

strukturen schwanken zwischen 103 und 114°, die entsprechenden O...O-Abstände zwischen 3.14 und 3.22 Å. Die äußere Oberfläche des molekularen Rezeptors hat die Form eines Diskus von ca. 15 Å Durchmesser und einer Dicke von ca. 9 Å. Der Innenraum hat in der σ_h -Ebene einen Durchmesser von ca. 6 Å. Die Durchmesser der durch die Sauerstoffatome begrenzten Öffnungen betragen ca. 2.5 Å. Der Einschluß eines HNO₃-Moleküls oder eines NO₃⁻-Ions im Hohlraum von **2** zeigt, daß die Öffnungen sich weiten können, um einem Gastmolekül den Durchtritt zu ermöglichen. Auf welche Art und Weise die Bindung von HNO₃ oder NO₃⁻ an das Rezeptorinnere erfolgt, ist noch nicht eindeutig geklärt. Gewisse Hinweise ergeben sich jedoch aus den kurzen Abständen (2.82 und 2.85 Å) zwischen zwei der drei (H)NO₃-Sauerstoffatome und einem Sauerstoff- bzw. Kohlenstoffatom zweier Carbonylgruppen. Während der O-O-Abstand aus einer Art Wasserstoffbrückenbindung resultieren könnte, wäre der O-C-Abstand auf elektrostatische Wechselwirkungen zurückzuführen.

Aus der Tatsache, daß Decamethylcucurbit[5]uril **2**^[10] durch Selbstassoziation^[6] hergestellt sowie isoliert und vollständig charakterisiert werden konnte, und in Kenntnis des bereits früher charakterisierten, aus Glycoluril und Formaldehyd gebildeten, cyclischen Hexamers, erwächst die Aussicht, eine ganze Familie von Cucurbituril-Rezeptoren herstellen zu können.

Experimentelles

2: Dimethylglycoluril **1** (4 g, 23 mmol), 37proz. wäßrige Formaldehydlösung (8 mL), konzentrierte Salzsäure (16 mL) und Wasser (5 mL) wurden 2 h unter Rückfluß erhitzt. Dann wurde Wasser (70 mL) zugegeben und die dunkelrote Lösung eine weitere Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach langsamem Abkühlen wurde der gebildete Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. **2** wurde dabei als weißer Feststoff erhalten. Ausbeute 750 mg (16%). Fp > 280 °C; Positiv-Ionen-FAB-MS: m/z 971 ($[M + H]^+$), 989 ($[M + H_2O]^+$), 1009 ($[M + K]^+$); ¹H-NMR (300 MHz, CF₃CO₂D): δ = 1.99 (s, 30H), 4.61 (d, ² J = 16 Hz, 10H), 6.04 (d, ² J = 16 Hz, 10H); ¹³C-NMR (75 MHz, CF₃CO₂D): δ = 16.9, 44.1, 78.3, 156.3. Für eine Röntgenstrukturanalyse geeignete Einkristalle wurden aus einer Lösung von **2** in verdünnter HNO₃ durch langsames Verdampfen über einen Zeitraum von zwölf Monaten (!) erhalten.

Eingegangen am 11. Juli 1992 [Z 5461]

