



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Uso de complejos metálicos como moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CORMs)

Alumna: Laura Rosa Aleixandre

Julio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN



Trabajo Fin de Grado

Uso de complejos metálicos como moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CORMs)

Alumna: Laura Rosa Aleixandre

Firma:

Julio, 2020

ÍNDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. El Monóxido de Carbono	5
<i>1.1.1. Propiedades</i>	<i>5</i>
<i>1.1.2. Estructura.....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.3. Enlaces con metales</i>	<i>6</i>
1.2. Toxicidad del Monóxido de Carbono	7
1.3. El Monóxido de Carbono como gasotransmisor	9
1.4. Moléculas liberadoras de CO (CORMs)	11
2. OBJETIVOS	14
3. METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA	15
4. RESULTADOS	18
4.1. Diseño de la molécula perfecta	18
4.2. Clasificación según la liberación del CO.....	19
<i>4.2.1. ET-CORMs.....</i>	<i>20</i>
<i>4.2.2. Foto-CORMs</i>	<i>20</i>
<i>4.2.3. Nanopartículas</i>	<i>23</i>
4.3. Clasificación según su composición.....	23
<i>4.3.1. Moléculas Orgánicas.....</i>	<i>24</i>
4.3.1.1. Borocarboxilatos	25
4.3.1.2. Silicarboxilatos.....	26
<i>4.3.2. Moléculas Inorgánicas</i>	<i>26</i>
4.3.2.1. Complejos de Rutenio.....	27
4.3.2.2. Complejos de Manganeso	29
4.3.2.3. Complejos de Hierro	30
4.3.2.4. Complejos de Tc y Re.....	31
4.3.2.5. Complejos de Mo	32
4.4. CORMats	34
5. CONCLUSIONES	41
6. BIBLIOGRAFÍA	42

RESUMEN

Es bien conocido, que el monóxido de carbono (CO) es un gas muy tóxico por inhalación, porque tiene una alta afinidad por la hemoglobina, mucho mayor que la del oxígeno. Sin embargo, en los últimos años se ha descubierto que es una molécula de señalización en sistemas biológicos con propiedades de gasotransmisor.

Esto ha supuesto un crecimiento en el número de publicaciones en las que se estudian los efectos del CO como agente terapéutico y en la búsqueda de moléculas que permitan la liberación local de CO de forma no tóxica (CORMs o CO-releasing molecules).

En el presente trabajo, se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en tres de las bases de datos más consultadas a nivel químico y terapéutico con el fin de conocer cómo se han desarrollado estas investigaciones en los últimos 18 años. Posteriormente, se ha realizado una selección de los artículos y revisiones bibliográficas más relevantes que nos han permitido conocer el desarrollo del estudio de los CORMs con fines terapéuticos y su futuro.

ABSTRACT

Carbon monoxide is a gas known for its high toxicity due to its affinity to hemoglobin, which is much higher than with oxygen. But recent research has discovered that CO is a cell-signalling molecule in biological systems with gas transmitting properties.

These have caused a rise in studies that research the effects of CO as a therapeutic agent, those which seek molecules that can release local non-toxic CO (CORM or CO-releasing molecules).

In this work, three of the most consulted chemical and therapeutical data base have been studied with the main goal of learning how these experiments were carried, in the last 18 years. At the end, a selection of the most relevant articles and bibliographies reviews has allowed us to know the development of CORMs, with potential therapeutic effects as well as the future in this field.

1. INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo el monóxido de carbono (CO) ha sido considerado como un gas tóxico, ahora es reconocido como una molécula de señalización importante para los sistemas biológicos.

Se genera de forma endógena por el metabolismo, catalizado por la hemo-oxigenasa (HO), del grupo hemo dando lugar a CO, hierro y biliverdina, y esta, a su vez, se reduce para dar bilirrubina. Muestra sus efectos biológicos coordinándose a centros metálicos de metales de transición de baja valencia de proteínas y enzimas, como en la hemoglobina ferrosa, que se comporta como depósito de CO. (Heinemann *et al.*, (2014))

La inhalación de cantidades controladas de CO exógeno se ha demostrado que produce efectos beneficiosos para la salud como efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antihipertensivos y vasodilatadores.

1.1. El Monóxido de Carbono

1.1.1. Propiedades

El monóxido de carbono es conocido también con otros nombres como óxido de carbono(II) o anhídrido carbonoso, siendo su fórmula química CO. Se considera un gas difícil de detectar por sus características insípidas, inodoras e incoloras. Se trata de un gas de una densidad parecida al aire, baja reactividad, con baja solubilidad en agua, siendo soluble en acetato de etilo, cloroformo, ácido acético glacial y otros solventes orgánicos. (Heinemann *et al.*, (2014))

1.1.2. Estructura

La molécula de dióxido de carbono consta de 10 electrones de valencia distribuidos en tres enlaces y un par solitario. Estos electrones se sitúan en una estructura de Lewis atípica, ya que la densidad electrónica se acumula en el átomo menos electronegativo, el carbono, y no en el átomo más electronegativo, el oxígeno, que es lo más común. Esta anomalía se debe a que el orbital HOMO se trata de un orbital antienlazante de simetría σ que se produce por la interacción de dos orbitales del carbono y uno del oxígeno. Este tiene mayor

contribución del carbono haciendo que sea más parecido el orbital molecular al orbital 2p del carbono que al 2p del oxígeno. Por otro lado, el diagrama presenta orbitales LUMO de simetría π de baja energía (Figura 1). [Hostachy *et al.*, (2017); Ismailova *et al.*, (2018); Schatzschneider, (2014)]

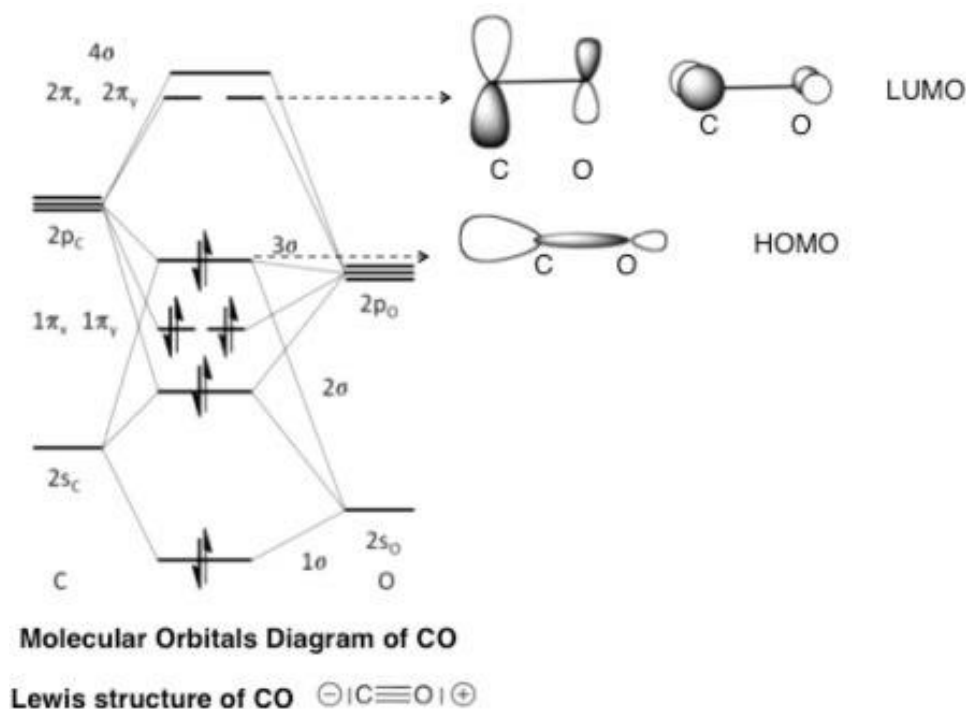


Figura 1. Diagrama de orbitales moleculares del Monóxido de Carbono. [Hostachy *et al.*, (2017); Schatzschneider, (2014)]

1.1.3. Enlaces con metales

La estructura del monóxido de carbono le confiere la posibilidad de unirse a través del carbono a un centro metálico de forma estable y reactiva, tanto por el orbital HOMO como del LUMO, creando así gran cantidad de complejos metálicos de carbonilo. El primer enlace que se forma es el orbital d del metal con el orbital HOMO σ del monóxido de carbono mediante una geometría lineal (Figura 2). Otra forma de unión entre el metal y el monóxido de carbono es a través del orbital LUMO π con un orbital d lleno del metal, que tenga simetría adecuada para la unión (Figura 2). Este tipo de enlaces aumenta la fuerza de unión del metal con el CO modificando así también el enlace C=O, este tipo se llama retroenlace, ya que, los electrones del orbital d del metal son retro-donados a un orbital vacío antienlazante del CO.

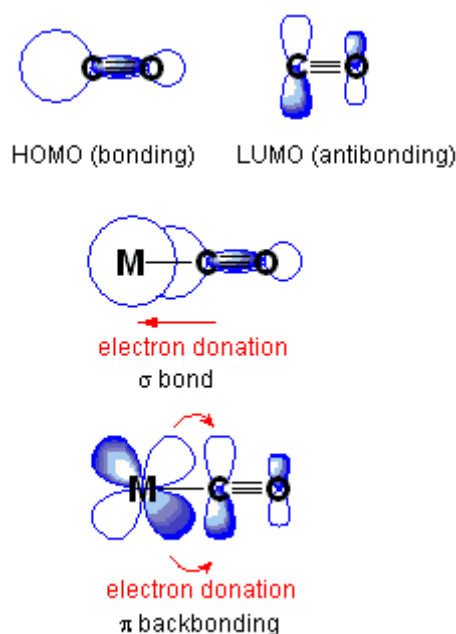


Figura 2. Enlace en los carbonilos metálicos.

El retroenlace es más fuerte conforme aumenta la densidad electrónica del orbital del metal, de esta forma al disminuir la densidad electrónica del orbital d del metal se debilita el enlace metal-CO. Una forma de modificar la densidad electrónica del complejo es por medio de un cambio en los ligandos unidos al metal, este es uno de los principales métodos utilizados para la liberación de dióxido de carbono en los CORMs.

Un aumento en la carga positiva del metal disminuye la energía de sus orbitales d, haciendo que sea más difícil la “retro-donación” y, por tanto, haciendo más débil y lábil el enlace M-CO, esto se puede controlar mediante el uso de ligandos auxiliares de la esfera de coordinación del complejo metálico. [Hostachy *et al.*, (2017); Schatzschneider, (2014)]

1.2. Toxicidad del Monóxido de Carbono

El monóxido de carbono es considerado un gas altamente tóxico para los animales y los humanos por inhalación, porque tiene una alta afinidad con la hemoglobina, 200 veces mayor que el oxígeno. En cantidades muy bajas, a unas concentraciones de 10 ppm a 100 ppm en aire, no produce síntomas, pero un

leve incremento empieza a producir efectos tóxicos visibles y en altas concentraciones provoca la muerte, es conocido como “el asesino silencioso” (Figura 3). La toxicidad de este es a causa del desplazamiento del oxígeno por el monóxido de carbono que se une a la hemoglobina produciéndose la carboxihemoglobina. [Heinemann *et al.*, (2014); Romão *et al.*, (2012)]

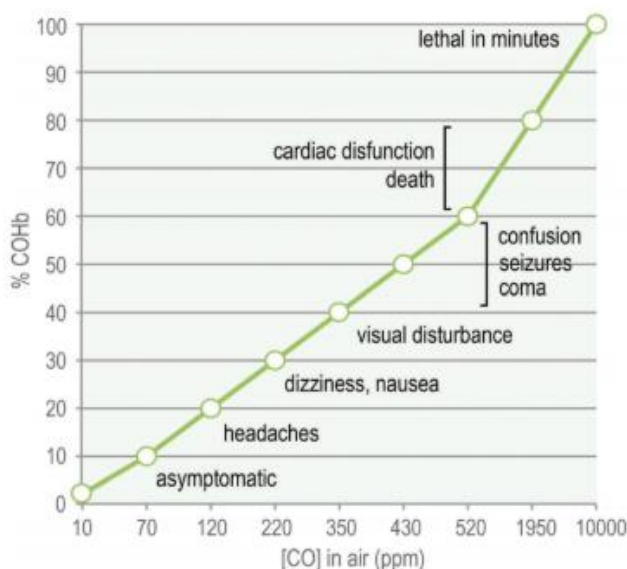


Figura 3. Síntomas en humanos por el aumento de la concentración de CO. (Romão *et al.*, (2012))

Varios estudios han demostrado que su toxicidad no solo depende de la concentración en suero, sino que también depende de si el CO es inhalado o está presente en la sangre, ya que por inhalación el CO contribuye a la intoxicación, además, de la falta de oxígeno, puesto que la Hb de los glóbulos rojos actúa de barrera protectora.

Los grupos hemo con hierro pentacoordinado y algunas metaloproteínas ferrosas son buenos sustratos que pueden reaccionar fácilmente con el CO, esto puede provocar reacciones, con ellas, provocando rutas metabólicas tóxicas para el organismo, o modificaciones en su centro metálico afectando a su actividad biológica.

Varios estudios han demostrado que el efecto del CO por inhalación produce daños en los tejidos del cerebro, sobre todo en la corteza cerebral, además de los ganglios basales y cerebelo. El suministro de altas concentraciones da lugar a una acumulación intersticial de glutamato, también influye en la fase redox mitocondrial y, por tanto, en la producción de energía y, como consecuencia,

teniendo efectos tóxicos en el cerebro. Otro mecanismo importante de toxicidad por CO es el estrés oxidativo, como resultado de la producción en exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) por las mitocondrias, en especial, en las fases de isquemia y reperfusión produciendo una lesión.

Sin embargo, a partir del siglo XX, el médico sueco Torgny Sjöstrand descubrió que el monóxido de carbono que se produce de forma endógena por medio de la hemooxigenasa en un metabolismo oxidativo tenía efectos beneficiosos o incluso terapéuticos. [Heinemann *et al.*, (2014); Ismailova *et al.*, (2018); Romão *et al.*, (2012)]

1.3.El monóxido de carbono como gasotransmisor

El óxido nítrico (NO), el monóxido de carbono (CO) y el sulfuro de hidrógeno (H₂S) son moléculas que pertenecen a un grupo de compuestos conocidos como gasotransmisores.

