

Design, Synthese und funktionelle Evaluierung von CO-freisetzenden Molekülen, die durch Penicillin-G-Amidase als Modellprotease aktiviert werden**

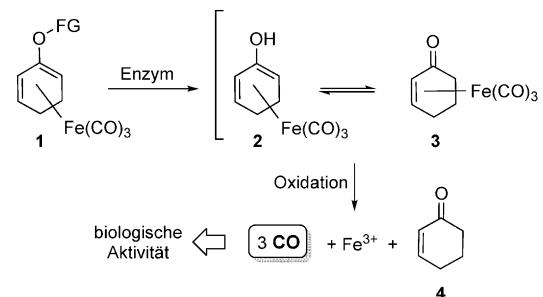
Nikolay S. Sitnikov, Yingchun Li, Danfeng Zhang, Benito Yard und Hans-Günther Schmalz*

Abstract: Wir berichten über die Entwicklung Protease-aktivierter Kohlenmonoxid-freisetzender Moleküle (CORMs). Die Tragfähigkeit des gewählten Konzeptes wurde durch die Synthese von Verbindungen belegt, bei denen eine η^4 -Oxydien-Fe(CO)₃-Substruktur mit einer durch Penicillin-G-Amidase (PGA) spaltbaren Einheit über einen „selbstlösenden“ Linker verknüpft ist. Die Geschwindigkeit der PGA-induzierten Hydrolyse wurde per HPLC und die nachfolgende CO-Freisetzung durch Headspace-GC bestimmt. Bei gemeinsamer Gabe eines unserer CORMs und PGA konnten die Inhibition der Entzündungsantwort sowie die Induktion der Expression von Hämoxigenase-1 in humanen Endothelzellen als typische biologische Effekte von CO in vitro nachgewiesen werden. Auf diese Weise wurde eine vielversprechende Basis für die zukünftige Entwicklung Protease-spezifischer CORMs für potenzielle klinische Anwendungen geschaffen.

Kohlenmonoxid (CO) wurde lange Zeit vor allem als ein toxisches Gas erachtet, das den Sauerstofftransport durch rote Blutzellen inhibiert. Erst im letzten Jahrzehnt erkannte man die essenzielle Rolle von CO als biologisches Signalmolekül, das im menschlichen Organismus endogen produziert wird – primär im Zuge des Abbaus von Häm durch das Enzym Hämoxigenase (HO-1).^[1] Als Folge seiner ausgeprägten (unter anderem entzündungshemmenden, cytoprotektiven und blutdrucksenkenden) Wirkung hat CO ein großes therapeutisches Potenzial.^[2] Allerdings verbietet sich der klinische Einsatz von CO-Gas aufgrund des hohen Toxizitätsrisikos und eines Mangels an Gewebeselektivität.^[2f,g] Zur Umgehung dieser Probleme bieten sich CO-freisetzende Moleküle (CORMs) an, die eine In-vivo-Verabreichung von CO ermöglichen.^[2a,3] Da die CO-Freisetzung aus CORMs der

ersten Generation, bei denen es sich überwiegend um Übergangsmetall-Carbonyl-Komplexe handelt, jedoch mehr oder weniger spontan durch Ligandenaustausch erfolgt, stellt die Suche nach CORMs, die eine kontrollierte In-vivo-Freisetzung von CO erlauben, eine Herausforderung dar. In diesem Zusammenhang seien photoaktivierte CORMs (Photo-CORMs)^[4] sowie pH-empfindliche CORMs^[5] erwähnt. Durch Konjugation von CORM-1 ($[\text{Mn}_2(\text{CO})_{10}]$) mit Vitamin B₁₂ gelang es Zobi und Mitarbeitern, ein Photo-CORM mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften herzustellen.^[6]

Einen neuartigen Ansatz für die Entwicklung gewebe- oder gar zellspezifischer CORMs eröffnen die von uns kürzlich eingeführten η^4 -Acyloxyhexadien-Fe(CO)₃-Komplexe, die ihre CO-Ladung erst nach Aktivierung durch ein hydrolytisches Enzym freisetzen (ET-CORMs).^[7] Der vorgeschlagene Mechanismus der CO-Freisetzung ist in Schema 1 gezeigt. Aus einem Dienylester-Komplex (z.B. des



Schema 1. Vorgeschlagener Aktivierungsmechanismus enzymaktivierter CO-freisetzender Moleküle (ET-CORMs) des Typs 1.

