn er überträgt kein CO auf Myoglobin, verursacht aber dennoch eine Vasodilatation. Deshalb scheint hier CO in der Zelle freigesetzt zu werden, was die Möglichkeit andeutet, Gewebe als Ziel von Carbonylmetallkomplexen zu definieren.

Die Erforschung von Carbonylmetallkomplexen als Pharmazeutika steht noch an ihrem Beginn, aber die Arbeiten zum CO-Gas haben die wichtige biologische Funktion von CO bereits belegt. Die bisherigen Ergebnisse der Studien mit Carbonylmetallkomplexen sprechen jedenfalls dafür, dass es für die Nutzung dieser Komplexe als feste Form von Kohlenmonoxid eine Zukunft gibt. Ihre Funktion könnte wegen der Anwesenheit eines Metallions gegenüber der von CO-Gas gesteigert sein, da CO im Menschen größtenteils durch Häm-Oxygenasen produziert wird, die auch Eisenionen liefern. Diese könnten für die Aktivität erforderlich sein, und Carbonylmetallkomplexe sind in der Lage, sowohl CO als auch die Metallionen bereitzustellen.

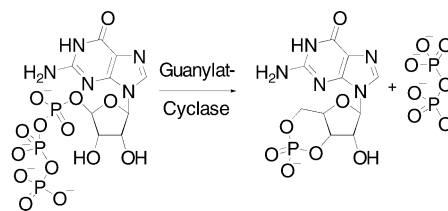
## 6. Ziele von CO in Säugetieren

Während es bereits überzeugende Belege für den Wirkmechanismus von NO gibt, befindet sich die Forschung zum Wirkmechanismus von CO noch in einem wesentlich früheren Stadium. Mehrere Ziele von CO-Gas wurden identifiziert: Guanylat-Cyclase,<sup>[48]</sup> p38-MAP-Kinase (MAP-Kinase = mitogen-activated protein kinase)<sup>[30]</sup> und p51. Was jedoch danach geschieht, ist Spekulation.

### 6.1. Lösliche Guanylat-Cyclase

Das lösliche Guanylat-Cyclase(sGC)-System wurde ausführlich untersucht, da es ein aktives Zentrum für die Wirkung von NO ist.<sup>[49]</sup> Guanylat-Cyclase katalysiert die Umwandlung von Guanosin-5'-triphosphat in cyclisches Guanosin-3',5'-monophosphat (Schema 2).

Das Ziel von NO ist wahrscheinlich das Häm und nach allgemeiner Annahme ist es auch das Ziel von CO. Jedoch setzen an dieser Stelle mechanistische Probleme ein. Die Reaktionen von NO und CO mit Häm sind merklich verschieden. Die Bindung von NO an die sGC verläuft extrem schnell ( $k_{\text{an}} > 1.4 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  bei 4 °C) und liefert ein sechsfach koordiniertes Zwischenprodukt.<sup>[50]</sup> Die Rückreaktion ist sehr langsam ( $k_{\text{ab}} = 8.2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  bei 25 °C<sup>[51]</sup> und  $1.7 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  bei 37 °C), woraus sich eine Bildungskonstante von  $> 10^{12} \text{ M}^{-1}$  ableitet.<sup>[52]</sup> In einer Folgereaktion entsteht durch

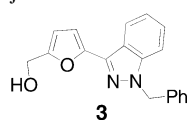


**Schema 2.** Die durch Guanylat-Cyclase katalysierte Umwandlung von Guanosin-5'-triphosphat in cyclisches Guanosin-3',5'-monophosphat.

Bruch der Histidin-Metall-Koordination ein fünffach koordinierter Komplex. Die Geschwindigkeit dieser Reaktion hängt ebenfalls von der NO-Konzentration ab; bei 4 °C beträgt sie  $2.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Aus der Röntgenstrukturanalyse des fünffach koordinierten NO-Addukts von mikrobiellem Cytochrom c' geht hervor, dass NO unter Verdrängung des Histidinrests an die proximale Seite des Cytochroms bindet.<sup>[53]</sup> Dies ruft eine erhebliche Konformationsänderung im Protein hervor und könnte der Auslöser für die Signalwirkung sein.

Dagegen verläuft die Bindung von CO an die sGC viel langsamer ( $k_{\text{an}} \sim 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  bei 23 °C) und führt zu einem sechsfach koordinierten Komplex, wobei die genaue Geschwindigkeit vom verwendeten Puffer abhängt.<sup>[51,54]</sup> Die Rückreaktion ist schneller als für NO ( $k_{\text{ab}} \sim 10 \text{ s}^{-1}$  bei 23 °C), woraus eine Bildungskonstante von ca.  $10^4 \text{ M}^{-1}$  resultiert. Obwohl eine verlässliche Bildungskonstante des sechsfach koordinierten NO-Komplexes nicht bestimmt wurde, ist die Bildungskonstante für NO offensichtlich sehr viel größer als die für CO. CO bindet an die distale Seite von mikrobiellem Cytochrom c', ohne Histidin zu verdrängen.<sup>[53]</sup> Diese Überlegung stützen Messungen am sGC-System, die zeigten, dass die Fe-Histidin-Bindung in der NO-gebundenen Form gelöst ist, während sie im CO-Addukt erhalten bleibt.<sup>[55]</sup> Der Unterschied zwischen NO und CO bei der Verdrängung des Histidinrests beruht wahrscheinlich auf den unterschiedlichen *trans*-Einflüssen: der von CO ist viel geringer als der von NO, weshalb CO den Histidinrest weniger effektiv destabilisiert als NO. Die beiden Liganden können anhand der Strukturen von  $[\text{Fe}(\text{tpp})(\text{NO})(1\text{-Me-imidazol})]^+$  und  $[\text{Fe}(\text{tpp})(\text{CO})(1\text{-Me-imidazol})]$  im Kristall unmittelbar verglichen werden (tpp = Anion von 5,10,15,20-Tetraphenylporphyrin): Die Fe-N(Imidazol)-Bindungslänge beträgt im NO-Komplex 2.180(4) Å<sup>[56]</sup> und im CO-Komplex nur 2.071(2) Å.<sup>[57]</sup>