- [1] F. H. Kohnke, A. M. Z. Slawin, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *Angew. Chem.* **1987**, 99, 941; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, 26, 892; P. R. Ashton, N. S. Isaacs, F. H. Kohnke, A. M. Z. Slawin, C. Spencer, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *ibid.* **1988**, 100, 981 bzw. **1988**, 27, 966; P. R. Ashton, G. R. Brown, N. S. Isaacs, D. Giuffrida, F. H. Kohnke, J. P. Mathias, A. M. Z. Slawin, D. R. Smith, J. F. Stoddart, D. J. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 6330.
- [2] W. Saenger, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 343; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19, 344; J. F. Stoddart, *Carbohydr. Res.* **1989**, 192, xii; *Angew. Chem.* **1992**, 104, 860; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 846.
- [3] D. J. Cram, *Nature* **1992**, 356, 29.
- [4] M. V. Reddington, A. M. Z. Slawin, N. Spencer, J. F. Stoddart, C. Vicent, D. J. Williams, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 630; A. Harada, J. Li, M. Kamachi, *Nature* **1992**, 356, 325.
- [5] W. A. Freeman, W. L. Mock, N.-Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 7367; W. A. Freeman, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1984**, 40, 382; W. L. Mock, N.-Y. Shih, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4440; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 4706; *ibid.* **1989**, 111, 2697; W. L. Mock, J. Pierpont, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1509.
- [6] J. S. Lindsey, *New J. Chem.* **1991**, 15, 153; D. Philp, J. F. Stoddart, *Synlett* **1991**, 445; G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, *Science* **1991**, 254, 1312.
- [7] V. L. Himes, C. R. Hubbard, A. Mighell, A. J. Fatiadi, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1978**, 34, 3102. Durch Kondensation von Dimethylglycoluril und Formaldehyd unter sauren Bedingungen wurde schon einmal eine definierte Verbindung erhalten (N.-Y. Shih, Dissertation, University of Chicago at Illinois, **1981**; *Diss. Abstr. Int. B* **1982**, 42, 4071). Aus dem Ergebnis der Elementaranalyse sowie aus der Tatsache, daß die Verbindung mit Alkylaminen in wäßriger Ameisensäurelösung keine Einschlußkomplexe bildete, wurde gefolgert, daß es sich bei dem Produkt um ein cyclisches Pentamer oder Tetramer handelt.

- [8] Siemens-P4/PC-Diffraktometer, ω -Scans, MoK α -Strahlung (Graphitmonochromator). Die Struktur wurde durch direkte Methoden gelöst, Atome in Lagen mit größerer Besetzungswahrscheinlichkeit wurden anisotrop verfeinert, Atome in Lagen mit geringerer Besetzungswahrscheinlichkeit isotrop. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, University Chemical Laboratory, Lensfield Road, GB-Cambridge, CB2 1EW, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.
- [9] Röntgenstrukturanalyse von 2·3(HNO₃)·6H₂O: monoklin, a = 24.693(5), b = 17.744(4), c = 13.293(3) Å, β = 116.39(3)°, V = 5217 Å³, Raumgruppe C2/c, Z = 4 (das Molekül hat kristallographisch C₂-Symmetrie), $\rho_{\text{ber.}}$ = 1.614 g cm⁻³, $\mu(\text{MoK}\alpha)$ = 1.4 cm⁻¹, 2603 beobachtete unabhängige Reflexe mit $|F_0| > 3\sigma(|F_0|)$, $2\theta \leq 45^\circ$, verfeinert auf R = 0.067, R_w = 0.070. Die HNO₃-Einheiten besetzen eine ganze und zwei partielle Besetzungslagen in der asymmetrischen Einheit; die Wassermoleküle besetzen acht partielle Besetzungslagen.
- [10] Wir schlagen für Cucurbituril-Derivate in Anlehnung an die Nomenklatur für Calixarene (C. D. Gutsche, *Calixarenes*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1989**, S. 26) folgendes einfache Nomenklatorsystem vor: Die Anzahl der Glycoluril- oder substituierten Glycolurileinheiten wird in eckigen Klammern angegeben. Substituenten an den Brückenkopfatomen der Glycolurileinheiten werden durch Präfixe benannt.
- [11] Es sei darauf hingewiesen, daß Salpetersäure in verdünnter wäßriger Lösung dissoziiert vorliegt, z.B. bei 0.1 M-Konzentration zu 93%: F. A. Cotton, G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry*, 5. Aufl., Wiley, New York, **1988**, S. 113.