En los últimos años han aumentado mucho los estudios sobre la función biológica de los gasotransmisores, actualmente se ha demostrado que no son moléculas de señalización clásicas, sino que regulan muchas funciones celulares por medio de complejas reacciones químicas y por medio de proteínas diana. Cada gasotransmisor tiene una dependencia de O₂ diferente para su síntesis y su metabolismo y pueden formar enlaces con el grupo hemo de las proteínas diana. Estos se encargan del control de una amplia gama de funciones biológicas, entre ellas la cardiovascular, nerviosa, gastrointestinal, excretora e inmunológica, además de muchas funciones celulares como la apoptosis, proliferación, inflamación, metabolismo celular, detección de oxígeno y la transcripción de genes. [Csongradi *et al.* (2012); Kim *et al.*, (2018); Roberts *et al.*, (2004)]

El monóxido de carbono puede interactuar con un gran número de proteínas que contienen el grupo hemo, entre ellas la guanilil ciclasa soluble (sGC). (Marazioti *et al.*, (2011)) La señalización del CO puede ser contraria a los inhibidores de la producción de la hemo-oxigenasas (HO) en la generación de CO o sGC dirigiéndose a todas las células, ya que las proteínas que contienen el grupo hemo son muy numerosas en las células, lo que afecta a una gran cantidad de

procesos biológicos, incluida la regulación de los sistemas cardiovascular y nerviosos. (Donal, (2016))

Se detectaron concentraciones altas de CO en el cerebro, a causa de la degradación del grupo hemo y se descubrió que el monóxido de carbono relaja el músculo liso, músculo que se encuentra en las paredes de los órganos y de los vasos sanguíneos, y bloquea la agregación plaquetaria, por la activación débil de la guanilil ciclasa soluble (sGC).

Varios estudios relacionan la presencia de CO con la función de neuronas del sistema nervioso, pudiendo influir en la potenciación a largo plazo, fortaleciendo la sinapsis, involucrándose en el aprendizaje y la memoria. El CO endógeno atenúa la liberación de la vasopresina, un aumento de liberación de vasopresina provoca la retención de agua por los riñones ayudando a la dilatación de la sangre, hiponatremia. Asimismo, algunos estudios han relacionado el CO con la enfermedad de Parkinson. (Ismailova *et al.*, (2018))

La adición de CO hace que aumenten los niveles de supervivencia neuronal, aumenta la concentración de ATP intracelular a causa de la estimulación por el CO de este metabolismo. El ATP es una molécula de señalización en la comunicación astrocito-neuronal, produciéndose una protección de las neuronas de la apoptosis por los astrocitos. Asimismo, se ha demostrado que el CO promueve la diferenciación neuronal e incrementa el rendimiento neuronal. (Ismailova *et al.*, (2018))

También, tiene gran repercusión el papel del CO y el NO como reguladores de la actividad de la citocromo-oxidasa. La reacción entre el CO y la citocromo-oxidasa depende de la disponibilidad del sustrato y puede ser diferente para el monóxido de carbono producido endógeno y el producido exógeno. (Ismailova *et al.*, (2018))

Se comporta de forma similar al NO, en el caso del CO exógeno, inhibiendo a la citocromo-oxidasa aumentando las especies radiactivas de oxígeno (ROS: superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo) producidas por las mitocondrias pudiendo tener propiedades de señalizador.

El CO exógeno, en concentraciones no citotóxicas, se ha demostrado que también inhiben la actividad de la NADPH-oxidasa (Nox2) en las células del músculo liso de las vías respiratorias y en los neutrófilos que intervienen en la

defensa, produciéndose un cambio en el espectro de la oxidasa lo que sugiere que se une a la mitad hemo.

A pesar de esto, Desouki *et al.* (Boczkowski, (2006)) han demostrado que los ROS mitocondriales promueven la manifestación y la actividad de Nox1 en células tumorales de mama y ovario. Por tanto, la modificación de la actividad redox por parte del CO en la célula dependerán de la interacción y la sensibilidad entre los diferentes sistemas de producción de oxidantes.

La interacción de CO con canales de K⁺ regula las respuestas vasomotoras en las células del músculo liso vascular afectando también a la detección de oxígeno que puede ser resultado de interacción directa de dióxido de carbono con el grupo hemo de estas proteínas reduciéndolo. [Boczkowski, (2006); Kim *et al.*, (2018)]

El suministro de CO en condiciones controladas y en bajas concentraciones es esencial, pero tiene una dificultad para su administración puesto que tiene una baja solubilidad en agua, el principal fluido del cuerpo humano, por lo que para su uso como tratamiento se necesitarían altas ingestas por inhalación a altas concentraciones, no pudiéndose controlar con precisión el suministro en forma gaseosa y como se ha indicado anteriormente en altas dosis este es tóxico por inhalación.

El monóxido de carbono ha adquirido gran importancia en las últimas décadas como un medidor de señalización en células y en tejidos, y como regulador de procesos fisiológicos importantes. Hay ciertas proteínas funcionales y estructurales que contienen los hematies que reaccionan selectivamente con dicho gas, esto ocurre, por ejemplo, con proteínas que contienen hierro y hemo-proteínas, también puede ocurrir en otros sistemas que contengan otros metales de transición. [Heinemann *et al.*, (2014); Ismailova *et al.*, (2018); Kim *et al.*, (2018); Romão *et al.*, (2012)]

1.4. Moléculas liberadoras de CO (CORMs)

Una vez demostrados los cuantiosos efectos de interés fisiológico del monóxido de carbono, era necesario sintetizar nuevos compuestos que permitan la entrega selectiva y/o la liberación local de CO de un profármaco no tóxico. (Ling *et al.*, (2018))

Los carbonilos metálicos se utilizaron inicialmente como catalizadores industriales y en procesos de purificación. Motterlini *et al.* (Motterlini *et al.*, (2002)) introdujeron el término CORM (carbon monoxide releasing molecules), en un trabajo sobre complejos metálicos, estas moléculas pueden ser usadas como un profármaco para la liberación de monóxido de carbono.

Posteriormente, Mann (Mann, (2010)) y Romão [Romão *et al.*, (2012); Schatzschneider, (2014)], estudiaron varios compuestos orgánicos por su facilidad de unión con el CO, pero por su tasa de liberación y perfil toxicológico no eran favorables para seguir desarrollándolos.

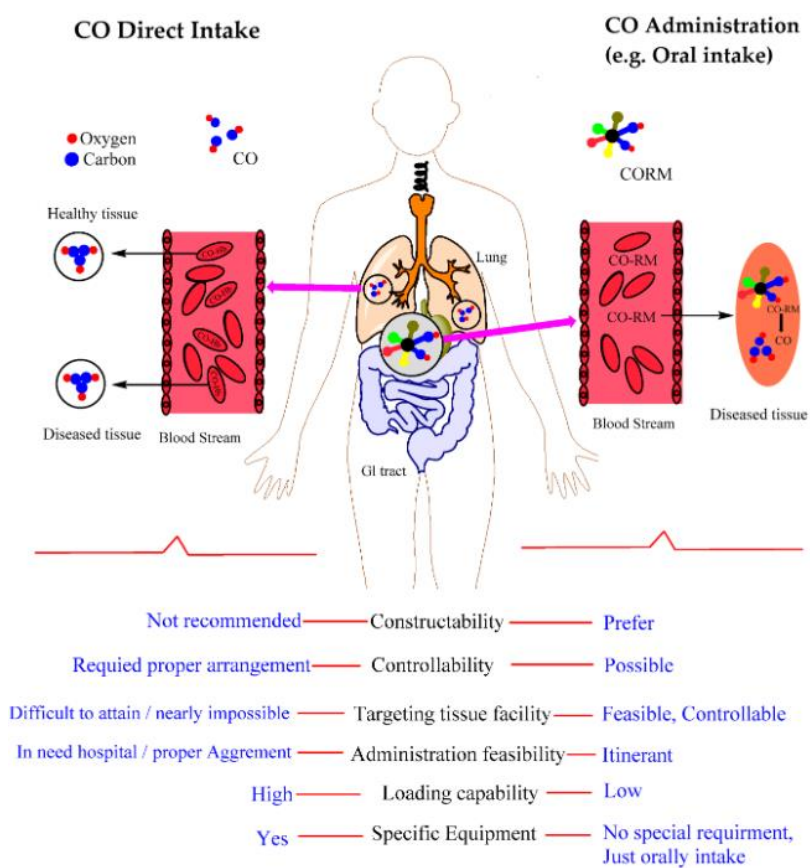


Figura 4. Esquema comparativo de la ingesta de CO por medio de inhalación y CORM. (Faizan *et al.*, (2019))

Los CORMs están compuestos por una esfera CORM y una esfera de coordinación farmacológica formada por coligandos que rodean el metal de transición central, que tienen propiedades farmacológicas o biológicas (Figura 5). La cantidad de moléculas de CO que se liberan, la cinética de esta liberación y el mecanismo necesario para dicha liberación de CO está controlada por la

esfera de coordinación; por otro lado, la esfera farmacológica controla hacia qué tejidos específicos se dirige y qué participación tienen los fluidos y tejidos corporales. [Romão *et al.*, (2012); Schatzschneider, (2014)]

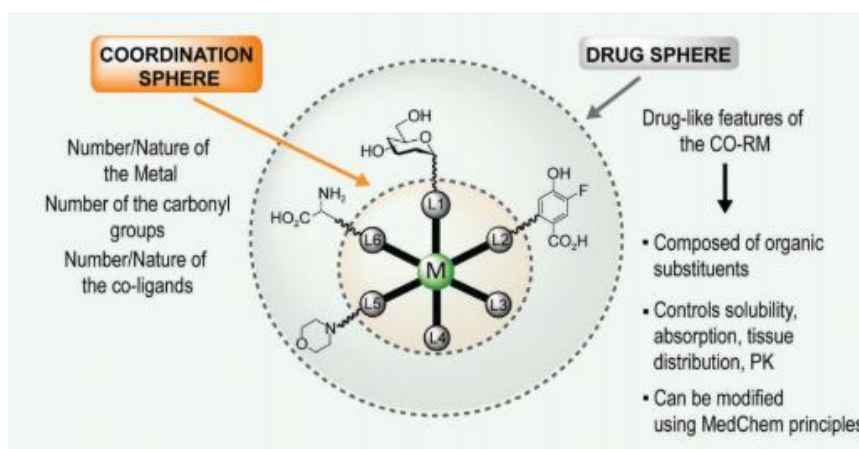


Figura 5. Representación esquemática de un CORM. (Romão *et al.*, (2012))

Los primeros CORMs que se sintetizaron y analizaron disponibles con fines comerciales fueron: CORM-1 ($\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$), CORM-2 ($[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$) (Motterlini *et al.*, (2002)), $\text{Fe}(\text{CO})_5$ CORM-3 ($[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}](\text{glicinato})$) (Boczkowski, (2006)) y CORM-L1 ($[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{tpm})]\text{PF}_6$) (Metzler-Nolte y Schatzschneider, (2009)).

A pesar de la escasa solubilidad en agua de los CORM-1 y CORM-2 se demostró su gran actividad farmacológica dando lugar a vaso-relajación en aortas aisladas e hipotensión mediada *in vivo*. [Kautz *et al.*, (2016); Motterlini *et al.*, (2002)]

En estudios posteriores, se han sintetizado y estudiado la actividad biológica de una segunda generación conjugada con cianocobalamina, que es un derivado de la vitamina B_{12} , también se obtuvieron CORMs más solubles en agua como el CORM-3 ($[\text{RuCl}(\text{glicinato})(\text{CO})_3]$), los resultados fueron mejores, un complejo metálico que libera CO más rápido en tampones fisiológicos o el CORM-A1 (boranocarbonato de sodio) (Fagone *et al.*, (2011)). Estos dos últimos son los más utilizados actualmente. (Boczkowski, (2006))

Los CORMs tienen unas limitaciones que, si se consiguen controlar, se pueden elaborar nuevos tratamientos seguros, por su gran variedad de propiedades demostradas tales como vasodilatadoras, antiinflamatorias, antiapoptóticas, antiisquémicas, actividades cardioprotectoras y la regulación de la respiración mitocondrial. Estas limitaciones que hay controlar son su disponibilidad, solubilidad y estabilidad de los reactivos en condiciones ambientales, la

viabilidad para liberar el CO *in situ* y su cinética de liberación activada en el tejido necesario, y por último la toxicidad de este y de sus productos de degradación. (Ling *et al.* (2018))

Los CORMs dentro de las células bacterianas se pueden almacenar antes de la liberación del monóxido de carbono, convirtiéndose en útiles liberadores de monóxido de carbono para bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estos proporcionan, en muchas bacterias, una mayor resistencia a agentes antimicrobianos. [Ismailova *et al.* (2018); Wareham *et al.*, (2015)]

En 2012 se demostró, en animales, que el CO liberado por CORMs se comporta e imita los efectos terapéuticos del CO gaseoso, pero que estos compuestos de primera generación no eran adecuados para el uso humano. Se estudiaron el comportamiento biológico y químico del CO en la liberación de CORM y se empezaron a hacer estudios para posteriores posibles tratamientos en aplicación a humanos con próximas generaciones de CORMs.

También se han hecho estudios sobre CORM para identificar zonas donde afecta el CO en la célula, estos demostraron que se veían afectadas proteínas como la NADPH-oxidasa y los citocromos mitocondriales. (Roberts *et al.*, (2004))

2. OBJETIVOS

En este trabajo, el objetivo principal es el de realizar una búsqueda bibliográfica sobre las moléculas liberadoras de monóxido de carbono, mayoritariamente, en aquellas que contienen metales y que puedan tener aplicaciones terapéuticas, con el fin de conocer los últimos avances conseguidos.

A través, de este objetivo se pretende conocer qué tipo de moléculas son las que están obteniendo mejores resultados y así poder diseñar nuevas moléculas que permitan obtener mejores resultados y minimizar los problemas encontrados hasta ahora.

3. METODOLOGÍA DE BÚQUEDA

Para la obtención de información sobre las moléculas liberadoras de monóxido de carbono se han utilizado tres bases de datos, SciFinder, Web of Science y PubMed. La búsqueda se ha centrado en artículos y revisiones bibliográficas publicados entre el año 2002 y 2020.

Se han buscado artículos sobre monóxido de carbono a nivel general en cada una de las bases poniendo como palabra clave en la búsqueda “carbon monoxide”, obteniéndose 19.406 resultados en la base de datos PubMed, 6.253 resultados en SciFinder y 51.001 en Web of Science.

Posteriormente, para centrar más la búsqueda se han utilizado como palabras clave: “carbon monoxide applications” y “carbon monoxide therapeutics”, los datos obtenidos en la base de datos PubMed fueron 514 y 2.498 resultados; aplicando la misma reseña en la base de datos SciFinder se obtuvieron 481 y 203 resultados; obteniéndose 4.372 y 232 resultados, respectivamente, en Web of Science.

Concretando más la búsqueda sobre el tema central se realizó una nueva búsqueda obteniéndose en la base de datos PubMed 288 resultados aplicando como única palabras clave “CORMs” y 22 resultados con “CORMs applications”. De la misma forma en las otras bases de datos SciFincer y Web of Science se obtuvieron 131 y 15 resultados, y 1.924 y 271 resultados, respectivamente.