Als Folge hiervon gibt es merkbare Unterschiede in den Fähigkeiten von NO und CO zur sGC-Aktivierung: NO ist etwa 80-mal wirksamer als CO.<sup>[58]</sup> In Kombination mit 1-Benzyl-3-(5-hydroxymethyl-2-furyl)indazol (YC-1; **3**) erreicht CO dagegen die vasodilatatorische Wirkung von NO.<sup>[59]</sup> Der Mechanismus hierzu ist nicht verstanden, es ist jedoch interessant, Mutmaßungen darüber anzustellen, ob es

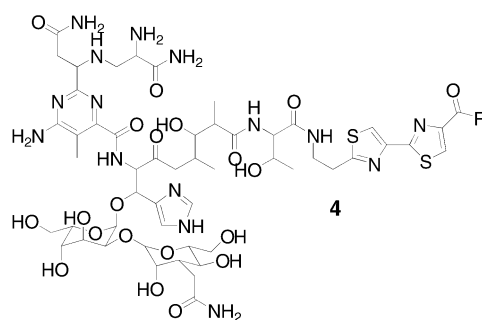


ein endogenes physiologisches Gegenstück zu YC-1 gibt.

Sobald NO an mikrobielles Cytochrom c' bindet, löst das Verdrängen des Histidinrests aus der Eisen-Koordinationsumgebung eine beträchtliche Konformationsänderung aus, die als biologisches Signal fungieren könnte. Dagegen könnte man erwarten, dass das Binden von CO nur geringe konformative Änderungen bewirkt. Tatsächlich jedoch hat das Binden von CO an Cytochrom c' eine erhebliche Reorganisation des umgebenden Peptids zur Folge: Leu 16 bewegt sich nahe an die CO-Einheit, und der Porphyrin-Ring flacht ab.<sup>[53]</sup> Darauf könnte der Mechanismus beruhen, nach dem CO als Signalmolekül auf die sGC wirkt. Da das Binden von CO an die sGC zu einer anderen Konformationsänderung führt als das von NO, könnten die Ergebnisse der Signale dieser beiden Signalmoleküle unterschiedlich sein. Weitere Untersuchungen sind auf diesem Gebiet erforderlich.

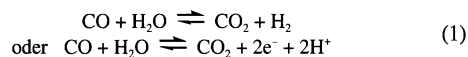
## 6.2. p38-MAP-Kinase und p51

p38-MAP-Kinase und p51 sind Proteine ohne Häm-Reste. Daher ist es schwierig, einen Mechanismus für die Wechselwirkung dieser Proteine mit CO zu formulieren. Den größten Teil an CO erzeugen die Häm-Oxygenasen, die gleichzeitig Eisenionen freisetzen. Daraus lässt sich ein möglicher Mechanismus für die Wechselwirkung von CO mit diesen Proteinen ableiten. Über die Bleomycin-Gruppe **4** von Antibiotika, die eng mit Peptiden verwandt ist, ist bekannt, dass sie Eisenionen bindet;<sup>[60]</sup> der resultierende Fe<sup>II</sup>-Bleomycin-Komplex wiederum lagert CO koordinativ an.<sup>[61]</sup> In Anbetracht dieser Beobachtung scheint es möglich, dass Fe<sup>II</sup> an die Proteine bindet und danach CO daran koordiniert.



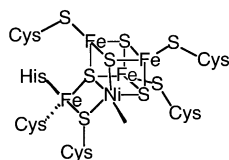
## 6.3. Kohlenmonoxid als Reduktionsmittel

Unter oxidativem Stress produziert die Häm-Oxygenase CO. Diese Häm-Oxidation entfernt Sauerstoff, und das gebildete CO ist ebenfalls ein Reduktionsmittel, das durch Oxidation zu CO<sub>2</sub> weiteren Sauerstoff entfernt. Kohlenmonoxid kann auf zwei Wegen als Reduktionsmittel wirken: Es kann – wie bei der Oxidation durch die Cytochrom-c-Oxidase – ein Sauerstoffatom unter direkter Bildung von CO<sub>2</sub> aufnehmen, oder es kann mit Wasser die Wassergas-Shift-Reaktion eingehen und dabei H<sub>2</sub> oder zwei Elektronen freisetzen [Gl. (1)].<sup>[62]</sup>