Synthese Esterase-beständiger, 9-O-acetylierter Polysialoside als Inhibitoren des Influenza-C-Virus-Hämagglutinins

Von René Roy*, Fredrik O. Andersson, Günter Harms, Serge Kelm und Roland Schauer

Die Infektion von Menschen mit Influenzaviren wird durch die Anbindung des viralen Membran-Glycoproteins Hämagglutinin an Glycoproteine und -lipide der Wirtszelle vermittelt^[1]. Mit den Ergebnissen aus Röntgenstrukturanalysen^[2], ¹H-NMR-spektroskopischen Studien^[3] und Inhibitorexperimenten mit synthetischen Sialosiden^[4] war es möglich, Strukturmerkmale zu definieren, die ein Molekül für die Bindung an das Hämagglutinin erfüllen muß. Als Rezeptordeterminanten wurde für Influenza-A- und -B-Viren *N*-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure), Neu5Ac, **1**^[1-5] und für Influenza-C-Viren das entsprechende 9-O-acetylierte Derivat (Neu5,9Ac₂)^[6] identifiziert. Weiterhin wurde das Rezeptorzerstörende Enzym der Influenza-C-Viren als Sialat-9-O-Acetylerase charakterisiert^[6]. Die Bindungsstelle für Neu5,9Ac₂ (Hämagglutinin) und die Acetylerase-Aktivität sind zusammen mit der Fusionsaktivität Bestandteile eines viralen Glycoproteins^[7].

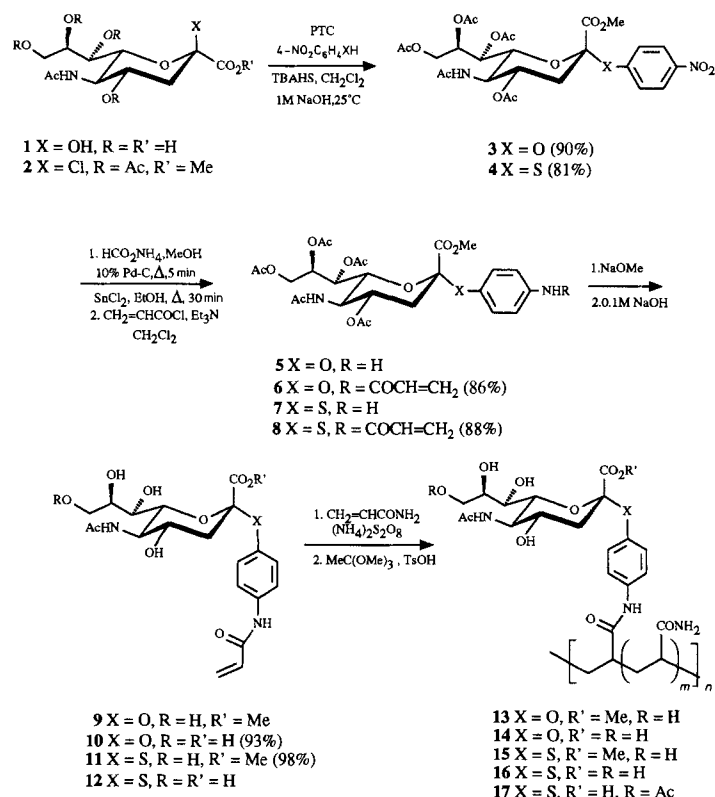
Influenza-A- und -B-Viren dagegen haben neben dem Hämagglutinin eine Sialidase als Rezeptor-zerstörendes Enzym. Sialidase-resistente Sialoside als potentielle Inhibitoren viraler Bindung an Wirtszellen zu entwickeln erscheint daher sinnvoll. Für eine breite Anwendung müßten diese Moleküle „universelle“ und stabile Rezeptoren sein. Weiterhin sollten sie mehrere Bindungsstellen aufweisen (multivalent sein), da die Affinität des Hämagglutinins gegenüber monovalenten Sialosiden mit 2.8×10^{-3} M relativ niedrig ist^[3]. Mit der Synthese von Sialinsäure-haltigen Neoglycoproteinen^[8] und Glycopolymeren^[8,9] war es möglich, geeignete Inhibitoren für Influenza-A-Viren zu entwickeln^[10]. Dieser Ansatz erwies sich als überaus nützlich^[11]. Darüber hinaus wurden