Typs 1; FG = Acyl) entsteht nach Spaltung durch eine Esterase zunächst eine äußerst labile Dienol-Fe(CO)₃-Zwischenstufe 2, die bereits unter milden oxidativen Bedingungen zerfällt, wobei neben einem Fe³⁺-Ion und dem Enonliganden 4 bis zu drei Moleküle CO entstehen.

Nachdem wir die Tragfähigkeit des ET-CORM-Konzeptes unter Verwendung von Esterasen/Lipasen oder Phosphatasen als Auslöser für die CO-Freisetzung belegt hatten,^[7] bestand eine besondere Herausforderung in der Entwicklung von ET-CORMs, die durch spezifische Proteasen (Peptidaseren) aktiviert werden. Denn solche Verbindungen sollten eine gezielte CO-Freisetzung in Geweben ermöglichen, in denen spezifische Proteasen überexprimiert werden.^[8] Tatsächlich sind verschiedene Krankheiten (wie Krebs, rheumatoide Arthritis sowie neurodegenerative und kardiovaskuläre Störungen), bei denen eine Hochregulation proteoly-

[*] Dr. N. S. Sitnikov, Prof. Dr. H.-G. Schmalz
Department für Chemie, Universität zu Köln
Greinstraße 4, 50939 Köln (Deutschland)
E-Mail: schmalz@uni-koeln.de

Dr. N. S. Sitnikov
Department of Organic Chemistry
Nizhni Novgorod State University
Gagarina av. 23, 603950 Nizhni Novgorod (Russland)
Y. Li, D. Zhang, Prof. Dr. B. Yard
Medizinische Klinik, Universitätsmedizin Mannheim
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3, 68167 Mannheim (Deutschland)

[**] Die Arbeit wurde durch die Universität zu Köln mit Mitteln aus dem DFG-Exzellenzprogramm (UoC-Forum) unterstützt. N.S. dankt der Alexander von Humboldt-Stiftung für ein Postdoktorandenstipendium.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201502445> zu finden.

tischer Enzyme zu verzeichnen ist,^[9] für eine CO-basierte Therapie prinzipiell geeignet.^[2b,f]

Die direkte Anbringung einer enzymspaltbaren Amidbindung an eine (amino-substituierte) Dien-Fe(CO)₃-Substruktur erschien uns aufgrund der schwierigen Synthese und der erwarteten Instabilität solcher Verbindungen wenig aussichtsreich. Da Proteasen im Vergleich zu Esterasen sehr substratspezifisch sind, befürchteten wir zudem, dass die räumliche Nähe zu der sperrigen und hydrophoben Organometalleinheit die hydrolytische Spaltung der Amidbindung beeinträchtigen könnte. Daher schlagen wir für Protease-aktivierte ET-CORMs eine allgemeine dreigliedrige Struktur vor, die aus 1) einer Peptidase-spezifischen Peptideinheit („Spezifikator“), 2) einem selbsteliminierenden Linker^[10] und 3) einer Oxydien-Fe(CO)₃-Einheit besteht (Abbildung 1). Nach enzymatischer Spaltung der spezifizier-

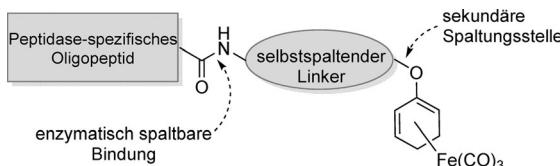


Abbildung 1. Allgemeines Design Protease-aktivierter ET-CORMs.

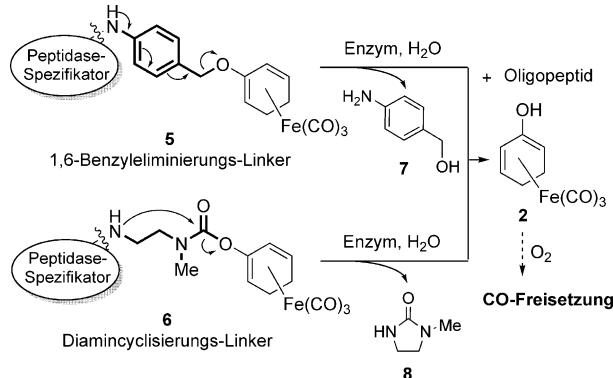
ten Peptidbindung und spontaner Eliminierung des Linkers würde die oxidative Zersetzung der entstehenden Dienol-Fe(CO)₃-Zwischenstufe (z. B. 2) dann zur Freisetzung von CO führen. Neben der Möglichkeit, verschiedene Spezifikatoren einzusetzen, bietet diese Architektur auch den Vorteil, die CO-Freisetzungskinetik durch Variation sowohl des Linkers als auch der Dien-Fe(CO)₃-Einheit fein abstimmen zu können. Durch die Separierung der enzymatisch spaltbaren Bindung von der metallorganischen CORM-Einheit sollte der enzymatische Hydrolyseschritt relativ ungestört verlaufen und eine etwaige kinetische Racematspaltung des „racemischen“ Eisenkomplexes unterdrückt werden. Somit bestünde auch keine Notwendigkeit, die absolute Konfiguration der planar-chiralen Dien-Fe(CO)₃-Einheit zu kontrollieren.