Kohlenmonoxid wird durch die Cytochrom-c-Oxidase zu CO<sub>2</sub> oxidiert.<sup>[63]</sup> Laut Röntgenstrukturanalyse liegen in der Rinder-<sup>[64]</sup> und in der Bakterien-Cytochrom-c-Oxidase<sup>[65]</sup> zwei Häm-Einheiten und zwei Kupferzentren vor. CO lagert sich zuerst an das Cu<sup>I</sup>-Zentrum an und wird anschließend auf das Fe-Zentrum im Cytochrom-cbb<sub>3</sub>-CO übertragen.<sup>[66]</sup> Bei der Reaktion der oxidierten Formen von Hämoglobin und Myoglobin mit Peroxiden entstehen Zwischenprodukte, die Ferryl(Fe<sup>IV</sup>=O)-Gruppen enthalten.<sup>[67]</sup> Deren Sauerstoffatom wird anschließend auf CO übertragen und liefert CO<sub>2</sub>.<sup>[68]</sup> Einmal reduziert, könnte das Fe<sup>II</sup>-Cytochrom CO koordinieren, was ebenfalls zur Blockierung der Wirkung der Cytochrom-c-Oxidase beitrüge.

Eines der prägnantesten Beispiele für die Wassergas-Shift-Reaktion in der Natur finden wir bei den Kohlenmonoxid-Dehydrogenasen (CODHs). Der Schlüsselmechanismus leitet sich von der Oxidation von CO zu CO<sub>2</sub> durch eine CODH unter Freisetzung von zwei Elektronen ab [siehe Gl. (1)].<sup>[69]</sup> Die Bedeutung dieser Gruppe lässt sich daran ermaßen, dass jährlich etwa 10<sup>8</sup> Tonnen Umwelt-CO durch aerobe und anaerobe Bakterien, die CODHs enthalten, zu CO<sub>2</sub> oxidiert werden.<sup>[70]</sup> Dieses Thema wurde vor ein paar Jahren zusammenfassend behandelt.<sup>[71]</sup>

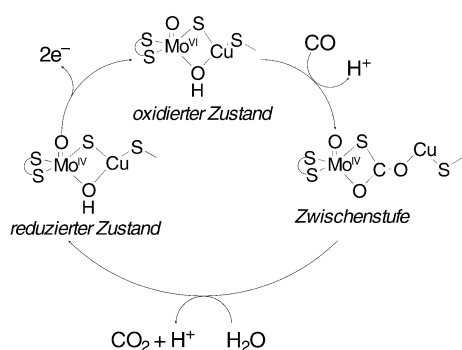


**Abbildung 2.** Der Metallkern in Ni-Fe-S-Kohlenmonoxid-Dehydrogenasen.

Die Röntgenstrukturanalysen der Ni-Fe-S-Kohlenmonoxid-Dehydrogenasen von *Carboxydotherrus hydrogenoformans*<sup>[72]</sup> und *Rhodospirillum rubrum*<sup>[73]</sup> ergaben jeweils das Vorliegen eines Metall-Schwefel-Clusters (Abbildung 2) mit einem {Fe<sub>3</sub>NiS<sub>4</sub>}-Würfel und einem außerhalb des Würfels befindlichen Fe-Zentrum. Der vorgeschlagene Mechanismus ist eine Abwandlung der

Wassergas-Shift-Reaktion.<sup>[62,74]</sup> Man nimmt an, dass CO an die freie Stelle des Ni-Zentrums koordiniert und dort von einem Hydroxidion unter Bildung von Ni-CO<sub>2</sub>H angegriffen wird, das dann unter Übertragung zweier Elektronen auf den {Fe<sub>3</sub>NiS<sub>4</sub>}-Kern zu CO<sub>2</sub> zerfällt.

Eine andersartige CO-Dehydrogenase fand man in *Oligotropha carboxidovorans*<sup>[75,76]</sup> und *Hydrogenophaga pseudoflava*.<sup>[77]</sup> In diesem Enzym liegt ein [CuSMo(=O)OH]-Cluster vor. Als Wirkmechanismus dieses Enzyms wurde die Aktivierung von CO durch das Cu-Zentrum vorgeschlagen, wobei in der Untersuchung die Zwischenstufe durch die Verwendung von *n*BuNC anstelle von CO abgefangen werden konnte (Schema 3).



**Schema 3.** Der vorgeschlagene Wirkmechanismus der CO-Dehydrogenase aus dem Eubakterium *Oligotropha carboxidovorans*.<sup>[75]</sup>

Eine Beteiligung an der Umwandlung von CO zu CO<sub>2</sub> durch die Enzyme CO-Dehydrogenase/CoA-Synthase ist für Vitamin B<sub>12</sub> bewiesen.<sup>[78]</sup> Obwohl dessen Funktion die Methyl-Übertragung zu sein scheint, zeigen frühere Arbeiten, dass CO einige Corrinoides vermutlich über einen der Wassergas-Shift-Reaktion verwandten Mechanismus reduziert.<sup>[79]</sup> Hydroxycobalamin ist ebenfalls eine CO-Quelle.<sup>[80]</sup>