En el Gráfico 1 se puede ver la variación de resultados según la base de datos aplicándose como único descriptor “CORMs”:

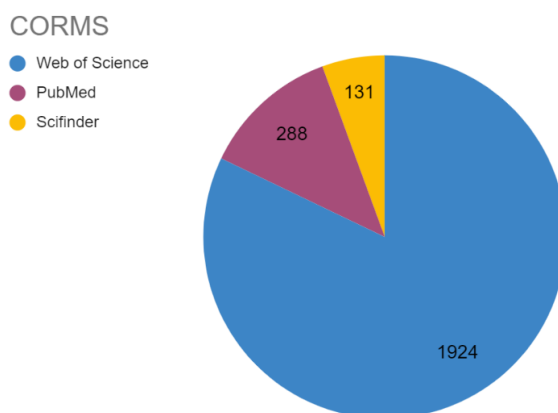


Gráfico 1.

Se puede apreciar que el número de publicaciones bajo las mismas restricciones y con el descriptor “CORMs” es bastante más numeroso en la base de datos Web of Science con respecto a las otras.

En el Gráfico 2 se puede ver la variación por año del número de publicaciones con el descriptor “CORMs” en la base de datos PubMed:

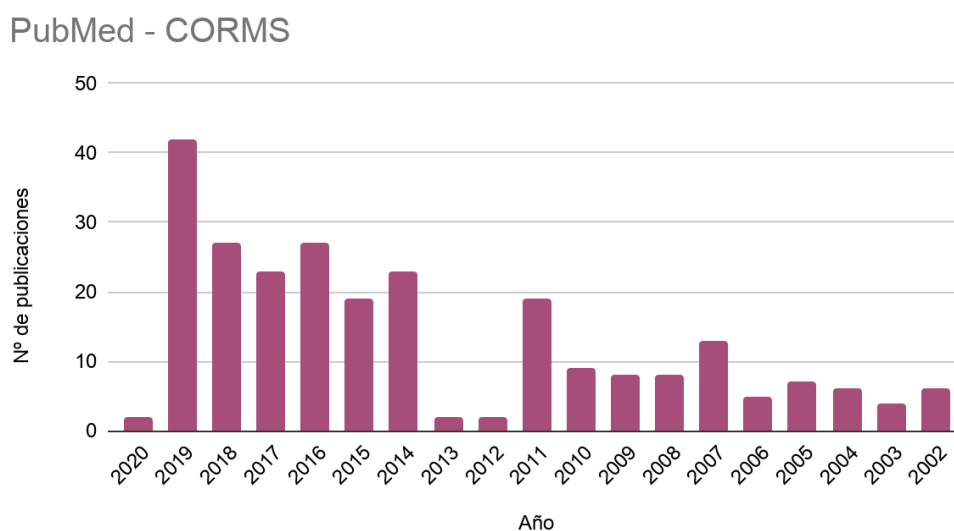


Gráfico 2.

En el Gráfico 3 se puede ver la variación por año del número de publicaciones con el descriptor “CORMs” en la base de datos SciFinder:

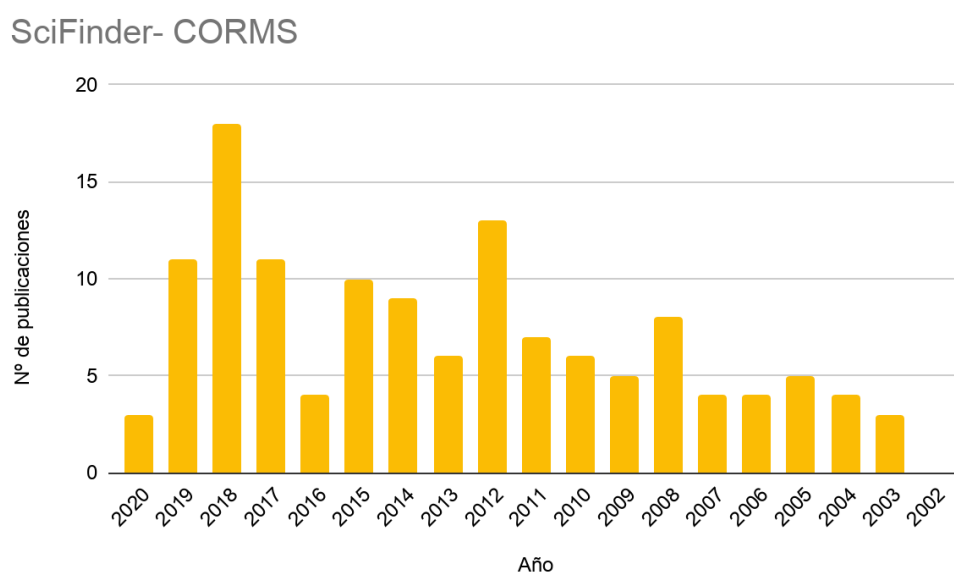


Gráfico 3.

Y, por último, en el Gráfico 4 se puede ver, para la base de datos Web of Science, la variación por año del número de publicaciones con el descriptor “CORMs”:

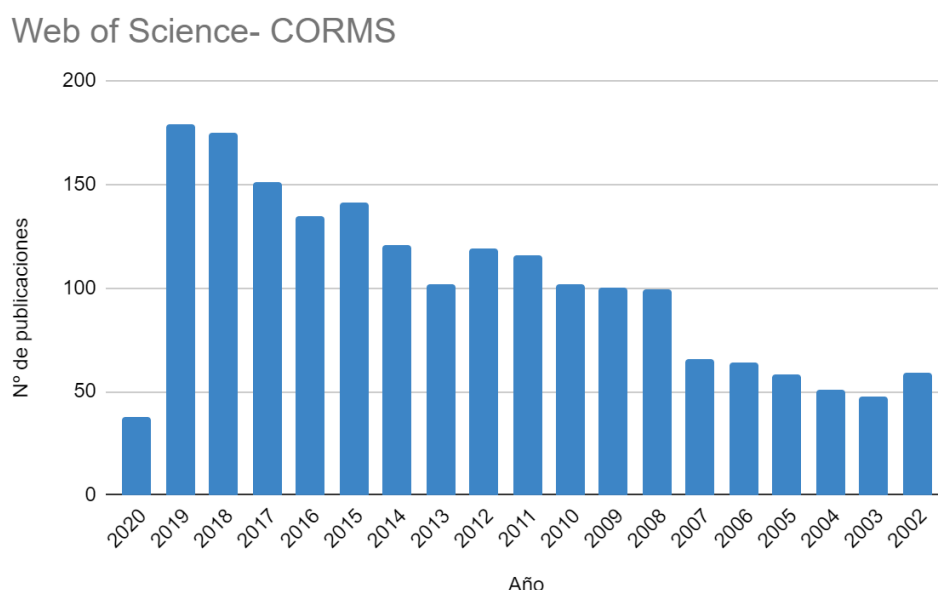


Gráfico 4.

En todos los gráficos, se observa que el número de artículos se incrementa notoriamente en los últimos años (para el año 2020, se han recogido las publicaciones hasta el mes de abril).

Posteriormente, para limitar aún más la búsqueda se han usado nuevas palabras clave “CORMs drugs”, “CORMs therapeutics”, “CORMs pharmacology”.

En la base de datos PubMed se obtuvieron 43 resultados aplicándose “CORMs drugs”, 28 resultados aplicándose “CORMs therapeutics” y 121 resultados aplicándose “CORMs pharmacology”. En SciFinder se obtuvieron 15, 20 y 6 resultados respectivamente y en Web of Science se obtuvieron 139, 19 y 14 resultados respectivamente.

Para realizar la presente memoria hemos seleccionado una serie de artículos y revisiones bibliográficas centrándonos en las encontradas con el descriptor “CORMs pharmacology”, haciendo una lectura crítica de estos y presentando los de mayor importancia.

4. RESULTADOS

4.1. Diseño de la molécula perfecta

Se ha demostrado que, las moléculas liberadoras de monóxido de carbono más eficientes son complejos metálicos con carbonilos. Para su síntesis y selección hay que saber cuáles son aceptables como fármacos, para ello deben de ser sólidos y que liberen CO en el sitio requerido. Se deduce que dicho fármaco debe ser soluble y estable en disoluciones acuosas y en las condiciones biológica hasta llegar a los tejidos enfermos, sin producir metabolitos tóxicos cuando se produzca la liberación del CO.

La fórmula general es del tipo $[M_m (CO)_x L_n]^{z\pm} [Q^{\pm}]_z$, siendo M el metal de transición; L los ligandos diferentes al CO; Q el ión del complejo; z la carga del complejo, pudiendo ser cero en este caso no contendría iones; n, m y x son los coeficientes estequiométricos. [Faizan *et al.*, (2019); Romão *et al.*, (2012)]

La principal característica a tener en cuenta para la elaboración de un complejo que actúe como CORM ha de ser el estudio del mecanismo de liberación de CO, puesto que esta liberación debe de hacerse *in vivo*.

Hay varios mecanismos de liberación de la molécula de CO (Figura 6): [Faizan *et al.*, (2019); Romão *et al.*, (2012)]

- Por disociación térmica, por un aumento de temperatura es la forma más típica en los complejos de coordinación, pero no es compatible en sistemas biológicos por superar temperaturas de 37°C.
- Por cambios de pH en el medio en el que se encuentran.
- Por activación fotoquímica, mediante irradiación con una radiación de una energía adecuada se libera el CO de forma localizada, son estables en disolución acuosa son los llamados FotoCORMs.
- Otra forma de liberar el CO y la más frecuente es por sustitución de un ligando adyacente π donador fuerte, haciendo que disminuya la densidad electrónica del orbital d del metal y por tanto debilitando el enlace metal-CO, o por O₂ en un proceso oxidativo, los ejemplos más comunes de esta situación son CORM-2([RuCl₂(CO)₃]₂) y CORM-3 ([RuCl(glicinato)(CO)₃].
- También, se ha pensado que la liberación de CO puede producirse mediante la activación con enzimas o proteínas que reconocen un ligando que ha sido

incorporado pudiéndose focalizar el lugar de liberación del monóxido de carbono, son los llamados ET-CORMs (CORMs activados por enzimas).

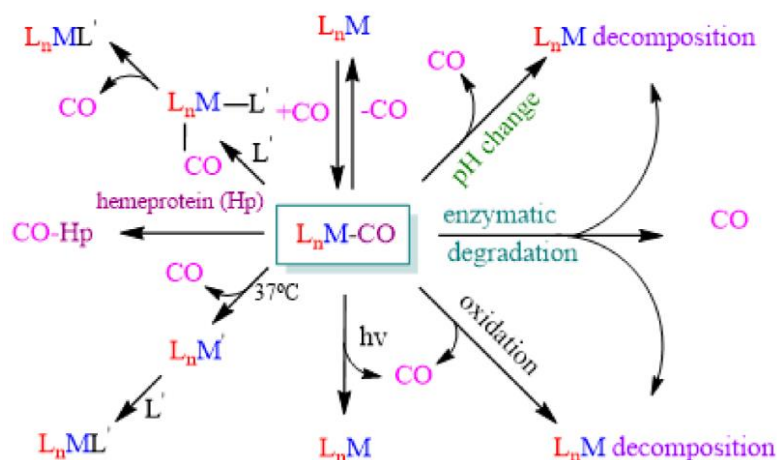


Figura 6. Esquema de los mecanismos de liberación del Monóxido de Carbono. (Faizan *et al.*, (2019))

Además, otras características, a tener en cuenta son: la absorción de los CORMs, su distribución, metabolismo y excreción (ADME), tiene gran importancia también su vida media garantizándose la circulación en el organismo para que llegue a los tejidos o zonas dañadas y que se puedan almacenar en condiciones ambientales, pudiendo ser adaptadas con un efecto terapéutico. (Kautz *et al.*, (2016))

4.2. Clasificación según la liberación del CO

En esta revisión se han organizado los CORM desde dos perspectivas, teniendo en cuenta el método por el que se lleva a cabo la liberación de monóxido de carbono y según la naturaleza de los constituyentes de las moléculas. Por ello se han clasificado según el mecanismo de liberación en ET-CORM, Foto-CORM y Nanopartículas; y según sus constituyentes en orgánicos e inorgánicos. Así mismo, se discute acerca de sus características, la tasa de liberación de CO y sus potenciales aplicaciones con fines terapéuticos.

Según se ha mencionado anteriormente, hay varias formas de liberar el monóxido de carbono de un complejo, pero en esencial, hay tres métodos que son los más utilizados por su biocompatibilidad para ser usados como fármacos y que son los siguientes:

4.2.1. ET-CORMs

Los ET-CORMs son complejos metálicos en los que la liberación del monóxido de carbono se produce por la activación del compuesto por medio de una enzima que es capaz de reconocer un tipo de ligando específico, esta característica es de especial importancia porque de esta forma se puede controlar la velocidad de liberación y el lugar donde se produzca esta liberación.

Algunos de los ejemplos más estudiados de este tipo de moléculas liberadoras de monóxido de carbono son los complejos de ciclohexadieno tricarbonilo de hierro en el que el grupo aciloxi se une a la insaturación del ciclo. La liberación se produce en dos etapas (Figura 7). En la primera etapa de la reacción el grupo éster es atacado por una esterasa dando lugar a un ciclohexadienilalcohol y estos sufren una oxidación liberándose el CO. (Heinemann *et al.*, (2014))

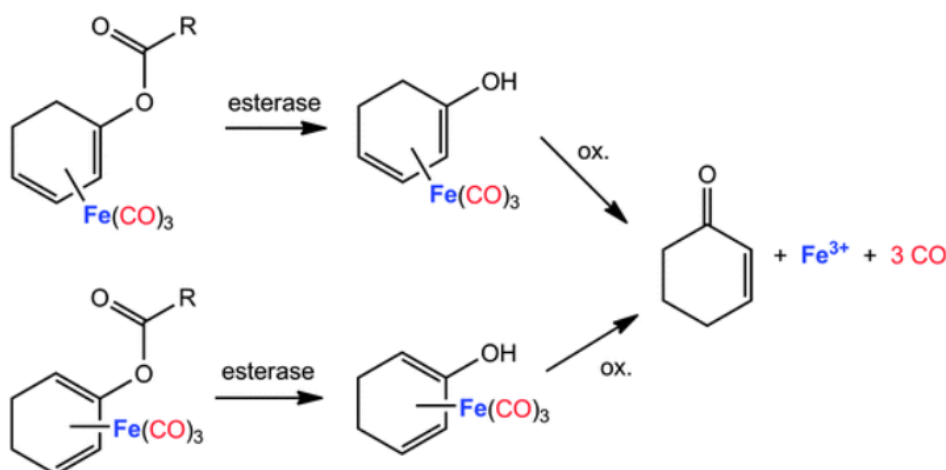


Figura 7. Reacción de liberación de CO a partir de complejos aciloxiciclohexadieno tricarbonilo (ET-CORM). (Heinemann *et al.*, (2014))

4.2.2. Foto-CORMs

Se han sintetizado complejos metálicos que son estables en disolución acuosa en ausencia de radiación, pero que producen la liberación de monóxido de

carbono mediante la irradiación con una radiación de una energía apropiada (Figura 8), estos complejos son los llamados Foto-CORMs. Normalmente, estos compuestos se utilizan para tratamientos transdérmicos o de la piel, o en terapias fotodinámicas para tratamiento en órganos, tejidos y tumores localizados ya que, la zona donde se quiere liberar el CO debe ser irradiada, esto a veces supone un problema puesto que se necesitan radiaciones de altas energías y no son compatibles con los sistemas biológicos.

