



Metalle in der Medizin

Zijian Guo und Peter J. Sadler*

Die Bioanorganische Chemie ist ein sich schnell entwickelndes Forschungsgebiet mit einem großen Potential an Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin, und zwar nicht nur was die etwa 24 essentiellen Elemente angeht, sondern auch was nicht essentielle und radioaktive Elemente betrifft. Die Anorganische Chemie mit medizinischer Ausrichtung eröffnet der pharmazeutischen Industrie, die bisher von der Organischen Chemie dominiert wurde, Wege zur Entwicklung von Medikamenten mit neuartigen Wirkmechanismen. Das Forschungsgebiet erhielt Auftrieb durch den Erfolg von Cisplatin, dem weltweit meistverkauften Mittel gegen Krebs. Zur Zeit befinden sich Platinkomplexe mit reduzierter Toxizität, oraler Aktivität und Wirksamkeit gegen resistente Tumore in den klinischen Studien. Titanocendichlorid, ein Organometallkomplex, wird als Injektion verabreicht, und Ru^{III}-Komplexe zeigen eine vielversprechende Aktivität gegen Me-

tastasen. Die Toxizität von Gd^{III}-Komplexen kann man so kontrollieren, daß sie gefahrlos in Grammengen als Kontrastmittel für die Magnetresonanztomographie (magnetic resonance imaging, MRI) injiziert werden können. Das Design maßgeschneiderter Liganden ermöglicht die gezielte Anreicherung paramagnetischer Ionen in bestimmten Organen. Auch für den Einsatz zu radiodiagnostischen (z. B. ^{99m}Tc) und radiotherapeutischen Zwecken (z. B. ¹⁸⁶Re) wurden Liganden konstruiert. Darüber hinaus gab es in neuerer Zeit Fortschritte im Verständnis der Koordinations- und Biochemie von älteren metallhaltigen Medikamenten wie Goldpräparaten gegen Arthritis und Bismutpräparaten gegen Ulcus. Ein noch tieferes Verständnis könnte zu einem effizienteren Einsatz dieser Mittel führen. Im Augenblick sind unter anderem Mimetica für die Superoxid-Dismutase (mit Mangan) und für Insulin (mit Vanadium), NO-Fänger (mit Ruthenium), Photosensi-

bilisatoren (mit Lanthanoiden) und organische Reagentien, die Affinität zu Metallen aufweisen, im Hinblick auf eine klinische Verwendung vielversprechend. Die wachsende Kenntnis der Biochemie der Metalle eröffnet auch auf anderen Gebieten Möglichkeiten zur Entwicklung anorganischer, aber auch organischer Arzneimittel, z. B. von Neuropharmaka und Antinfektiva. Fortschritte in der medizinisch ausgerichteten Koordinationschemie erfordern ein Verständnis nicht nur der Thermodynamik (Gleichgewicht und Strukturen), sondern auch der Kinetik und der Mechanismen von Metallkomplexreaktionen, insbesondere unter biologisch relevanten Bedingungen.

Stichwörter: Bioanorganische Chemie • Koordinationschemie • Medizinische Chemie • Metallhaltige Arzneimittel • Wirkstoff-Forschung

1. Einleitung

Die Bioanorganische Chemie mit medizinischer Ausrichtung („elemental medicine“) ist ein bedeutendes neues Gebiet der Chemie mit Möglichkeiten zur Entwicklung neuartiger Therapeutica und Diagnostica und damit zum Verständnis und zur Behandlung von zur Zeit kaum behandelbaren Krankheiten (Abbildung 1).^[1-3] Anorganische Ele-

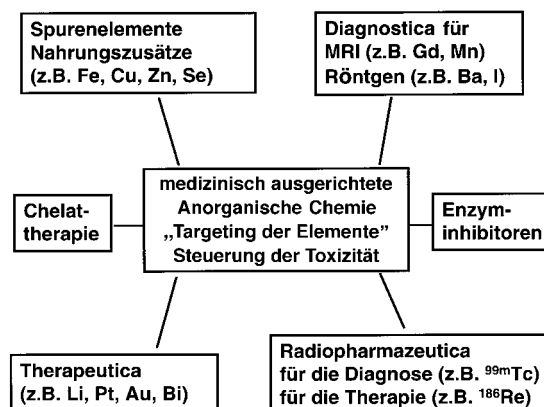


Abbildung 1. Kerngebiete der medizinisch ausgerichteten Anorganischen Chemie.

[*] Prof. Dr. P. J. Sadler, Dr. Z. Guo
 Department of Chemistry
 University of Edinburgh
 West Mains Road, Edinburgh EH9 3JJ (Großbritannien)
 Fax: (+44) 131-650-6452
 E-mail: p.j.sadler@ed.ac.uk

mente spielen bei biologischen und biomedizinischen Prozessen eine entscheidende Rolle, und es ist offensichtlich, daß zahlreiche in der Medizin eingesetzte organische Verbindungen nicht nur als organische Stoffe an sich wirken. Einige werden nämlich durch Metallionen und Metalloenzyme aktiviert oder biotransformiert,^[4] andere wiederum beeinflussen direkt oder indirekt den Metallionenmetabolismus. Im folgenden konzentrieren wir uns auf Metallkomplexe und dabei besonders auf neuere Entwicklungen bei Platinpräparaten gegen Krebs, Goldpräparaten gegen Arthritis und Bismutpräparaten gegen Ulcus. Zuerst beschreiben wir aber in Abschnitt 2 kurz andere Anwendungen von Metallkomplexen, die entweder schon klinisch eingesetzt werden oder kurz vor ihrem klinischen Einsatz stehen, um die ganze Breite dieses Themas aufzuzeigen.

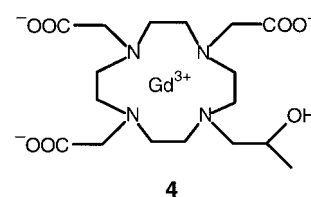
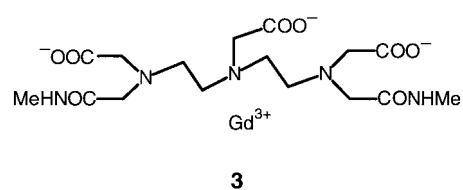
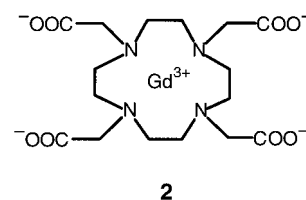
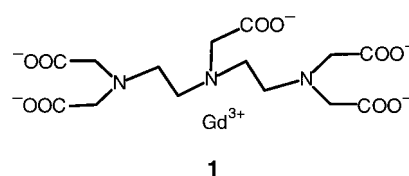
2. Entwicklung von Diagnostica und Therapeutica

2.1. MRI-Kontrastmittel

Die MRI ist heute eine aussagekräftige Untersuchungsmethode der klinischen Diagnostik.^[5] Nach Verabreichung eines Kontrastmittels in Form eines paramagnetischen Reagens kann man an Unterschieden in den ¹H-NMR-Signalen (hauptsächlich von Wasser) von normalem und anomalem Gewebe Krankheiten erkennen. Die meisten dieser Kontrastmittel enthalten Gd^{III}, Mn^{II} oder Fe^{III}, Ionen mit mehreren ungepaarten Elektronen (7 bzw. jeweils 5) im High-spin-Zustand und mit langen Elektronenspin-Relaxationszeiten.^[6, 7]

Vier Gd^{III}-Komplexe sind bis jetzt zugelassen und werden auch intensiv genutzt, z. B. zum Aufspüren von Anomalien in der Blut-Hirn-Schranke.^[15, 199] Komplexe mit DTPA (z. B.

Magnevist **1**) und DOTA (z. B. Dotarem **2**) als Liganden sind ionisch, solche mit DTPA-BMA (z. B. Omniscan **3**) und HP-DOTA (z. B. Prohance **4**) dagegen neutral; ihre niedrige



Peter Sadler, Jahrgang 1946, promovierte 1972 an der University of Oxford in Bioanorganischer Chemie bei den Professoren Allen Hill und Bob Williams. Nach zwei Jahren als Medical Research Council Fellow an der University of Cambridge und dem National Institute for Medical Research in Mill Hill erhielt er einen Lehrauftrag für Chemie am Birkbeck College der University of London, an dem er in den folgenden Jahren zuerst zum Reader in Biological Inorganic Chemistry (1985) und dann zum Professor für Chemie (1991) ernannt wurde. 1996 ging er an die University of Edinburgh und übernahm dort den Crum Brown Chair of Chemistry. Seine Forschungsschwerpunkte liegen in der Chemie der für die Medizin relevanten Metalle, den chemischen Grundlagen der Wirkmechanismen von Metallpräparaten und der Entwicklung neuartiger Arzneimittel. Er hat bisher etwa 265 Originalarbeiten veröffentlicht und erhielt 1993 den Royal Society of Chemistry Award for Inorganic Biochemistry. Von 1996 bis 1998 war er Chairman der EC COST Action D8 „The Chemistry of Metals in Medicine“ inne, die die Forschung auf diesem Gebiet in etwa zwanzig europäischen Ländern koordiniert.



P. Sadler



Z. Guo

Zijian Guo, Jahrgang 1961, erhielt seinen BSc an der Universität von Hebei in der Volksrepublik China und promovierte 1994 in Italien bei Professor G. Faraglia an der Universität von Padua auf dem Gebiet der Übergangsmetallchemie. Seither arbeitet er in der Forschungsgruppe von Professor Sadler am Birkbeck College der University of London und an der University of Edinburgh. Sein Forschungsinteresse konzentriert sich derzeit auf das Design und die Wirkmechanismen von Platin- und Rutheniumpräparaten gegen Krebs.

Osmolarität vermindert Schmerzen bei der Injektion. Alle diese Mittel sind nicht zellgängig und diffundieren sehr schnell vom extrazellulären Raum in die interstitielle Gewebeflüssigkeit. Gd^{III} ist in jedem dieser Komplexe neunfach koordiniert mit einem H_2O -Molekül als einem der Liganden. Die Struktur von $[Gd(dota)]^-$ **2** ist in Abbildung 2 gezeigt. Der Wasseraustausch am Gd^{III} -Zentrum verläuft dissoziativ^[200]

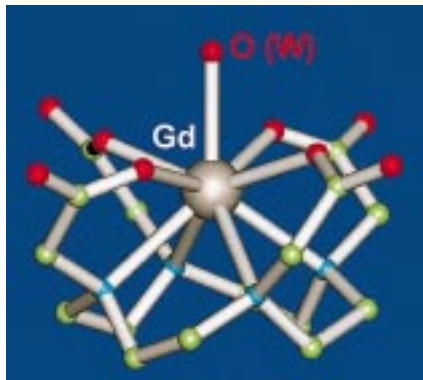


Abbildung 2. Struktur von $[Gd(dota)]^-$ in Na-**2**, einem klinisch genutzten Kontrastmittel zum Aufspüren von Anomalien in der Blut-Hirn-Schranke (nach Lit. [197]). W steht für Wasser.

und wird durch sterische Belastung der H_2O -Koordinationsstelle beschleunigt. So ist die Wasseraustauschgeschwindigkeit bei **3**, in dem die Gd-Amidsauerstoff-Abstände (2.44 Å) länger sind als die analogen Abstände zu Carboxylat-Sauerstoffatomen in **1** (2.40 Å), siebenmal langsamer als bei **1** (Tabelle 1). Die Gd^{III} -Komplexe von DTPA (**1**) und DOTA

Tabelle 1. Das Relaxationsvermögen R_1 (20 MHz) und andere Eigenschaften klinisch eingesetzter Kontrastmittel.^[a]

Kontrastmittel	$k_{ex}^{298[b]}$ [$10^6 s^{-1}$]	R_1 ($mm^{-1} s^{-1}$)	$\lg K^{[c]}$	Lit.
$[Gd(dtpa)]^{2-}$ 1	3.3	4.5	22.5	[193]
$[Gd(dota)]^-$ 2	4.8	3.4	25.8	[194]
$[Gd(bma-dtpa)]$ 3	0.45	4.4	16.9	[194]
$[Gd(hp-dota)]$ 4		3.6	23.8	[194]
$[Gd(bopta)]^{2-}$ 5		4.4	22.5	[9]
$[Mn(dpdp)]^{4-}$ 6		2.8	15.1	[10, 195]

[a] Das Relaxationsvermögen einer Verbindung gibt an, um wieviel die Relaxationsgeschwindigkeit von Protonen pro Konzentrationseinheit in mM zunimmt. Jede Verbindung außer **6** enthält zusätzlich ein Molekül Wasser in der Koordinationssphäre des Metalls gebunden. [b] k_{ex}^{298} : Wasseraustauschgeschwindigkeit bei 298 K. [c] K : Stabilitätskonstante bei 298 K.

(2) sind thermodynamisch stabiler als die von BMA-DTPA (**3**) und HP-DOTA (**4**) (Tabelle 1). Die Komplexe **2** und **4** sind kinetisch stabiler als **1** und **3**. Die Stabilitäten sind stark pH-abhängig. So reduziert sich der $\lg K$ -Wert von **1** etwa um den Faktor 4, wenn der pH-Wert von 7.4 auf 5 sinkt. Das könnte für einige biologische Kompartimente bedeutsam sein, z.B. für die Lysosome, in denen der pH-Wert bis auf 5 sinken kann. Auf der Grundlage derivatisierter löslicher und unlöslicher Polysaccharide ist der Einsatz mehrkerniger paramagnetischer Verbindungen möglich.^[8]

Der Komplex **1** ist nicht zellgängig und wird nahezu ausschließlich über die Niere ausgeschieden. Mit der Einführung eines Benzyloxymethylsubstituenten am α -C-Atom

eines terminalen Acetatrests des DTPA-Liganden erhält man den Gd^{III} -Komplex $[Gd(bopta)]^{2-}$ (Gadobenat **5**, Abbildung 3), der in Hepatocyten eindringen kann und mit der Gallenflüssigkeit ausgeschieden wird.^[9] Die Koordinationssphäre von Gd^{III} in **5** ist nahezu identisch mit der in **1**

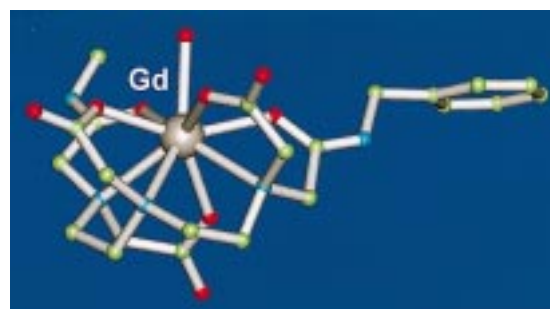
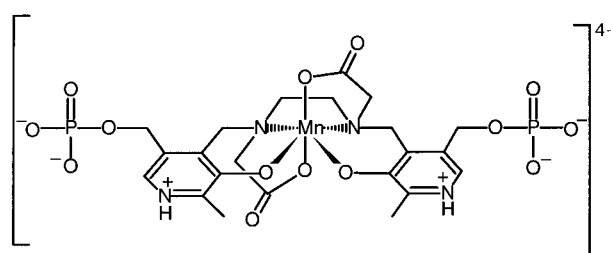


Abbildung 3. Struktur von $[Gd(bopta)]^{2-}$ in Na-**5**, einem MRI-Kontrastmittel für Leberaufnahmen, das sich in klinischen Studien befindet (nach Lit. [9]).

(neunfach koordiniert, verzerrtes trigonales, dreifach überdachtes Prisma); beide Komplexe ähneln sich in Stabilität und Relaxationsvermögen (Tabelle 1).^[9]

Der verzerrt oktaedrische Mn^{II} -Komplex **6**^[10] (Abbildung 4; Teslascan ist das Mangafodipir-Trinatriumsalz) wird



6

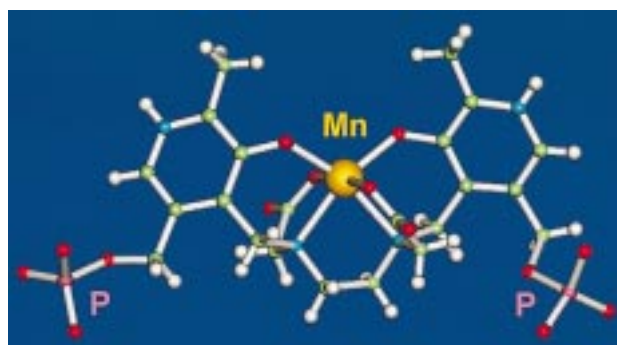


Abbildung 4. Struktur von $[Mn(dpdp)]^{4-}$ in $CaNa_2$ -**6**, einem MRI-Kontrastmittel für Leberaufnahmen (nach Lit. [10]).

zur Erhöhung des Kontrasts bei Leberaufnahmen eingesetzt (Aufspüren von Leberzellkarzinomen).^[11] Das Relaxationsvermögen von **6** (Tabelle 1) ist ungefähr 35 % größer als das der Mn-Komplexe von DTPA und DOTA, die ebenfalls kein direkt koordiniertes Wasser enthalten.^[12]

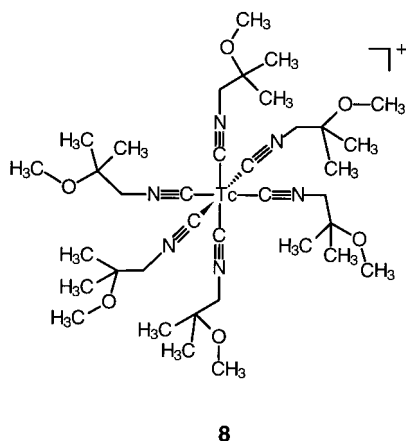
Superparamagnetische Nanopartikel aus mit Dextran überzogenem Eisenoxid werden ebenfalls als MRI-Kontrastmittel eingesetzt. Ihre Verteilung nach Injektion im Körper hängt von der Teilchengröße ab: Solche mit einem Durchmesser

von 30 nm (Sinerem)^[13] nutzt man zur Abbildung des Blutpools, solche mit einem Durchmesser von 150 nm (Endorem)^[14] für die gezielte Abbildung der Leber, und größere Partikel mit einem Durchmesser von 300 nm (Lumirem)^[15] können wie Gadolin, ein Zeolith mit eingeschlossenem Gd^{III},^[16] zur Abbildung des Magen-Darm-Traktes oral verabreicht werden.