[*] Prof. Dr. R. Roy, Dr. F. O. Andersson
Department of Chemistry, University of Ottawa
Ottawa, Ontario K1N 6N5 (Kanada)
G. Harms, Dr. S. Kelm, Prof. Dr. R. Schauer
Biochemisches Institut der Universität Kiel

divalente Sialoside dazu verwendet, den Einfluß der räumlichen Anordnung der Sialinsäuren auf die Bindung an das Hämagglutinin zu studieren^[12].

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß nicht nur die Inhibierung des Hämagglutinins virale Infektionen verhindern kann^[10]. Man konnte postulieren, daß die Sialidase, die bei allen Influenza-A- und -B-Viren gefunden wird, auch an der Infektion und der Ausbreitung dieser Viren beteiligt ist. Um diese Frage zu beantworten, haben wir Polymere synthetisiert, die multivalente Sialinsäuren enthalten und die sowohl das Hämagglutinin als auch die Sialidase inhibieren könnten.

Die generelle Strategie für die stereospezifische Synthese der Aryl- α -Sialosid-Vorstufen basiert auf Phasentransferkatalyse (PTC). Die Synthese der neuen Glycopolymere ist in Schema 1 zusammengefaßt. Sie beinhaltet die Copolymeri-



Schema 1. Ts = CH₃C₆H₄SO₂.

sation der entsprechenden *N*-acryloylierten Kohlenhydratderivate mit Acrylsäureamid^[13]. Die Überführung von Neu5Ac 1 in die bekannte Acetylchloreneuraminsäure 2^[14] als Glycosid-Donor gelang in zwei Schritten: 1) MeOH, H⁺, 2) AcCl, AcOH, gemäß einer bekannten Modifikation dieses Verfahrens^[8]. Die stereospezifische Umsetzung zum *para*-Nitrophenyl- und *para*-Nitrophenylthio- α -Sialosid 3 bzw. 4^[15] gelang unter PTC-Bedingungen in Dichlormethan mit Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (TBAHS) als Katalysator mit Ausbeuten von 90% bzw. 81% (physikalische Eigenschaften siehe Tabelle 1). In den Reaktionsgemischen wurden keine β -Glycoside gefunden. Dagegen entstanden – durch Dehydrochlorierung und Hydrolyse – kleine Mengen an Nebenprodukten. Katalytische Transferhydrierung von 3 mit Ammoniumformiat und 10% Pd-C ergab das instabile *para*-Aminophenyl-derivat des Glycosids 5, das direkt in 86% Ausbeute bezogen auf 3 zu 6 *N*-acryloyliert wurde (CH₂ = CHCOCl, Et₃N, CH₂Cl₂). Die zuvor genannten Reduktionsbedingungen konnten im Falle des *S*-Glycosids 4

Tabelle 1. Physikalische Daten von 3 und 4.