Für die das Konzept belegenden Studien, über die wir hier berichten, wählten wir einen *p*-Aminobenzyl(PABA)-^[11] und einen „Diamin-“^[12]Linker, die sich sowohl im Mechanismus der Selbstspaltung (Eliminierung bzw. Cyclisierung) als auch in der funktionellen Gruppe (Ether bzw. Carbamat) unterscheiden, mit der die Oxydien-Fe(CO)₃-Einheit angebunden ist (Schema 2).

Als Modell-Protease wählten wir Penicillin-G-Amidase (PGA), die Phenylacetamid-Gruppen verlässlich erkennt und spaltet.^[13] Gemäß dieser Überlegungen wurden vier Verbindungen (**rac-9** bis **rac-12**) entworfen, die den Oxsy-substituenten entweder an der „äußersten“ oder der „inneren“ Position der Dien-Fe(CO)₃-Einheit tragen (Abbildung 2).

Zunächst wurden die beiden isomeren TIPS-geschützten (Dienol)Fe(CO)₃-Bausteine **rac-13** und **rac-14** aus Cyclohexenon (**4**) nach bekannten Vorschriften hergestellt (Schema 3).^[7c]

Die Synthese von **rac-9** begann mit der Umsetzung von *p*-Aminobenzylalkohol (**7**) zum Phenylacetamid **15** und weiter



Schema 2. Allgemeine Strukturen und Spaltungswege Peptidase-aktivierter ET-CORMs auf Basis selbsteliminierender Linker.

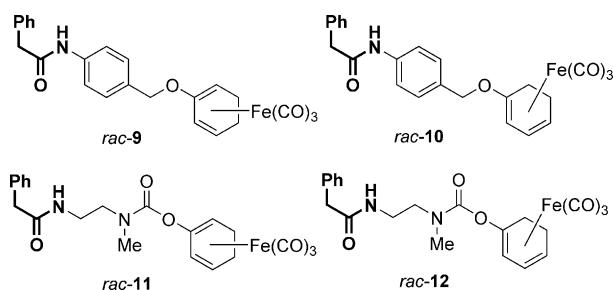
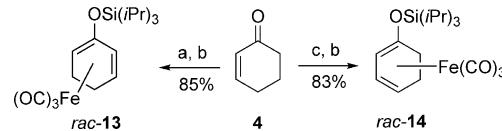
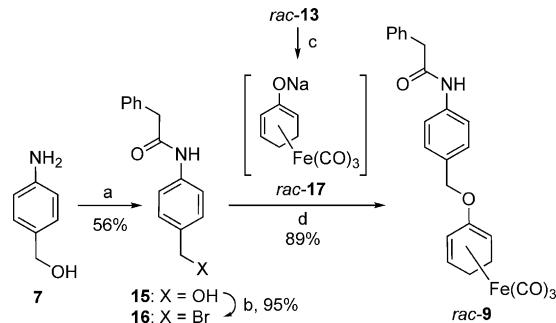


Abbildung 2. Zielkomplexe **rac-9** bis **rac-12** mit einer durch Penicillin-G-Amidase (PGA) spaltbaren Phenylacetamidgruppe.



Schema 3. Synthese der Ausgangskomplexe **rac-13** und **rac-14** gemäß Lit. [7c]. a) LDA, THF, -78°C , 1 h; dann $(i\text{Pr})_3\text{SiOTf}$, -78°C bis RT, 1 h. b) $[\text{Fe}_2(\text{CO})_9]$, Et_2O , Rückfluss, 16 h. c) LiHMDS, TPPA, THF, -78°C , 1 h; dann $(i\text{Pr})_3\text{SiOTf}$, -78°C bis RT, 1 h. LDA = Lithiumdiisopropylamid, LiHMDS = Lithiumhexamethyldisilazan, TPPA = Tripyrroldinophosphorsäuretriamid.