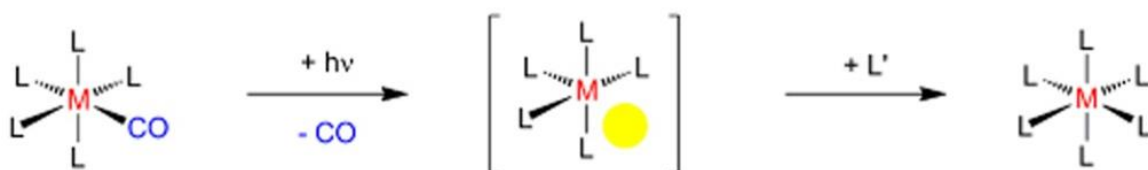


Figura 8. Mecanismo de liberación de CO mediante irradiación.

El primer foto-CORM conseguido fue el CORM-1 ($Mn_2(CO)_{10}$) (Figura 9) (Kautz *et al.*, (2016)), este tiene una baja solubilidad en agua, que es el principal medio biológico. Posteriormente, se han ido consiguiendo otros compuestos más solubles como es el caso del CORM-S1 (Dicarbonil-Bis(cisteína) de hierro (II) (cis- $[Fe(CO)_2(H_2NCH_2CH)]$).

Ford y sus colaboradores (Hostachy *et al.*, (2017)) desarrollaron un foto-CORM soluble en agua que no es tóxico para los tejidos con Re(I), $[Re(bpy)(CO)_3(thp)]$ (CORM-3) (Figura 9).

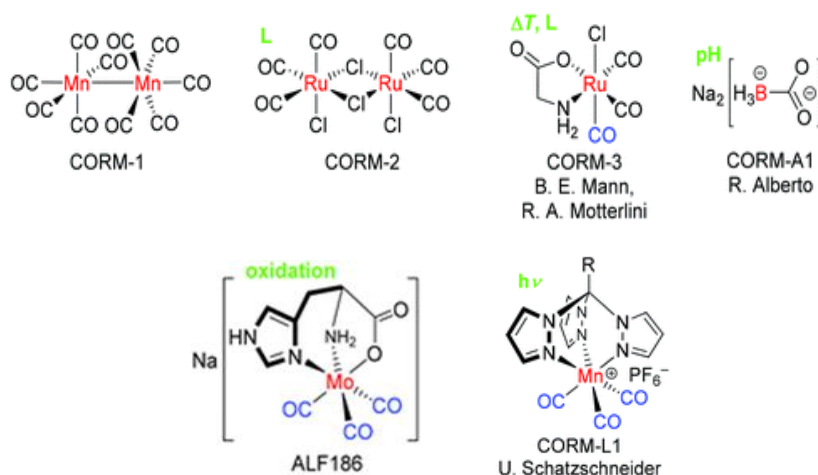


Figura 9. Algunos ejemplos de los CORMs más estudiados y más comunes. (Kautz *et al.*, (2016))

En ensayos con células de carcinoma prostático humano se observó que se introducía en el citoplasma de estas y tras la irradiación a 405 nm, se produjo la liberación de un solo ligando de CO que fue sustituido por una molécula de agua. Una característica de gran importancia que tiene este compuesto es, que tanto, el compuesto de partida como, el resultante es luminiscente y, por tanto, se pueden rastrear dentro de las células mediante microscopía de fluorescencia. (Figura 10). Pero la principal limitación que tiene este complejo es que para la liberación de CO se necesita una radiación de alta energía. Para superar esta limitación se hicieron estudios posteriores por parte de Mascharak *et al.* (Hostachy *et al.*, (2017)) modificando el complejo (Figura 10) para que este liberara el CO con una radiación en la región del visible, pero la energía absorbida por el compuesto no era suficiente para que se produjera la liberación, demostrándose la dificultad de la producción de Foto-CORMs basados en Renio.

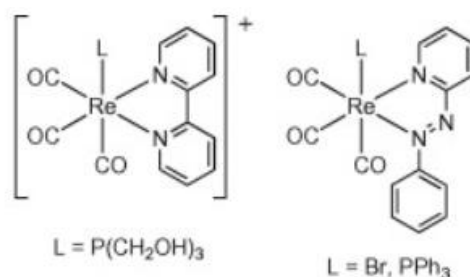


Figura 10. La primera muestra la molécula de $[\text{Re}(\text{bpy})(\text{CO})_3(\text{thp})]^+$ sintetizada por Ford y la segunda la modificación hecha por Mascharak. (Hostachy *et al.*, (2017))

Se ha conseguido producir un análogo de fluoresceína soluble en agua, el ácido 6-hidroxi-3-oxo-3H-xanteno-9-carboxílico (Figura 11), es el primer CORM de naturaleza orgánica que no tiene metales de transición. [Crespy *et al.*, (2010); Mann, (2010); Mann, (2012); Rimmer *et al.*, (2012); Schatzschneider, (2010); Schatzschneider, (2011)]

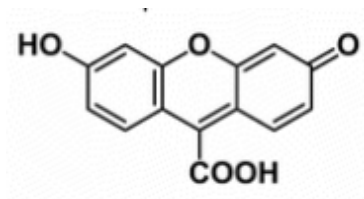


Figura 11. Primer Foto-CORM libre de metales.

4.2.3. Nanopartículas

La síntesis de nanopartículas de CORMs facilita la localización en los tejidos gracias a la posibilidad de modificar su tamaño dependiendo de la necesidad, su síntesis ofrece un mecanismo distinto de activación de la molécula para la liberación del monóxido de carbono.

Kunz *et al.* (Schatzschneider, (2014)) en la superficie de CORM-3 inmovilizó nanopartículas de maghemita (óxido de hierro (Fe_2O_3)) usando ligandos de dihidroxifenilalaninato. Esto se hizo para que se liberase CO de una forma alternativa por medio de la aplicación de un campo magnético produciéndose un calentamiento local y por tanto la aceleración de intercambio de los ligandos de CO con el medio (Figura 12). El análogo de CORM-3 redujo la vida media a la mitad, no se pudo acabar el ensayo de mioglobina por su insolubilidad en agua.

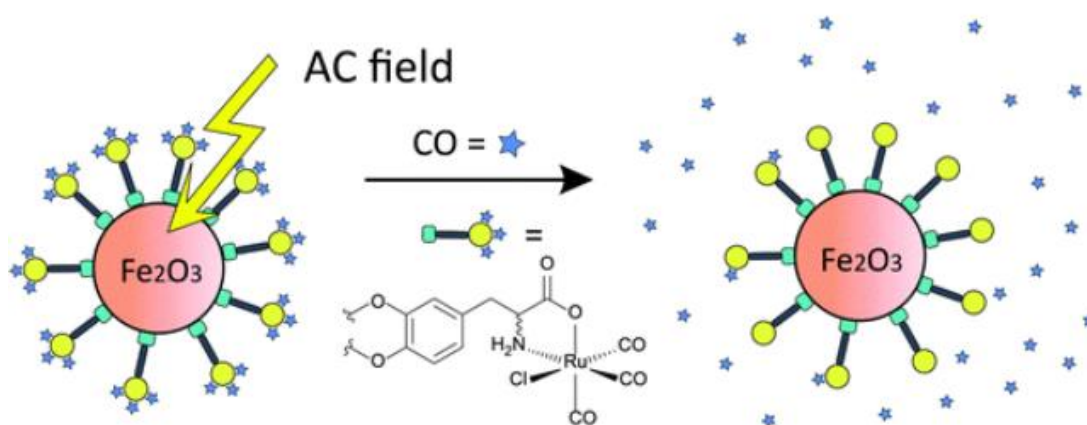


Figura 12. Esquema de liberación de CO inducida por nanopartículas de hierro y CORM-3 por medio de un campo magnético alterno (AC). (Heinemann *et al.*, (2014))

4.3. Clasificación según su composición

Los CORMs también pueden clasificarse, de una forma más exhaustiva, según su estructura interna y la composición de estos. Para ello se han dividido en los dos grandes clásicos grupos, en moléculas orgánicas e inorgánicas.

4.3.1. Moléculas Orgánicas

Los compuestos orgánicos como los haloalcanos, aldehídos, oxalatos y ácidos y silicarboxilatos fueron los primeros considerados para ser usados como liberadores de monóxido de carbono, son los llamados NCORM, CORMs no metálicos. Estudios realizados por Mann en 2010 y Romao y *col.* en 2012 los consideraron para su uso como moléculas liberadoras de monóxido de carbono, pero por su tasa de liberación y su perfil toxicológico fueron descartados, con la excepción de la familia de borocarboxilatos, aunque son de gran utilidad para relacionar a los CORM con la actividad biológica.

Posteriormente, Antony y *col.* en 2013 y Peng y *col.* en 2013 (Peng *et al.*, (2013)) hicieron estudios sobre sistemas puramente orgánicos basado en 1,2-diacetonas cíclicas insaturadas y ácido xanteno-9-carboxílicos que son viables (Figura 13).

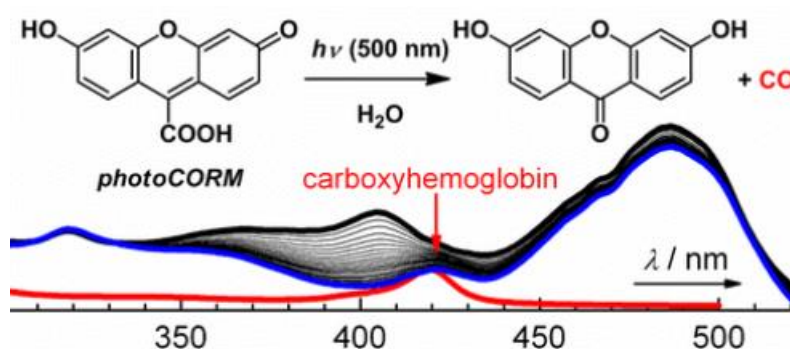


Figura 13. Muestra la liberación de CO por medio de la irradiación a 500nm del ácido 6-hidroxi-3-oxo-3H-xanteno-9-carboxílico. (Antony y *col.* (2013))

También se ha conseguido producir una liberación de CO de unas moléculas basadas en α -dicetonas cíclicas insaturadas capsuladas en micelas, que son activadas por una radiación. (Schatzschneider, (2014))

Hay estudios sobre α,α -dialquiloaldehídos que confirman su actividad biológica, pero fueron rechazados por tener una tasa de liberación demasiado lenta además de conocerse su toxicidad, por lo que se han estudiado más como CORMs útiles.

4.3.1.1. Borocarboxilatos

Los borocarboxilatos son unas moléculas consideradas grandes liberadoras de monóxido de carbono. Uno de los liberadores más estudiados de este tipo es el borocarbonato de disodio ($[\text{H}_3\text{BCO}_2]\text{Na}_2$), llamado CORM-A1 (Motterlini *et al.*, (2004)), se trata de una molécula que no contiene metal de transición, sino un grupo carboxílico que mediante hidrólisis da lugar al CO. La liberación de CO (Figura 14) es mucho más lenta que el CORM-3, con una vida media de 21 minutos en condiciones fisiológicas a 37°C y un pH de 7,4, provoca un efecto de hipotensión y vasodilatación leve. A temperatura ambiente, se sabe que las disoluciones acuosas de CORM-A1 son alcalinas y muy estables, pero en presencia de iones de hidrógeno el compuesto empieza a descomponerse y a liberar CO. A un pH fisiológico la molécula está monoprotónada, tras una segunda protonación se vuelve inestable produciéndose la liberación de CO. Cuanto más ácida es la solución mayor es la concentración activa de CORM-A1 doblemente protonada y más rápida es la liberación. (Motterlini *et al.*, (2004))

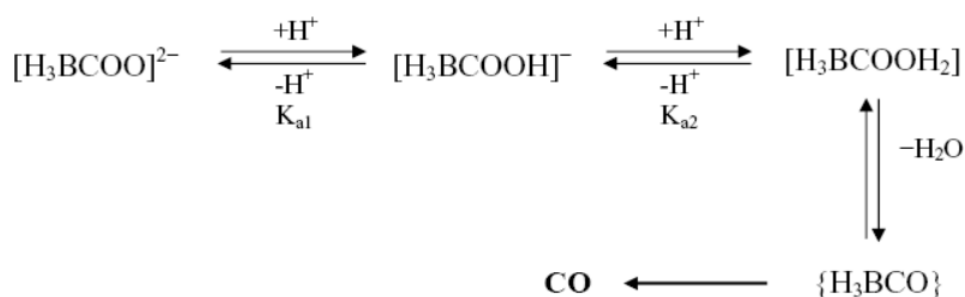


Figura 14. Mecanismo de liberación de CO por medio del CORM-A1. (Motterlini *et al.*, (2004)).

El CORM-A1 tiene una cinética de liberación de CO lenta por lo que sería más útil para tratamientos de ciertas enfermedades crónicas, pudiendo imitar más de cerca la función natural de la hemooxigena, que genera CO endógeno de manera sostenida. Se trata de un compuesto soluble y estable en agua, pero en condiciones ácidas tras liberar el CO se descompone.

Palao y col. (Kourti *et al.*, (2017)) consiguieron la síntesis de una nueva generación de CORM libres de metales de transición, estos están basados en cromóforos de BODIPY, son los llamados COR-BDP (Figura 15). Estos son activados por una radiación desde el visible al infrarrojo cercano, esto facilita la

penetración en los tejidos biológicos, además los ligandos de BODIPY pueden modificarse para mejorar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas finales, como pueden ser las propiedades ópticas o la solubilidad. Esto proporciona un medio rápido de desarrollo de moléculas liberadoras de monóxido de carbono mejoradas.