2.2. Radiopharmaka

Das klinische Interesse an Radionucliden konzentriert sich nicht nur auf intensive γ -Strahler wie ²⁰¹Tl, ¹¹¹In, ⁶⁷Ga, ⁵¹Co, ⁵¹Cr und ¹⁶⁹Yb und insbesondere ^{99m}Tc zur Bildgebung bei der Diagnostik, sondern auch auf β -Strahler wie ⁸⁹Sr, ¹⁵³Sm und ¹⁸⁶Re für die Therapie.^[1,201] Zahlreiche Radiopharmaka auf der Basis von ^{99m}Tc und anderen Radionucliden werden derzeit in der klinischen Diagnostik genutzt. Komplex **7** (^{99m}Tc^V(*dl*-hm-pao)), Ceretec) ist ein zugelassenes Perfusionsmittel für den Zerebralbereich zur Diagnose von Schlaganfällen. Der Komplex wird vom Gehirn aufgenommen und dort in eine hydrophile Substanz mit längerer Verweilzeit umgewandelt. Interessanterweise ist die Verweilzeit des *dl*-HM-PAO-Komplexes bedeutend länger als die des *meso*-HM-PAO-Komplexes.^[17]

Komplex **8** (^{99m}Tc^I(sestamibi)⁺, Cardiolit) kommt als Perfusionsmittel für die Abbildung des Herzmuskels zum Einsatz. Er wurde ausgehend von der Kenntnis entwickelt,



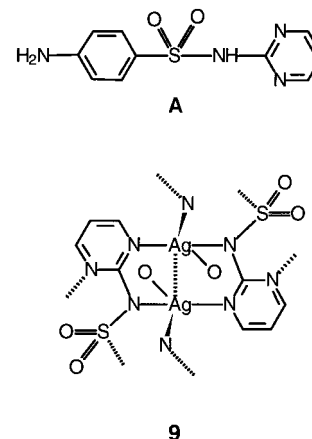
daß sich lipophile kationische Komplexe wie Kaliummimetica verhalten und vom Herzmuskel aufgenommen werden.^[18] Der stufenweise Metabolismus der sechs identischen Methoxygruppen von **8** zu Hydroxygruppen in der Leber führt zur Bildung von ^{99m}Tc-Komplexen mit größerer Hydrophilie, die sich im Gewebe des Herzmuskels nicht festsetzen können.^[19]

Monoklonale Antikörper (mAbs), an die Radionuclide gebunden sind, z.B. das ¹¹¹In-Satumomab-Pendetid (diese Verbindung enthält den Maus-mAb B72.3, der gegen das Antigen TAG-72 gerichtet ist, das von vielen Adenokarzi-

men exprimiert wird), werden in der klinischen Diagnostik von Grimm/Mastdarm- und Eierstockkrebs eingesetzt.^[20] Eine Reihe weiterer Maus-mAbs, an die ^{99m}Tc oder ¹¹¹In gebunden ist, befindet sich in klinischen Studien.^[21] Wesentliche Fortschritte konnte man kürzlich in der Entwicklung rezeptorspezifischer Radiopharmaka mit ^{99m}Tc erzielen.^[22] Auch der Einschluß von Radionucliden in Fullereren könnte deren gezielte Freisetzung am gewünschten Ort ermöglichen.^[23,24]

2.3. Antiinfektiva

Silber und seine Verbindungen werden bereits seit langem gegen Mikroben eingesetzt. Silber wirkt bereits bei geringer Konzentration und hat zudem eine geringe Toxizität. In manchen Ländern tröpfelt man heute noch Neugeborenen sofort eine einprozentige AgNO₃-Lösung in die Augen zur Vorbeugung gegen eine Augentzündung (Ophthalmia neonatorum).^[25] Silbersulfadiazin **9**, das aus Ag^I und Sulfadiazin **A** entsteht, wird in der Klinik gegen Mikroben und Pilzinfektionen eingesetzt. Es ist eine unlösliche, polymere

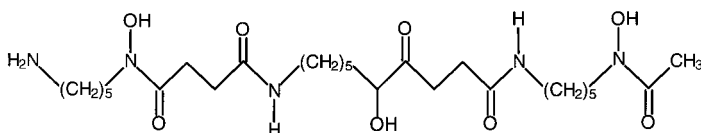


Verbindung, die Ag^I-Ionen langsam freisetzt und bei schweren Verbrennungen als Salbe zur Vorbeugung gegen bakterielle Infektionen lokal angewendet wird. Industriell wichtig ist die langsame Freisetzung antimikrobieller Ag^I-Ionen aus anorganischen und organischen Polymermatrices.^[26] Wie Ag^I als Zellgift wirkt, ist unbekannt. Möglicherweise spielt die Zerstörung der Zellwände eine wichtige Rolle, denn es konnte gezeigt werden, daß Cys150 im Enzym Phosphomannose-Isomerase, einem wichtigen Enzym für die Biosynthese von Zellwänden in *Candida albicans*, in diesem Organismus eine Angriffsstelle von Ag^I ist.^[27] Man kennt auch silberresistente Bakterien,^[25] im Verständnis des Mechanismus dieser Resistenz gibt es erste Fortschritte.^[202]

Antimon wird bereits seit vielen Jahrhunderten für medizinische Zwecke genutzt. Sb^{III}-Komplexe sind im allgemeinen toxischer als Sb^V-Komplexe. Zwei Sb^V-haltige Arzneimittel, *N*-Methylglucaminantimonat (Glucantime) und Natriumstibogluconat (Pentostam), werden in der Klinik zur Behandlung von Leishmaniasis, einer von intrazellulären Parasiten verursachten Krankheit, eingesetzt.^[28] Die Kohlenhydrate in diesen Arzneimitteln dienen möglicherweise dazu, Sb^V an

Makrophagen abzugeben. Die Sb^{V} -Komplexe sind vielleicht nur Vorstufen der toxischeren Sb^{III} -Komplexe, die erst in der Nähe oder direkt am Wirkort gebildet werden. Derzeit wird an der Verbesserung von Stabilität, Löslichkeit und Wirksamkeit der Sb-Präparate gearbeitet, wobei Sb^{III} - und Sb^{V} -Komplexe mit Mannan aus Hefe als erfolgversprechende Verbindungen beschrieben wurden.^[29, 30]

Der Eisenchelator Desferrioxamin **10** ist für die Behandlung von Malaria zugelassen. Seine Wirksamkeit ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß er den Fe^{III} -Metabolismus in den Verdauungsvakuolen von Malariaparasiten unterbricht.^[31]

**10**

Mehrere Antisense-Oligonucleotide erwiesen sich als wirksame Inhibitoren der HIV-1-Integrase^[32] und befinden sich derzeit in den klinischen Studien. Sie enthalten nur Desoxyguanosin und Thymin und haben Schlüsselsequenzen wie 5'-d(GTGGTGGGTGGGTGGGT) **11** (T30175). In Gegenwart von K^+ -Ionen falten sie sich zu Strukturen aus vier Strängen, die durch zwei parallele Schichten von Guanin-Quartetten ausgezeichnet sind (Abbildung 5).^[33] Unter physiologischen Bedingungen ist diese Struktur sehr stabil (K-**11** ist z. B. gegen Serum-Nucleasen mit einem $t_{1/2}$ -Wert von 5 h resistent), und sie ist wahrscheinlich auch für die biologische Aktivität entscheidend.

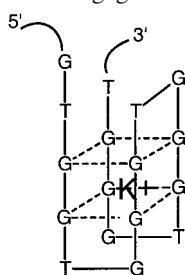
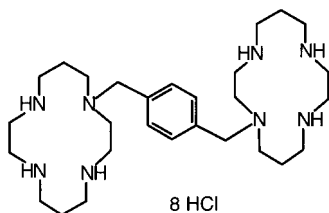
**K-11**

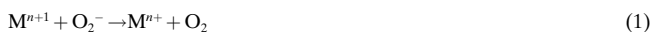
Abbildung 5. Die Faltung des Anti-HIV-Oligonucleotids **11** in Gegenwart von Kaliumionen.

reich.^[34] Da sie auch im Mikromolbereich nicht toxisch sind, haben sie einen hohen Selektivitätsindex (ca. 10^5). Der Zinkkomplex von **12** ist ebenfalls aktiv.^[35] Die Bicyclam-Moleküle scheinen mit dem CXCR4-Corezeptor zu wechselwirken und so das Eindringen des HIV-1 und die Membranfusion in den frühen Phasen des Replikationszyclus des Retrovirus zu blockieren.^[36]

**8 HCl****12**

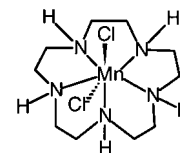
2.4. Mimetica für die Superoxid-Dismutase

Superoxid O_2^- ist ein freies Radikal und kann von aktivierten Leukocyten und Endothelzellen gebildet werden. Man nimmt an, daß es bei ischämischen Erkrankungen infolge einer Reperfusion sowie bei Entzündungen und Gefäßkrankheiten als Mediator wirkt. Mit NO kann es zum schädigend wirkenden Peroxynitrit ONO_2^- reagieren. Das Metalloenzym Superoxid-Dismutase (SOD) vermag O_2^- zu zerstören – im Cytoplasma eukaryotischer Zellen als Cu,Zn-SOD und in Mitochondrien als Mn-SOD [Gl. (1) bzw. (2)]. Der Einsatz der SOD zu Therapie Zwecken ist jedoch



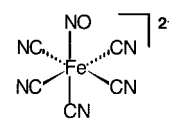
wegen ihrer kurzen Halbwertszeit im Plasma (Ausscheidung über die Niere) und weil sie Zellmembranen nicht durchdringen kann (d.h. sie ist ausschließlich extrazellulär aktiv), eingeschränkt. Niedermolekulare SOD-Mimetica sind darum von großem pharmazeutischem Interesse.^[37] So zeigt etwa eine Reihe Mn- und Fe-Komplexe von Porphyrinen und anderen Makrocyclen eine SOD-ähnliche Aktivität.^[38–41] Mn^{II} - und Mn^{III} -Makrocyclen scheinen dabei besonders erfolgversprechend zu sein.^[42, 43]

Der Komplex **13** (SC-52608) beispielsweise kann Superoxid abfangen und demzufolge den Herzmuskel bei einer Reperfusion nach einer lokalen Ischämie vor Schädigung schützen.^[44] Der Mn^{III} -Komplex von 5,10,15,20-Tetrakis(4-benzoesäure)porphyrin (MnTBAP) wiederum kann vor einer Neurodegeneration schützen und ist darum von großem Interesse bei der Behandlung von Krankheiten des Gehirns wie Parkinson und Alzheimer.^[45]

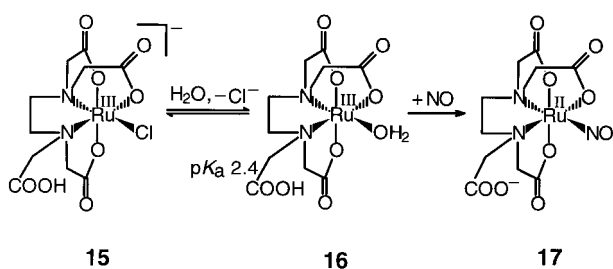
**13**

2.5. Kardiovaskuläres System

Der Low-spin- Fe^{II} -Komplex Natriumnitroprussid **14** ist der einzige Nitrosylkomplex, der klinisch eingesetzt wird,^[46] und zwar oft zur Erniedrigung des Blutdrucks. Seine Wirkung stellt sich bereits Sekunden nach der Infusion ein, und die gewünschte Blutdrucksenkung erreicht man gewöhnlich innerhalb von 1–2 min. Er wird auch bei akut auftretendem Bluthochdruck, bei Herzinfarkt und bei Operationen eingesetzt.^[47] Der therapeutische Effekt von **14** beruht auf der Freisetzung von Stickstoffmonoxid, das die glatte Muskulatur der Blutgefäße entspannt. Bei der In-vivo-Aktivierung findet möglicherweise eine Reduktion zu $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{3-}$ statt, das zunächst Cyanid unter Bildung von $[\text{Fe}(\text{CN})_4(\text{NO})]^{2-}$ und danach Stickstoffmonoxid freisetzt.^[48, 49]

**14**

Rutheniumkomplexe wie $\text{K}[\text{Ru}(\text{Hedta})\text{Cl}]$ **K-15** (JM1226) wurden als NO-Fänger zur Kontrolle des NO-Spiegels unter medizinisch interessanten Bedingungen vorgeschlagen. In

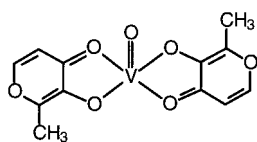


Wasser steht **15** im Gleichgewicht mit dem Aqua-Komplex **16** (JM6245, pK_a der freien Carboxygruppe ist 2.4).^[50] An beide Komplexe bindet NO sehr schnell (Geschwindigkeitskonstante bei Körpertemperatur (310 K) $>10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) und fest ($K > 10^8 \text{ M}^{-1}$) unter Bildung des linearen $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}^+$ -Adduktes **17**.^[50]

Es wurde gezeigt, daß der Komplex **16** die schwache Reaktion der Arterien auf Medikamente mit gefäßverengender Wirkung – ein großes Problem bei der klinischen Behandlung von Patienten mit septischem Schock (als Folge einer sehr hohen Bakterienkonzentration im Blutkreislauf) – umkehrt.^[51] Die übermäßige NO-Bildung scheint nicht nur ein wesentlicher Faktor bei septischem Schock, sondern auch bei Diabetes, Arthritis, Entzündungen und Epilepsie zu sein.

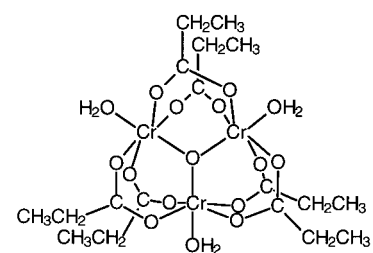
2.6. Insulinmimetica

Vor nahezu zwanzig Jahren entdeckte man, daß V^{V} als Vanadat und V^{IV} als Vanadyl manche Wirkungsweisen des Insulins nachahmen können (Stimulierung der Aufnahme und Oxidation von Glucose sowie Glycogensynthese).^[52, 53] Vanadiumkomplexe mit organischen Liganden sind oft weniger toxisch, besser wasserlöslich und lipophiler.



Der oral verabreichbare Komplex Bis(maltolato)oxovanadium(IV) **18** (BMOV)^[54] ist in vivo als Insulinmimeticum dreimal wirksamer als VO_4 .^[55] Im Kristall liegt **18** quadratisch pyramidal mit dem Oxo-Liganden in der axialen Position und den Maltolat-Liganden in *trans*-Stellung vor.^[56] In sauerstoffhaltiger wäßriger Lösung findet eine rasche Autoxidation zu Dioxovanadium(V)-Verbindungen statt.^[57]

Die niedermolekulare Chrom-bindende Substanz (LMWCr) ist ein natürlich vorkommendes Oligopeptid (ca. 1500 Da) aus Cr^{III} , Asp, Glu, Gly und Cys im Verhältnis 4:2:4:2:2, das die Insulin-abhängige Tyrosinkinase-Aktivität des Insulinrezeptorproteins aktiviert, wobei die Aktivität dem Cr-Gehalt des Oligopeptids proportional ist (maximale Aktivität bei vier Cr^{III} pro Oligopeptid).^[58] Das dreikernige Kation **19** kann die Tyrosinkinase-Aktivität des Insulinrezeptorproteins nahezu gleich stark aktivieren wie LMWCr.^[59] Der zu **19** analoge Komplex mit Acetat statt Propionat wirkt interessanterweise nicht aktivierend, sondern eher inhibierend auf die membranständige Phosphatase- und Kinase-Aktivität. Inwieweit er zur Behandlung von Diabetes eingesetzt werden kann, muß jedoch noch ermittelt werden.



19

2.7. Organische Reagentien mit Affinität zu Metallen

Metallionen können eine wichtige Rolle im Wirkmechanismus organischer Arzneimittel spielen, wie die folgenden Beispiele belegen sollen.

Die organischen Verbindungen Galardin (Glycomed), Ro319790, Batimastat (BB-94) und BB-2516 befinden sich zur Zeit in klinischen Studien gegen Krankheiten wie Arthritis und Krebs sowie Erkrankungen der Herzgefäße. Sie sind Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinasen (MMPs), einer Familie Zink-abhängiger Enzyme, die die Hauptkomponente der extrazellulären Matrix abbauen. Überexpression und Aktivierung dieser Enzyme wurden mit verschiedenen Krankheiten, darunter Krebs, Arthritis und multiple Sklerose, in Zusammenhang gebracht. Inhibitoren dieser Enzyme enthalten gewöhnlich eine Gruppe, die an das Zink(II)-Ion im aktiven Zentrum binden (es chelatisieren) kann, und ein zur Peptidspaltungsstelle komplementäres Peptidgerüst (Abbildung 6).^[60]

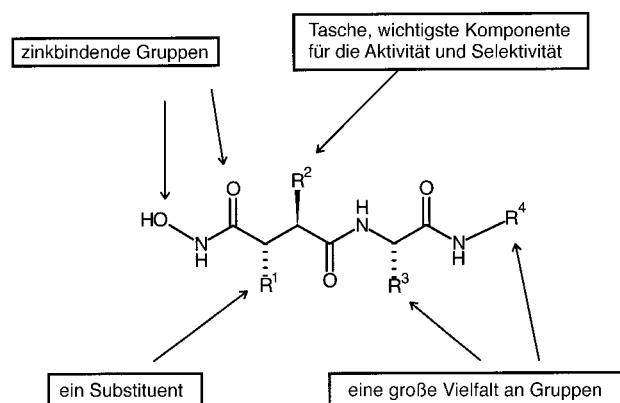


Abbildung 6. Das Peptidgerüst von Matrix-Metalloproteinase-Inhibitoren.