## 7. Weitere mögliche medizinische Anwendungen von Carbonylmetallkomplexen

Es gibt Veröffentlichungen über Untersuchungen zum Einsatz von Carbonylmetallkomplexen in der Medizin, die nicht das Herz-Kreislauf-System betreffen. Die CO-Schwingung im IR-Spektrum gestattet die Detektion von Carbonylmetallkomplexen und führte zur Entwicklung des Carbonylmetall-Immunassay-Verfahrens,<sup>[81]</sup> bei dem Carbonylmetallkomplexfragmente wie {M(CO)<sub>3</sub>} (M = Cr, Mn, Re, Fe) an Moleküle gebunden sind, die zur molekularen Erkennung fähig sind, um so spezifische biologische Rezeptoren zu markieren und zu bestimmen. Für M = Tc oder Re ist es auf diesem Weg auch möglich, radioaktive Isotope (<sup>99m</sup>Tc bzw. <sup>186</sup>Re oder <sup>188</sup>Re) für radiopharmazeutische Anwendungen an einem Rezeptor einzuführen.<sup>[81b,82]</sup>

Es bestand ein beträchtliches Interesse an der Prüfung von Carbonylmetallkomplexen als Krebstherapeutika. Zum Beispiel war [Co<sub>2</sub>(CO)<sub>6</sub>(HC<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>CC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-2-OH)] bei den menschlichen Brusttumor-Zelllinien MCF-7 und MDA-MB-231 wirksamer als Cisplatin,<sup>[83]</sup> und [{η<sup>5</sup>-(4-Me<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>}(4-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)CHCH<sub>2</sub>EtC<sub>5</sub>H<sub>4</sub>}Re(CO)<sub>3</sub>] verhält sich ähnlich wie Tamoxifen, wobei der zu beobachtende antiproliferative Effekt anscheinend vom Östradiol-Rezeptor α abhängt.<sup>[84]</sup>

## 8. Zusammenfassung und Ausblick

CO scheint wie NO als Signalmolekül in Säugetieren von Bedeutung zu sein; der Wirkmechanismus ist allerdings noch weitgehend unklar. Ein Hauptziel von CO ist das Häm-Eisenzentrum in der löslichen Guanylat-Cyclase, doch sind auch andere Zielstrukturen denkbar, z.B. Nichtporphyrin-Eisen-, Cobalt-, Nickel- und Kupferzentren. Von Seiten der Biochemiker und der Bioanorganiker sind noch große Anstrengungen erforderlich, bevor wir verstehen werden, warum CO eine derartig wichtige biologische Rolle zukommt. Viele Fragen sind noch unbeantwortet: Während Häm und Cytochrome offensichtliche Bindungsstellen für CO sind, hat p38 keine solche Bindungsstelle; wie kann CO dennoch bei einem derartigen CO-sensitiven Rezeptor ein Signal auslösen? Ist die aus dem Binden von CO an den Rezeptor resultierende Konformationsänderung der auslösende Faktor oder beteiligt sich CO in chemischer Weise? Spielt die Wassergas-Shift-Reaktion irgendeine wichtige Rolle in der Biochemie von Säugetieren oder bei Signalübertragungsmechanismen? Stellt die Fähigkeit von CO, Sauerstoff von einer Fe=O-Bindung in einem Cytochrom zu entfernen, eine Abwehrfunktion in Säugetieren dar oder dient diese Reaktion lediglich zur Zerstörung von CO? Übt das in Mitochondrien an Cytochrom gebundene CO immer eine inhibierende Funktion aus? Und schließlich: Wie wird die Spezifität in der CO-vermittelten Regulation zellulärer Funktionen erreicht?

Angesichts der wohlbekannten Toxizität von CO scheint es unwahrscheinlich, dass diese gasförmige Substanz medizinisch von Nutzen sein könnte. Jedoch sind die Toxizitäten von CO und NO sehr ähnlich<sup>[85]</sup> und dennoch ist NO inzwischen



für die pharmazeutische Industrie von großer Bedeutung. So ist der Bereich an im Moment verfügbaren oder in der Entwicklung befindlichen NO freisetzenden Medikamenten in mehr als 70 US- und Weltpatenten zur Anwendung von NO-Donoren dokumentiert.<sup>[86]</sup>

In naher Zukunft scheint es möglich, dass auf der Grundlage CO freisetzender Moleküle eine Gruppe neuer Medikamente zur Behandlung kardiovaskulärer Dysfunktionen sowie neurodegenerativer und entzündlicher Krankheiten entwickelt wird. Dies sollte dem Interesse für das gesamte Feld der Carbonylmetallkomplexe einen starken Impuls geben und das neue Gebiet der Bioorganometallchemie in ein ausgereiftes Fachgebiet verwandeln, das die pharmazeutische Industrie ernst nehmen sollte.

Eingegangen am 10. Februar 2003 [M1634]