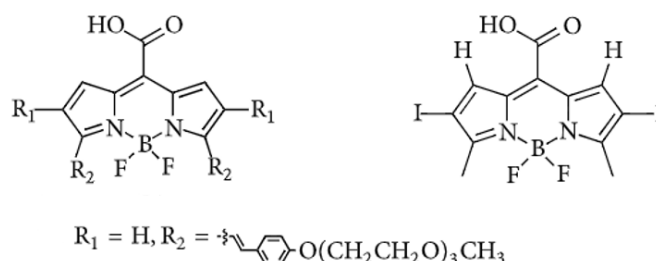


Figura 15. Ejemplos de los COR-BDP. (Kourti *et al.*, (2017))

4.3.1.2. Silicarboxilatos

Los silicarboxilatos tienen unas características parecidas a los borocarboxilatos. Se han estudiado ácidos silicarboxílicos (R_3SiCOOH) que liberan cantidades estequiométricas de CO en reacciones que son catalizadas por plomo y se encuentran en solventes orgánicos calientes con activadores fuertes como es el caso del ión fluoruro (F^-), metóxido (MeO^-), terbutóxido (tBuO^-) y el $\text{MePh}_2\text{SiCO}_2\text{H}$. Estas condiciones hacen que sean incompatibles con el uso en sistemas biológicos. (Romão *et al.* (2012))

Los ácidos silicarboxílicos en $\text{MePh}_2\text{SiCO}_2\text{H}$ liberan 1 equivalente de CO cada 10 minutos, en cambio con fluoruro de potasio (KF) en agua la liberación es más lenta, es de 0.41 equivalentes cada 20 horas. (Romão *et al.* (2012))

4.3.2. Moléculas Inorgánicas

Muy pocos fármacos son compuestos organometálicos esto es debido, en gran parte, a la reactividad de los metales con las sustancias biológicas, y a la toxicidad de muchos metales pesados. En cambio, parece ser la opción más útil para la elaboración de CORMs que puedan ser usados como fármacos, gracias a su capacidad de generar compuestos estables en presencia de oxígeno y agua, coordinándose solo con unos pocos iones metálicos simples.

Por el contrario, en condiciones anaeróbicas y reductoras, en disolventes orgánicos el CO reacciona con muchos iones metálicos de baja valencia, incluso en su estado fundamental, para producir carbonilos metálicos volátiles complejos como $\text{Fe}(\text{CO})_5$ y $\text{Ni}(\text{CO})_4$.

Los metales más comunes para la elaboración de los CORMs inorgánicos son el rutenio, manganeso, hierro, tecnecio, renio, cromo, wolframio, iridio, cobalto, molibdeno, rodio y osmio.

4.3.2.1. Complejos de Rutenio

La mayoría de los estudios sobre tratamiento con monóxido de carbono a nivel celular y biológico se basan en CORMs que tienen como metal central el Ru, como son el caso del CORM-2 y CORM-3 (Figura 16) que son los más usados como fármacos anti-cancerosos.

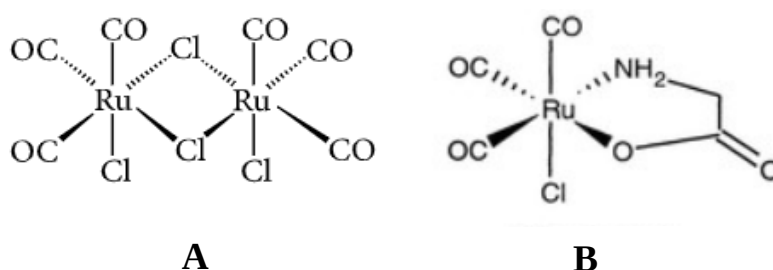


Figura 16. La figura A muestra el CORM-2 y la figura B muestra el CORM-3. [Kourti *et al.*, (2017); Clark *et al.*, (2003)]

El CORM-2 (Figura 16A) se trata del complejo metálico tricarbonildicloro rutenio (II) ($[\text{RuCl}_2(\text{CO})_3]_2$), cuando este compuesto está en contacto con la desoximioglobina o la desoxihemoglobina reducida transfiere rápidamente un equivalente de dióxido de carbono. Este complejo es soluble en dimetilsulfóxido (DMSO), polietilenglicol (PEG) y solventes orgánicos.

Hay recientes estudios por parte de Desmard y *col.* (Desmard *et al.*, (2005)) que demuestran que el tricarbonildicloro rutenio (II), CORM-2, inhibe la actividad de

la metaloproteasa-1 que es una enzima que contiene cobalto, aunque no se sabe con precisión los mecanismos de inhibición.

Se han hechos estudios *in vivo* e *in vitro* que demuestran su actividad antiinflamatoria en el páncreas, colon, hígado y en los vasos sanguíneos. También se ha demostrado su efecto en células cancerosas de la piel. (Kourti *et al.*, (2017))

El CORM-3 (Figura 16B) (Clark *et al.*, (2003); Johnson *et al.*, (2007); Santos-Silva *et al.*, (2011)) es el más estudiado y usado de todos los CORMs con centros metálico es un complejo de carbonilo metálico soluble en agua y farmacológicamente activo, se trata de tricarbonilcloro-glicinato de rutenio (II), este se obtuvo de la coordinación de glicina, un ligando biológico compatible, a un centro metálico de rutenio para hacer el complejo soluble en agua. Esto fue un gran avance para los CORMs, porque los sintetizados anteriormente solo eran solubles en disolventes orgánicos, además tanto el pH como los ligandos presentes en el organismo favorecen la liberación del monóxido de carbono. Tiene una vida media de 98 horas en agua destilada a 37°C, reduciéndose en tres órdenes de magnitud a 3.6 minutos en plasma humano, esto es probablemente a causa de una interacción del tiol, y provoca un efecto de vasodilatación. El CORM-3 tiene una cinética de liberación para la molécula de CO muy rápida en sistemas biológicos, lo que sería ideal para aplicaciones terapéuticas donde el monóxido de carbono actúa como un medidor de señal rápida. (Foresti *et al.*, (2009))

Foresti y col. (Clark *et al.*, (2003)) demostraron que el monóxido liberado por el CORM-3 provoca una relajación en la aorta dependiente de la concentración de vasos pretratados con fenilefrina, a causa de la inhibición de la actividad de los canales de K⁺. Aunque se han obtenido grandes resultados sobre estos tipos de CORMs aún no son ideales como fármacos, porque se forma gran cantidad de isómeros y aductos diferentes que tienen una cinética que varían con el medio, en caso especial el CORM-3 que tiene grandes variaciones en su vida media según el pH. Otros estudios sobre el CORM-3 demostraron que puede ser utilizado como prototipo para el desarrollo de compuestos farmacológicos que sean activos para poder administrar CO para controlar las funciones vasculares y para la prevención de la hipertensión.

4.3.2.2. Complejos metálicos con Mn

El CORM-1 (Figura 17) se trata de un complejo metálico con un centro metálico compuesto por dos átomos de manganeso, se trata del decacarbonilo de manganeso ($\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}$). Este compuesto fue uno de los primeros complejos de carbonilo identificados para liberar CO en unas condiciones apropiadas y funcionar como molécula liberadora de monóxido de carbono en sistemas biológicos.

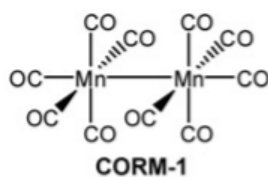


Figura 17. Estructura química del CORM-1. (Motterlini, (2007))

Este compuesto es solo soluble en solventes orgánicos, como el etanol y el DMSO, y requiere de radiación para inducir la liberación del monóxido. Se comprobó su actividad farmacológica sin producir efectos adversos en el organismo, atenuando la vasoconstricción coronaria, relajación de los vasos sanguíneos y la supresión de hipertensión aguda. (Motterlini, (2007))

El grupo del Prof. Mascharak [Heinemann et al., (2014); Pierri *et al.*, (2010)] elaboró un compuesto fotoactivo de manganeso (I) del tipo $[(\text{CO})_3\text{Mn}(\text{L})]^+$ siendo L un ligando tripodal como el tris-2-piridilamina o el bis-2-piridilmetilamina (Figura 18).



Figura 18. Compuesto de Mn sintetizado por Mascharak y col. (Heinemann et al., (2014))

4.3.2.3. Complejos metálicos con Fe

Otro de los primeros CORMs estudiado fue el pentacarbonilo de hierro $\text{Fe}(\text{CO})_5$ pero era poco útil para el uso como fármaco por su naturaleza apolar y porque necesita unas radiaciones de alta energía para su fotoactivación y liberación del CO.

CORM-S1 (Dicarbonil-Bis(cisteína) de hierro (II) $\text{cis-}[\text{Fe}(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_2(\text{CO})_2]$ (Figura 19) (Kretschmer *et al.*, (2011)), este pertenece a un grupo que tiene como fórmula general $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CO})_2(\text{ligando bidentado})_2]$, que además tiene una especial importancia puesto que la liberación rápida de CO bajo luz visible con una velocidad parecida al CORM-3, se trata de una reacción reversible, es muy estable en la oscuridad.



Figura 19. Ejemplo de un CORM con el Fe como metal central.

Hay algunos sistemas de hierro con ligandos pentadentados (Figura 20) (Romão *et al.* (2012)) que liberan CO en condiciones fisiológicas, pero sin que se produzca la oxidación reversible. El compuesto $[(\text{N}_4\text{Py})\text{Fe}(\text{CO})]^{2+}$ (Figura 20) se activa por radiación ultravioleta y es una molécula de gran utilidad para el cáncer de próstata, aunque aún se sigue estudiando para disminuir sus efectos adversos.

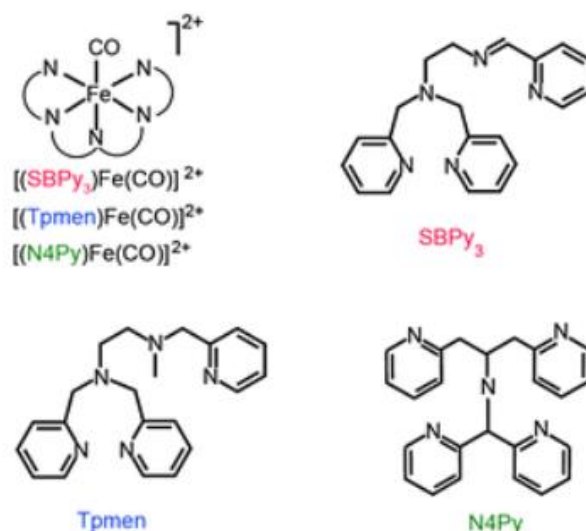


Figura 20. Complejos de Fe con ligando pentadentados. (Romão *et al.* (2012))

4.3.2.4. Complejos metálicos de Tc y Re

Hay una serie de complejos con fórmula general $[M(CO)_3L_3]^+$, siendo M el metal que puede ser Tc o Re. Estos complejos son estables en condiciones aeróbicas y proporcionan rutas de excreción limpias, no siendo tóxicas para sistemas biológicos, por lo que son usados como radiofármacos para terapia y diagnóstico. Los complejos de renio tienen la peculiaridad de que son fluorescentes lo que facilita la detección por microscopía de fluorescencia en el medio biológico. Pero no es de utilidad biológica por sus fuertes enlaces con el monóxido de carbono dificultando la liberación de este.

El ^{99m}Tc es utilizado como radionúclido en radiofármacos con propiedades muy útiles para el uso como radiotrazador, el $[^{99m}\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ fue desarrollado por Alberto y Schibli *et al.* [Lu *et al.*, (2013); Kluba *et al.*, (2013); Albert *et al.*, (2001)] Tras unos primeros intentos de compuestos monoméricos de dicarbonilo de Re sintetizados por Zobi *et al.* (Zobi *et al.*, (2010)), los cuales no eran solubles en medios acuosos, se estudió una nueva generación de CORM con Re (Figura 21) y cianocobalamina consiguiéndose un efecto protector ante la isquemia. (Zobi *et al.*, (2011)) Posteriormente se estudiaron complejos fotoactivables, Ford y sus colaboradores (Pierri *et al.*, (2010)) desarrollaron un foto-CORM soluble en agua que no es citotóxico a base de renio con propiedades luminiscentes y capacidad de liberación de CO, este compuesto es $[\text{Re}(\text{bpy})(\text{CO})_3(\text{thp})]$ (Figura 21), la

principal limitación de este complejo es que se necesita una radiación de alta energía para la liberación del CO.

Para intentar aumentar la longitud de onda necesaria para la liberación Mascharak *et al.* (Chakraborty *et al.*, (2014)) sintetizaron otro compuesto (Figura 21), pero no se observó liberación de CO por medio de la irradiación de la región del visible. Demostrándose la complejidad de la síntesis de FotoCORM basados en Re. (Hostachy *et al.*, (2017))

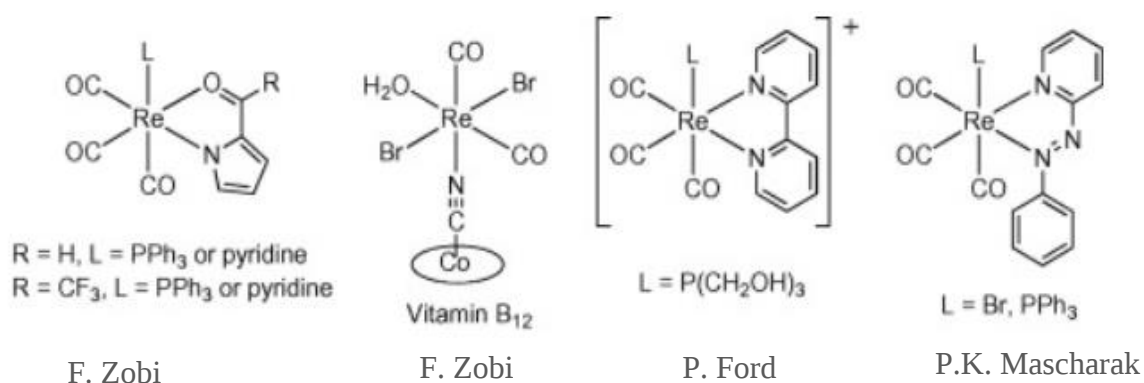
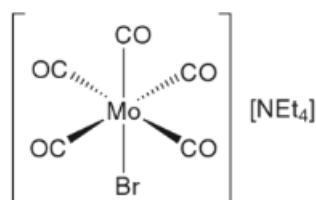


Figura 21. Compuesto de Re (I) liberadores de Monóxido de Carbono. (Hostachy *et al.*, (2017))

4.3.2.5. Complejos metálicos de Mo

Gracias a los distintos estados de oxidación del Molibdeno este es capaz de formar gran número de complejos con monóxido de carbono estables.

$[\text{NEt}_4][\text{Mo}(\text{CO})_5\text{Br}]$, ALF062 (Figura 22) es un compuesto soluble en metanol y dimetilsulfóxido (DMSO), siendo inestable en condiciones aeróbicas.



ALF062

Figura 22. Estructura del CORM ALF062.

ALF186, $[\text{Mo}(\text{CO})_3(\text{histidinato})]\text{Na}$ (Figura 23), se trata de un compuesto que es estable en condiciones aeróbicas y se desintegra en agua. Se trata del CORM prototípico activado por oxidación. (Seixas *et al.*, (2013))

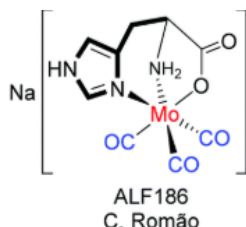


Figura 23. Compuesto ALF186, complejo octaédrico de Mo. (Seixas *et al.*, (2013))

Este compuesto es estable en condiciones aeróbicas, a temperatura ambiente y en la oscuridad durante dos meses. Pero se ha demostrado que en disolución acuosa en condiciones aeróbicas se descompone fácilmente liberándose cantidades significativas de CO (2.26 equivalentes en 2h) siendo la liberación más rápida con un aumento de pH, mientras que en una atmósfera de nitrógeno no se produce la descomposición ni la liberación del monóxido de carbono. Esto hace pensar que la activación del CORM se produce por el oxígeno y que en cuanto que entre en contacto con la sangre empezará la reacción de liberación. Gracias a su riqueza en electrones este compuesto produce la reducción de las proteínas con el grupo hemo como son la hemoglobina, mioglobina y citocromo C, cosa que no ocurre con el CO libre ni con el muy usado CORM-3.

