

**New enzyme-triggered CO-releasing molecules
as potential biologically active agents**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von

Bernhard Markus Krause

aus Köln

Köln 2022

Berichtersteller:

Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz

Prof. 'in Dr. Ines Neundorf

Prof. Dr. Philipp Heretsch

Tag der mündlichen Prüfung:

21.10.2022

“Nothing shocks me. I’m a scientist.”

(Indiana Jones – Temple of Doom)

Abstract

In recent years, carbon monoxide (CO) has increasingly emerged as a cell-protective and beneficial therapeutic agent. However, the application and delivery of CO is still challenging due to its rapidly toxic properties at elevated concentrations. Various concepts for a targeted and dosed application have been developed in the past.

In this dissertation, the concept of enzyme-triggered CO-releasing molecules (ET-CORMs) was exploited and extended by developing potential antibiotic agents to overcome antibacterial resistance. For this purpose, starting from commercially available 6-aminopenicillanic acid, a reliable and efficient 7-step stereoselective synthesis was developed to ensure access to corresponding penicillin-conjugated ET-CORM (PenET-CORM) prodrugs. The release of the actual ET-CORM was successfully confirmed in a model study. Moreover, penicillin-conjugates with fluorescent probes were prepared to allow for an investigation of a CO release mechanism from these PenET-CORMs.

Furthermore, ET-CORM conjugates with the ketoacid phenylpyruvate and the immunometabolite itaconate were successfully synthesised and characterised with regard to their CO release kinetics. For the latter, highly beneficial anti-inflammatory properties were found in biological studies.

Kurzzusammenfassung

In den vergangenen Jahren hat sich Kohlenmonoxid zunehmend als zellschützendes und nützliches Therapeutikum herauskristallisiert. Die Anwendung und Darreichung von CO stellt jedoch aufgrund seiner schnell toxischen Eigenschaften in erhöhten Konzentrationen nach wie vor eine Herausforderung dar. Für eine gezielte und dosierte Anwendung wurden in der Vergangenheit verschiedene Konzepte entwickelt.

In der vorliegenden Dissertation wurde das Konzept der Enzym-aktivierten CO-freisetzenden Moleküle (ET-CORMs) ausgenutzt und erweitert, um potenziell antibiotische Wirkstoffe zu entwickeln. Dazu wurde ausgehend von der kommerziell erwerblichen 6-APA eine 7-stufige zuverlässige und effiziente Synthese entwickelt, um den Zugang zu entsprechenden Penicillin-konjugierten ET-CORM Prodrugs zu gewährleisten. Die Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Prodrug wurde in einer Modellstudie erfolgreich bestätigt. Außerdem wurden Penicillin-Derivate mit fluoreszierenden Eigenschaften synthetisiert, um den möglichen Mechanismus einer CO-Freisetzung dieser PenET-CORMs zu untersuchen.

Des Weiteren wurden Phenylpyruvat- und Itaconat-konjugierte ET-CORMs erfolgreich synthetisiert und hinsichtlich ihrer CO-Freisetzungskinetik charakterisiert. Für letztere konnten im Rahmen von biologischen Studien starke entzündungshemmende Eigenschaften festgestellt werden.