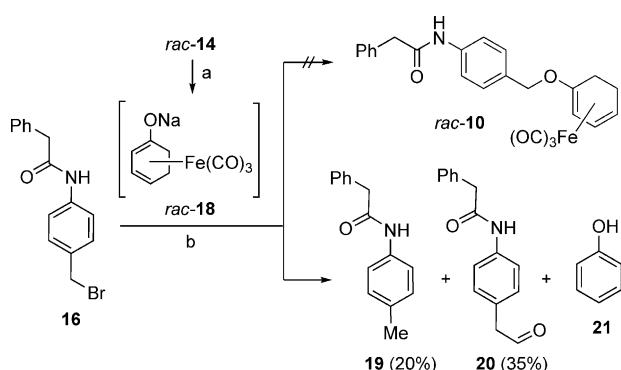
zum Bromid **16** unter Corey-Kim-Bedingungen^[14] (Schema 4). Die Reaktion des aufgereinigten Bromides **16** mit dem (Dienolat)Fe(CO)₃-Komplex **rac-17**, der aus **rac-13**



Schema 4. Synthese von **rac-9**. a) Phenylessigsäurechlorid, Pyridin, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (8:1, v/v), RT, 12 h. b) NBS, Me_2S , CH_2Cl_2 , 0°C bis RT, 12 h. c) TBAF, NaH, THF, 0°C , 10 min. d) THF, 0°C bis RT, 1 h. NBS = N-Bromsuccinimid; TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid.

mit TBAF/NaH in THF *in situ* hergestellt wurde, lieferte dann problemlos **rac-9**.

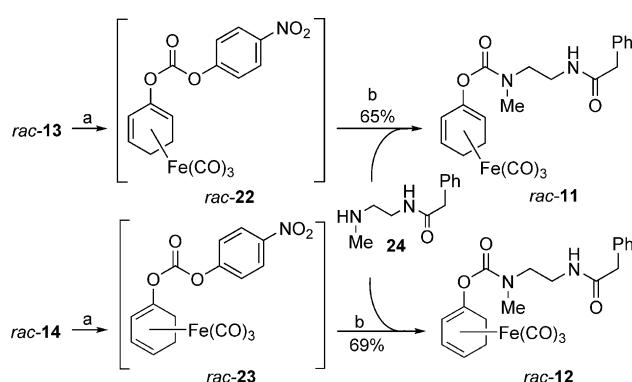
Der Versuch, die zweite Zielstruktur (**rac-10**) auf analoge Weise herzustellen, misslang. So lieferte die Umsetzung von **16** mit dem (*in situ* aus **rac-14** erzeugten) Dienolat-Komplex **rac-18** lediglich die Produkte **19–21**, während **rac-10** nicht einmal in Spuren isoliert werden konnte (Schema 5). Auch



Schema 5. Versuchte Synthese von **rac-10**. a) TBAF, NaH, THF, 0°C, 10 min. b) THF, 0°C bis RT, 24 h.

mit anderen Elektrophilen (wie dem aus **15** hergestellten Mesylat oder Trichloracetimidat) oder in Gegenwart von TPPA als Kosolvens gelang die Synthese von **rac-10** nicht.^[15]

Daher richteten wir unsere Aufmerksamkeit auf die Synthese der Carbamat-Zielverbindungen **rac-11** und **rac-12**. Hierfür setzten wir *N*-Methylethylendiamin zunächst mit Phenylsäuremethylester in Gegenwart von 1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en regioselektiv zum monoacylierten Produkt **24** um.^[16] Die Zielkomplexe **rac-11** und **rac-12** wurden dann durch Reaktion von **24** mit den gemischten Carbonaten **rac-22** bzw. **rac-23** erhalten, die aus **rac-13** bzw. **rac-14**, durch Desilylierung mit TBAF und Abspaltung des *in situ* gebildeten Dienolates mit Chlorameisensäure-*p*-nitrophenylester gewonnen wurden. Auf diese Weise konnten beide Verbindungen (**rac-11** und **rac-12**) in guten Ausbeuten über eine dreistufige Eintopfprozedur erhalten werden (Schema 6).



Schema 6. Synthese der Komplexe **rac-11** und **rac-12**. a) TBAF, THF, 0°C, 10 min; dann Chlorameisensäure-*p*-nitrophenylester, 0°C, 40 min. b) THF, Pyridin, 0°C bis RT, 12 h.