En estudios con sangre de oveja a 37°C al adicionar el compuesto ALF186 se ha podido observar una gran rapidez de liberación de CO en cuanto se puso en contacto la sangre con ALF186, incluso más que en disoluciones acuosas, esto se puede deber a la posible intervención de las proteínas plasmáticas, descartando que sea la albúmina. (Seixas *et al.*, (2013))

Se probó la toxicidad *in vivo* en ratones sanos no siendo tóxico en dosis necesarias como tratamiento, tampoco produce hemólisis y se ha probado su estabilidad en sistemas biológicos pudiendo ser administrado *in vivo* de forma inyectada y oralmente, siendo esta última más lenta la liberación de CO.

Como se trata de un compuesto que no localiza la liberación de monóxido de carbono se considera un CORM experimental aún, pero de gran utilidad para estudiar posibles CORMs de segunda generación para su uso como fármaco

consiguiendo una mayor estabilidad y una focalización específica de los tejidos pudiendo aprovechar su gran potencial terapéutico.

4.4. CORMats

Los CORMs basados en metales como átomo central producen un residuo metálico al liberar el monóxido de carbono llamado i-CORM, este tras la degradación puede provocar una actividad tóxica para el cuerpo humano. Para conseguir mayor rendimiento para la liberación de CO reduciendo la toxicidad de los i-CORM se han desarrollado varias moléculas nuevas basadas en la encapsulación en estructuras y formulaciones conjugadas con péptidos, micelas, vitaminas, MOF, polímeros, nanopartículas, proteínas, metalodendrimeros, nanoláminas y nanodiamantes, etc, las cuales son llamadas CORMats (Figura 24).

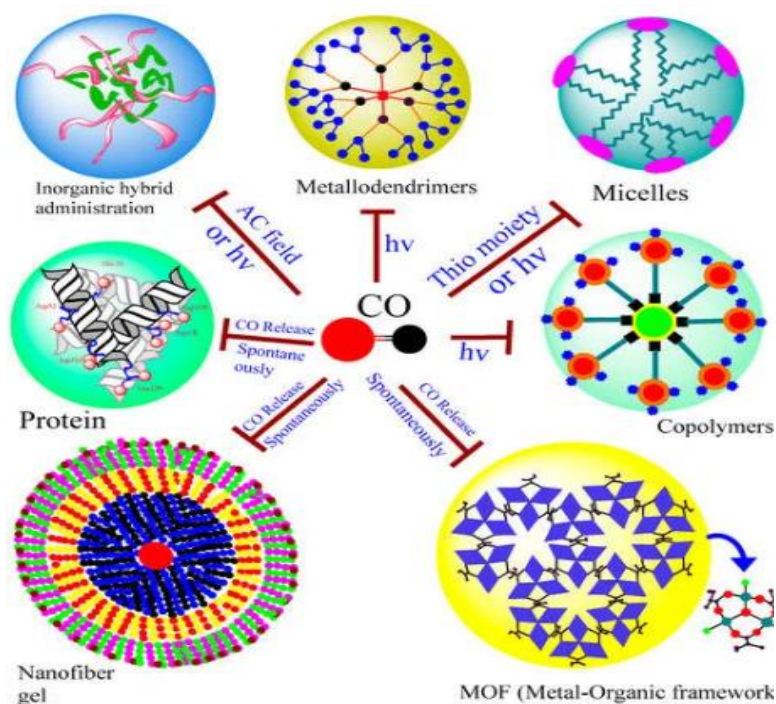


Figura 24. Diferentes encapsulamientos y moléculas conjugadas. (Faizan *et al.*, (2019))

- Dendríticos

Smith *et al.* (Govender *et al.*, (2013) sintetizaron, como portador de fármacos en sistemas celulares, un FotoCORM metalodendrítico compuesto por un fragmento de $\text{Mn}(\text{CO})_3$ unido a un armazón polipiridil dendrimérico. Este no tiene liberación de pequeños productos de degradación ni produce efectos secundarios, puesto que el fragmento de metal sigue unido al conjugado macromolecular tras la liberación de CO. La liberación de monóxido de carbono es de 2 ligandos de CO por unidad de CORM, con una vida media de 14.5 a 16.8 minutos. Los metalodendrimeros son estables en medio acuoso y en condiciones aerobias en ausencia de luz (Figura 25). [Faizan *et al.*, (2019); Kautz *et al.*, (2016); Govender *et al.*, (2013)]

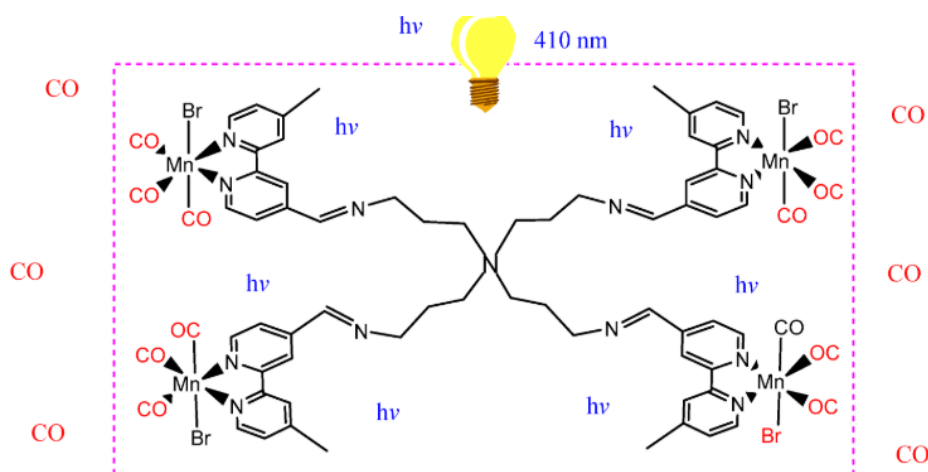


Figura 25. Metalodendrimeros fotoactivados.

- Nanoláminas

Chen y col. (He *et al.*, (2015)) consiguieron introducir un CORM de manganeso en una pequeña lámina de óxido de grafeno en el que la liberación del CO se produce por la irradiación de una energía del infrarrojo cercano. (Faizan *et al.*, (2019); Ling *et al.*, (2018))

Schatzschneider *et al.* (Kautz *et al.*, (2016)) estudiaron por medio de una cicloadición azida-alquino 1,3 dipolar catalizada por cobre la obtención de nanopartículas de dióxido de silicio funcionalizadas con FotoCORM-L1 (Figura 26). Estas nanopartículas proporcionaban una síntesis más simple, un control de la distribución del tamaño y la biocompatibilidad de las nanopartículas de dióxido de silicio. En el estudio, el FotoCORM fue estable durante la reacción. Las

moléculas de FotoCORM liberaron de 2 a 3 equivalentes de CO por mol de complejo después de irradiarlos.

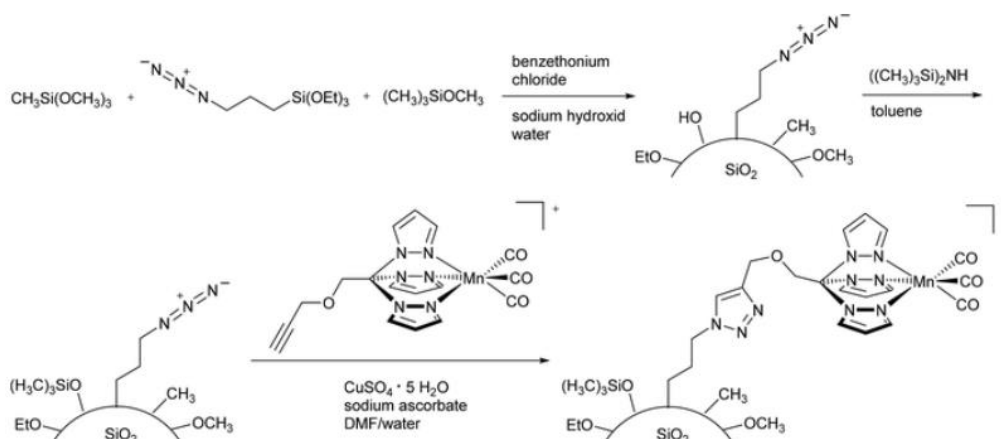


Figura 26. Síntesis de nanopartículas de dióxido de silicio funcionalizadas con CORM-L1.
(Kautz *et al.*, (2016))

Posteriormente, Schatzschneider *et al.* [Kautz *et al.*, (2016); Schatzschneider, (2011)] unieron $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{tris}(\text{pirazolil})\text{metano})]^+$ a nanodiamantes funcionalizados con azida, su composición era de 0,47% en peso de manganeso y un tamaño de 10 nm aproximadamente, obteniéndose una buena absorción celular, acumulándose en el tejido enfermo y evitando su toxicidad. En ensayo de mioglobina no tubo resultado por la aparición de dispersiones turbias, pero la unión al nanoportador no influía en la espectroscopía IR, era como el original CORM-L1 (Figura 27).

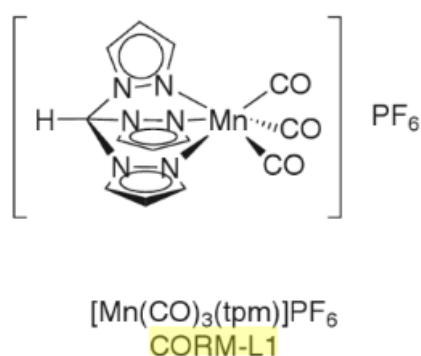


Figura 27. Muestra el CORM-L1 sintetizado por Schatzschneider. (Metzler-Nolte y Schatzschneider, (2009))

- Nanodiamantes (ND)

Dordelmann *y col.* (Dordelmann *et al.*, (2012)) consiguieron el primer acoplamiento de CO a nanodiamantes con un soporte biocompatible mediante una cicloadición de 1,3-dipolar azida -alquino catalizada por cobres (CuAAC), por medio de la “reacción clic”. (Ling *et al.*, (2018))

- Materiales porosos

Este tipo de CORMats se basan en la encapsulación de un CORM en una estructura porosa. En un estudio por parte de Maldonado *et al.* (Carmona *et al.*, (2017)) consiguieron por medio de un intercambio catiónico incorporar un compuesto organometálico en un marco poroso aniónico, la liberación de CO se activa mediante luz visible. La primera molécula desarrollada fue un CORM catiónico, el ALF472⁺ ([Mn(tacn)(CO)₃]⁺, tacn= 1,4,7-triazaciclono-nano) encapsulado en una matriz porosa aniónica inorgánica, esta molécula es estable en condiciones aeróbicas, no tóxica, fotoactiva (Figura 28) y soluble en agua. La matriz de sílice aniónica produce una reducción de la velocidad en la liberación del CO, pudiéndose controlar dicha liberación. (Faizan *et al.*, (2019))

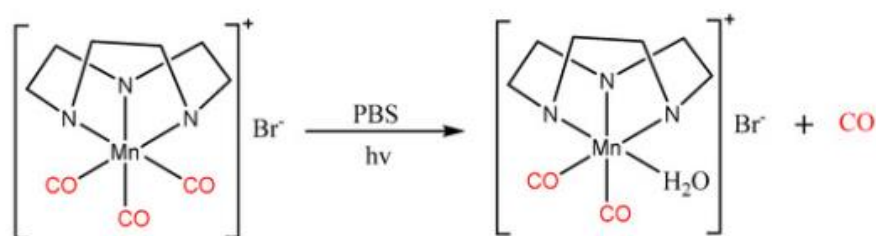


Figura 28. Fotoactivación del CORM ALF472⁺ en condiciones fisiológicas simuladas. (Faizan *et al.*, (2019))

- Péptidos

Los primeros estudios se hicieron con la unión de una cadena alquílica hidrófoba y un péptido de secuencia corta hidrofílica, estos liberaban espontáneamente CO, pero eran tóxicos, tenían una vida media parecida al CORM-3. Posteriores estudios en lugar de unir solo moléculas de CO simples, se hacían con CORM. Leone Spiccia y Ulrich Schatzschneider (Bischof *et al.*, (2013)) consiguieron construir un esqueleto de ácido nucleico peptídico (PNA) monomérico con complejos de carbonilo de rutenio (II). [Kautz *et al.*, (2016); Pfeiffer *et al.*, (2009)]

Los CORM conjugados con péptidos tienen una gran ventaja por su gran biocompatibilidad y su gran cantidad de posibles diseños. Tienen gran importancia para futuros estudios en los que pueden ser utilizados para el tratamiento de tumores por su direccionamiento específico. [Kautz *et al.*, (2016); Pfeiffer *et al.*, (2013)]

- Polímeros

La estructura de los fármacos basados en polímeros está formada al menos por tres fragmentos: un fragmento polimérico, que se encarga de transporte del fármaco formado por CORM; un acoplamiento polimérico biodegradable y un agente antitumoral. (Faizan *et al.*, (2019))

Los conjugados de CORM con polímeros se hicieron después de los péptidos para conseguir una difusión del CO más lenta en el tejido objetivo, además de conseguir adaptar su tamaño según el uso que se desee. (Kautz *et al.*, (2016))

El conjugado polimérico P1 (Figura 29) libera CO a 365 nm de luz por lo que es de gran utilidad para tratar el cáncer de colon humano y las células cancerosas del hígado.