3: Fp = 87–88 °C; [α] _D ²³ + 26.6 (c 1.28, CHCl ₃). ¹ H-NMR (300 MHz, CDCl ₃ , 25 °C, TMS): δ = 1.90 (s, 3H, NAc), 2.02–2.17 (4s, 12H, OAc), 2.28 (dd, ³ J(H _{3a} , ₄) = 12.5, ² J(H _{3a} , _{3e}) = 12.8 Hz, 1H, H _{3a}), 2.72 (dd, ³ J(H _{3e} , ₄) = 4.7 Hz, 1H, H _{3e}), 3.67 (s, 3H, CO ₂ Me), 4.05–5.38 (m, 8H), 7.12 (d, ³ J(H _o , _m) = 9.3 Hz, Aryl H- <i>ortho</i>), 8.16 (d, Aryl H- <i>meta</i>); ¹³ C-NMR: 20.5–23.0 (5 ×, Ac), 38.5 (C3), 49.0 (C5), 59.2 (OMe), 62.0 (C9), 66.8–68.2 (3 ×, C4, C7, C8), 73.6 (C6), 99.4 (C2), 118.5 (2 ×, C- <i>ortho</i>), 125.7 (2 ×, C- <i>meta</i>), 143.4 (C- <i>para</i> (NO ₂)), 159.1 (C- <i>ipso</i>), 168.2–170.9 (6 ×, C = O).
4: Fp = 170–171 °C; [α] _D ²³ + 18.2 (c 1.01, CHCl ₃). ¹ H-NMR, δ = 1.85 (s, 3H, NAc), 2.00–2.11 (4s, 12H, OAc), 2.05 (dd, Kopplungskonstanten wie bei 3, H _{3a}), 2.85 (dd, H _{3e}), 3.60 (s, 3H, CO ₂ Me), 3.90–4.10 (m, 2H, H ₅ , H ₆), 4.07–5.30 (m, 6H), 7.62 (d, Aryl H- <i>ortho</i>), 8.17 (d, Aryl H- <i>meta</i>); ¹³ C-NMR: 20.5–22.8 (5 ×, Ac), 38.1 (C3), 48.8 (C5), 52.9 (OMe), 62.0 (C9), 67.1–69.2 (3 ×, C4, C7, C8), 74.4 (C6), 86.8 (C2), 123.8 (2 ×, C- <i>ortho</i>), 135.0 (2 ×, C- <i>meta</i>), 137.9 (C- <i>para</i>), 148.1 (C- <i>ipso</i>), 167.5–170.9 (6 ×, C = O). Korrekte C,H,N,S-Analyse für C ₂₆ H ₃₂ N ₂ O ₁₄ S.

nicht angewendet werden; die Reduktion von 4 gelang dagegen mit Zinn(II)-chlorid in Ethanol unter Rückfluß. *N*-Acryloylierung von rohem 7, wie zuvor beschrieben, ergab das *para*-*N*-Acryloylaminophenylthio- α -Sialosid 8 in 88% Ausbeute aus 4. Zemplén-Des-*O*-Acetylierung (NaOMe, MeOH) der *O*- und *S*-Glycoside 6 bzw. 8 führte in nahezu quantitativer Ausbeute zu den *N*-Acryloylaminophenyl-Glycosiden 9 bzw. 11 als Methylester. Hydrolyse des Esters 9 mit wäßriger 0.1 M NaOH-Lösung ergab die freie Säure 10 in 93% Ausbeute. Unter diesen Hydrolysebedingungen wurde nur ein Teil des *S*-Glycosids 11 zu 12 hydrolysiert. Dabei traten jedoch in größerem Umfang Michael-Addition der Hydroxid-Ionen an die *N*-Acryloylaminofunktion auf, wie ¹H- und ¹³C-NMR-spektroskopisch gefunden wurde. Da die Hydrolyse auch unter anderen Bedingungen nicht gelang, wurde das Thiosialosid 11, d. h. der Methylester und nicht die freie Säure 12, zur Polymerisation eingesetzt.