Im Sinne des eigentlichen Projektziels galt es nun, die PGA-induzierte CO-Freisetzung aus den hergestellten Verbindungen (**rac-9**, **rac-11** und **rac-12**) zu untersuchen. Man beachte, dass die enzyminitiierte Reaktionskaskade drei Stufen umfasst, die alle zur Gesamtgeschwindigkeit der CO-Freisetzung beitragen sollten. Dies sind 1) die enzymatische Hydrolyse der Phenylacetamideinheit, 2) die Selbsteliminierung des Linkers und 3) die oxidationsinduzierte Zersetzung der resultierenden Dienol-Fe(CO)₃-Zwischenstufe, bei der schließlich CO frei wird.

Die Geschwindigkeit der PGA-vermittelten Hydrolyse von **rac-9**, **rac-11** bzw. **rac-12** und der nachfolgenden Selbstabspaltung des Linkers wurden mittels RP-HPLC analysiert. Zu diesem Zweck wurde eine Lösung der zu untersuchenden Verbindung (1 µmol) und PGA (4 µL für **rac-9**; 2 µL für **rac-11** und **rac-12**) in DMSO (100 µL) bei 37°C zu entgastem Sorensen-Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.8, 1.9 mL) gegeben und die Mischung 24 h lang gerührt, während ab und zu Proben entnommen und vermessen wurden. Durch Kontrollexperimente wurde sichergestellt, dass in Abwesenheit des Enzyms unter ansonsten gleichen Bedingungen keine der Verbindungen innerhalb von 24 h (auch nicht partiell) hydrolysiert wird. Im Fall von **rac-9** wurden in Gegenwart von PGA (unter nichtoxidativen Bedingungen) drei Signale beobachtet, die dem Startmaterial (**rac-9**), der deacylierten Zwischenstufe **rac-25** und dem Dienol-Fe(CO)₃-Komplex **rac-2** entsprachen (Abbildung 3). Dies ermöglichte es uns, wie in Abbildung 4 gezeigt, die Konzentrationsänderung aller drei Spezies zeitaufgelöst zu verfolgen. Die Halbwertszeit von **rac-9** betrug unter diesen Bedingungen 5 h.

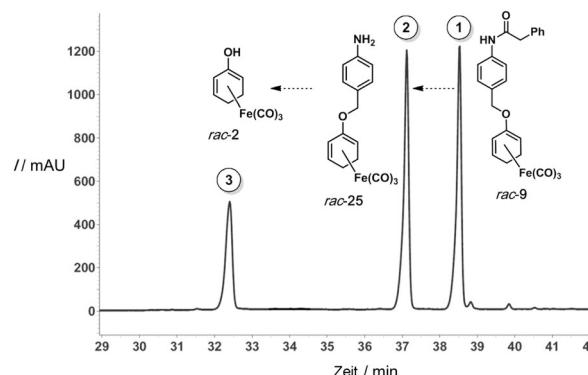


Abbildung 3. HPLC-Chromatogramm der PGA-induzierten Spaltung von **rac-9** nach Inkubation für 6 h. Die Signale 1, 2 und 3 entsprechen den Verbindungen **rac-9**, **rac-25** bzw. **rac-2**.

Wie aus Abbildung 4 hervorgeht, erfolgen die enzymatische Hydrolyse von **rac-9** und die nachfolgende Abspaltung des Linkers vergleichbar schnell und tragen somit beide zur Geschwindigkeit der Bildung von **rac-2** aus **rac-9** bei. Angemerkt sei, dass HPLC-Messungen unter Verwendung einer chiralen stationären Phase nur eine minimale kinetische Racematspaltung während der enzymatischen Hydrolyse von **rac-9** anzeigen, mit einem Maximum von $\leq 6\%$ ee (9/ent-9) nach ca. 1 h.

Im Gegensatz zu **rac-9** erfolgen im Fall der Verbindungen **rac-11** und **rac-12** unter den Standardbedingungen sowohl die

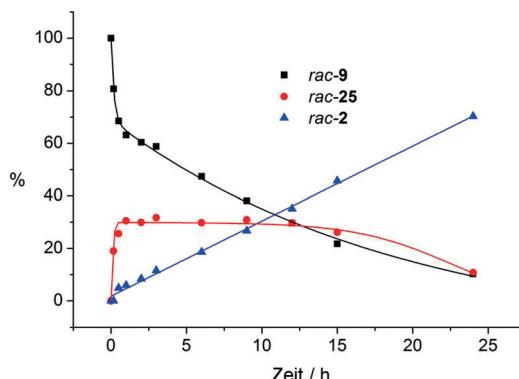


Abbildung 4. Zeitlicher Verlauf der PGA-katalysierten Hydrolyse und der Abspaltung des Linkers für Verbindung **rac-9**, bestimmt durch RP-HPLC.