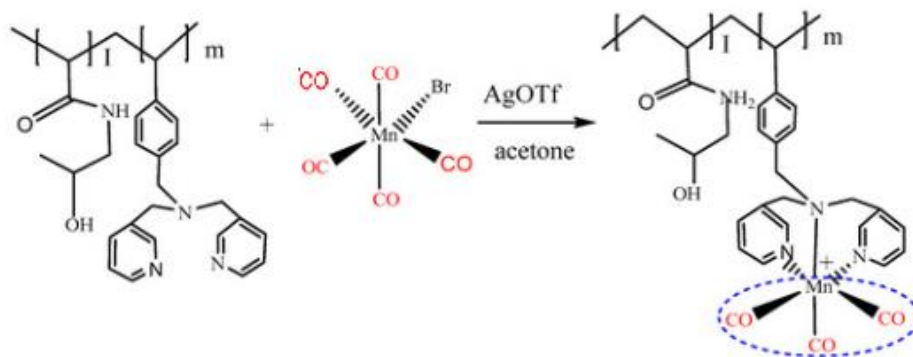


Figura 29. Copolímero P1 sintetizado mediante HPMA y bromuro de pentacarbonilo de manganeso. (Faizan *et al.*, (2019))

- Micelas

Las micelas consisten en copolímeros tribloque (Figura 30) compuestos por un fragmento hidrófilo de polietilenglicol (PEG) que estabiliza las micelas, un fragmento de poli-OrnRu liberador de monóxido de carbono y un fragmento hidrófobo de poli (n-butilacrilamida) que es el que impulsa la formación de las micelas. Los fragmentos de PEG se encarga de atenuar la toxicidad de los restos metálicos del $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}(\text{glicinato})]$ (CORM-3), la cisteína hace que la liberación

de CO sea más lenta que en el CORM-3 libre de micelas. Esta técnica de micelación la hizo por primera vez Hubbell y col. esta técnica tiene una difusión reducida. [Faizan *et al.*, (2019); Hasegawa *et al.*, (2010); Ling *et al.*, (2018)]

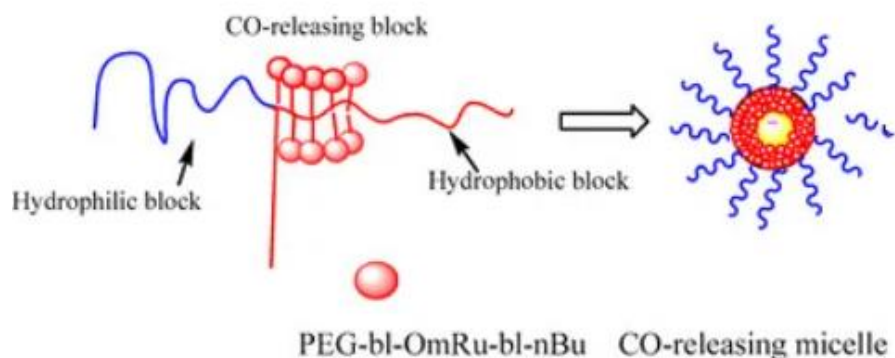


Figura 30. Copolímero tribloque. (Faizan *et al.*, (2019))

Hiroshi Maeda y *col.* (Yin *et al.*, (2014)) consiguieron encapsular el CORM-2 con el ácido estireno-maleico y un copolímero (SMA) (Figura 31) siendo soluble en agua y alargando su vida media hasta unas 35 veces más que el CORM-2 libre, y mejoraron su actividad terapéutica. (Faizan *et al.*, (2019))

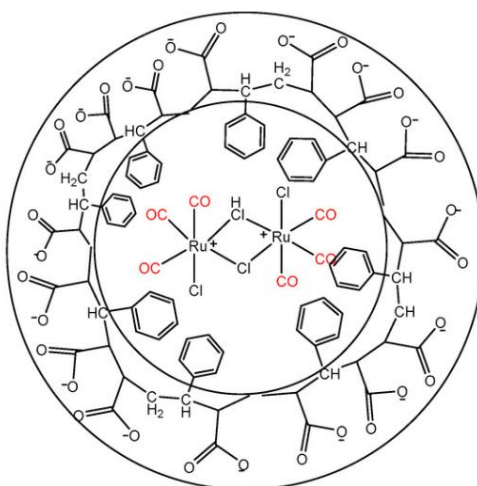


Figura 31. Encapsulamiento de CORM-2 en copolímero de ácido estireno-maleico (SMA).
(Faizan *et al.*, (2019))

Robert Igarashi y Yi Liao (Faizan *et al.*, (2019)) desarrollaron un foto-CORM basado en micelas por la encapsulación cíclica de α -dicetonas, la liberación de CO se lleva a cabo mediante la irradiación de luz visible, esto proporciona un gran avance terapéutico.

Cheng *et al.* han hecho investigaciones sobre CORM libres de metales que se autoensamblan en micelas superando su capacidad como antiinflamatorio y para la cicatrización de heridas cutáneas, a los CORM convencionales con carbonilos metálicos. (Cheng *et al.*, (2020))

- MOF (Metal Organic Framework)

Hay una clase de compuestos que están formados por una estructura de un polímero cristalino con nanoporos, que combina iones metálicos inorgánicos o grupos coordinados con polímeros orgánicos, que son cargados con gas CO, a estos compuestos se les llama MOF, "Metal Organic Framework". El monóxido de carbono es liberado tras la apertura o cierre de los poros del material de forma controlada mediante temperaturas altas. Esta clase de compuestos fueron sintetizados por Metzler-Nolte *et al.* [Kautz *et al.*, (2016); Ma *et al.*, (2013)]

Se ha conseguido encapsular también CORM en los poros de los MOF, como por ejemplo complejos carbonílicos de manganeso en MOF de circonio (IV), en los que la liberación se produce por una radiación.

Para la elaboración de un fármaco con esta estructura se debe tener en cuenta la biocompatibilidad de los fragmentos orgánicos e inorgánicos. (Ling *et al.*, (2018))

- Proteínas

Bernardes *y col.* (Chaves-Ferreira *et al.*, (2014)) consiguieron sintetizar complejos de proteínas de $Ru^{II}L_3(CO)_3$ haciendo reaccionar fragmentos de histidina de proteínas con CORM-3 (Figura 32).

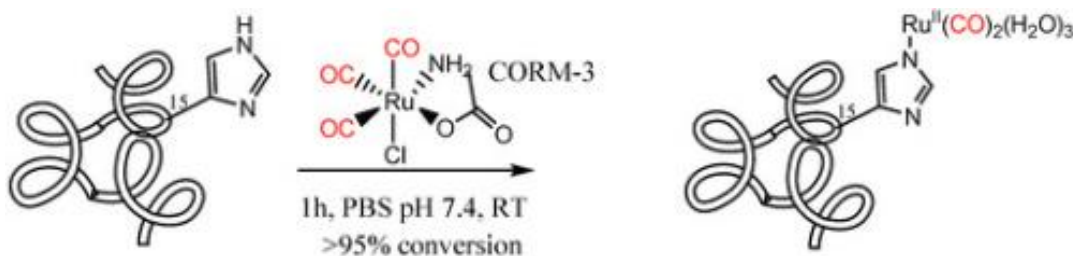


Figura 32. Muestra la reacción de una proteína por la His con el CORM-3. (Faizan *et al.*, (2019))

También se han conseguido hacer uniones de complejos carbonílicos de Ru (II) y la histidina (His) de metaloproteínas.

Takafumi Ueno *et al.* (Fujita *et al.*, (2014)) llevaron esto más allá y estudiaron jaulas de proteínas para la liberación de CO, mediante una jaula de la proteína ferritina (Fr) que encierra CORM-3, mejorándose el tiempo de vida media. (Faizan *et al.*, (2019)) Posteriormente, Susumu Kitagawa y col. (Tabe *et al.*, (2015)) consiguieron una estructura cristalina de proteínas con CORM-2, introdujeron los carbonilos de rutenio en hexahistidina. Este estudio es de gran interés para futuros estudios terapéuticos.

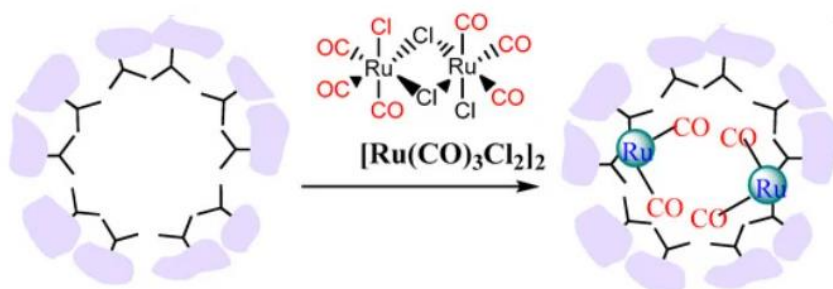


Figura 33. Jaula de ferritina con CORM-3. (Faizan *et al.*, (2019))

- Vitaminas

Hay estudios por parte de Anna Yu. Bogdanova y col. (Zobi *et al.*, (2011)) que unieron una estructura de cianocobalamina (B12) a complejos carbonílicos de Re(II), también consiguieron unir esta vitamina B12 a CORM-1 para aplicaciones farmacéuticas. La gran importancia de estos compuestos es que no son tóxicos los restos tras la liberación del CO.

5. CONCLUSIONES

A lo largo de los últimos años, han sido numerosos los trabajos realizados con el fin de estudiar las aplicaciones terapéuticas del monóxido de carbono debido a los efectos biológicos que presenta. Esto ha llevado a la búsqueda de moléculas liberadoras de CO (CORMs) que permitan administrarlo en las células y tejidos. Desde el año 2002 al 2020, han sido muchos los avances en el diseño, síntesis y evaluación de compuestos orgánicos e inorgánicos que permitan el uso de los mismos como fármacos. Teniendo en cuenta, las propiedades de la molécula en

sí, parece obvio que los compuestos con metales son la mejor opción, aunque el uso de metalofármacos frente a moléculas orgánicas no está muy extendido por la potencial toxicidad que pueden presentar los metales.

Por consiguiente, es necesario desarrollar fármacos que reúnan las siguientes características:

1. CORMs que permitan administraciones al paciente de forma oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, u otras vías.
2. Desarrollo de compuestos con monóxido de carbono “enjaulado” para que su liberación se produzca en el momento, en el lugar y a la velocidad adecuados.
3. Compuestos cuya citotoxicidad tanto *in vitro* como *in vivo* sea mínima o nula.

Existe, por tanto, un gran interés en el diseño y la síntesis de nuevas moléculas que contengan monóxido de carbono que permitan la liberación del mismo para convertirse en fármacos utilizados en terapias contra diversas enfermedades.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Albert, R., Ortner, K., Wheatley, N., Shibli, R., Shubiger, A.P. (2001). Synthesis and properties of boranocarbonate: a convenient in situ CO source for the aqueous preparation of $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$. *Journal of the American Chemical Society*, 123(13), 3135-3136. doi:[10.1021/ja003932b](https://doi.org/10.1021/ja003932b)
- Antony, L.A.P.; Slanina, T.; Sebej, P.; Solomek, T.; Klan, P. (2013). Fluorescein Analogue Xanthene-9-Carboxylic Acid: A Transition-Metal-Free CO Releasing Molecule Activated by Green Light. *Organic Letters*, 15(17), 4552-4555. doi:[10.1021/ol4021089](https://doi.org/10.1021/ol4021089)
- Bischof, C., Joshi, T., Dimri, A., Spiccia, L., Schatzschneider, U. (2013). Synthesis, Spectroscopic Properties, and Photoinduced CO-Release Studies of Functionalized Ruthenium(II) Polypyridyl Complexes: Versatile Building Blocks for Development of CORM–Peptide Nucleic Acid Bioconjugates. *Inorganic Chemistry*, 52(16), 9297-9308. doi:[10.1021/ic400746n](https://doi.org/10.1021/ic400746n)
- Boczkowski, J.; Poderoso, J.J.; Motterlini, R. (2006). CO–metal interaction: vital signaling from a lethal gas. *Trends in Biochemical Sciences*, 31(11), 614-621. doi:[10.1016/j.tibs.2006.09.001](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.09.001)

- Carmona, F.J.; Jiménez-Amezcu, I.; Rojas, S.; Romão, C.C.; Navarro, J.A.R.; Maldonado, C.R.; Barea, E. (2017). Aluminum Doped MCM-41 Nanoparticles as Platforms for the Dual Encapsulation of a CO-Releasing Molecule and Cisplatin. *Inorganic Chemistry*, 56(17), 10474-10480. doi:[10.1021/acs.inorgchem.7b01475](https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01475)
- Chakraborty, I., Carrington, S.J., Mascharak, P.K. (2014). Photodelivery of CO by designed PhotoCORMs: correlation between absorption in the visible region and metal-CO bond labilization in carbonyl complexes. *ChemMedChem*, 9(6), 1266-1274. doi:[10.1002 / cmdc.201402007](https://doi.org/10.1002/cmdc.201402007)
- Chaves-Ferreira, M., Albuquerque, I.S., Matak-Vinkovic, D., Coelho, A.C., Carvalho, S.M., Saraiva, L.M., Romão, C.C., Bernardes, G.J.L. (2014). Spontaneous CO Release from Ru^{II}(CO)₂–Protein Complexes in Aqueous Solution, Cells, and Mice. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(4). doi:[10.1002/anie.201409344](https://doi.org/10.1002/anie.201409344)
- Cheng, J.; Zheng, B.; Cheng, S.; G., Zhang; J., Hu. (2020). Metal-free carbon monoxide-releasing micelles undergo tandem photochemical reactions for cutaneous wound healing. *Chemical Science*, 11, 4499-4507. doi:[10.1039/D0SC00135J](https://doi.org/10.1039/D0SC00135J)
- Clark, J.E. , Naughton, P. , Shurey, S. , Green, C.J. , Johnson, T.R. , Mann, B.E. , Foresti, R. y Motterlini, R. (2003). Cardioprotective actions by a water-soluble carbon monoxide-releasing molecule. *Circulation Research*, e2-e8. doi:[10.1161/01.RES.0000084381.86567.08](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000084381.86567.08)
- Crespy, D., Landfester, K., Schubert, U. S., Schiller, A. (2010). Potential photoactivated metallopharmaceuticals: from active molecules to supported drugs. *Chemical Communications*, 46, 6651-6662. doi:[10.1039/C0CC01887B](https://doi.org/10.1039/C0CC01887B)
- Csongradi, E.; Juncos, L.A.; Drummond, H.A.; Vera, T.; Stec, D.E. (2012). Role of Carbon Monoxide in Kidney Function: Is a little Carbon Monoxide Good for the Kidney. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 819-826. doi:[10.2174/138920112800399284](https://doi.org/10.2174/138920112800399284)
- Desmard, M.; Amara, N.; Lanone, S.; Motterlini, R.; Boczkowski, J. (2005). Carbon monoxide reduces the expression and activity of matrix metalloproteinases 1 and 2 in alveolar epithelial cells. *Cellular and Molecular Biology*, 51(4), 403-408. Donal, J.A. (2016). Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research. En J. A. Donald, *Handbook of Hormones* (págs. 601-605). Elsevier BV. doi:[10.1016 / b978-0-12-801028-0.00103-3](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801028-0.00103-3)
- Dordelmann, G .; Meinhardt, T .; Sowik, T .; Krueger, A .; Schatzschneider, U. (2012). CuAAC click functionalization of azide-modified nanodiamond with