Batimastat (4-(*N*-Hydroxyamino)-(2*R*)-isobutyl-(3*S*)-[(2-thienylthiomethyl)succinyl]-*L*-phenylalanin-*N*-methylamid) ist ein Breitbandinhibitor mit Aktivität gegen MMPs im Nanomolbereich und befindet sich in der Phase II der klinischen Studien zur Behandlung von Brust- und Eierstockkrebs.^[61] Die Kristallstrukturanalyse der katalytischen Domäne der Kollagenase aus Humanneutrophilen mit gebundenem Batimastat (Abbildung 7) ergab eine zweizählige Koordination des Batimastats an das katalytische Zn^{II} -Zentrum über die Hydroxy- und Carbonylsauerstoffatome der Hydroxamatgruppe.^[62]

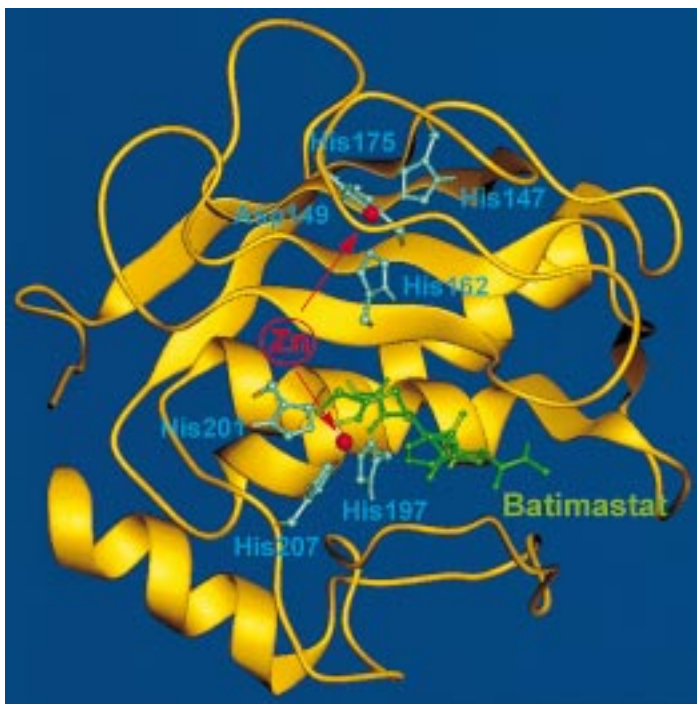
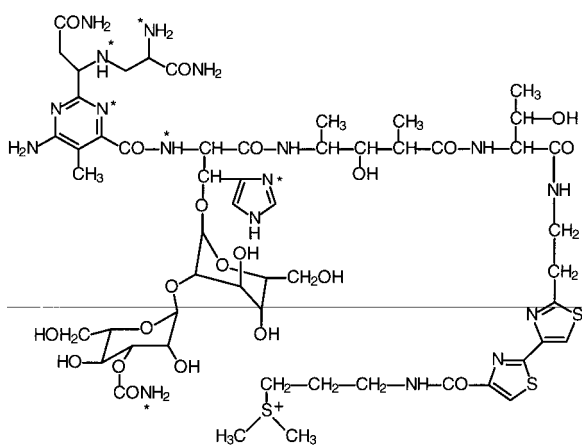
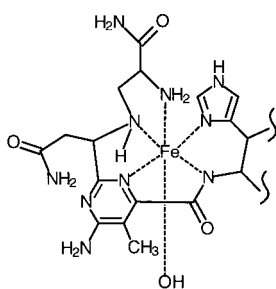


Abbildung 7. Struktur des Komplexes aus Batimastat (grün) und der Kollagenase aus Humanneutrophilen im Kristall (nach Lit. [62]). Strukturreferenz: PDBID, 1JAO.

Die Bleomycine (BLMs; z. B. A2 **20**; die Sterne kennzeichnen metallbindende Positionen) sind Glycopeptid-Antibiotica mit cytostatischer Wirkung gegen eine Reihe von



20



20-Fe

Tumoren. Bleomycinsulfat wird in der Kombinations-Chemotherapie von Kopf- und Halskrebs, bestimmten Lymphomen und Hodenkrebs eingesetzt.^[63]

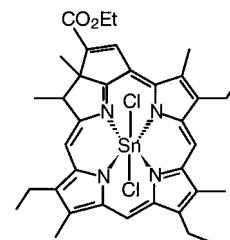
Als Ursache für die Cytotoxizität der BLMs wird angenommen, daß sie an Eisen binden (**20-Fe**),^[64] Sauerstoff aktivieren sowie DNA^[63] und möglicherweise auch RNA spalten können.^[65] Daß der Fe^{II}-BLM-Komplex Sauerstoff binden und oxygenierte BLM-Verbindungen wie O₂⁻-Fe^{III}-BLM oder O₂-Fe^{II}-BLM bilden kann, ist vermutlich auf delokalisierte π -Elektronen um das Eisen und die starke Eisen-Pyrimidin- π -Rückbindung zurückzuführen.^[66, 67] Oxygeniertes BLM nimmt ein zusätzliches Elektron auf und bildet ein aktiviertes Low-spin-Ferriperoxid-BLM (O₂²⁻-Fe^{III}-BLM).^[66, 67] Welche strukturellen Charakteristika des Fe-BLM-Komplexes für den Abbau der DNA (oder RNA) verantwortlich sind, ist noch unklar.

2.8. Photodynamische Therapie

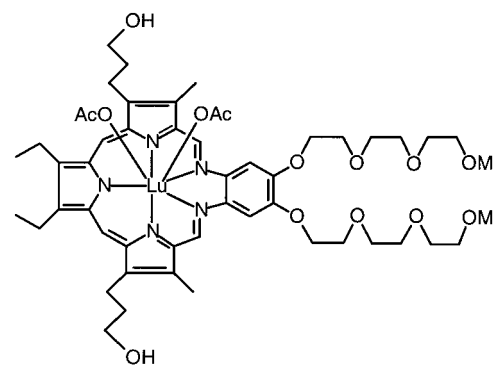
Bei der photodynamischen Therapie werden krankes Gewebe und kranke Zellen mit einem Photosensibilisator und sichtbarem Licht behandelt.^[203, 204] Das klinische Interesse konzentriert sich hierbei auf die Behandlung von Krebs, Porphyrrias, hämatologischen Krankheiten und verschiedenen Formen von Gelbsucht. Man braucht dazu Photosensibilisatoren, die eine gewisse Selektivität für die lichtinduzierte Zerstörung von Tumorgewebe zeigen.

Zinn(IV)-ethyletiopurpurin **21** (SnET2)^[68] ist ein Photosensibilisator der zweiten Generation, der sich zur Zeit in der klinischen Prüfung befindet. Er bindet bevorzugt an die Lipoproteine hoher Dichte im Blutplasma.^[69] Komplexe der Texaphyrine (expandierte Porphyrine) mit Cd^{II}, La^{III} und Lu^{III} (**22**) sind wirksame Photosensibilisatoren.^[70, 71] Sie zeigen eine intensive Absorption im physiologisch wichtigen Spektralbereich des fernen Rot (700–800 nm), die langlebige Triplettzustände liefert und in der Folge hohe Ausbeuten an Singulett-Sauerstoff.

Der Lutetiumkomplex **22** befindet sich zur Zeit als Photosensibilisator zur Behandlung von Krebs in den klini-



21



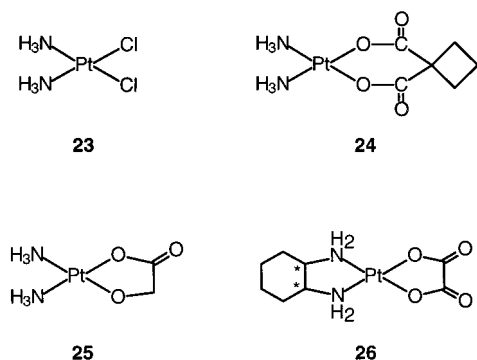
22

schen Studien. Er weist eine breite und intensive Absorptionsbande mit einem Maximum bei 732 nm auf^[72] und geht nach Lichtabsorption in einen langlebigen Triplettzustand über, der mit O₂ unter Bildung des cytotoxischen Singulett-sauerstoffs reagiert. Darüber hinaus befindet er sich als Photosensibilisator zur Behandlung von Arteriosklerose, die durch Ablagerung von Cholesterin und anderen Fettverbindungen an den Blutgefäßwänden verursacht wird, in klinischen Studien.

3. Cytostatica – Platin

3.1. Für die Therapie wichtige Platinkomplexe

Platinkomplexe gehören inzwischen zu den bei der Behandlung von Krebs am meisten genutzten Arzneimitteln.^[205,206] Vier Pt^{II}-Verbindungen, die per Injektion verabreicht werden können, sind inzwischen zugelassen, und eine Reihe andere *cis*-Diam(m)inkomplexe einschließlich eines oral verfügbaren Pt^{IV}-Komplexes befindet sich in den klinischen Studien. Heute ist Cisplatin **23** zusammen mit Carboplatin **24**, einem Pharmakon der zweiten Generation, eines der am häufigsten eingesetzten Mittel gegen Krebs. Der Glycolatkomplex **25** (Nedaplatin, 254-S) und der Oxalat-



komplex **26** (Oxaliplatin (*l*-OHP) mit *R,R*-1,2-Diaminocyclohexan (DACH) als Ligand) sind in Japan bzw. Frankreich zugelassen. Diese Verbindungen sind besonders wirksam in der Kombinations-Chemotherapie von Lungen-, Grimm/Mastdarm- und Eierstockkrebs im fortgeschrittenen Stadium.^[73, 74]

Der sterisch anspruchsvoll substituierte Komplex **27** (ZD0473) ist (oral oder durch Injektion verabreichbar) gegen eine Zelllinie mit Cisplatin-Resistenz aktiv, die sich aus einem Fremdtransplantat eines menschl-

chen Eierstockkarzinoms ableitet.^[75] Er kam 1997 in die klinischen Studien. Dieser Komplex ist weniger reaktiv als Cisplatin und induziert z.B. in Zellen die Vernetzung von Doppelstrang-DNA langsamer und bindet auch langsamer an Plasmaproteine. Die sterische Hinderung durch die 2-Methylgruppe, die über der Mitte der quadratischen Pt-Koordinationsebene liegt, ist deutlich zu erkennen (Abbildung 8).^[76] **27** wird zwei- bis dreimal langsamer hydrolysiert als Cisplatin (Tabelle 2).^[76]

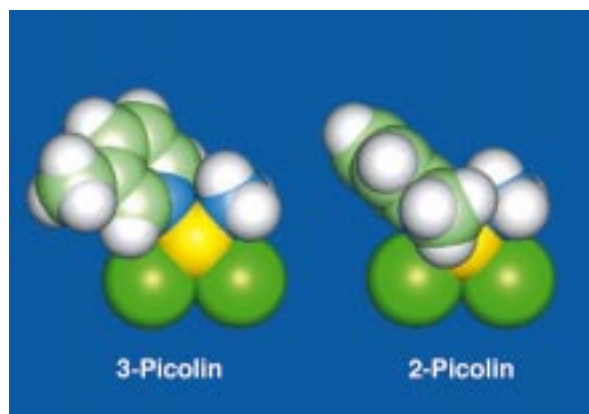
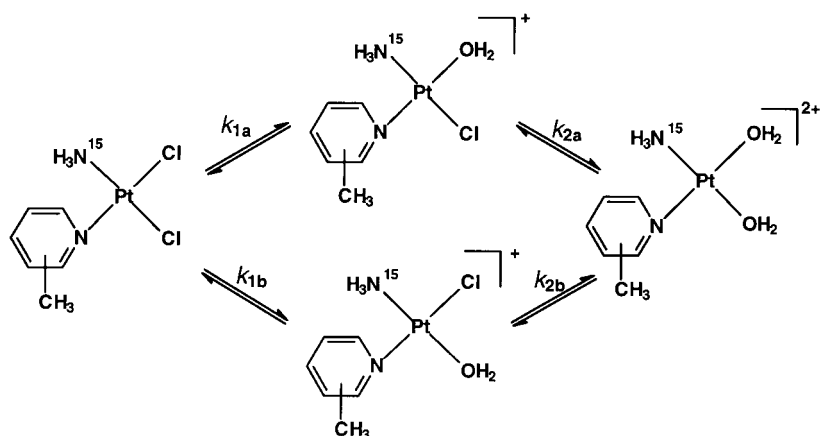


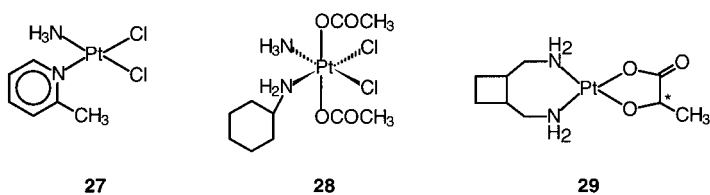
Abbildung 8. Strukturen des cytotostatischen sterisch gehinderten 2-Picolin-Komplexes **27** und seines 3-Picolin-Analogons im Kristall. Der H₃C...Pt-Abstand in **27** beträgt 3.22 Å (nach Lit. [76]).

Tabelle 2. Hydrolysegeschwindigkeitskonstanten *k* (Schema 1) für den cytotostatischen 2-Picolinplatinkomplex **27** und sein 3-Picolin-Analogon bei 310 K (0.1M NaClO₄)^[76] sowie für Cisplatin bei 308 K (0.32M KNO₃).^[196]

Verbindung	<i>k</i> [× 10 ⁻⁶ s ⁻¹]	Verbindung	<i>k</i> [× 10 ⁻⁶ s ⁻¹]
2-Picolinplatinkomplex 27	<i>k</i> _{1a} : 31.9 ± 1.5	3-Picolinplatinkomplex	<i>k</i> _{1a} : 44.7 ± 1.9
	<i>k</i> _{1b} : 22.1 ± 1.4		<i>k</i> _{1b} : 103 ± 4
	<i>k</i> _{2a} : 73 ± 14		<i>k</i> _{2a} : 35.0 ± 1.7
	<i>k</i> _{2b} : 3.5 ± 2.5		<i>k</i> _{2b} : 78 ± 60
Cisplatin 23	<i>k</i> ₁ : 75.9		



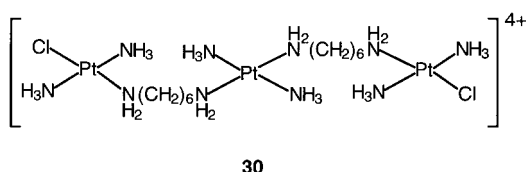
Schema 1. Reaktionsschritte bei der Hydrolyse von Am(m)inplatinkomplexen.



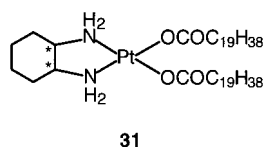
Der oral verfügbare Komplex **28** (JM216) befindet sich gegenwärtig in der Phase II der klinischen Studien. Er soll *in vitro* und *in vivo* Cisplatin in der Aktivität gegen Zelllinien menschlicher Zervikal-, kleinzelliger Lungen- und Eierstockkarzinome überlegen sein.^[77] Inkubiert man **28** mit Human-

plasma, erfolgt eine Biotransformation zu mindestens sechs Produkten. Als Hauptmetabolit entsteht der Dichloroplatin(II)-Komplex *cis*-[PtCl₂(NH₃)(cyclohexylamin)]; daneben bilden sich Mono- und Dihydroxo-Pt^{IV}-Komplexe.^[78, 79] Der Komplex **29** (Lobaplatin, D-19466) gelangte 1992 in die klinischen Studien^[80] und ist zur Zeit in der Phase II für den Einsatz gegen Cisplatin-resistenten Eierstockkrebs,^[81] gegen Kopf- und Halskrebsarten im fortgeschrittenen Stadium^[82] und gegen kleinzelligen Lungenkrebs.^[83]

Der dreikernige Komplex **30** (BBR3464, Genenion NO₃⁻), dessen zentrale Pt-Einheit lediglich H-Brücken zu DNA bilden kann, ist jetzt in den klinischen Studien.^[84–86] Mit einer Ge-



samtladung von +4 hat er eine sehr hohe Affinität zu DNA, die dadurch charakterisiert ist, daß Interstrang-Vernetzungen bis über sechs Basenpaare hinweg möglich sind, wobei eine beträchtliche Entwindung und eine effektive, irreversible Umwandlung von B- in Z-DNA stattfinden. Diese Addukte verursachen *in vitro* einen Abbruch der DNA-Synthese. Die Cytotoxizität des Komplexes ist unabhängig vom p53-Status gegen



Cisplatin resistenter Zellen (er ist auch wirksam gegen Tumore mit einer p53-Mutante). Der Komplex soll gegen Cisplatin-resistente menschliche Tumorzelllinien bis zu hundert-

mal wirksamer sein als Cisplatin.

cis-Bis(nonadecanoato)(*trans*-*R,R*-1,2-diaminocyclohexan)platin(II) **31** (N-DDP) ist ein lipophiles, in Liposome verpacktes Cisplatin-Analogon, das *in vivo* eine vielversprechende Aktivität gegen Lebermetastasen und gegen Cisplatin-resistente Tumore zeigte.^[87] Es befindet sich zur Zeit in klinischen Studien.

3.2. Platinierung von DNA

Die N7-Atome der Guaninreste sind die elektronenreichsten (am leichtesten zu oxidierenden) Stellen der DNA. Die Hauptaddukte aus Platin-haltigen Arzneimitteln und DNA sind 1,2-GpG- und 1,2-ApG-Vernetzungen innerhalb eines Strangs. Die Eigenschaften dieser Addukte sind ausgiebig untersucht worden und literaturbekannt.^[88] Nach der NMR-spektroskopisch ermittelten Struktur von *cis*-[Pt(NH₃)₂]²⁺-{d(CCTG*G*TCC)·d(GGACCAGG)} (G* = Guaninrest, an den Platin gebunden ist) in Lösung ist die Konformation des B-DNA-Gerüsts beträchtlich verändert, um sich der

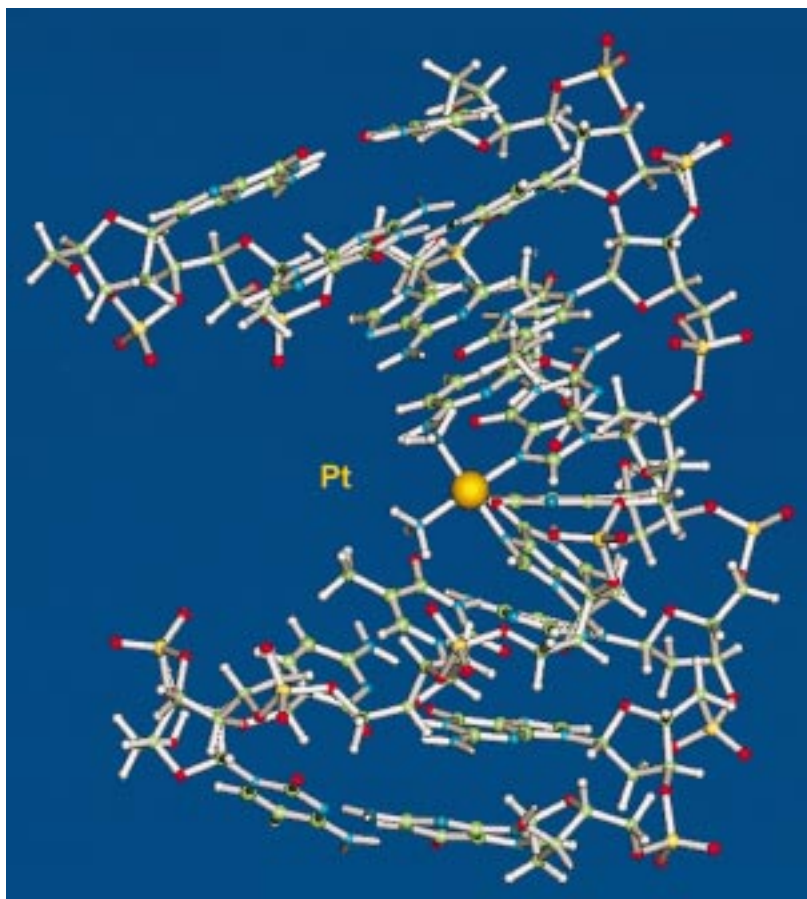


Abbildung 9. Die aus NMR-Messungen abgeleitete Struktur von *cis*-[Pt(NH₃)₂]²⁺-{d(CCTG*G*TCC)·d(GGACCAGG)} zeigt eine beträchtliche Abweichung der DNA-Konformation von der B-Form, um sich der Läsion durch Platin anzupassen.^[89] Strukturreferenz: PDBID, 1AU5.