PGA-vermittelte Hydrolyse als auch die nachfolgende Abspaltung des Linkers sehr schnell. So wurde für diese beiden Substrate innerhalb von 10 min eine vollständige Umsetzung zu **rac-2** (bzw. dem entsprechenden Regioisomer) beobachtet, und es konnte im HPLC keine Zwischenstufe detektiert werden. Die mit der Spaltung der Amidbindung einhergehende CO-Freisetzung aus **rac-9**, **rac-11** und **rac-12** wurde mittels Headspace-GC quantitativ bestimmt (für Details einschließlich der Kalibrierung, siehe die Hintergrundinformationen). Um für die GC-Messungen ausreichende CO-Konzentrationen in der Gasphase zu gewährleisten mussten die Reaktionen bei höheren Konzentrationen durchgeführt werden. So wurde ein 10 mL GC-Gläschen mit Sorensen-Phosphatpuffer (50 mM, pH 7.8, 1.9 mL) bei 37°C vorgelegt, mit einer Lösung der zu untersuchenden Verbindung (10 μ mol) in DMSO (100 μ L) sowie mit PGA (40 μ L für **rac-9** bzw. 20 μ L für **rac-11** oder **rac-12**) versetzt, bevor das Gläschchen mit einem Gummiseptum verschlossen und die Mischung bei 37°C für 96 h gerührt wurde, während aus dem Gasraum von Zeit zu Zeit Proben gezogen wurden.

Die PGA-induzierte CO-Freisetzung konnte für alle drei Substrate (auch bei den hohen Konzentrationen) klar nachgewiesen werden, während Kontrollexperimente belegten, dass in Abwesenheit des Enzyms keinerlei CO entsteht. Interessanterweise erfolgt die CO-Freisetzung aus **rac-9** im Vergleich zu **rac-11** und **rac-12**, d.h. den Substraten mit einem Diamin-Linker, unter diesen Bedingungen relativ langsam (Abbildung 5).

Nachdem wir die Eignung von **rac-9**, **rac-11** und **rac-12** als PGA-aktivierte CO-freisetzende Moleküle im Grundsatz belegt hatten, stellte sich die Frage, ob die Verbindungen auch *in vitro* (in Gegenwart von PGA) die für CO typischen biologischen Effekte zeigen. Zu diesem Zweck wurden HUVEC-Zellen („human umbilical vein endothelial cells“) mit dem pro-inflammatorischen Cytokin TNF- α stimuliert. Mittels Western-Blot-Analyse wurde dann geprüft, ob die Expression von VCAM-1 („vascular cell adhesion molecule-1“) bzw. von HO-1 („heme oxygenase-1“) durch **rac-9** (12.5 μ L) verändert wird, in Abhängigkeit von der Gegenwart von PGA als auslösendes Enzym (Abbildung 6).^[17]

Wie Abbildung 6 klar belegt, werden die für CO typischen Effekte, d.h. die Inhibition der VCAM-1-Expression und die

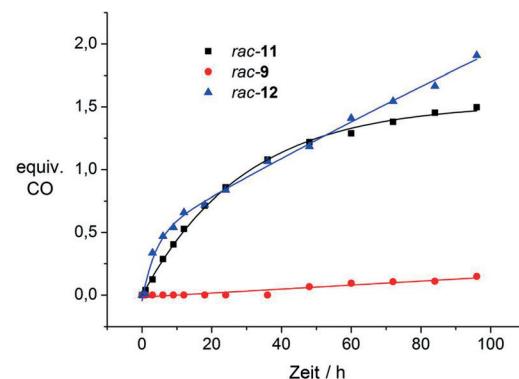


Abbildung 5. Zeitlicher Verlauf der PGA-induzierten CO-Freisetzung aus **rac-9**, **rac-11** und **rac-12**, bestimmt durch Headspace-Gaschromatographie.

TNF- α	-	+	+	+
PGA	-	-	+	-
rac-9	-	-	+	+
VCAM-1				
HO-1				
actin				

Abbildung 6. Western-Blot-Analyse der VCAM-1- bzw. HO-1-Expression in HUVEC-Zellen, in Gegenwart (+) oder Abwesenheit (−) von TNF- α (50 ng mL^{-1}), PGA (1 U mL^{-1} ; ca. 3 nM) und **rac-9** (12.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) nach einer Inkubationszeit von 24 h. Als Standard zur Kontrolle der Proteinmengen diente β -Actin.