- a photoactivatable CO-releasing molecule (PhotoCORM) based on $[\text{Mn}(\text{CO})_3(\text{tpm})]^+$. *Chemical Communications*, 48, 11528-11530. doi:[10.1039/C2CC36491C](https://doi.org/10.1039/C2CC36491C)
- Fagone, P.; Mangano, K.; Coco, M.; Perciavalle, V.; Garotta, G.; Romao, CC.; Nicoletti, F. (2011). Therapeutic potential of carbon monoxide in multiple sclerosis. *Clinical & Experimental Immunology*, 167(2). doi:[10.1111/j.1365-2249.2011.04491.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04491.x)
- Faizan, M.; Muhammad, N.; Khan Niazi, K.U.; Hu, Y.; Wang, Y.; Wu, Y.; Sun, H.; Liu, R.; Dong, W.; Zhang, W.; Gao, Z. (2019). CO-Releasing Materials: An Emphasis on Therapeutic Implications, as Release and Subsequent Cytotoxicity Are the Part of Therapy. *Advanced Materials in Drug Release and Drug Delivery Systems*, 12(10), 1643. doi:[10.3390/ma12101643](https://doi.org/10.3390/ma12101643)
- Foresti, R., Hammad, J., Clark, J., Johnson, T., Mann, B., Friebe, A., Motterlini, R. (2009). Vasoactive properties of CORM-3, a novel water-soluble carbon monoxide-releasing molecule. *British Journal of Pharmacology*, 142(3). doi:[10.1038/sj.bjp.0705825](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705825)
- Fujita, K., Tanaka, Y., Sho, T., Ozeki, S., Abe, S., Hikage, T., Kuchimaru, T., Kizaka-Kondoh, S., Ueno, T. (2014). Intracellular CO Release from Composite of Ferritin and Ruthenium Carbonyl Complexes. *Journal of the America Chemical Society*, 136(48), 16902-16908. doi:[10.1021/ja508938f](https://doi.org/10.1021/ja508938f)
- Govender, P., Pai, S., Schatzschneider, U., Smith, G.S. (2013). Next Generation PhotoCORMs: Polynuclear Tricarbonylmanganese(I)-Functionalized Polypyridyl Metallodendrimers. *Inorganic Chemistry*, 52(9), 5470-5478. doi:[10.1021/ic400377k](https://doi.org/10.1021/ic400377k)
- Hasegawa, U., van der Vlies, A.J., Simeoni, E., Wandrey, C., Hubbell, J.A. (2010). Carbon Monoxide-Releasing Micelles for Immunotherapy. *Journal of the American Chemical Society*, 132(51), 18273–18280. doi:[10.1021/ja1075025](https://doi.org/10.1021/ja1075025)
- He, Q.; Kiesewetter, D.O.; Qu, Y.; Fu, X.; Fan, J.; Huang, P.; Liu, Y.; Zhu, G.; Liu, Y.; Qian, Z.; Chen, X. (2015). NIR-Responsive On-Demand Release of CO from Metal Carbonyl-Caged Graphene Oxide Nanomedicine. *Advanced Materials*, 27(42). doi:[10.1002/adma.201502762](https://doi.org/10.1002/adma.201502762)
- Heinemann, S.H.; Hoshi, T.; Westerhausen, M.; Schiller, A. (2014). Carbon monoxide – physiology, detection and controlled release. *Chemical Communications*, 50(28), 3644-3660. doi:[10.1039/C3CC49196J](https://doi.org/10.1039/C3CC49196J)
- Hostachy, S.; Policar, C.; Delsuc, N. (2017). Re (I) complejos de carbonilo: plataformas multimodales para biología química inorgánica. *Coordination Chemistry Reviews*, 351, 172-188. doi:[10.1016/j.ccr.2017.05.004](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.05.004)

- Ismailova, A.; Kuter, D.; Scott Bohle, D.; Butler, I.S. (2018). An Overview of the Potential Therapeutic Applications of CO-Releasing Molecules. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 23. doi:[10.1155/2018/8547364](https://doi.org/10.1155/2018/8547364)
- Johnoson, T.R., Mann, B.E., Teasdale, I.P., Adams, H., Foresti, R., Green, C.J., Motterlini, R. (2007). Metal carbonyls as pharmaceuticals? [Ru(CO)₃Cl(glycinate)], a CO-releasing molecule with an extensive aqueous solution chemistry. *Dalton Transactions*, 1500-1508. doi:[10.1039/B613629J](https://doi.org/10.1039/B613629J)
- Kautz, C. A., Kunz, P. C., & Janiak, C. (2016). CO-releasing molecule (CORM) conjugate systems. *Dalton Transactions*, 45, 18045-18063. doi:[10.1039 / C6DT03515A](https://doi.org/10.1039/C6DT03515A)
- Kim, H.H.; Choi, S. (2018). Therapeutic Aspects of Carbon Monoxide in Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2381. doi:[10.3390/ijms19082381](https://doi.org/10.3390/ijms19082381)
- Kluba, C., Mindt, T. (2013). Click-to-chelate: development of technetium and rhenium-tricarbonyl labeled radiopharmaceuticals. *Molecules*, 3206-3226. doi:[10.3390/molecules18033206](https://doi.org/10.3390/molecules18033206)
- Kourti, M.; Jiang, W.G.; Cai, J. (2017). Aspects of Carbon Monoxide in Form of CO-Releasing Molecules Used in Cancer Treatment: More Light on the Way. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 12. doi:[10.1155/2017/9326454](https://doi.org/10.1155/2017/9326454)
- Kretschmer, R.; Gessner, G.; Gorls, H.; Heinemann, S.H.; Westerhausen, M. (2011). Dicarboxyl-bis(cysteamine)iron(II): A light induced carbon monoxide releasing molecule based on iron (CORM-S1). *Journal of Inorganic Biochemistry*, 105(1), 6-9. doi:[10.1016/j.jinorgbio.2010.10.006](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.10.006)
- Ling, K.; Men, F.; Wang, Wei-Ci; Zhou, Ya-Qun; Zhang, Hao-Wen; Ye, Da-Wei. (2018). Carbon Monoxide and Its Controlled Release: Therapeutic Application, Detection, and Development of Carbon Monoxide Releasing Molecules (CORMs). *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(7), 2611-2635. doi:[10.1021/acs.jmedchem.6b01153](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01153)
- Lu, G., Hillier, S.M., Maresca, K.P., Zimmerman, C.N., Eckelman, W.C., Joyal, J.L., Babich, J.W. (2013). Synthesis and SAR of Novel Re/^{99m}Tc-Labeled Benzenesulfonamide Carbonic Anhydrase IX Inhibitors for Molecular Imaging of Tumor Hypoxia. *Journal Medicinal Chemistry*, 510-520. doi:[10.1021 / jm3015348](https://doi.org/10.1021/jm3015348)
- Ma, M., Noei, H., Mienert, B., Niesel, J., Bill, E., Muhler, M., Fischer, R.A., Wang, Y., Schatzschneider, U., Metzler-Nolte, N. (2013). Iron Metal–Organic Frameworks MIL-88B and NH₂-MIL-88B for the Loading and

- Delivery of the Gasotransmitter Carbon Monoxide. *Chemistry – A European Journal*, 19(21). doi:[10.1002/chem.201201743](https://doi.org/10.1002/chem.201201743)
- Mann, B.E. (2012). CO-Releasing Molecules: A Personal View. *Organometallics*, 31(16), 5728–5735. doi:[10.1021/om300364a](https://doi.org/10.1021/om300364a)
- Mann, B.E. (2010). Carbon Monoxide: An Essential Signalling Molecule. *Medicinal Organometallic Chemistry*, 32, 247-285. doi: [10.1007/978-3-642-13185-1_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13185-1_10)
- Marazioti, A.; Bucci, M.; Coletta, C.; Vellecco, V.; Baskaran, P.; Szabó, C.; Cirino, G.; Marques, A.R.; Guerreiro, B.; Gonçalves, A.M.L.; Seixas, J.D.; Beuve, A.; Romão, C.C.; Papapetropoulos, A. (2011). Inhibition of Nitric Oxide–Stimulated Vasorelaxation by Carbon Monoxide-Releasing Molecules. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2570-2576. doi:[10.1161/ATVBAHA.111.229039](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.229039)
- Metzler-Nolte, N.; Schatzschneider, U. (2009). Bioinorganic Chemistry: A Practical Course. Walter de Gruyter.
- Motterlini, R. (2007). Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): vasodilatory, anti-ischaemic and anti-inflammatory activities. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1142-1146. doi:[10.1042/BST0351142](https://doi.org/10.1042/BST0351142)
- Motterlini, R., Clark, J.E., Foresti, R., Sarathchandra, P., Mann, B.E. & Green, C.J. (2002). Carbon Monoxide-Releasing Molecules: Characterization of Biochemical and Vascular Activities. *Circ Res*, 90(2), 17-24. doi:[10.1161 / hh0202.104530](https://doi.org/10.1161/hh0202.104530)
- Motterlini, R.; Sawle, P.; Bains, S.; Hammad, J.; Alberto, R.; Foresti, R.; Green, C.J.C. (2004). CORM-A1: a new pharmacologically active carbon monoxide-releasing molecule. *The FASEB Journal*, 19(2). doi:[10.1096/fj.04-2169fie](https://doi.org/10.1096/fj.04-2169fie)
- Peng, P.; Wang, C.; Shi, Z.; Johns, V.K.; Ma, L.; Oyer, J.; Copic, A.; Igarashi, R.; Liao, Y. (2013). Visible-light activatable organic CO-releasing molecules (PhotoCORMs) that simultaneously generate fluorophores. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 11(39), 6671-6674. doi:[10.1039/C3OB41385C](https://doi.org/10.1039/C3OB41385C)
- Pfeiffer, H., Rojas, A., Niesel, J., Schatzschneider, U. (2009). Sonogashira and “Click” reactions for the N-terminal and side-chain functionalization of peptides with [Mn(CO)₃(tpm)]⁺-based CO releasing molecules (tpm = tris(pyrazolyl)methane). *Dalton Transactions*, 4292-4298. doi:[10.1039/B819091G](https://doi.org/10.1039/B819091G)
- Pfeiffer, H., Sowik, T., Schatzschneider, U. (2013). Bioorthogonal oxime ligation of a Mo(CO)₄(N–N) CO-releasing molecule (CORM) to a TGF β-binding

- peptide. *Journal of Organometallic Chemistry*, 734, 17-24. doi:[10.1016/j.jorganchem.2012.09.016](https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2012.09.016)
- Pierri, A.E, Pallaoro, A., Wu, G., Ford, P.C. (2010). A luminescent and biocompatible photoCORM. *Journal of the American Chemical Society*, 134(44), 18197-18200. doi:[10.1021/ja3084434](https://doi.org/10.1021/ja3084434)
- Rimmer, R.D., Pierri, A.E., Ford, P.C. (2012). Photochemically activated carbon monoxide release for biological targets. Toward developing air-stable photoCORMs labilized by visible light. *Coordination Chemistry Reviews*, 256(15-16), 1509-1519. doi:[10.1016/j.ccr.2011.12.009](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.12.009)
- Roberts, G.P., Youn,H., Kerby,R.L. (2004). CO-Sensing mechanisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(3), 453-473. doi:[10.1128/MMBR.68.3.453-473.2004](https://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.453-473.2004)
- Romão, C.C.; Blättler, W.A.; Seixas, J.D.; Bernardes, G.J.L. (2012). Developing drug molecules for therapy with carbon monoxide. *Chemical Society Reviews*, 41(9), 3571-3583. doi:[10.1039/C2CS15317C](https://doi.org/10.1039/C2CS15317C)
- Santos-Silva,T., Mukhopadhyay, A., Seixas, J.D., Bernardes, G.J.L., Romão, C.C., Romão, M.J. (2011). CORM-3 Reactivity toward Proteins: The Crystal Structure of a Ru(II) Dicarbonyl–Lysozyme Complex. *Journal of the American Chemical Society*, 133(5), 1192-1195. doi:[10.1021/ja108820s](https://doi.org/10.1021/ja108820s)
- Schatzschneider, U. (2010). Photoactivated Biological Activity of Transition-Metal Complexes. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2010(10), 1451-1467. doi:[10.1002/ejic.201000003](https://doi.org/10.1002/ejic.201000003)
- Schatzschneider, U. (2011). PhotoCORMs: Light-triggered release of carbon monoxide from the coordination sphere of transition metal complexes for biological applications. *Inorganica Chimica Acta*, 374(1), 19-23. doi:[10.1016/j.ica.2011.02.068](https://doi.org/10.1016/j.ica.2011.02.068)
- Schatzschneider, U. (2014). Novel lead structures and activation mechanisms for CO -releasing molecules (CORMs). *British Journal of Pharmacology*, 172(6). doi: [10.1111/bph.12688](https://doi.org/10.1111/bph.12688)
- Seixas, J.D., Mukhopadhyay, A., Santos-Silva, T., Otterbein, L.E., Gallo, D.J., Rodrigues, S.S., Gurerreiro,B.H., Goncalves, A.M.L., Penacho, N., Marques, A.R., Coelho, A.C., Reis, P.M., Romao, M.J., Romao,C.C. (2013). Characterization of a versatile organometallic pro-drug (CORM) for experimental CO based therapeutics. *Dalton Transactions*, 5985-5998. doi:[10.1039/C2DT32174B](https://doi.org/10.1039/C2DT32174B)

- Tabe, H .; Shimoi, T .; Fujita, K .; Abe, S .; Ijiri, H .; Tsujimoto, M .; Kuchimaru, T .; Kizaka-Kondo, S .; Mori, H .; Kitagawa, S . (2015). Design of a CO-releasing Extracellular Scaffold Using in Vivo Protein Crystals. *Chemistry Letters*, 44(3), 342-344. doi:[10.1246/cl.141035](https://doi.org/10.1246/cl.141035)
- Wareham, L.K.; Poole, R.K.; Tinajero-Trejo, M. (2015). CO releasing Metal Carbonyl Compounds as Antimicrobial Agents in the Post-antibiotic. *The Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18999-19007. doi:[10.1074/jbc.R115.642926](https://doi.org/10.1074/jbc.R115.642926)
- Yin, H., Fang, J., Liao, L., Nakamura, H., Maeda, H. (2014). Styrene-maleic acid copolymer-encapsulated CORM2, a water-soluble carbon monoxide (CO) donor with a constant CO-releasing property, exhibits therapeutic potential for inflammatory bowel disease. *Journal of Controlled Release*, 187, 14-21. doi:[10.1016/j.jconrel.2014.05.018](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.018)
- Zobi, F .; Blacque, O .; Jacobs, RA; Schaub, MC; Bogdanova, AY. (2011). 17 e⁻ rhenium dicarbonyl CO-releasing molecules on a cobalamin scaffold for biological application. *Dalton Transactions*, 41(2), 370-378. doi:[10.1039/C1DT10649J](https://doi.org/10.1039/C1DT10649J)
- Zobi, F., Degonda, A., Schaub, M.C., Bogdanova, A.Y. (2010). CO releasing properties and cytoprotective effect of cis-trans-[Re^{II}(CO)₂Br₂L₂]ⁿ complexes. *Inorganic Chemistry*, 49, 7313-7322. doi:[10.1021/ic100458j](https://doi.org/10.1021/ic100458j)