Übersetzt von Dr. Klaus Rabe, Kiel

- [1] „Toxicity of Carbon Monoxide: Hemoglobins vs. Histotoxic Mechanisms“: C. A. Piantadosi in *Carbon Monoxide* (Hrsg.: D. G. Penney), CRC, Boca Raton, FL, **1996**, Kap. 8.
- [2] T. Sjostrand, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **1949**, *1*, 201–214.
- [3] R. F. Coburn, W. S. Blakemore, R. E. Forster, *J. Clin. Invest.* **1963**, *42*, 1172–1178; R. F. Coburn, W. J. Williams, R. E. Forster, *J. Clin. Invest.* **1964**, *43*, 1098–1103; R. F. Coburn, W. J. Williams, S. B. Kahn, *J. Clin. Invest.* **1966**, *45*, 460–467.
- [4] T. Sjostrand, *Acta Physiol. Scand.* **1952**, *26*, 328–333.
- [5] M. D. Maines, *Heme Oxygenase: Clinical Applications, Functions*, CRC, Boca Raton, FL, **1992**.
- [6] S. M. Scharf, S. Permutt, B. Bromberger-Barnea, *J. Appl. Physiol. Respir. Environ. Exercise Physiol.* **1975**, *39*, 752–758.
- [7] S. Shibahara, R. Muller, H. Taguchi, T. Yoshida, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 7865–7869.
- [8] M. D. Maines, G. M. Trakshel, R. K. Kutty, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 411–419; I. Cruse, M. D. Maines, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 3348–3353; G. M. Trakshel, M. D. Maines, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 1323–1328.
- [9] M. D. Maines, *FASEB J.* **1988**, *2*, 2557–2568.
- [10] G. S. Marks, J. F. Brien, K. Nakatsu, B. E. McLaughlin, *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 185–188; R. Stocker, Y. Yamamoto, A. F. McDonagh, A. N. Glazer, B. N. Ames, *Science* **1987**, *235*, 1043–1046; A. F. McDonagh, *Clin. Perinat.* **1990**, *17*, 359–369.
- [11] R. Motterlini, R. Foresti, C. J. Green in *Carbon Monoxide and Cardiovascular Functions* (Hrsg.: R. Wang), CRC, Boca Raton, FL, **2002**, S. 320.
- [12] L. E. Otterbein, *Antioxid. Redox Signaling* **2002**, *4*, 309–319.
- [13] J. F. Kasting, *Science* **1993**, *259*, 920–926.
- [14] S. Miyakawa, H. Yamanashi, K. Kobayashi, H. J. Cleaves, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 14628–14631.
- [15] H. J. Vreman, R. J. Wong, D. K. Stevenson in *Carbon Monoxide and Cardiovascular Functions* (Hrsg.: R. Wang), CRC, Boca Raton, FL, **2002**, Kap. 15.
- [16] R. Tenhunen, H. S. Marver, R. Schmid, *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6388–6394.
- [17] Y. Liu, P. Moënn-Loccoz, T. M. Loehr, P. R. Ortiz de Montelano, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 6909–6917.
- [18] R. Schmid, A. F. McDonagh, *The Porphyrins, Vol. VI* (Hrsg.: D. Dolphin), Academic Press, New York, **1979**, S. 257–293.
- [19] R. Motterlini, A. Gonzales, R. Foresti, J. E. Clark, C. J. Green, R. M. Winslow, *Circ. Res.* **1998**, *83*, 568–577; I. A. Sammut, R. Foresti, J. E. Clark, D. J. Exon, M. J. Vesely, P. Sarathchandra, C. J. Green, R. Motterlini, *Br. J. Pharmacol.* **1998**, *125*, 1437–1444.
- [20] M. Scharfe, H. G. Bone, H. Van Aken, J. Meyer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *267*, 423–426.
- [21] K. Zayasu, K. Sekizawa, S. Okinaga, M. Yamaya, H. Sasaki, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1997**, *156*, 1140–1143; I. Horvath, L. E. Donnelly, P. Paredi, S. A. Kharitonov, P. J. Barnes, *Thorax* **1998**, *53*, 668–672.
- [22] I. Horvath, S. Loukides, T. Wodehouse, S. A. Kharitonov, P. J. Cole, P. J. Barnes, *Thorax* **1998**, *53*, 867–870.
- [23] J. D. Antuni, S. A. Kharitonov, D. Hughes, M. E. Hodson, P. J. Barnes, *Thorax* **2000**, *55*, 138–142; P. Paredi, S. A. Kharitonov, D. Leak, P. L. Shah, D. Cremer, M. E. Hodson, P. J. Barnes, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 1247–1251.
- [24] P. Paredi, W. Biernacki, G. Invernizzi, S. A. Kharitonov, P. J. Barnes, *Chest* **1999**, *116*, 1007–1111.
- [25] M. Monma, M. Yamaya, K. Sekizawa, K. Ikeda, N. Suzuki, T. Kikuchi, T. Takasaka, H. Sasaki, *Clin. Exp. Allergy* **1999**, *29*, 1537–1541.
- [26] R. Foresti, R. Motterlini, *Free Radical Res.* **1999**, *31*, 459–475; J. E. Clark, R. Foresti, P. Sarathchandra, H. Kaur, C. J. Green, R. Motterlini, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2000**, *278*, H643–H651; L. E. Otterbein, A. M. K. Choi, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **2000**, *279*, L1029–L1037.
- [27] D. Morse, A. M. K. Choi, *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* **2002**, *27*, 8–16.
- [28] F. Cocceani, N. C. Hamilton, J. Labuc, P. M. Olley, *Am. J. Physiol.* **1984**, *246*, H640–H643; Y. P. Vedernikov, T. Graser, A. F. Vanin, *Biomed. Biochim. Acta* **1989**, *48*, 595–597; R. F. Furchgott, D. Jothianandan, *Blood Vessels* **1991**, *28*, 52–61.
- [29] T. Morita, M. A. Perrella, M. E. Lee, S. Kourembanas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 1475–1479; N. Christodoulides, W. Durante, M. H. Kroll, A. I. Schafer, *Circulation* **1995**, *91*, 2306–2309; I. A. Sammut, R. Foresti, J. E. Clark, D. J. Exon, M. J. J. Vesely, P. Sarathchandra, C. J. Green, R. Motterlini, *Br. J. Pharmacol.* **1998**, *125*, 1437–1444; F. Cocceani, *Circ. Res.* **2000**, *86*, 1184–1186.
- [30] L. E. Otterbein, F. H. Bach, J. Alam, M. Soares, H. T. Lu, M. Wisk, R. J. Davis, R. A. Flavell, A. M. K. Choi, *Nat. Med.* **2000**, *6*, 422–428.
- [31] J. T. Chapman, L. E. Otterbein, J. A. Elias, A. M. K. Choi, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **2001**, *281*, L209–L215.
- [32] K. Sato, J. Balla, L. Otterbein, R. N. Smith, S. Brouard, Y. Lin, E. Csizmadia, J. Seigny, S. C. Robson, G. Vercellotti, A. M. Choi, F. H. Bach, M. P. Soares, *J. Immunol.* **2001**, *166*, 4185–4194.
- [33] M. Stupfel, G. Bouley, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1970**, *174*, 342–368.
- [34] F. Amersi, X. D. Shen, D. Anselmo, J. Melinek, S. Iyer, D. J. Southard, M. Katori, H. D. Volk, R. W. Busuttil, R. Buelow, J. W. Kupiec-Weglinski, *Hepatology* **2002**, *35*, 815–823.
- [35] L. Gunther, P. O. Berberat, M. Haga, S. Brouard, R. N. Smith, M. P. Soares, F. H. Bach, E. Tobiasch, *Diabetes* **2002**, *51*, 994–999.
- [36] N. Ozawa, N. Goda, N. Makino, T. Yamaguchi, Y. Yoshimura, M. Suematsu, *J. Clin. Invest.* **2002**, *109*, 457–467.
- [37] S. A. Bainbridge, A. E. Farley, B. E. McLaughlin, C. H. Graham, G. S. Marks, K. Nakatsu, J. F. Brien, G. N. Smith, *Placenta* **2002**, *23*, 563–569.
- [38] D. Morse, J. Sethi, A. M. K. Choi, *Crit. Care Med.* **2002**, *30*, S12–S17.
- [39] S. P. Gaine, G. Booth, L. Otterbein, N. A. Flavahan, A. M. Choi, C. M. Weiner, *J. Vasc. Res.* **1999**, *36*, 114–119; T. Morita, S. A. Mitsialis, H. Koike, Y. Liu, S. Kourembanas, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 32804–32809.
- [40] L. E. Otterbein, B. S. Zuckerbraun, M. Haga, F. Liu, R. Song, A. Usheva, C. Stachulak, N. Bodyak, R. N. Smith, E. Csizmadia, S. Tyagi, Y. Akamatsu, R. J. Flavell, T. R. Billiar, E. Tzeng, F. H. Bach, A. M. K. Choi, M. G. Soares, *Nat. Med.* **2003**, *9*, 183–190.
- [41] D. E. Baranano, S. Dore, C. D. Ferris, S. H. Snyder, *Clin. Neurosci. Res.* **2001**, *1*, 46–52.