Läsion durch Platin anzupassen (Abbildung 9).^[89] Die Röntgenstrukturanalyse des Addukts aus Cisplatin und dem Doppelstrang d(CCTCTG*G*TCTCC)·d(GGAGACCA-GAGG) (Abbildung 10) ergab, daß das Cisplatin die DNA um 35–40° zur großen Furche hin verbiegt, wobei der Diederwinkel zwischen den beiden Guaninringen 26° beträgt.^[90, 91] Der Doppelstrang nimmt eine Konformation an, in der A- und B-ähnliche helicale Segmente nebeneinander vorliegen. Es ist bemerkenswert, daß die Konformationen um die platierte GG-Stelle im Kristall^[91] und in Lösung^[89, 92] sehr ähnlich sind. Das Pt-Ion befindet sich etwa 0,8 Å außerhalb der durch die G-Basen definierten Ebenen, was auf beträchtliche Spannungen in dieser Läsion hinweist. Art und Eigenschaften der kleineren DNA-Läsionen mit Cisplatin, darunter 1,3-d(GpNpG)-Intra- und -Interstrang-Vernetzungen sowie monofunktionelle Addukte, die ca. 10% der Addukte ausmachen, versteht man bisher weniger gut.

Die Interstrang-Vernetzung findet sich vorwiegend zwischen zwei Guaninresten gegenüberliegender Stränge und erfordert einen Abstand von ca. 3 Å zwischen den beiden N7-Atomen. Am häufigsten sind Vernetzungen zwischen 5'-CG- und 3'-CG-Sequenzen.^[93] In diesen Sequenzen sind die beiden Guaninreste mindestens 7–9 Å getrennt, so daß eine starke Verdrillung der B-DNA-Doppelhelix für die Vernetzung nötig ist. Aus der NMR-spektroskopisch ermittelten Struktur

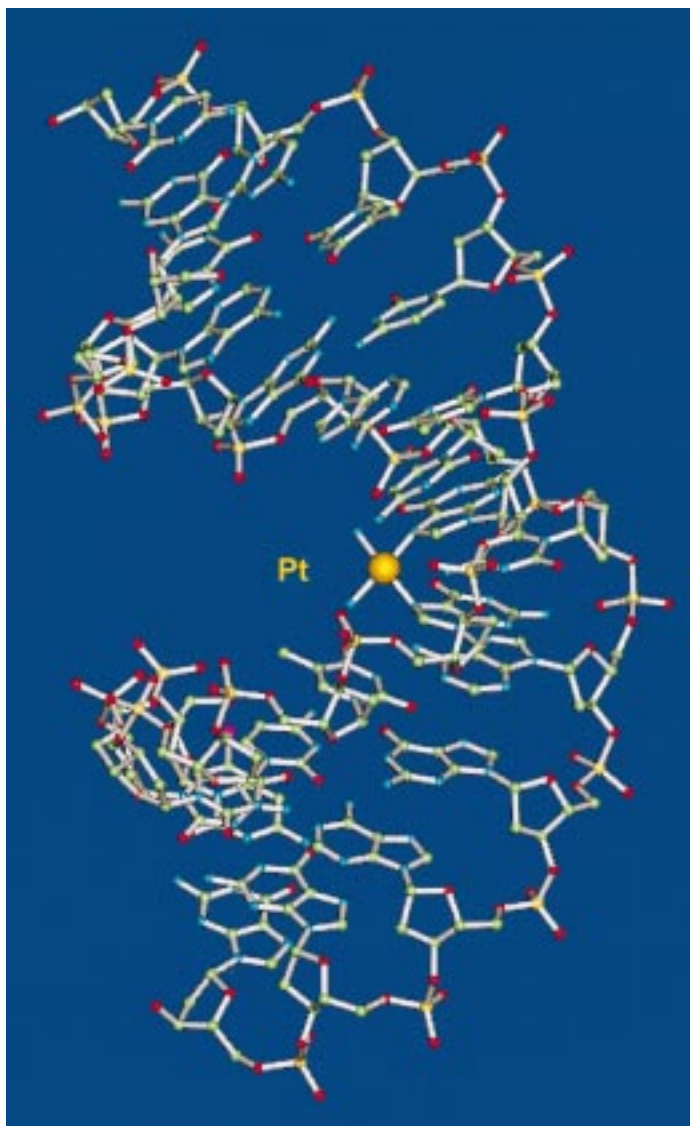


Abbildung 10. Struktur von $cis\text{-}[[Pt(NH_3)_2]^{2+}\{d(CCTCTG*G*TCTCC)\cdot d(GGAGACCAGAGG)\}]$ im Kristall. Man erkennt die Verbiegung der Doppelstrang-DNA um ca. 40° zur großen Furche hin und nebeneinander vorliegende A- und B-ähnliche helicale DNA-Segmente.^[90, 91] Strukturreferenz: PDBID, 1AIO.

von $cis\text{-}[[Pt(NH_3)_2]^{2+}\{d(CATAGCTATG)_2\}]$ in Lösung (Abbildung 11) geht hervor, daß der Doppelstrang am Ort der Läsion eine erhebliche Umordnung erfährt, so daß das Platinatom in der kleinen Furche positioniert wird.^[94] Die Desoxyribose der platinieren G-Base erfährt eine Inversion, d.h., das Atom O4' zeigt im Vergleich zu den anderen Nucleotiden in die entgegengesetzte Richtung. Außerdem wird die C-Base, die ursprünglich eine Basenpaarung mit der platinieren G-Base eingegangen war, aus der Helix hinausgedrängt (Abbildung 11). Laut NMR-Messungen in Lösung befindet sich beim Interstrang-vernetzten Komplex $[[Pt(NH_3)_2]^{2+}\{d(CCTCG*CTCTC)\cdot d(GAGAG*CGAGG)\}]$ die $cis\text{-}[[Pt(NH_3)_2]^{2+}$ -Einheit ebenfalls in der kleinen Furche.^[95] Die Stapelung der beiden vernetzten Guaninreste mit den benachbarten Basen führt zu einer Biegung von 40° zur kleinen Furche hin. Eine ähnliche Biegung liegt laut Röntgenstrukturanalyse im Kristall vor. Die beiden C-Basen sind

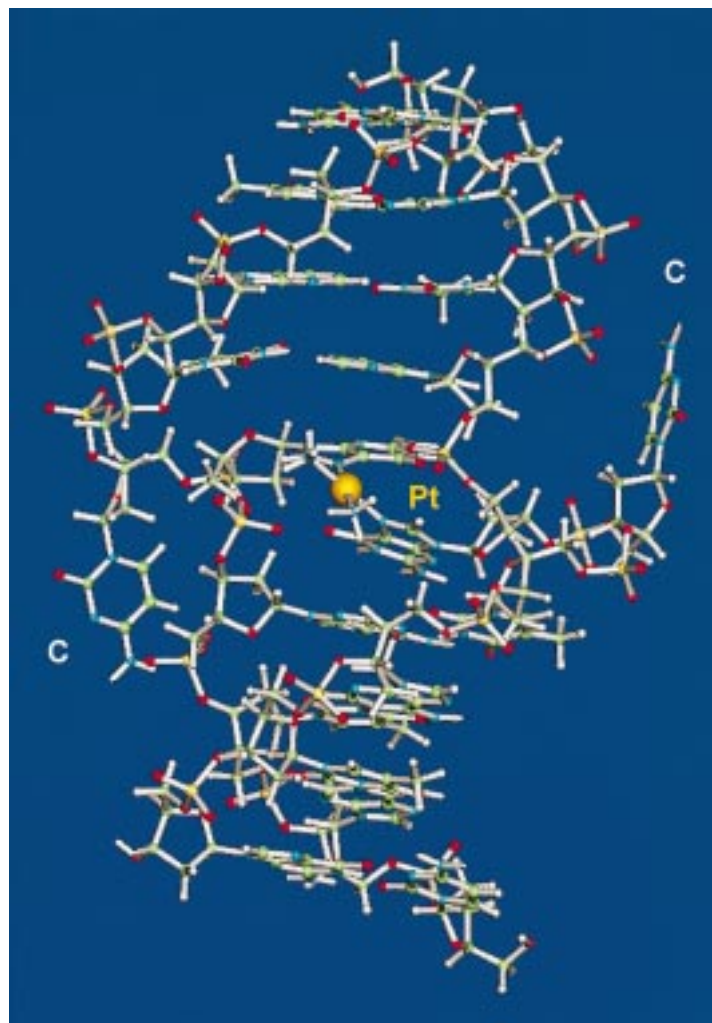
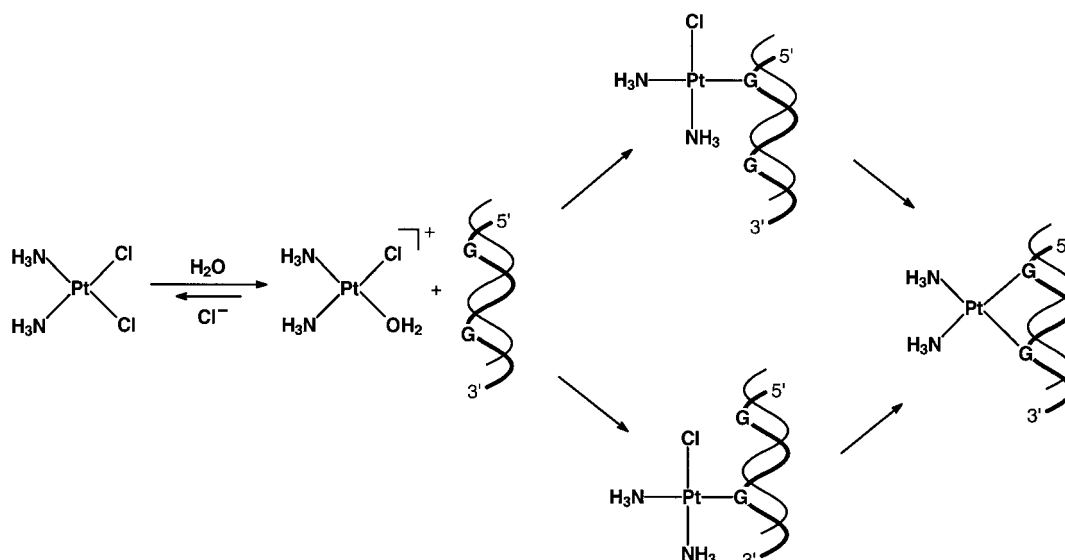


Abbildung 11. Die aus NMR-Messungen abgeleitete verfeinerte Struktur des quervernetzten Doppelstrangs $cis\text{-}[[Pt(NH_3)_2]^{2+}\{d(CATAGCTATG)_2\}]$. Die den platinieren Desoxyguaninresten gegenüberliegenden Desoxycytosinreste sind aus der Helix hinausgedrängt.^[94] Strukturreferenz: PDBID, 1DDP.

aus der Doppelhelix hinausgedrängt, und das Platinkomplexfragment befindet sich in einem aus neun Wassermolekülen gebildeten Käfig.^[207]

Der allgemeine Mechanismus für die Bildung von DNA-GG-Vernetzungen durch Cisplatin ist in Schema 2 aufgeführt. Cisplatin hydrolysiert zu Mono- (und Di-)aqua-Komplexen mit einer Halbwertszeit von 1.7 h bei 310 K. Man nimmt an, daß die Aquakomplexe die aktiven Verbindungen bei der Reaktion mit DNA sind.

Unerwartet war der Befund, daß das monofunktionelle 5'-G-Addukt, das bei der Reaktion von Cisplatin mit dem 14mer $d(ATACATGGTACATA)\cdot d(TATGTACCAATGTAT)$ entsteht, bei 298 K eine sehr lange Halbwertszeit von 80 h hat.^[96, 97] Die Halbwertszeiten der beiden monofunktionellen G-Addukte des GG-Einzelstrangs sind ähnlich, was nahelegt, daß die 3D-Struktur der DNA bei der Stabilisierung des 5'-G-Addukts eine Rolle spielt, und zwar entweder durch Abschirmung des Cl-Liganden gegen Hydrolyse oder durch ein Erzwingen der Position für den am N7-Atom des 3'-G-Rests eintretenden Liganden. Durch Molecular Modeling ließ sich



Schema 2. Mechanismus der Reaktion von DNA mit Cisplatin 23.

zeigen, daß H-Brücken zwischen den NH_3 -Liganden und Carbonylgruppen der DNA für die Ausrichtung der Pt-Cl-Bindungen und deren Zugänglichkeit eine wichtige Rolle spielen. Molekülmechanik-Rechnungen ergaben, daß, obwohl der Chlorid-Ligand im monofunktionellen Addukt von der Helix weg nach außen zeigt, der ihn bei der Hydrolyse verdrängende Wasser-Ligand – wegen seiner Fähigkeit zur Bildung starker H-Brücken – nach innen gerichtet ist.^[97] Molecular-Modeling-Studien zu den Übergangszuständen wären nun wünschenswert.

Eine Kinetikanalyse auf der Basis von HPLC-Daten erlaubt eine genaue Bestimmung der Geschwindigkeiten der Platinierung und Chelatierung bei den Reaktionen von Diaqua-Cisplatin mit DNA-Oligonucleotiden.^[98, 99] Beim Doppelstrang-Oligonucleotid $d(\text{TTGGCCAA})_2$ bildet sich das Monoaquaaddukt an 5'-G schneller als an 3'-G, und der Makrochelatingschluß des 5'-G-Monoaquaaddukts zum bifunktionellen Addukt (die Halbwertszeit bei 293 K ist 3.2 h) ist weit langsamer als der des 3'-G-Monoaquaaddukts. Die biologische Bedeutung der langlebigen monofunktionellen DNA-Addukte muß noch untersucht werden, doch sie allein reichen möglicherweise aus, um Zellen abzutöten, falls zuvor keine DNA-Reparatur stattfindet, was beim aktiven *trans*-Iminoetherkomplex 33 der Fall zu sein scheint (siehe Abschnitt 3.4).^[100] Langlebige monofunktionelle Addukte könnten auch die Bildung von Vernetzungen zwischen DNA und Proteinen fördern.

Die Bindung zwischen Pt und dem G-N7-Atom ist bekanntlich sehr stabil; sie läßt sich nur mit starken Nucleophilen wie Cyanid und Thioharnstoff spalten. Untersuchungen der letzten zehn Jahre zeigten jedoch, daß diese Bindung in bestimmten DNA-Addukten labil sein kann. Das 1,3-GG-vernetzte Addukt $\text{trans}-\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}\{d(\text{TCTACG}^*\text{CG}^*\text{TTCT})\}\}$ beispielsweise ist bei neutralem pH instabil und geht in das 1,4-CG-vernetzte Isomer $\text{trans}-\{[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}\{d(\text{TCTAC}^*\text{GCG}^*\text{TTCT})\}\}$ über.^[101] In der Folge fand man, daß Intra- wie Interstrang-DNA-Transplatin-Addukte in einsträngiger und in doppelsträngiger DNA isomerisieren können.^[102–104] So können sich Vernetzungen zwischen einem platinieren 5'-G

des einen Strangs und dem komplementären C des anderen Strangs bilden (Schema 3).^[102] Der Wechsel von einer Intrastrang-Vernetzung in $d(\text{CCTG}^*\text{G}^*\text{TCC}) \cdot d(\text{GGACCAGG})$ zu einer Interstrang-Vernetzung in $d(\text{CCTG}^*\text{GTCC}) \cdot d(\text{GGACCAGG}^*)$ zeigt, daß sogar Bindungen zwischen Pt und N7 in Pt-1,2-GpG-Vernetzungen destabilisiert werden können.^[89] Dies scheint mit einer Unterstützung durch Cl^- abzulaufen.



Schema 3. Umlagerung einer Intra- (links) in eine Interstrang-Vernetzung (rechts) am Beispiel von *trans*-[[Pt(NH₃)₂]-DNA].

3.3. Proteinerkennung

In Tumorzellen wird der Reparaturmechanismus zum Ausschneiden platinierter DNA-Läsionen möglicherweise durch eine Klasse von Proteinen geschützt, die unter dem Namen „High-mobility-group“ (HMG)-Proteine bekannt sind.^[106, 107]

Das Protein HMG1 hat drei Strukturdomänen. Zwei davon, die A- und die B-Domäne, sind positiv geladen, die dritte besteht aus dreißig sauren Aminosäureresten am C-Terminus. Es wurden bereits die Strukturen mehrerer HMG-Domänen aus NMR-Messungen abgeleitet.^[108, 109] Die B-Domäne in HMG1 umfaßt drei α -helicale Bereiche, die über kleine Schleifen miteinander verbunden sind und sich zu einer L-förmigen Struktur falten. Die N-terminale A-Domäne und die zentrale B-Domäne binden an DNA, während die C-terminale Domäne mit den sauren Seitenketten mit Histonen wechselwirkt.