Induktion von HO-1 nur beobachtet, wenn sowohl **rac-9** als auch PGA anwesend sind, während die Kontrollen (mit TNF- α alleine oder mit TNF- α und **rac-9** in Abwesenheit von PGA) eine normale Entzündungsantwort anzeigen. Es sei angemerkt, dass **rac-9** bei den verwendeten Konzentrationen gegenüber HUVEC-Zellen keine signifikante Cytotoxizität aufweist ($\text{EC}_{50} > 50 \mu\text{M}$).

Mit dem Ziel der Entwicklung Protease-aktivierter CORMs haben wir eine Reihe von Oxydien-Fe(CO)₃-Komplexen entworfen und synthetisiert, bei denen eine PGA-spaltbare Seitenkette über einen selbsteliminierenden Linker mit der metallorganischen Einheit verknüpft ist. Wir konnten weiterhin zeigen, dass diese Modellsubstrate nach PGA-induzierter Hydrolyse der Amidbindung wie erhofft unter CO-Freisetzung (oxidativ) zerfallen. Für **rac-9** ließ sich die PGA-induzierte CO-Freisetzung ferner in einem zellulären Assay eindeutig nachweisen. So wurde die grundsätzliche Tragfähigkeit des Konzeptes belegt, und wir sind optimistisch in zukünftigen Arbeiten neue enzymaktivierte CO-freisetzende Moleküle (ET-CORMs) mit komplexeren Peptid-Spezifität-Einheiten entwickeln zu können, die selektiv von krankheitsrelevanten Proteasen gespalten werden und somit eine gewebespezifische CO-Freisetzung ermöglichen. Dabei könnten auch andere Linker (z.B. längere Diaminlinker^[18] oder substituierte PABA-Gruppen^[19]) zur Optimierung der

CO-Freisetzungsgeschwindigkeit und anderer pharmakologischer Eigenschaften zum Einsatz kommen.

Stichwörter: Carbonylkomplexe · Eisen · Enzymkatalyse · Kohlenmonoxid · Metallorganische Verbindungen

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12314–12318
Angew. Chem. **2015**, *127*, 12489–12493