- [42] W. Tschugguel, F. Stonek, Z. Zhegu, W. Dietrich, C. Schneeberger, T. Stimpfl, T. Waldhoer, W. Vycudilik, J. C. Huber, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2001**, *86*, 3833–3839.
- [43] M. McLean, M. Bowman, V. Clifton, R. Smith, A. B. Grossman, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2000**, *85*, 2345–2349.
- [44] A. M. Choi, P. J. Lee, L. E. Otterbein, , US-Pat. 2002155166, **2002** [*Chem. Abstr.* **2002**, *137*, 289059].
- [45] R. Buelow, J. Woo, *PCT Int. Appl.* **2002**, 59; CODEN: PIXXD2 WO 0278684 [*Chem. Abstr.* **2002**, *137*, 273242].
- [46] B. E. Mann, R. Motterlini, , World Patent Appl., WO 02092075 [*Chem. Abstr.* **2002**, *137*, 375272].
- [47] R. Motterlini, J. E. Clark, R. Foresti, P. Sarathchandra, B. E. Mann, C. J. Green, *Circ. Res.* **2002**, *90*, e17–e24.
- [48] V. G. Kharitonov, V. S. Sharma, R. B. Pilz, D. Magde, D. Koesling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 2568–2571.
- [49] J. W. Denninger, M. A. Marletta, *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1411*, 334–350.
- [50] Y. Zhao, P. E. Brandish, D. P. Ballou, M. A. Marletta, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 14753–14758.
- [51] V. G. Kharitonov, V. S. Sharma, D. Magde, D. Koesling, *Biochemistry* **1997**, *36*, 6814–6818.
- [52] P. E. Brandish, W. Buechler, M. A. Marletta, *Biochemistry* **1998**, *37*, 16898–16907.
- [53] D. M. Lawson, C. E. M. Stevenson, C. Andrew, R. R. Eady, *EMBO J.* **2000**, *19*, 5661–5671.
- [54] V. G. Kharitonov, V. S. Sharma, D. Magde, D. Koesling, *Biochemistry* **1999**, *38*, 10699–10706; V. G. Kharitonov, M. Russwurm, D. Magde, V. S. Sharma, D. Koesling, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *239*, 284–286.
- [55] J. R. Stone, M. A. Marletta, *Biochemistry* **1994**, *33*, 5636–5640; T. Tomita, T. Ogura, S. Tsuyama, Y. Imai, T. Kitagawa, *Biochemistry* **1997**, *36*, 10155–10160; J. N. Burstyn, A. E. Yu, E. A. Dierks, B. K. Hawkins, J. H. Dawson, *Biochemistry* **1995**, *34*, 5896–5903; G. Deinum, J. R. Stone, G. T. Babcock, M. A. Marletta, *Biochemistry* **1996**, *35*, 1540–1570; A. E. Yu, S. Z. Hu, T. G. Spiro, J. N. Burstyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4117–4118; B. Fan, G. Gupta, R. S. Danziger, J. M. Friedman, D. L. Rousseau, *Biochemistry* **1998**, *37*, 1178–1184; J. R. Stone, R. H. Sands, W. R. Dunham, M. A. Marletta, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *207*, 572–577.
- [56] W. R. Scheidt, P. L. Piciulo, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1913–1919.
- [57] R. Salzmann, C. J. Ziegler, N. Godbout, M. T. McMahon, K. S. Suslick, E. Oldfield, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11323–11334.
- [58] J. R. Stone, M. A. Marletta, *Biochemistry* **1995**, *34*, 16397–16403.
- [59] A. Friebe, G. Schultz, D. Koesling, *EMBO J.* **1996**, *15*, 6863–6868; A. Friebe, D. Koesling, *Mol. Pharmacol.* **1998**, *53*, 123–127; J. R. Stone, M. A. Marletta, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 255–261; B. E. McLaughlin, M. L. Chretien, C. Choi, J. F. Brien, K. Nakatsu, G. S. Marks, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **2000**, *78*, 343–349.
- [60] Y. Sugiura, T. Takita, H. Umezawa, *Met. Ions Biol. Syst.* **1985**, *19*, 81–108.
- [61] Y. Sugiura, T. Suzuki, H. Kawabe, H. Tanaka, K. Watanabe, *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, *716*, 38–44; Y. Sugiura, J. Kuwahara, T. Suzuki, *FEBS Lett.* **1985**, *182*, 39–42; N. J. Oppenheimer, L. O. Rodriguez, S. M. Hecht, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 5616–5620; Y. Sugiura, T. Suzuki, Y. Muraoka, Y. Umezawa, T. Takita, H. Umezawa, *J. Antibiot.* **1981**, *34*, 1232–1236.
- [62] W. A. Herrmann in *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds*, Vol. 2 (Hrsg.: B. Cornils, W. A. Herrmann), VCH, Weinheim, **1996**, S. 957–963; R. M. Laine, R. B. Wilson, *Aspects Homogeneous Catal.* **1984**, *5*, 217–240.
- [63] L. J. Young, W. S. Caughey, *Biochemistry* **1986**, *25*, 152–161; L. J. Young, W. S. Caughey, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 15019–15025; Ó. Einarsson, M. G. Choc, S. Weldon, W. S. Caughey, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 13641–13654; Y. Kim, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 757–758.