Die Bindungsaffinität von HMG1 zu einer Reihe von DNA-15mer-Doppelsträngen, die durch Cisplatin modifiziert sind ($d(\text{CCTCTCN1G}^*\text{G}^*\text{N2TCTTC}) \cdot d(\text{GAAGAN3CCN4-GAGAGG})$), ist in hohem Maß von den Basen abhängig, die der Pt-Läsion benachbart sind.^[110] Die Affinität zur A-Domäne von HMG1 sinkt für N2 in der Reihenfolge $\text{dA} > \text{T} > \text{dC}$ um zwei Größenordnungen. Für $\text{N1} = \text{N2} = \text{dA}$ bindet der

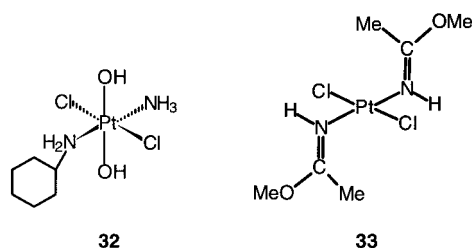
Pt-DNA-Komplex hundertmal stärker an die A-Domäne von HMG1 ($K_d = 1.6 \text{ nM}$) als an die B-Domäne ($K_d = 134 \text{ nM}$). Die Bindung von HMG erhöht die Verbiegung der platinieren DNA bis auf 90° .^[111] NMR-Studien an einem mit Cisplatin platinieren GG-14mer legen nahe, daß der abgewinkelte Doppelstrang im Bereich des Knicks der A-Domäne von HMG1 bindet.^[112] Kürzlich konnte die Struktur eines Komplexes der A-Domäne von HMG1 mit einem aus 16 Basenpaaren bestehenden DNA-Fragment, das eine Cisplatin-DNA-1,2-d(GpG)-Intrastrang-Vernetzung enthält, im Kristall bestimmt werden.^[105] Es zeigte sich, daß das Protein eine Phe-Seitenkette an der platinieren Stelle einschiebt.

Das Kernprotein H1, ein Linker-Histon, bindet ebenfalls viel stärker an mit Cisplatin modifizierte DNA als an mit Transplatin modifizierte oder unmodifizierte DNA.^[113] Die kompetitive Bindung an ein mit Cisplatin modifiziertes 123-bp-DNA-Fragment zeigt, daß das Histon H1 stärker als HMG1 gebunden wird. Auch das TATA-Box-Bindeprotein (TBP)/TFIID, ein Promotor-Erkennungsfaktor, bindet selektiv an durch Cisplatin geschädigte DNA und wird dadurch blockiert. So wird möglicherweise TBP/TFIID von seiner normalen Promotorsequenz weggeockt, was die Inhibierung der RNA-Synthese erklären würde.^[114] Diese Proteine könnten also auch eine wichtige Rolle im Wirkmechanismus der Platinpräparate spielen.

3.4. Aktive *trans*-Komplexe

Die meiste Mühe bei der Entwicklung von cytostatischen Platinkomplexen wurde auf die *cis*-Diam(m)inkomplexe verwendet, da man schon früh erkannte, daß *trans*-[PtCl₂(NH₃)₂] unwirksam ist. Die Entdeckung jedoch, daß *trans*-[PtCl₂(py)₂] (py = Pyridin) höchst cytotoxisch ist, weckte das Interesse an *trans*-Komplexen wieder.^[115]

Der *trans*-Pt^{IV}-Komplex **32** ist gegen subkutane Tumormodelle von Maus und Mensch wirksam^[116] und fördert



eindrucksvoll die Interstrang-Vernetzung sowie Einzelstrangbrüche.^[117] Diese Eigenschaften sind möglicherweise der Grund für seine ungewöhnliche Cytotoxizität gegenüber Tumoren, die gegen Cisplatin resistent sind.^[118] Die entsprechenden *trans*-Pt^{II}-Komplexe (ohne die axialen Hydroxyliganden) sind dagegen inaktiv. Direkte Reaktionen der Pt^{IV}-Kom-

plexe mit DNA könnten eine wichtige Rolle spielen, doch auch durch In-vivo-Reduktion könnten reaktive Zwischenprodukte entstehen.

trans-Iminoetherplatinkomplexe wie **33** sind viel wirksamere Cytostatica als die *cis*-Analoge (OMe und Pt stehen bezüglich der C=N-Bindung im *Z*-Isomer *cis* und im *E*-Isomer *trans*).^[119, 120] Der Wirkmechanismus dieser Verbindungen scheint sich von dem des Cisplatin zu unterscheiden und hängt möglicherweise mit den Eigenschaften der Iminoether-Liganden zusammen.^[121] Die *trans*-Komplexe reagieren langsamer mit DNA als Cisplatin, das Ausmaß der Bindung an DNA nach 24 h ist aber gleich. Der *trans*-*E,E*-Komplex inhibiert die DNA-Synthese und die Zellproliferation am wirksamsten, führt aber in der DNA zu keinen größeren Konformationsänderungen.^[122] Er bildet, selbst nach langen Inkubationszeiten (48 h bei 310 K), vorwiegend monofunktionelle Addukte mit Guaninbasen in doppelhelicaler DNA.^[123a] Die Reaktivität des zweiten Chlorid-Liganden ist im monofunktionellen Addukt merklich verringert. Von den HMG-Proteinen werden die monofunktionellen *trans*-*E,E*-Addukte nicht erkannt.^[123b]

3.5. Biotransformation

L-Methionin (L-MetH) spielt möglicherweise eine wichtige Rolle im Metabolismus der cytostatischen Platinpräparate. Nach der Injektion von Cisplatin in Ratten bilden sich im Plasma rasch Pt^{II}-L-Met-Komplexe.^[124] Der Komplex [Pt(Met-*S,N*)₂] wurde im Urin von Patienten nachgewiesen^[125] und liegt in Lösung überwiegend als *cis*-Isomer (*cis:trans* = 87:13) vor (Abbildung 12).^[126]

Humanserumalbumin (HSA) ist ein 66 kDa schweres, einkettiges Protein mit siebzehn Disulfidbrücken, einer freien Thiolgruppe an Cys34 und sechs Met-Resten: M87, M123, M298, M329, M446 und M548. Man nimmt an, daß im menschlichen Blutplasma der größte Teil des Platins über die Reaktion von Cisplatin mit HSA gebunden wird.^[127] Neuere Ergebnisse legen nahe, daß Cisplatin vorwiegend mit Methioninresten des Albumins reagiert und dabei ein Met-*S,N*-Makrochelat sowie Nebenprodukte mit Cys34 und einzähnig bindenden Met-*S*-Resten bildet.^[128]

Die Reaktion von Carboplatin **24** mit L-Met führt bei 310 K zu einem überraschend stabilen Zwischenprodukt mit geöffnetem Ring und einer Halbwertszeit von 28 h.^[129] Ähnliche

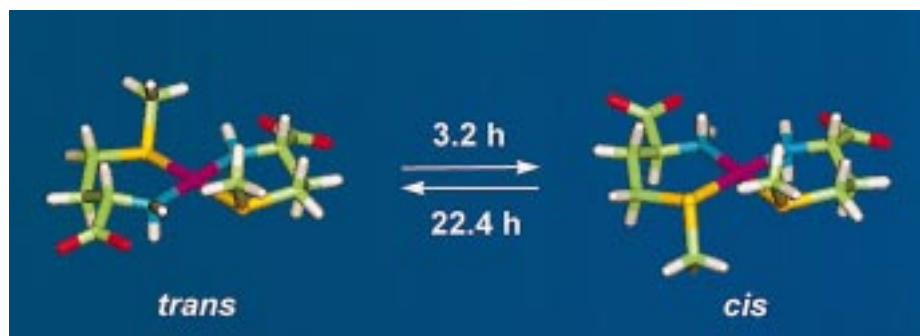


Abbildung 12. Isomerisierung von *R,R*-*trans*- und *S,R*-*cis*-[Pt(Met)₂], einem Cisplatin-Metaboliten (nach Lit. [126]).

Komplexe mit geöffnetem Ring scheinen nach einer Einnahme von Carboplatin im Urin vorzuliegen.^[130] Folglich ist die Reaktion von Carboplatin mit Met oder seinen Derivaten ein möglicher Weg zur Aktivierung dieses Arzneimittels. Die Bindung des Met-Schwefelatoms an Pt^{II} ist reversibel und kann durch eine Bindung über Guanin-N7 ersetzt werden.^[208]

Intrazelluläre Thiole wie Glutathion (das Tripeptid γ -Glu-Cys-Gly, GSH), das häufig in Konzentrationen von 3–10 mM vorliegt, könnte möglicherweise Platinpräparate inaktivieren. Das Hauptprodukt der Reaktion zwischen Cisplatin und GSH ist ein hochmolekulares Polymer mit einem Pt:GSH-Verhältnis von 1:2.^[131] Die Bildung solcher Polymere mag für die Entfernung von im Kreislauf befindlichem Platin verantwortlich sein. Der aktive Transport von Cisplatin aus den Zellen ist einer der Hauptmechanismen der Cisplatin-Resistenz. Eine GS-X-Pumpe, die ATP-abhängig GS-Konjugate aus der Zelle pumpt, vermag GS-Pt-Komplexe aus Tumorzellen herauszuschaffen.^[132] Die Reaktion zwischen dem an Cystein reiche Protein Metallothionein (MT) und Cisplatin führt zur Substitution der Amminliganden und zur Bildung von $\text{Pt}_{7-10}\text{MT}$, das PtS_4 -Cluster enthält.^[133] Dies ist ein weiterer Weg zur Inaktivierung von Platinpräparaten.

3.6. Photoaktivierung

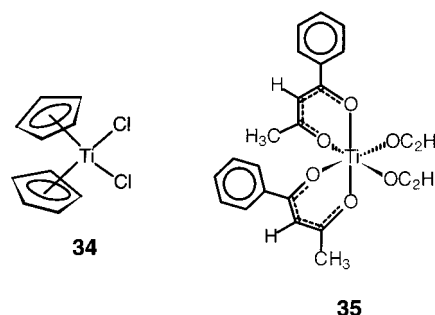
Von Pt^{II} - und Pt^{IV} -Komplexen weiß man schon lange, daß sie photoreaktiv sind. Für photodynamische Reaktionen gibt es in der Biochemie und Pharmakologie ein breites Anwendungsfeld.

Ein neuartiger Weg zur DNA-Platinierung ist der Einsatz von Iodoplatin(IV)-Komplexen, die von sichtbarem Licht aktiviert werden.^[134] Die Toxizität des Komplexes *trans,cis*- $[\text{Pt}(\text{en})(\text{OAc})_2\text{I}_2]$ gegen menschliche Blasenkrebszellen läßt sich um 35 % steigern, wenn man die zu behandelnden Zellen mit Licht der Wellenlänge $\lambda > 375$ nm bestrahlt. Wir konnten zeigen, daß im Gegensatz zum Dihydroxo-Analogon in diesem Komplex sichtbares Licht den Austausch der Liganden gegen Wassermoleküle induziert und danach Guanosinmonophosphat photoreduktiv platinert wird.^[135] Bei der thermischen Reaktion der Iodoplatin(IV)-Komplexe mit Glutathion greift dagegen zuerst die Thiolgruppe einen Iodid-Liganden an, wobei reaktive Zwischenprodukte mit geöffnetem Chelatring entstehen.^[136] Die Elektronentransfer-getriebene Labilisierung eines *trans*-Liganden ist ein neues Konzept in der Arzneimittelentwicklung.

Es wurden durch UV-Licht induzierte Brüche von Intra- und von Interstrang-Vernetzungen, an denen Pt-G-Bindungen beteiligt sind, beobachtet. Bestrahlt man eine mit Cisplatin modifizierte DNA mit UV-Licht ($\lambda > 300$ nm), lassen sich spezifische Vernetzungen zum Protein HMG1 induzieren, wobei man annimmt, daß Lys6 in der B-Domäne beteiligt ist und die Pt-Purin-Bindung labilisiert wird.^[137, 138]

3.7. Andere metallhaltige Präparate gegen Krebs

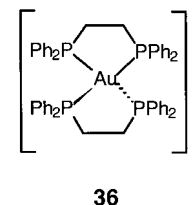
Die cytostatische Wirkung von Titanocendichlorid **34** wurde 1979 erkannt,^[139] und seither wurde die Aktivität einiger anderer Metallocene (V, Nb, Mo, Fe, Ge und Sn)



beschrieben.^[140] Der Komplex **34** ist gegen viele Humankarzinome wirksam, darunter Karzinome des Magen-Darm-Traktes und der Brust, jedoch nicht gegen Kopf- und Halskrebsarten. Er befindet sich inzwischen in der Phase II der klinischen Studien. Eine Kreuzresistenz zwischen **34** und Cisplatin scheint nicht zu bestehen.^[141]

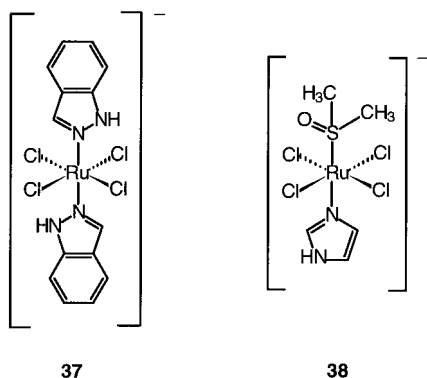
Der Bis(β -diketonato)- Ti^{IV} -Komplex **35** (Budotitan; das *cis,cis,cis*-Hauptisomer ist gezeigt) ging in Deutschland 1986 in die Phase I der klinischen Studien zur Behandlung von Dickdarmkrebs.^[142] Der Komplex ist sehr empfindlich gegen Hydrolyse. Um diese Reaktivität möglichst gering zu halten, wird ein Copräzipitat aus Cremophor EL, 1,2-Propylenglycol in Ethanol und dem Arzneimittel im Verhältnis 9:1:1 vor der Verabreichung in Wasser aufgelöst.^[142] Die die Dosis limitierende Toxizität scheinen Herzrhythmusstörungen zu sein.^[143] Ti^{IV} bindet sehr gut an humanes Serumtransferrin,^[144] so daß dieses Ti^{IV} in Krebszellen transportieren könnte.

Tetraedrische Bis(diphosphanyl)gold(I)-Komplexe wie **36** sind z. B. gegen Thiole weit weniger reaktiv als gegen Arthritis wirksame lineare Au^{I} -Komplexe. Der Komplex **36** (als Lactatsalz) ist bei einer ganze Reihe von Krebsmodellen wirksam. Der Wirkmechanismus ist völlig anders als bei Cisplatin: Die Angriffsstelle sind die Mitochondrien, in denen das Membranpotential zerstört wird. **36** erwies sich als zu toxisch für das Herz, um klinisch eingesetzt zu werden, doch die Einführung von Pyridylarylsubstituenten an P steigert die Hydrophilie dieser bichelatisierten Au^{I} -Komplexe und führt zu einer wirksamen und selektiven Aktivität gegen auf Cisplatin reagierende wie auch gegen Cisplatin-resistente Tumorzellen des Eierstocks.^[145] Der Nachweis einer geringeren Kardiotoxizität steht noch aus.



Galliumsalze sind bekannt für ihre Wirksamkeit gegen Krebs. Ga^{III} wird wahrscheinlich mit Hilfe des Serumproteins Transferrin in Tumorzellen transportiert. In letzter Zeit bestand Interesse an den Galliumsalzen vor allem wegen ihres synergistischen Effekts mit Cisplatin bei der Behandlung von Lungenkrebs^[146] und Karzinomen des Urothels.^[147] Für Ga^{III} -Maltolat begannen kürzlich die klinischen Studien zur Behandlung von Erkrankungen des Knochens und seines Umfeldes.^[148]

Ruthenium(III)-Komplexe sind gegen Metastasen wirksamer als gegen die Primärtumore, und auch für Ru^{III} nimmt man an, daß es mit Hilfe von Transferrin in Tumorzellen gelangt.^[149] Der Indazolkomplex **37**, der besonders gegen Tumore im Mastdarm wirksam ist,^[150] bindet reversibel an

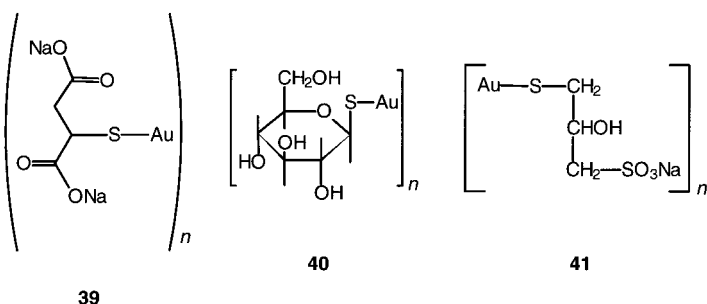


His253 von Apolactoferrin, einen der Fe^{III}-Liganden in der eisenbindenden Spalte des N-Lappens, wobei ein Chlorid-Ligand substituiert wird.^[151] Ebenfalls Chancen auf Eingang in die klinischen Studien als erfolversprechendes Mittel gegen Metastasen hat der Komplex **38** (als Imidazoliumsalz, NAMI-A).^[152] Ru^{III}-Komplexe werden in vivo möglicherweise über eine Reduktion zu Ru^{II} aktiviert.

Ru^{II}- und Ru^{III}-Komplexe binden bevorzugt an das N7-Atom von G-Resten, sie können aber auch an A- und C-Reste binden.^[153, 154] Obwohl die meisten Cytostatica auf der Basis von Ruthenium zwei reaktive Koordinationsstellen aufweisen, scheinen GG-Intrastrang-Vernetzungen sterisch ungünstig zu sein. Das einzige Gegenbeispiel scheint der Komplex aus *trans*-Dichlorotetrakis(dimethylsulfoxid)ruthenium(II) und GpG zu sein, dessen Struktur NMR-spektroskopisch charakterisiert wurde.^[155] In diesem Komplex nehmen die beiden an N7 Ru-koordinierten G-Reste eine Kopf-Kopf-Konformation ein und sind nicht mehr gestapelt.