- [1] a) R. Motterlini, R. Foresti, *Antioxid. Redox Signaling* **2014**, *20*, 1810–1826; b) P. A. Dennery, *Antioxid. Redox Signaling* **2014**, *20*, 1743–1753; c) S. W. Ryter, J. Alam, A. M. K. Choi, *Physiol. Rev.* **2006**, *86*, 583–650; d) M. D. Maines, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1997**, *37*, 517–554.
- [2] a) S. H. Heinemann, T. Hoshii, M. Westerhausen, A. Schiller, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 3644–3660; b) L. Rochette, Y. Cottin, M. Zeller, C. Vergely, *Pharmacol. Ther.* **2013**, *137*, 133–152; c) F. Gullotta, A. di Masi, P. Ascenzi, *Iubmb Life* **2012**, *64*, 378–386; d) S. Ghosh, J. Gal, N. Marcin, *Ann. Med.* **2010**, *42*, 1–12; e) B. E. Mann, *Top. Organomet. Chem.* **2010**, *32*, 247–285; f) R. Motterlini, L. E. Otterbein, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2010**, *9*, 728–743; g) R. Foresti, M. G. Bani-Hani, R. Motterlini, *Intensive Care Med.* **2008**, *34*, 649–658; h) L. Y. Wu, R. Wang, *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 585–630.
- [3] a) S. García-Gallego, G. J. L. Bernardes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 9712–9721; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 9868–9877; b) F. Zobi, *Future Med. Chem.* **2013**, *5*, 175–188; c) C. C. Romão, W. A. Blaettler, J. D. Seixas, G. J. L. Bernardes, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3571–3583; d) B. E. Mann, *Organometallics* **2012**, *31*, 5728–5735; e) M. J. Alcaraz, M. I. Guillen, M. L. Ferrandiz, J. Megias, R. Motterlini, *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 465–472; f) R. Alberto, R. Motterlini, *Dalton Trans.* **2007**, 1651–1660.
- [4] a) M. A. Gonzales, P. K. Mascharak, *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *133*, 127–135; b) U. Schatzschneider, *Inorg. Chim. Acta* **2011**, *374*, 19–23.
- [5] T. S. Pitchumony, B. Spingler, R. Motterlini, R. Alberto, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 4849–4854.
- [6] F. Zobi, L. Quaroni, G. Santoro, T. Zlateva, O. Blacque, B. Safarimov, M. C. Schaub, A. Y. Bogdanova, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6719–6731.
- [7] a) S. Romanski, B. Kraus, U. Schatzschneider, J.-M. Neudoerfl, S. Amslinger, H.-G. Schmalz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2392–2396; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 2440–2444; b) S. Romanski, H. Ruecker, E. Stamellou, M. Guttentag, J.-M. Neudoerfl, R. Alberto, S. Amslinger, B. Yard, H.-G. Schmalz, *Organometallics* **2012**, *31*, 5800–5809; c) S. Romanski, B. Kraus, M. Guttentag, W. Schlundt, H. Ruecker, A. Adler, J.-M. Neudoerfl, R. Alberto, S. Amslinger, H.-G. Schmalz, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 13862–13875; d) S. Romanski, E. Stamellou, J. T. Jaraba, D. Storz, B. K. Kraemer, M. Hafner, S. Amslinger, H.-G. Schmalz, B. A. Yard, *Free Radical Biol. Med.* **2013**, *65*, 78–88; e) E. Stamellou, D. Storz, S. Bovot, E. Ntasis, J. Wedel, S. Sollazzo, B. K. Kramer, W. van Son, M. Seelen, H.-G. Schmalz, A. Schmidt, M. Hafner, B. A. Yard, *Redox Biol.* **2014**, *2*, 739–748.
- [8] a) K. Y. Choi, M. Swierczewska, S. Lee, X. Chen, *Theranostics* **2012**, *2*, 156–178; b) U. H. Weidle, G. Tiefenthaler, G. Georges, *Cancer Genomics Proteomics* **2014**, *11*, 67–79; c) D. Gabriel, M. F. Zuluaga, H. van den Bergh, R. Gurny, N. Lange, *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1785–1805.
- [9] C. Lopez-Otin, J. S. Bond, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 30433–30437.
- [10] a) F. Kratz, I. A. Muller, C. Ryppa, A. Warnecke, *ChemMed-Chem* **2008**, *3*, 20–53; b) Y. Meyer, J.-A. Richard, B. Delest, P. Noack, P.-Y. Renard, A. Romieu, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1777–1780.
- [11] a) P. L. Carl, P. K. Chakravarty, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 479–480; b) J. A. Richard, Y. Meyer, V. Jolivel, M. Massonneau, R. Dumeunier, D. Vaudry, H. Vaudry, P. Y. Renard, A. Romieu, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1707–1718; c) J. A. Richard, L. Jean, C. Schenkels, M. Massonneau, A. Romieu, P. Y. Renard, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2941–2957.
- [12] W. S. Saari, J. E. Schwering, P. A. Lyle, S. J. Smith, E. L. Engelhardt, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 97–101.
- [13] a) A. K. Chandel, L. V. Rao, M. L. Narasu, O. V. Singh, *Enzyme Microb. Technol.* **2008**, *42*, 199–207.
- [14] E. J. Corey, C. U. Kim, M. Takeda, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 4339–4342.
- [15] Eine mechanistische Erklärung dieses Ergebnisses wird in den Hintergrundinformationen gegeben.
- [16] C. Sabot, K. A. Kumar, S. Meunier, C. Mioskowski, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3863–3866.
- [17] Obwohl aus **rac-11** und **rac-12** eine schnelle PGA-induzierte CO-Freisetzung erfolgt (nachgewiesen durch Headspace-GC) ergaben erste Versuche mit Endothelzellen, dass diese Verbindungen die VCAM-1-Expression in einer nur zum Teil PGA-abhängigen Weise inhibieren. Da wir den Grund für dieses unerwartete Verhalten (noch) nicht kennen, beschränken wir die Diskussion hier auf Verbindung **rac-9**, bei der die charakteristischen biologischen Effekte des freigesetzten Kohlenmonoxids ausschließlich nach Zugabe von PGA auftreten.
- [18] F. M. H. de Groot, W. J. Loos, R. Koekkoek, L. W. A. van Berkom, G. F. Busscher, A. E. Seelen, C. Albrecht, P. de Brujin, H. W. Scheeren, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8815–8830.
- [19] K. M. Schmid, L. Jensen, S. T. Phillips, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 4363–4374.

Eingegangen am 16. März 2015,
veränderte Fassung am 24. April 2015
Online veröffentlicht am 2. Juni 2015