- [64] T. Tsukihara, H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Yamaguchi, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono, S. Yoshikawa, *Science* **1995**, *269*, 1069–1074.
- [65] S. Iwata, C. Ostermeier, B. Ludwig, H. Michel, *Nature* **1995**, *376*, 660–669.
- [66] S. Stavrakis, K. Koutsoupakis, E. Pinakoulaki, A. Urbani, M. Saraste, C. Varotsis, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3814–3815.
- [67] P. George, D. H. Irvine, *Biochem. J.* **1952**, *52*, 511–517; J. J. Mieyal, *Rev. Biochem. Toxicol.* **1985**, *7*, 1; M. Chance, L. Powers, C. Kumar, B. Chance, *Biochemistry* **1986**, *25*, 1259–1265; C. E. Catalano, P. R. Ortiz de Montellano, *Biochemistry* **1987**, *26*, 8373–8380; M. B. Grisham, J. Everse in *Peroxidases in Chemistry and Biology*, Vol. 1 (Hrsg.: J. Everse, K. E. Everse, M. B. Grisham), CRC, Boca Raton, FL, **1990**, S. 335; J. C. Alvarez, P. R. Ortiz de Montellano, *Biochemistry* **1992**, *31*, 8315–8322; A. J. Allentoff, J. L. Bolton, A. Wilks, J. A. Thompson, P. R. Ortiz de Montellano, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9744–9749.
- [68] Q. Ji, C. R. Lloyd, W. R. Ellis, Jr., E. M. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 221–222.
- [69] R. L. Uffen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, *73*, 3298–3302.
- [70] G. W. Bartholomew, M. Alexander, *Appl. Environ. Microbiol.* **1979**, *37*, 932–937; J. C. Fontecilla-Camps, S. W. Ragsdale, *Adv. Inorg. Chem.* **1999**, *47*, 283–333.
- [71] S. W. Ragsdale, M. Kumar, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2515–2539.
- [72] H. Dobbek, V. Svetlichnyi, L. Gremer, R. Huber, O. Meyer, *Science* **2001**, *293*, 1281–1285.
- [73] C. L. Drennan, J. Heo, M. D. Sintchak, E. Schreiter, P. W. Ludden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 11973–11978.
- [74] D. Qiu, M. Kumar, S. W. Ragsdale, T. G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10429–10435.
- [75] H. Dobbek, L. Gremer, R. Klefersauer, R. Huber, O. Mayer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8884–8889.
- [76] H. Dobbek, L. Gremer, R. Klefersauer, R. Huber, O. Mayer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 15971–15976; M. Gnida, R. Ferner, L. Gremer, O. Meyer, W. Meyer-Klaucke, *Biochemistry* **2003**, *42*, 222–230.
- [77] P. Hänzelmann, H. Dobbek, L. Gremer, R. Huber, O. Meyer, *J. Mol. Biol.* **2000**, *301*, 1221–1235.
- [78] S. W. Ragsdale, M. Kumar, S. Zhao, S. Menon, J. Seravalli, T. Doukov in *Vitamin B<sub>12</sub> and B<sub>12</sub>-Protein* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), VCH, Weinheim, **1996**, S. 167.
- [79] W. Friedrich, Z. Naturforsch. B **1970**, *25*, 1431–1434; G. N. Schrauzer, L. P. Lee, *Arch. Biochem. Biophys.* **1970**, *138*, 16–25; L. P. Lee, G. N. Schrauzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5274–5276.
- [80] R. R. Engel, S. Modler, J. M. Matsen, Z. J. Petryka, *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *313*, 150–155.
- [81] a) G. Jaouen, A. Vessières, I. S. Butler, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 361–369; b) G. Jaouen, S. Top, A. Vessières, R. Alberto, *J. Organomet. Chem.* **2000**, *600*, 23–36; c) M. Salmain, A. Vessières, P. Brossier, I. S. Butler, G. Jaouen, *J. Immunol. Methods* **1992**, *148*, 65–75.
- [82] R. Alberto, K. Ortner, N. Wheatley, R. Schibli, P. A. Schubiger, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3135–3136; S. S. Jurisson, J. D. Lydon, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2205–2218; S. S. Jurisson, J. D. Lydon, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1014–1022; R. Schibli, P. A. Schubiger, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2002**, *29*, 1529–1542.
- [83] K. Schmidt, M. Jung, R. Keilitz, B. Schnurr, R. Gust, *Inorg. Chim. Acta* **2000**, *306*, 6–16.
- [84] G. Jaouen, S. Top, A. Vessières, P. Pigeon, G. Leclercq, I. Laïos, *Chem. Commun.* **2001**, 383–384.
- [85] Die rtcs-Websites zu Toxizitätsdaten von NO und CO sind: für NO <http://ccinfoweb.ccohs.ca/rtcs/Action.lasso?-data->