4. Goldpräparate gegen Arthritis

Mehrere durch Injektion verabreichbare 1:1-Au^I-Thiolat-Komplexe, unter anderem Natriumaurothiomalat **39** (Myocrisin), Aurothioglucose **40** (Solganol) und Natriumaurothiopropanolsulfonat **41** (Allochrysin), werden klinisch zur Behandlung schwerer Fälle von rheumatischer Arthritis eingesetzt.^[209]



In den meisten Goldthiolaten ist das Verhältnis Gold:Ligand nahezu 1:1. Es sind polymere Komplexe (ketten- oder ringförmig), in denen nach EXAFS-^[156] und WAXS-Messungen^[157] linear angeordnete Au^I-Ionen durch Thiolat-S-Atome verbrückt sind. Einkristall-Röntgenstrukturanalysen von als Arzneimittel eingesetzten Goldthiolaten sind schwer zu

erhalten; einzige Ausnahme ist **39**, das kürzlich von Bau^[158] auf elegante Weise mit Kristallisationstechniken für Makromoleküle kristallisiert werden konnte. Die linearen S-Au-S-Einheiten bilden in diesem Komplex polymere, doppelhelicale Ketten (Abbildung 13). Hexamere Au₆S₆-Ringe von der Art, wie sie bereits früher vorhergesagt wurden,^[159] ließen sich in Kristallen mit 2,4,6-Trisopropylthiophenol als Thiolatligand nachweisen (Abbildung 14).^[160] In der Formulierung als Arzneimittel enthalten Goldthiolate oft einen kleinen molaren Überschuß (z. B. 10%) an Thiol, so daß leicht Thiolatadditions- und -austauschreaktionen ablaufen können.^[161]

Das einzige oral verfügbare Goldpräparat gegen Arthritis, das klinisch eingesetzt wird, ist der Phosphankomplex **42** (Abbildung 15, Auranofin, Ridaura). Dieser Komplex hat auch eine hohe Cytotoxizität gegen Tumorzellen in Zellkulturen und soll gegen Psoriasis lokal wirksam sein.^[162]

Ein üblicher Metabolit von Goldpräparaten, den man im Urin und im Plasma von Patienten findet, ist [Au(CN)₂]⁻,^[163] das leicht in Zellen einzudringen und die Freisetzung toxischer Sauerstoffradikale durch weiße Blutkörperchen zu inhibieren vermag. Es könnte deshalb ein aktiver Metabolit der Goldpräparate sein und zeigt auch Aktivität gegen Krebs und HIV. Der hohe Au-Gehalt in den roten Blutkörperchen von Rauchern nach einer Goldtherapie wurde der Inhalierung von HCN mit dem Rauch zugeschrieben.^[164]

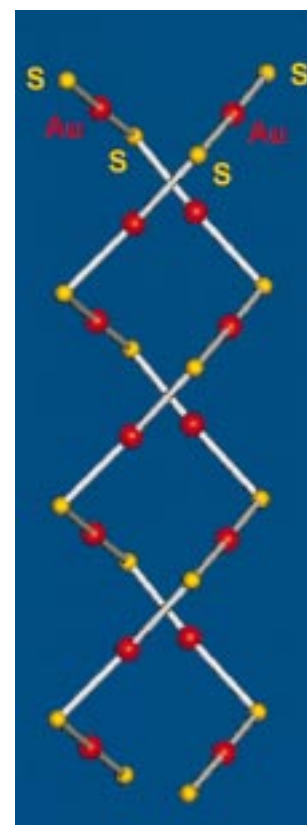


Abbildung 13. Ausschnitt aus der Kristallstruktur von **39** mit den doppelhelicalen Ketten. Die Thiolatliganden der hier gezeigten rechtsgängigen Helix sind *R*-konfiguriert. Au-S-Bindungslängen: 2.283, 2.286 Å; S-Au-S-Bindungswinkel: 178.88°, 169.41° (nach Lit. [158]).

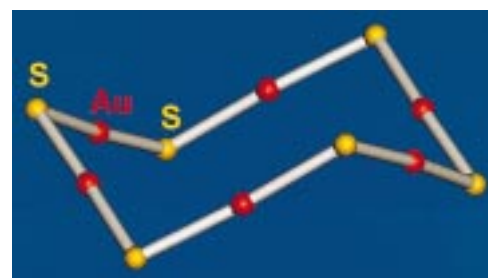


Abbildung 14. Ringstruktur des hexameren Gold(I)-2,4,6-Trisopropylthiophenolat-Komplexes. Die S-Substituenten sind der Übersicht halber weggelassen. Au-S-Bindungslängen: 2.28–2.29 Å; S-Au-S-Bindungswinkel: 175–177° (nach Lit. [160]).

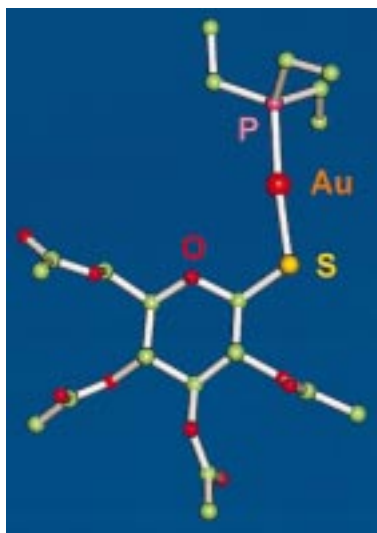


Abbildung 15. Struktur des oral verfügbaren antiarthritischen Arzneimittels Auranofin **42** im Kristall (nach Lit. [198]).

Unter Bedingungen, die der Konzentration in roten Blutkörperchen nahekommen, konnten Elder et al.^[165] zeigen, daß $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ mit GSH reagiert und das sehr stabile $[\text{Au}(\text{SG})_2]^-$ bildet. Dieses wird wahrscheinlich im Innern von Zellen sowohl aus Goldthiolatpräparaten als auch aus Auranofin **42** gebildet und ist möglicherweise verantwortlich für die Inhibierung von Enzymen wie dem Se-Enzym Glutathion-Peroxidase.^[166]

Verbindung **39** ist ein wirksamer Inhibitor der Kollagenase aus Neutrophilen, einem Zink-Enzym mit Cys-Liganden in der Metallbindungsstelle.^[167, 168] Solche Wechselwirkungen sind möglicherweise im Gewebe von Gelenken von Bedeutung.

Au^I zeigt eine sehr hohe Affinität zu Thiolat-S, bindet aber nur schwach an O- und N-Liganden. Folglich sind Proteine mit Cystein-Thiolatgruppen (besonders solche mit niedrigen $\text{p}K_a$ -Werten) Bindungspartner für Au^I , die Bindung von Au^I an DNA hingegen ist schwach. Darüber hinaus verlaufen die Thiolat-Austauschreaktionen gewöhnlich schnell. Während einer Therapie werden im Blut typischerweise Goldkonzentrationen von $20\ \mu\text{M}$ erreicht; dabei wird Au an Cys34 von Albumin gebunden und so transportiert. Die Geschwindigkeit für die Bindung an Gold wird dadurch bestimmt, wie schnell sich die Cys34 enthaltende Spalte öffnet,^[169, 170] wobei die Bindung an Au ein Herausdrehen dieses Restes zu bewirken scheint.^[171] Au^I -haltige Arzneimittel können sehr fest an Thiolgruppen von DNA-bindenden Proteinen wie den Transkriptionsfaktoren Jun-Jun und Jun-Fos binden, so daß Gold auf diese Weise die Aktivität von Transkriptionsfaktoren regulieren könnte.^[172]

Die In-vivo-Oxidation von Au^I zu Au^{III} ist möglicherweise für einige toxische Nebenwirkungen der Goldpräparate verantwortlich.^[173, 174] Bei Entzündungen können starke Oxidantien wie ClO^- und H_2O_2 im Organismus entstehen, die **39**, **40** und **42** zu Au^{III} -Verbindungen oxidieren könnten.^[175] Au^{III} hat die ungewöhnliche Fähigkeit, selbst bei niedrigen pH-Werten (z. B. pH 2) Amidgruppen in Peptiden zu deprotonieren,^[176] und modifiziert möglicherweise die Erkennung von Peptiden durch T-Zellen. Darüber hinaus kann Au^{III} in

Albumin und Insulin Disulfidbrücken^[177] und in der Ribonuclease Methioninseitenketten oxidieren.^[178]

5. Bismutpräparate gegen Ulcus

Bismutverbindungen nutzt man schon seit mehr als zwei Jahrhunderten zur Behandlung von Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes.^[179] Hierzu gehören als Bi^{III} -Verbindungen das Nitrat, Salicylate und das kolloidale, basische Bismutcitrat. Bi^V fungiert gewöhnlich als starkes Oxidationsmittel. Die Struktur der Bismutverbindung ist beim überwiegenden Teil der Bismutpräparate bisher unbekannt. Die Koordinationszahl von Bi^{III} ist ausgesprochen variabel (3–10) und die Koordinationsgeometrie oft unregelmäßig.^[180] Bi^{III} verhält sich in Wasser stark sauer (erster $\text{p}K_a$ -Wert ca. 1.5) und zeigt eine ausgeprägte Tendenz zur Bildung stabiler Hydroxo- und Oxo-verbrückter Cluster. Abbildung 16 zeigt die Gerüststruktur von $[\text{Bi}_6\text{O}_4(\text{OH})_4](\text{NO}_3)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, das seit dem 17. Jahrhundert als „magisterium bismuti“ bekannt ist und als Kosmetikum eingesetzt wird. Es kristallisiert bei pH-Werten unter 1.2.^[181]

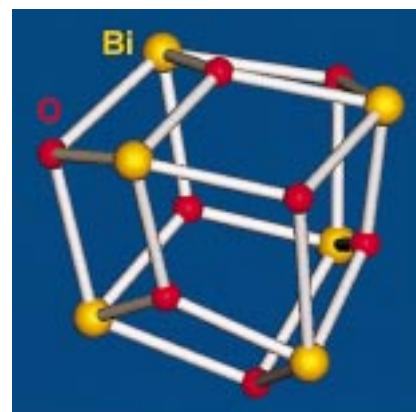


Abbildung 16. Gerüststruktur von $[\text{Bi}_6\text{O}_4(\text{OH})_4](\text{NO}_3)_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ im Kristall; die Hydroxo- und Oxo-verbrückten Bi^{III} -Zentren sind gezeigt (nach Lit. [181]).

Am meisten weiß man über die Strukturen von Citratbismutkomplexe, von denen einige röntgenographisch charakterisiert wurden.^[182] Keiner davon hat allerdings genau die gleiche Zusammensetzung wie die Arzneimittel. Vorherrschendes Strukturmerkmal ist die dimere Einheit $[(\text{cit})\text{BiBi}(\text{cit})]^{2-}$ ($\text{H}_3\text{cit} = \text{Zitronensäure}$) mit verbrückenden Citrat-Ionen. Die Bi-O(Alkoxid)-Bindung ist sehr kurz (2.2 Å) und stark, und eine stereochemische Bedeutung des freien $6s^2$ -Elektronenpaars ist offensichtlich. Die Dimere bilden im Kristall mit Hilfe eines Netzes aus H-Brücken unter Beteiligung von Citrat-Ionen, Gegenionen und Wasser Ketten und Schichten, wobei Polymere wie das in Abbildung 17 gezeigte entstehen. Solche Polymere lagern sich möglicherweise auf der Oberfläche von Ulcera ab. Bi^{III} -Citrat-Komplexe scheinen in Lösung über einen pH-Bereich von ca. 3.5 bis 7.5 stabil zu sein. $[\text{Bi}^{III}(\text{Hcit})]$ selbst läßt sich mit Hilfe einer Vielzahl von Aminen solubilisieren.^[183] Das Addukt mit dem organischen Histaminantagonisten Ranitidin – Ranitidin-Bismut-Citrat – wurde als neues Arzneimittel auf den Markt gebracht.^[184, 185]

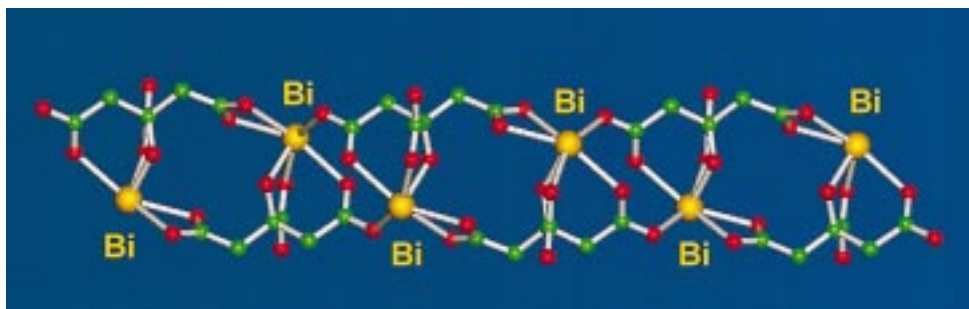


Abbildung 17. Ausschnitt aus der Kristallstruktur des polymeren Komplexes $\text{Na}_2[\text{Bi}_2(\text{cit})_2]$ (nach Lit. [182d]).

Die antimikrobielle Aktivität von Bi^{III} gegen das Bakterium *Heliobacter pylori* scheint für seine Wirksamkeit gegen Ulcus bedeutsam zu sein.^[186] Dieser Organismus spielt möglicherweise auch bei anderen Erkrankungen wie Krebs eine Rolle. Die biologischen Wirkungen von Bi^{III} beruhen wahrscheinlich hauptsächlich auf seiner Bindung an Proteine und Enzyme. Eine Bindung von Bi^{III} an DNA ist bis jetzt nicht bekannt. Es besteht eine deutliche Korrelation zwischen den Bindungsstärken von Bi^{III} und Fe^{III} gegenüber einer Anzahl von Liganden (Abbildung 18). Obwohl Bi^{III} (Ionenradius

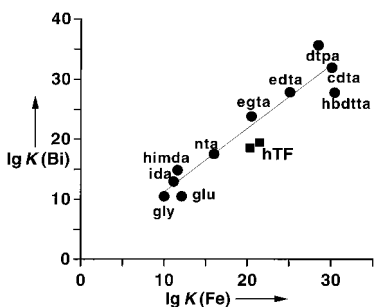


Abbildung 18. Lineare Freie-Energie-Beziehung für die Komplexbildung von Fe^{III} und Bi^{III} mit Sauerstoff- und Stickstoff-Donorliganden (nach Lit. [187a]). Ligandenabkürzungen: hbdtta = *N,N'*-Bis(2-Hydroxybenzyl)-diethylentriamin-*N,N',N''*-triacetat, cdta = *trans*-1,2-Diaminocyclohexan, dtpa = Diethylentriaminpentaacetat, gly = Glycin, glu = Glutamat, ida = Iminodiethanoat, himda = *N*-(2-Hydroxyethyl)iminoethanoat, nta = Nitrioltriacetat, hTF = Humantransferrin, egta = Ethylenbis(oxyethylennitriolo)tetraacetat, edta = Ethylendiamintetraacetat.

1.03 Å) größer ist als Fe^{III} (Ionenradius im High-spin-Zustand 0.64 Å), bindet es ebenfalls sehr fest an Transferrin, das Transportprotein für Fe^{III} im Serum.^[187] Diese Bindungsstärke korreliert gut mit der hohen Acidität von Bi^{III} (Abbildung 19).

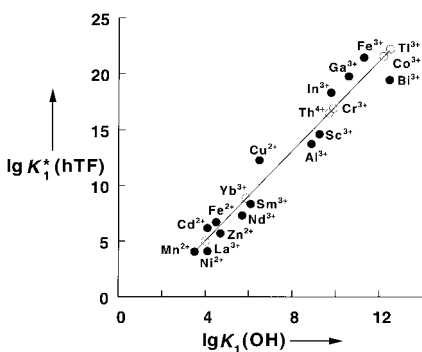


Abbildung 19. Korrelation der Stärke der Bindung eines Metallions an humanes Serumtransferrin hTF (Dicarbonat-unabhängige Bindungskonstante) mit der Acidität des Metallions. Offene Kreise entsprechen vorausgesagten Werten (nach Lit. [187b]).

Verwandte Proteine (periplasmatische eisenbindende Proteine) sind bei einigen virulenten Bakterien an der Aufnahme von Fe beteiligt. Bi^{III} kann in dem Cys-reichen Protein Metallothionein Zn^{II} ersetzen, wobei das sich dabei bildende Bismut-Metallothionein selbst unter stark sauren Bedingungen (pH 2) stabil ist.^[188]

Cystein und Glutathion spielen möglicherweise beim Transport von Bi^{III} in Zellen und Biofluiden eine Rolle. Diese Thiole können ein Ausfallen von CBS bei pH 2.0 verhindern. In Tierversuchen konnte man zeigen, daß bei einer gleichzeitigen oralen Gabe von Bismutsalzen und Thiolen die Bismutkonzentration im Blutplasma beträchtlich ansteigt.^[189, 190] Der Komplex $[\text{Bi}(\text{SG})_3]$, in dem das Metall ausschließlich über S gebunden ist, ist über einen weiten pH-Bereich (2–10) sehr stabil ($\lg K = 29.6$).^[191] Der Austausch zwischen freiem und gebundenem GSH geschieht bei biologischem pH relativ rasch (ca. 1500 s^{-1}).

6. Zusammenfassung und Ausblick

Es ist offensichtlich, daß die Anorganische Chemie in Zukunft eine wichtige Rolle in der Medizin spielen wird. Die Elemente, mit denen der Pharmakologe üblicherweise zu tun hat (hauptsächlich H, C, N, O, F, S, P), werden bald alle für Säuger lebenswichtigen 24 Elemente umfassen und darüber hinaus zahlreiche andere (stabile wie auch radioaktive) Elemente des Periodensystems. Besonders Metallionen spielen in physiologischen Prozessen eine entscheidende Rolle und eröffnen ein breites Spektrum an Möglichkeiten für ein innovatives Arzneimitteldesign.

Der Erfolg von Cisplatin, dem weltweit am meisten verkauften Präparat gegen Krebs, bei der Krebsbehandlung ist offenkundig. Den Wirkmechanismus der Platinpräparate versteht man weit besser als den von anderen weitverbreiteten metallhaltigen Arzneimitteln wie Goldpräparaten gegen Arthritis, Bismutpräparaten gegen Ulcus, Antimonpräparaten gegen Parasiten und Lithiumsalzen als Antidepressiva, die in Großbritannien von nahezu einem Tausendstel der Bevölkerung eingenommen werden. All diese Elemente sind für die Forscher eine große Herausforderung, aber ebenso Elemente wie Ti, V, Mn, Ru und Gd, die für den klinischen Bereich noch neu sind.