base = rtcs&-layout = Display&-response = detail.html&-no-  
resulterror = noresults.html&-op = eq&CAS + REGISTRY +  
NUMBER = 10102-43-9&-search und für CO [http://ccinfo-  
web.ccohs.ca/rtcs/Action.lasso?-database = rtcs&-layout =  
Display&-response = detail.html&-noresulterror = no-  
results.html&-op = eq&CAS + REGISTRY + NUMBER = 630-  
08-0&-search](http://ccinfo-web.ccohs.ca/rtcs/Action.lasso?-database = rtcs&-layout = Display&-response = detail.html&-noresulterror = no-<br/>results.html&-op = eq&CAS + REGISTRY + NUMBER = 630-<br/>08-0&-search).

- [86] P. G. Wang, M. Xian, X. Tang, X. Wu, Z. Wen, T. Cai, A. J. Janczuk, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1091–1134; C. Napoli, L. J. Ignarro, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2003**, 43, 97–123.



**Erlebnis Wissenschaft**

- spannend wie Krimis
- bildend wie Lehrbücher
- faszinierend wie Romane

*Jahr der*  
**Chemie**  
*2003*



Manfred Reitz  
**Auf der Fährte der Zeit**  
Mit naturwissenschaftlichen  
Methoden vergangene Rätsel  
entschlüsseln

Mai 2003. 329 S. mit 58 Abb. Geb.  
€ 24,90/SFr 38,-. ISBN 3-527-30711-7

Abenteuerliche Rezepturen aus Fliegenkot und Mohn, so und ähnlich sahen Behandlungsmethoden alt-ägyptischer Ärzte aus. Was auf den ersten Blick wie Quacksalberei oder dubiose Magie wirkt, offenbart auf den zweiten Blick tiefes Wissen über damals schon bekannte Wirkungen von Kortison und Morphin. M. Reitz beschreibt in diesem unterhaltsamen Buch, wie die Interaktion von Geschichts- und Naturwissenschaft zu verblüffenden Erkenntnissen in der Geschichtsforschung führt.

Oliver Morsch  
**Licht und Materie**  
Eine physikalische  
Beziehungsgeschichte

Mai 2003. 280 S. mit 57 Abb. Geb.  
€ 24,90/SFr 38,-. ISBN 3-527-30627-7

Wer hätte gedacht, dass Licht nicht nur wärmen, sondern auch kühlen kann? Oder dass man mit gebündeltem Licht nicht nur Löcher ins Papier brennen, sondern auch ganz winzige kleine, einzelne Atome festhalten kann? Oliver Morsch, Physiker und Wissenschaftsjournalist, zeigt Ihnen in diesem kurzweiligen und sehr verständlich geschriebenen Buch, dass viele heutige Errungenschaften und zukünftige Technologien auf den Erkenntnissen der Atomphysik beruhen. Viel Spaß beim Lesen!

Der Euro-Preis gilt nur in Deutschland




**www.wiley-vch.de**

WILEY-VCH Postfach 10 11 61 D-69451 Weinheim  
Fax: +49 (0) 6201-60 6184 service@wiley-vch.de



447\_0906165