Will man metallhaltige Arzneimittel gezielter entwickeln, benötigt man eine genauere Kenntnis der Koordinationschemie dieser Metalle unter biologisch relevanten Bedingungen, und zwar nicht nur unter thermodynamischen (Gleichgewichtskonstanten und Strukturen der Produkte), sondern auch unter kinetischen Gesichtspunkten (Mechanismen, Reaktionswege, Dynamik des Ligandaustauschs), sowie ihrer Substitutions- und Redoxreaktionen. Biologische Systeme sind bei ihren Reaktionen oft weit vom thermodynamischen Gleichgewicht entfernt. Besonders wichtig ist ein Verständnis

der Wechselwirkungen von metallhaltigen Präparaten mit Zellmembranen, Proteinen, Enzymen und DNA. Unser wachsendes Verständnis der Rolle von Metallen bei der genetischen Regulierung sowie der Natur der Metallsensor- und Transportproteine sowie der Chaperone wird letztlich auch der Arzneimittelentwicklung einen Schub geben. Eisen ist z. B. ein Corepressor für das Gen des Diphtherietoxins in virulenten pathogenen Bakterien;^[192] und erbliche Störungen des Kupfertransports können mit Genen, die für Kupfertransport-ATPasen kodieren in Verbindung gebracht werden.^[210] Daneben gibt es noch ein weites Feld für den Einsatz von Metallen bei dem Transport und der Freisetzung biologisch aktiver Liganden (z. B. NO). Die kürzlich erfolgte Einführung von Titanocendichlorid in die klinische Anwendung belegt, daß auch Organometallkomplexe in der Medizin zum Einsatz kommen können, sofern sie in eine geeignete Formulierung gebracht werden können.

Als abschließendes Beispiel dafür, wie die medizinisch ausgerichtete Anorganische Chemie die Pharmakologie beeinflusst, soll auf die Neuropharmakologie eingegangen werden. Die Rolle von Na⁺, K⁺ und Ca²⁺ in der Neurochemie ist wohl bekannt. Offensichtlich können aber auch Fe- und Cu-Enzyme Biosynthesewege für Neurotransmitter kontrollieren, und daneben ist im Hippokampus während der Neurotransmission der Zn²⁺-Spiegel millimolar. Auch Mn kommt im Gehirn in Form von Enzymen wie der Glutamin-Synthase und der Superoxid-Dismutase reichlich vor. Es wird angenommen, daß die Steuerung der Neurochemie der Metalle entscheidend ist für die Verhinderung einer Neurodegeneration, aber auch für das Verständnis und eine vielleicht wirksame Behandlung von Erkrankungen wie Parkinson, seniler Demenz, Alzheimer und selbst der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD). Das Prion, das wahrscheinlich CJD verursacht, ist in vivo vermutlich ein kupferhaltiges Protein.^[211] Die medizinisch ausgerichtete Anorganische Chemie wird sich mit Sicherheit diesen Herausforderungen stellen.

Wir danken für die großzügige Förderung unserer eigenen Arbeiten dem Biotechnology and Biological Sciences Research Council, dem Engineering and Physical Sciences Research Council, dem Medical Research Council, der Europäischen Kommission (COST D8, insbesondere für den Beitrag zu den Kosten, die mit der Veröffentlichung dieser Übersicht verbunden waren), der Royal Society, der Association for International Cancer Research, GlaxoWellcome plc, Delta Biotechnology und unseren Mitarbeitern. Für einige der hier gezeigten Strukturen wurden Daten aus der Protein Data Bank (Brookhaven National Laboratory, USA) und der Cambridge Structural Database (Daresbury laboratory, Großbritannien) verwendet, denen wir ebenfalls danken. Bedanken möchten wir uns auch bei denen, die uns Vorabdrucke ihrer Arbeiten zukommen ließen, und für anregende Diskussionen mit den Mitgliedern der EC COST Action D8 „The Chemistry of Metals in Medicine“. Der Vortitel wurde dankenswerterweise von Rachel Ellaway (Medical Illustrations, University of Edinburgh) gestaltet.

Eingegangen am 2. September 1998 [A298]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1512–1531

Übersetzt von Dr. Hans Jörg Meier, Konstanz

- [1] a) P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.* **1991**, 36, 1–48; b) *Metallopharmaceuticals (Top. Biol. Inorg. Chem., Vol. 1 und 2)*, Springer, Heidelberg, **1999**.
- [2] a) P. J. Sadler in *Lectures in Bioinorganic Chemistry* (Hrsg.: M. Nicolini, L. Sindellari), Cortina, Verona, **1991**, S. 1–24; b) Z. Guo, P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.* **1999**, im Druck.
- [3] M. J. Abrams, B. A. Murrer, *Science* **1993**, 261, 725–730.
- [4] Siehe das Sonderheft zur Bioanorganischen Enzymologie: *Chem. Rev.* **1996**, 96.
- [5] T. W. Redpath, *Br. J. Radiol.* **1997**, 70, S70–S80; siehe auch: W. Kuhn, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 1–20; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 1–20.
- [6] S. Aime, M. Botta, G. Ermondi, *Magn. Reson. Imaging* **1992**, 10, 849–854.
- [7] J. A. Peters, J. Huskens, D. J. Raber, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.* **1996**, 28, 283–350.
- [8] S. W. A. Bligh, C. T. Harding, P. J. Sadler, R. A. Bulman, G. M. Bydder, J. M. Pennock, J. D. Kelly, I. A. Latham, J. A. Marriott, *Magn. Reson. Med.* **1991**, 17, 516–532.
- [9] F. Uggeri, S. Aime, P. L. Anelli, M. Botta, M. Brocchetta, C. De Haen, G. Ermondi, M. Grandi, P. Paoli, *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 633–642.
- [10] S. M. Rocklage, W. P. Cacheris, S. C. Quay, K. N. Raymond, *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 477–485.
- [11] B. Gallez, G. Bacic, H. M. Swartz, *Magn. Reson. Med.* **1996**, 35, 14–19.
- [12] C. F. G. C. Geraldes, A. D. Sherry, R. D. Brown, S. H. Koenig, *Magn. Reson. Med.* **1986**, 3, 242–250.
- [13] I. Berry, S. Benerbous, J. P. Ranjeva, D. Graciameavilla, C. Manelfe, D. Lebihan, *Magn. Reson. Med.* **1996**, 36, 415–419.
- [14] O. Yu, I. J. Namer, J. Steibel, B. Elancher, P. Poulet, J. Chambron, *Magn. Reson. Mater. Phys. Biol. Med.* **1993**, 3, 169–172.
- [15] M. Schaefer, *Met. Based Drugs* **1997**, 4, 159–171.
- [16] D. L. Rubin, K. L. Falk, M. J. Sperling, M. Ross, S. Saini, B. Rothman, F. Shellock, E. Zerhouni, D. Stark, E. K. Outwater, U. Schmiedl, L. C. Kirby, J. Chezmar, T. Coates, M. Chang, J. M. Silverman, N. Rofsky, K. Burnett, J. Engel, S. W. Young, *J. Magn. Reson. Imaging* **1997**, 7, 865–872.
- [17] P. F. Sharp, F. W. Smith, H. G. Gemmill, D. Lyall, N. T. S. Evans, D. Gvozdanovic, J. Davidson, D. A. Tyrrell, R. D. Pickett, R. D. Neirinckx, *J. Nucl. Med.* **1986**, 27, 171–177.
- [18] E. Deutsch, W. Bushong, K. A. Glavan, R. C. Elder, V. J. Sodd, K. L. Scholz, D. L. Fortman, S. J. Lukes, *Science* **1981**, 214, 85–86.
- [19] J. F. Kronauge, A. S. Leon, E. S. Verdera, H. S. Balter, E. T. Leon, F. Mut, M. C. Oliveira, F. A. Garcia, B. L. Holman, A. Davison, A. G. Jones, *J. Nucl. Med.* **1992**, 33, 1949–1957.
- [20] R. T. Maguire, V. L. Pascucci, A. N. Maroli, J. V. Gulfo, *Cancer* **1993**, 72, 3453–3462.
- [21] L. S. Zuckier, G. L. De Nardo, *Semin. Nucl. Med.* **1997**, 27, 10–29.
- [22] R. K. Hom, J. A. Katzenellenbogen, *Nucl. Med. Biol.* **1997**, 24, 485–498.
- [23] L. R. Karam, M. G. Mitch, B. M. Coursey, *Appl. Radiat. Isot.* **1997**, 48, 771–776.
- [24] D. W. Cagle, T. P. Thrash, M. Alford, L. P. F. Chibante, G. J. Ehrhardt, L. J. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 118, 8043–8047.
- [25] J. L. Clement, P. S. Jarrett, *Met. Based Drugs* **1994**, 1, 467–482.
- [26] S. P. Fricker, *Toxicol. in Vitro* **1994**, 8, 879–881.
- [27] T. N. C. Wells, P. Scully, G. Paravicini, A. E. I. Proudfoot, M. A. Payton, *Biochemistry* **1995**, 34, 7896–7903.
- [28] J. D. Berman, *Clin. Infect. Dis.* **1997**, 24, 684–703.
- [29] G. Cantos, C. L. Barbieri, M. Iacomini, P. A. J. Gorin, L. R. Travassos, *Biochem. J.* **1993**, 289, 155–160.
- [30] W. L. Roberts, J. D. Berman, P. M. Rainey, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, 39, 1234–1239.
- [31] Z. I. Cabantchik, H. Glickstein, J. Golenser, M. Loyevsky, A. Tsafack, *Acta Haematol.* **1996**, 95, 70–77.
- [32] J. O. Ojwang, R. W. Buckheit, Y. Pommier, A. Mazumder, K. Devreese, J. A. Este, D. Reymen, L. A. Pallansch, C. Lackmansmith, T. L. Wallace, E. De Clercq, M. S. McGrath, R. F. Rando, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, 39, 2426–2435.
- [33] J. S. Bishop, J. K. Guycaffey, J. O. Ojwang, S. R. Smith, M. E. Hogan, P. A. Cossam, R. F. Rando, N. Chaudhary, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 5698–5703.

- [34] E. De Clercq, N. Yamamoto, R. Pauwels, M. Baba, D. Schols, H. Nakashima, J. Balzarini, Z. Debyser, B. A. Murrer, D. Schwartz, D. Thornton, G. Bridger, S. Fricker, G. Henson, M. Abrams, D. Picker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 5286–5290.
- [35] K. Devreese, V. Kofler-Mongold, C. Leutgeb, V. Weber, K. Vermeire, S. Schacht, J. Anne, E. De Clercq, R. Datema, G. Werner, *J. Virol.* **1996**, *70*, 689–696.
- [36] G. A. Donzella, D. Schols, S. W. Lin, J. A. Este, K. A. Nagashima, P. J. Maddon, G. P. Allaway, T. P. Sakmar, G. Henson, E. De Clercq, J. P. Moore, *Nature Med.* **1998**, *4*, 72–77.
- [37] M. M. Hardy, A. G. Flickinger, D. P. Riley, R. H. Weiss, U. A. Ryan, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 18535–18540.
- [38] K. M. Faulkner, S. I. Liochev, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23471.
- [39] S. I. Liochev, I. Fridovich, *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *321*, 271–275.
- [40] C. Szabo, B. J. Day, A. L. Salzman, *FEBS Lett.* **1996**, *381*, 82–86.
- [41] P. R. Gardner, D.-D. H. Nguyen, C. W. White, *Arch. Biochem. Biophys.* **1996**, *325*, 20–28.
- [42] D. P. Riley, R. H. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 387–388.
- [43] D. P. Riley, P. J. Lennon, W. L. Neumann, R. H. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6522–6528.
- [44] S. C. Black, C. S. Schasteen, R. H. Weiss, D. P. Riley, E. M. Driscoll, B. R. Lucchesi, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *270*, 1208–1215.
- [45] S. Melov, J. A. Schneider, B. J. Day, D. Hinerfield, P. Coskun, S. S. Mirra, J. D. Crapo, D. C. Wallace, *Nature Genet.* **1998**, *18*, 159–163.
- [46] I. H. Tuzel, *J. Clin. Pharmacol.* **1974**, *14*, 494–503.
- [47] M. Hale, *Am. J. Nurs.* **1990**, *90*, 61–61.
- [48] C. Glidewell, I. L. Johnson, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, *132*, 145–147.
- [49] A. R. Butler, A. M. Calsey-Harrison, C. Glidewell, I. L. Johnson, J. Reglinski, W. E. Smith, *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *151*, 281–286.
- [50] N. A. Davies, M. T. Wilson, E. Slade, S. P. Fricker, B. A. Murrer, N. A. Powell, G. R. Henderson, *Chem. Commun.* **1997**, 47–48.
- [51] B. A. Fricker, E. Slade, N. A. Powell, O. J. Vaughan, G. R. Henderson, B. A. Murrer, I. L. Megson, S. K. Bisland, F. W. Flitney, *Br. J. Pharmacol.* **1997**, *122*, 1441–1449.
- [52] Y. Shechter, S. J. D. Karlish, *Nature* **1980**, *286*, 556–558.
- [53] G. R. Dubyak, A. Kleinzeller, *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 5306–5312.
- [54] J. H. McNeill, V. G. Yuen, H. R. Hoveyda, C. Orvig, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1489–1491.
- [55] V. G. Yuen, C. Orvig, J. H. McNeill, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **1995**, *73*, 55–64.
- [56] P. Caravan, L. Gelmini, N. Glover, F. G. Herring, H. Li, J. H. McNeil, S. J. Rettig, I. A. Setyawati, E. Shuter, Y. Sun, A. S. Tracey, V. G. Yuen, C. Orvig, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12759–12770.
- [57] Y. Sun, B. R. James, S. J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1667–1673.
- [58] C. M. Davis, J. B. Vincent, *Biochemistry* **1997**, *36*, 4382–4385.
- [59] C. M. Davis, A. C. Royer, J. B. Vincent, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5316–5320.
- [60] R. P. Becket, A. H. Davidson, A. H. Drummond, P. Huxley, M. Whittaker, *Drug Discovery Today* **1996**, *1*, 16–26.
- [61] S. Wojtowiczpraga, J. Low, J. Marshall, E. Ness, R. Dickson, J. Barter, M. Sale, P. McCann, J. Moore, A. Cole, M. J. Hawkins, *Invest. New Drugs* **1996**, *14*, 193–202.
- [62] F. Grams, M. Crimmin, L. Hinnes, P. Huxley, M. Pieper, H. Tschesche, W. Bode, *Biochemistry* **1995**, *34*, 14012–14020.
- [63] J. Stubbe, J. W. Kozarich, W. Wu, D. E. Vanderwall, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 322–330.
- [64] J. W. Sam, S. Takahashi, I. Lippai, J. Peisach, D. L. Rousseau, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 16090–16097.
- [65] S. M. Hecht, *Bioconjugate Chem.* **1994**, *5*, 513–526.
- [66] S. Takahashi, J. W. Sam, J. Peisach, D. L. Rousseau, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4408–4413.
- [67] K. E. Loeb, J. M. Zaleski, T. E. Westre, R. J. Guajardo, P. K. Mascharak, B. Hedman, K. O. Hodgson, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4545–4561.
- [68] A. R. Morgan, G. M. Garbo, R. W. Keck, L. D. Ericksen, S. H. Selman, *Photochem. Photobiol.* **1990**, *51*, 589–592.
- [69] L. Polo, E. Reddi, G. M. Garbo, A. R. Moregan, G. Jori, *Cancer Lett.* **1992**, *66*, 217–223.
- [70] B. G. Maiya, A. Harriman, J. L. Sessler, G. Hemmi, T. Murai, T. E. Mallouk, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 8111–8115.
- [71] J. L. Sessler, G. Hemmi, T. D. Mody, T. Murai, A. Burrell, S. W. Young, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 43–50.
- [72] S. W. Young, K. W. Woodburn, M. Wright, T. D. Mody, Q. Fan, J. L. Sessler, W. C. Dow, R. A. Miller, *Photochem. Photobiol.* **1996**, *63*, 892–897.
- [73] N. Uchida, H. Kasai, Y. Takeda, R. Maekawa, K. Sugita, T. Yoshioka, *Anticancer Res.* **1998**, *18*, 247–252.
- [74] J. L. Misset, *Br. J. Cancer* **1998**, *77*, S4, 4–7.
- [75] F. I. Raynaud, F. E. Boxall, P. M. Goddard, M. Valenti, M. Jones, B. A. Murrer, M. Abrams, L. R. Kelland, *Clin. Cancer Res.* **1997**, *3*, 2063–2074.
- [76] Y. Chen, Z. Guo, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 672–676.
- [77] L. R. Kelland, G. Abel, M. J. McKeage, M. Jones, P. M. Goddard, M. Valenti, B. A. Murrer, K. R. Harrap, *Cancer Res.* **1993**, *53*, 2581–2586.
- [78] F. I. Raynaud, P. Mistry, A. Donaghue, G. K. Poon, L. R. Kelland, B. A. Murrer, K. R. Harrap, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1996**, *38*, 155–162.
- [79] F. I. Raynaud, F. E. Boxall, P. Goddard, C. F. Barnard, B. A. Murrer, L. R. Kelland, *Anticancer Res.* **1996**, *16*, 1857–1862.
- [80] K. Mross, F. Meyberg, H. H. Fiebig, K. Hamm, U. Hiebert, P. Aulenbacher, D. K. Hossfeld, *Onkologie* **1992**, *15*, 139–146.
- [81] J. A. Gietema, G. J. Veldhuis, H. J. Guchelaar, P. H. B. Willemse, D. R. A. Uges, A. Cats, H. Boonstra, W. T. A. van der Graaf, D. T. Sleijfer, E. G. E. Devries, N. H. Mulder, *Br. J. Cancer* **1995**, *71*, 1302–1307.
- [82] M. De Gardin, J. P. Armand, B. Chevallerier, P. Cappelaere, M. A. Lentz, M. David, H. Roche, *Invest. New Drugs* **1995**, *13*, 253–255.
- [83] H. H. Fiebig, H. Hens, L. Vonpawel, U. Gatzemeier, C. Manegold, L. Edler, W. Berdel, *Onkologie* **1996**, *19*, 328–332.
- [84] N. Farrell, Y. Qu, J. Kasparkova, V. Brabec, M. Valsecchi, E. Menta, R. D. Domenico, M. Conti, G. Da Re, A. Lotto, S. Spinelli, *Proceedings of the 88th Annual Meeting American Association for Cancer Reserach* (San Diego, CA) **1997**, Vol. 38, Nr. 2077, S. 310.
- [85] G. Pratesi, F. C. Giuliani, D. Polizzi, S. Righetti, C. Manzotti, G. Pezzoni, N. Farrell, F. Zunino, *Proceedings of the 88th Annual Meeting American Association for Cancer Reserach* (San Diego, CA) **1997**, Vol. 38, Nr. 2078, S. 310.
- [86] G. Pratesi, F. C. Giuliani, D. Polizzi, S. Righetti, C. Manzotti, G. Pezzoni, N. Farrell, F. Zunino, *Proceedings of the 88th Annual Meeting American Association for Cancer Reserach* (San Diego, CA) **1997**, Vol. 38, Nr. 2079, S. 310.
- [87] A. R. Khokhar, S. Albaker, T. Brown, R. Perez-Soler, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 325–329.
- [88] Siehe beispielsweise: a) J. Reedijk, *Chem. Commun.* **1996**, 801–806; b) D. Yang, A. H.-J. Wang, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1996**, *66*, 81–111; c) T. W. Hambley, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, *166*, 181–223; d) P. Augé, J. Kozelka, *Transition Met. Chem.* **1997**, *22*, 91–96.
- [89] D. Yang, S. S. G. E. van Boom, J. Reedijk, J. H. van Boom, A. H.-J. Wang, *Biochemistry* **1995**, *34*, 12912–12920.
- [90] P. M. Takahara, A. C. Rosenzweig, C. A. Frederick, S. J. Lippard, *Nature* **1995**, *377*, 649–652.
- [91] P. M. Takahara, C. A. Frederick, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12309–12321.
- [92] A. Gelasco, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1998**, *37*, 9230–9239.
- [93] M. A. Lemaire, A. Schwartz, A. R. Rahmoun, M. Leng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 1982–1985.
- [94] H. Huang, L. Zhu, B. R. Reid, G. P. Drobny, P. B. Hopkins, *Science* **1995**, *270*, 1842–1845.
- [95] F. Paquet, C. Perez, M. Leng, G. Lancelot, J.-M. Malinge, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1996**, *14*, 67–77.
- [96] S. J. Berners-Price, K. J. Barnham, U. Frey, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1283–1291.
- [97] F. Reeder, Z. Guo, P. del S. Murdoch, A. Corazza, T. W. Hambley, S. J. Berners-Price, J.-C. Chottard, P. J. Sadler, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *249*, 370–382.
- [98] F. Gonnet, F. Reeder, J. Kozelka, J. C. Chottard, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1653–1658.
- [99] F. Reeder, F. Gonnet, J. Kozelka, J. C. Chottard, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1068–1076.

- [100] V. Brabec, O. Vrana, O. Novakova, V. Kleinwachter, F. P. Intini, M. Coluccia, G. Natile, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 336–341.
- [101] K. M. Comess, C. E. Costello, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1990**, *29*, 2102–2110.
- [102] R. Dalbies, D. Payet, M. Leng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 8147–8151.
- [103] R. Dalbies, M. Boudvillain, M. Leng, *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 949–953.
- [104] C. Perez, M. Leng, J. M. Malinge, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 896–903.
- [105] U.-M. Ohndorf, M. A. Rould, Q. He, C. Pabo, S. J. Lippard, 8th Int. Conf. on platinum and other metal coordination compounds in cancer chemotherapy, Oxford, 28.–31. März 1999, Abstract 4. 09.
- [106] M. M. McA'Nulty, S. J. Lippard, *Nucleic Acids Mol. Biol.* **1995**, *9*, 264–284.
- [107] J. P. Whitehead, S. J. Lippard, *Met. Ions Biol. Syst.* **1996**, *32*, 687–726.
- [108] H. M. Weir, P. J. Kraulis, C. S. Hill, A. R. C. Raine, E. D. Laue, J. O. Thomas, *EMBO J.* **1993**, *12*, 1311–1319.
- [109] C. M. Read, P. D. Cary, C. Crane-Robinson, P. C. Driscoll, D. G. Norman, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 3427–3436.
- [110] S. U. Dunham, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1997**, *36*, 11428–11436.
- [111] C. S. Chow, J. P. Whitehead, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1994**, *33*, 15124–15130.
- [112] S. J. Berners-Price, A. Corazza, Z. Guo, K. J. Barnham, P. J. Sadler, Y. Ohyama, M. Leng, D. Locker, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 782–791.
- [113] J. Yaneva, S. H. Leuba, K. van Holde, J. Zlatanova, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 13448–13451.
- [114] P. Vichi, F. Coin, J.-P. Renaud, W. Vermeulen, J. H. J. Hoeijmakers, D. Moras, J.-M. Egly, *EMBO J.* **1997**, *16*, 7444–7456.
- [115] M. van Beusichem, N. Farrell, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 634–639.
- [116] L. R. Kelland, C. F. J. Barnard, I. G. Evans, B. A. Murrer, B. R. C. Theobald, S. B. Wyer, P. M. Goddard, M. Jones, M. Valenti, A. Bryant, P. M. Rogers, K. R. Harrap, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3016–3024.
- [117] K. J. Mellish, C. F. J. Barnard, B. A. Murrer, L. R. Kelland, *Int. J. Cancer* **1995**, *62*, 717–723.
- [118] P. M. Goddard, R. M. Orr, M. R. Valenti, C. F. J. Barnard, B. A. Murrer, L. R. Kelland, K. R. Harrap, *Anticancer Res.* **1996**, *16*, 33–38.
- [119] M. Coluccia, A. Nassi, F. Loseto, A. Boccarelli, M. A. Mariggio, D. Gordano, F. P. Intini, P. Caputo, G. Natile, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 510–512.
- [120] R. Cini, P. A. Caputo, F. P. Intini, G. Natile, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 1130–1137.
- [121] M. Coluccia, A. Boccarelli, M. A. Mariggio, N. Cardellicchio, P. Caputo, F. P. Intini, G. Natile, *Chem. Biol. Int.* **1995**, *98*, 251–266.
- [122] M. Coluccia, M. A. Mariggio, A. Boccarelli, F. Loseto, N. Cardellicchio, P. Caputo, F. P. Intini, C. Pacifico, G. Natile, *Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2* (Hrsg.: H. M. Pinedo, J. H. Schornagel), Plenum, New York, **1993**, S. 27–36.
- [123] a) V. Brabec, O. Vrana, O. Novakova, V. Kleinwachter, F. P. Intini, M. Coluccia, G. Natile, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 336–341; b) V. Brabec, persönliche Mitteilung; c) R. Zaludova, A. Zakovska, J. Kasparkova, Z. Balcarova, O. Vrana, M. Coluccia, G. Natile, V. Brabec, *Mol. Pharm.* **1997**, *52*, 354–361.
- [124] W. W. Alden, A. J. Repta, *Chem. Biol. Interact.* **1984**, *48*, 121–126.
- [125] C. M. Riley, L. A. Sternson, A. J. Repta, S. A. Slyter, *Anal. Biochem.* **1983**, *130*, 203–214.
- [126] P. del S. Murdoch, J. D. Ranford, P. J. Sadler, S. J. Berners-Price, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 2249–2255.
- [127] N. Nagai, R. Okuda, M. Kinochita, H. Ogata, *J. Pharm. Pharmacol.* **1996**, *48*, 918–924.
- [128] A. I. Ivanov, J. Christodoulou, J. A. Parkinson, K. J. Barnham, A. Tucker, J. Woodrow, P. J. Sadler, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 14721–14730.
- [129] K. J. Barnham, M. I. Djuran, P. del S. Murdoch, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1065–1072.
- [130] K. J. Barnham, U. Frey, P. del S. Murdoch, J. D. Ranford, P. J. Sadler, D. R. Newell, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11175–11176.
- [131] S. J. Berners-Price, P. W. Kuchel, *J. Inorg. Biochem.* **1990**, *38*, 327–335.
- [132] T. Ishikawa, C. D. Wright, H. Ishizuka, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 29085–29093.
- [133] D. C. Lemkuil, D. Nettesheim, C. F. Shaw III, D. H. Petering, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 24792–24797.
- [134] N. A. Kratochwil, M. Zabel, K. J. Range, P. J. Bednarski, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2499–2507.
- [135] N. A. Kratochwil, J. A. Parkinson, P. J. Bednarski, P. J. Sadler, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1566–1569; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1460–1463.
- [136] N. A. Kratochwil, Z. Guo, P. del S. Murdoch, J. A. Parkinson, P. J. Bednarski, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8253–8254.
- [137] D. Payet, M. Leng, *Met. Based Drugs* **1995**, *2*, 137–141.
- [138] S. A. Kane, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1996**, *35*, 2180–2188.
- [139] H. Köpf, P. Köpf-Maier, *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 509–512; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, *18*, 477–478.
- [140] P. Köpf-Maier, H. Köpf, *Metal Compounds in Cancer Therapy* (Hrsg.: S. P. Fricker), Chapman & Hall, London, **1994**, S. 109–146.
- [141] C. V. Christodoulou, A. Eliopoulos, A. Young, L. Hodgkins, D. R. Ferry, D. J. Kerr, *Br. J. Cancer* **1998**, *77*, 2088–2097.
- [142] B. K. Keppler, D. Schmähl, *Arzneim. Forsch.* **1986**, *36*, 1822–1828.
- [143] T. Schilling, K. B. Keppler, M. E. Heim, G. Niebch, H. Dietzfelbinger, J. Rastetter, A. R. Hanauske, *Invest. New Drugs* **1995**, *13*, 327–332.
- [144] H. Sun, H. Li, R. A. Weir, P. J. Sadler, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1615–1618; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1577–1579.
- [145] a) S. J. Berners-Price, R. J. Bowen, M. J. McKeage, P. Galettis, L. Ding, C. Baguley, W. Brouwer, *J. Inorg. Biochem.* **1997**, *67*, 154 (Abstract); b) S. J. Berners-Price, R. J. Bowen, P. Galettis, P. C. Healy, M. J. McKeage, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, im Druck.
- [146] P. Coltery, M. Morel, B. Desoize, H. Millart, D. Perdu, A. Prevost, H. Vallerand, C. Pechery, H. Choisy, J. C. Etienne, J. M. D. Demon-treynaud, *Anticancer Res.* **1991**, *11*, 1529–1532.
- [147] R. Dreicer, K. J. Propert, B. J. Roth, L. H. Einhorn, P. J. Loehrer, *Cancer* **1997**, *79*, 110–114.
- [148] L. R. Bernstein (GeoMed), US-A 5747482, **1998**.
- [149] F. Kratz, M. Hartmann, B. K. Keppler, L. Messori, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2581–2588.
- [150] F. Kratz, B. K. Keppler, M. Hartmann, L. Messori, M. R. Berger, *Met. Based Drugs* **1996**, *3*, 15–23.
- [151] C. A. Smith, A. J. Sunderland-Smith, B. K. Keppler, F. Kratz, E. N. Baker, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1996**, *1*, 424–431.
- [152] E. Alessio, G. Balducci, A. Lutman, G. Mestroni, M. Calligaris, W. M. Attia, *Inorg. Chim. Acta* **1993**, *203*, 205–217.
- [153] T. M. van Vliet, J. G. Haasnoot, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 1934–1939.
- [154] M. J. Clarke, M. Stubbs, *Met. Ions Biol. Syst.* **1996**, *32*, 727–780.
- [155] G. Esposito, S. Cauci, F. Fogolari, E. Alessio, M. Scocchi, F. Guadrifoglio, P. Viglino, *Biochemistry* **1992**, *31*, 7094–7103.
- [156] M. A. Mazid, M. T. Razi, P. J. Sadler, G. N. Greaves, S. J. Gurman, M. H. J. Koch, J. C. Phillips, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 1261–1262.
- [157] R. C. Elder, K. Ludwig, J. N. Cooper, M. K. Eidsness, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5024–5025.
- [158] R. Bau, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9380–9381.
- [159] A. A. Isab, P. J. Sadler, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1981**, 1657–1663.
- [160] I. Schröter, M. Strähle, *Chem. Ber.* **1991**, *124*, 2161–2164.
- [161] A. A. Isab, P. J. Sadler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 1051–1052.
- [162] K. F. Helm, J. G. Marks, J. J. Leyden, C. Guzzo, G. G. Krueger, T. W. Griffiths, C. E. M. Griffiths, *J. Am. Acad. Dermatol.* **1995**, *33*, 517–519.
- [163] R. Rudkowski, G. Graham, G. D. Champion, J. B. Ziegler, *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *39*, 1687–1695.
- [164] G. G. Graham, T. M. Haavisto, P. J. McNaught, *J. Rheumatol.* **1982**, *9*, 527–531.
- [165] R. C. Elder, W. B. Jones, Z. Zhao, J. G. Dorsey, K. Tepperman, *Met. Based Drugs* **1994**, *1*, 363–374.
- [166] J. R. Roberts, C. F. Shaw III, *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *55*, 1291–1299.
- [167] S. K. Mallya, H. E. van Wart, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 1594–1601.
- [168] R. M. Snyder, C. K. Mirabelli, S. T. Croke, *Semin. Arthritis Rheum.* **1987**, *17*, 71–80.

- [169] J. Christodoulou, P. J. Sadler, A. Tucker, *Eur. J. Biochem.* **1994**, *225*, 363–368.
- [170] C. F. Shaw III, A. A. Isab, J. D. Hoeschele, M. Starich, J. Locke, P. Schulteis, J. Xiao, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2254–2260.
- [171] J. Christodoulou, P. J. Sadler, A. Tucker, *FEBS Lett.* **1995**, *376*, 1–5.
- [172] M. L. Handel, C. K. W. Watts, A. DeFazio, R. O. Day, R. L. Sutherland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 4497–4501.
- [173] D. Schuhmann, M. Kubickamuranyi, J. Mirtschewa, J. Gunther, P. Kind, E. Gleichmann, *J. Immunol.* **1990**, *145*, 2132–2139.
- [174] S. L. Best, P. J. Sadler, *Gold Bull.* **1996**, *29*, 87–93.
- [175] C. F. Shaw III, S. Schraa, E. Gleichmann, Y. P. Grover, L. Dune-mann, A. Jagarlamudi, *Met. Based Drugs* **1994**, *1*, 351–362.
- [176] S. L. Best, T. K. Chattopadhyay, M. I. Djuran, R. A. Palmer, P. J. Sadler, I. Sovago, K. Varnagy, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1997**, 2587–2596.
- [177] P. L. Witkiewicz, C. F. Shaw III, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 1111–1112.
- [178] A. A. Isab, P. J. Sadler, *Biochim. Biophys. Acta* **1977**, *492*, 322–330.
- [179] G. F. Baxter, *Chem. Br.* **1992**, *28*, 445–448.
- [180] a) H. Sun, H. Li, P. J. Sadler, *Chem. Ber.* **1997**, *130*, 669–681; b) P. J. Sadler, H. Li, H. Sun, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, im Druck.
- [181] F. Lazarini, *Cryst. Struct. Commun.* **1979**, *8*, 69–74.
- [182] a) W. A. Herrmann, E. Herdtweck, L. Pajdla, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 2579–2581; b) E. Asato, W. L. Driessen, R. A. G. de Graaf, F. B. Hulsbergen, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4210–4218; c) E. Asato, K. Katsura, M. Mikuriya, T. Fujii, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 5322–5329; d) P. J. Barrie, M. I. Djuran, M. A. Mazid, M. McPartlin, P. J. Sadler, I. J. Scowen, H. Sun, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 2417–2422.
- [183] P. J. Sadler, H. Sun, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1995**, 1395–1401.
- [184] J. W. Clitherow (Glaxo), GB-B 2220937A, **1990**.
- [185] L. F. Lacey, N. M. Frazer, O. N. Keene, J. T. L. Smith, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1994**, *47*, 177–180.
- [186] S. P. Lee, *Res. Commun. Chem. Pathol.* **1981**, *34*, 359.
- [187] a) H. Li, P. J. Sadler, H. Sun, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 9483–9489; b) H. Li, P. J. Sadler, H. Sun, *Eur. J. Biochem.* **1996**, *242*, 387–393.
- [188] H. Sun, H. Li, P. J. Sadler, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [189] D. R. Williams, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1977**, *39*, 711–714.
- [190] D. Chaleil, F. Lefevre, P. Allain, G. J. Martin, *J. Inorg. Biochem.* **1981**, *15*, 213–221.
- [191] P. J. Sadler, H. Sun, H. Li, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 701–708.
- [192] A. White, X. Ding, J. C. van der Spek, J. R. Murphy, D. Ringe, *Nature* **1998**, *394*, 502–506.
- [193] P. H. Smith, J. R. Brainard, D. E. Morris, G. D. Jarvinen, R. R. Ryan, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7437–7443.
- [194] W. P. Cacheris, S. C. Quay, S. M. Rocklage, *Magn. Reson. Imaging* **1990**, *8*, 467–481.
- [195] G. Elizondo, C. J. Fretz, D. D. Stark, S. M. Rocklage, S. C. Quay, D. Worah, Y. M. Tsang, M. C. M. Chen, J. T. Ferrucci, *Radiology* **1991**, *178*, 73–78.
- [196] S. E. Miller, D. A. House, *Inorg. Chim. Acta* **1989**, *161*, 131–137.
- [197] C. A. Chang, L. C. Francesconi, M. F. Malley, K. Kumar, J. Z. Gougoutas, M. F. Tweedle, D. W. Lee, L. J. Wilson, *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3501–3508.
- [198] D. T. Hill, B. M. Sutton, *Cryst. Struct. Commun.* **1980**, *9*, 679–681.
- [199] D. L. Parker, J. S. Tsuruda, K. C. Goodrich, A. L. Alexander, H. R. Buswell, *Investigative Radiology*, **1998**, *33*, 560–572.
- [200] E. Toth, L. Burai, E. Brucher, A. E. Merbach, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1997**, 1587–1594.
- [201] *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine* (Hrsg.: M. Nicolini, G. Bandoli, U. Mazzi), SG-Editoriali, Padova, Italien, **1995**.
- [202] A. Gupta, K. Matsui, J. F. Lo, S. Silver, *Nature Med.* **1999**, *5*, 183–188.
- [203] R. Bonnett, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 19–33.
- [204] D. Dolphin, *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 1005–1013.
- [205] *Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy 2* (Hrsg.: H. M. Pinto, J. H. Schornagel), Plenum, New York, **1996**.
- [206] *Cisplatin – Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug* (Hrsg.: B. Lippert), WILEY-VCH, Weinheim, **1999**.
- [207] F. Coste, J.-M. Malinge, L. Serre, W. Shepard, M. Roth, M. Leng, C. Zelwer, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 1837–1846.
- [208] a) S. S. G. E. van Boom, J. Reedijk, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1397–1398; b) K. J. Barnham, M. I. Djuran, P. D. Murdoch, P. J. Sadler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 721–722.
- [209] C. F. Shaw III in *Gold – Progress in Chemistry, Biochemistry and Technology* (Hrsg.: H. Schmidbaur), Wiley, New York, **1999**, S. 259–308.
- [210] M. DiDonato, S. Narindrasorasak, J. R. Forbes, D. W. Cox, B. Sarkar, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 33279–33282.
- [211] D. R. Brown, K. Qin, J. W. Herms, A. Madlung, J. Manson, R. Strome, P. E. Fraser, T. Kruck, A. von Bohlen, W. Schulz-Schaeffer, A. Giese, D. Westaway, H. Kretzschmar, *Nature* **1997**, *390*, 684–687.