Die monomeren Vorstufen 10 und 11 wurden mit Acrylamid in verschiedenen molaren Verhältnissen copolymerisiert. Die Reaktionen wurden in einem entlüfteten Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Wasser (1:2) unter Verwendung von Ammoniumpersulfat als Starter im siedenden Wasserbad oder mit *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin (TMEDA) bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach 10 min wurde mehr Starter zugegeben, wenn dies erforderlich war (Dünnschichtchromatographie). Die Reaktionen wurden nach 15–20 min (Hitze) bzw. nach 12 h (TMEDA, Raumtemperatur) beendet. Die Reaktionsgemische wurden gegen destilliertes Wasser dialysiert und lyophilisiert. Die Ausbeuten an wasserlöslichen Polymeren 13 und 15 lagen zwischen 60 und 77%. Das Verhältnis von Acryloylamin-Einheit zu Sialosid im Glycopolymer wurde durch das Verhältnis der Monomere im Reaktionsgemisch kontrolliert. Diese Eigenschaft ist typisch für *N*-Acryloyl-Kohlenhydratmonomere^[13] und sie unterscheiden sich dadurch von den langsamer reagierenden Alkenylglycosiden^[8]. Auf diese Weise wurden Glycopolymere mit Sialinsäure/Acrylamid-Verhältnissen von 1:5 und 1:10 synthetisiert. Hydrolyse (0.1 M NaOH) des Methylesters des *S*-Glycosid-haltigen Polymeren 15 ergab quantitativ das freie Polymer 16. Der Sialinsäuregehalt der Polymere wurde durch ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmt. Die Reaktivität der Polymere mit Weizenkeimagglutinin wurde mit serologischen Standardmethoden nachgewiesen. Die Molekulargewichte der Polymere wurde durch Gelfiltration an einer TSK-G-4000-SWXL-Säule bestimmt^[13] und lagen zwischen 75 und 150 kDa.

Das *S*-Sialosyl-Glycopolymer 16 hat Eigenschaften, die möglicherweise Wechselwirkungen sowohl mit dem Hämagglutinin als auch mit der Sialidase von Influenza-A- oder -B-Viren ermöglichen. Jedoch konnte mit Polymer 16 bei Konzentrationen von bis zu 0.8 × 10⁻³ M Sialinsäure die

Hämagglutination von menschlichen Erythrozyten durch die Influenza-A-Virusstämme X31 und X31HS^[4] (beide H3N2) nicht inhibiert werden. In früheren Studien mit einem anderen Sialinsäure-haltigen Polyacrylamid-Glycopolymer wurde die Hämagglutination bereits bei wesentlich niedrigeren Konzentrationen gehemmt^[10]. In diesem Polymer war jedoch die Dichte von Sialinsäureresten höher (1:7) als bei Polymer **16** (1:10). Die Inhibitionspezies von solchen Polymeren variiert über mehrere Größenordnungen in Abhängigkeit von der Dichte der Sialinsäurereste^[11]. Außerdem kann der eingesetzte „Spacer“ die Inhibitionspezies beeinflussen, wie für X31 an monomeren Sialinsäure-Analoga gezeigt wurde^[16].

Im Gegensatz zu Influenza-A- und -B-Viren benötigen Influenza-C-Viren 9-*O*-acetylierte Sialoside als Rezeptoren^[6]. Um auch die Wechselwirkung von Influenza-C-Viren mit den beschriebenen Polymeren zu untersuchen, wurde versucht, eine selektive 9-*O*-Acetylierung der Sialinsäurereste in den Polymeren durchzuführen. Ziel der Derivatisierung war die Synthese eines Inhibitors für Influenza-C-Viren. Dazu wurde eine selektive Orthoester/Hydrolyse-Sequenz unter bekannten Bedingungen^[17], 1) MeC(OMe)₃, TsOH, 2) H₃O⁺, durchgeführt, um das 9-*O*-Acetyl-*S*- α -Sialosidpolymer **17** in quantitativer Ausbeute zu erhalten. Mit ¹H-NMR konnte gezeigt werden, daß etwa 70% der Sialinsäurereste an Position 9 *O*-Acetylgruppen enthielten und keine anderen Hydroxygruppen acetyliert worden waren (Tabelle 1, Experimentelles). Wenn versucht wurde, den Acetylierungsgrad zu erhöhen, wurde mehr als eine Hydroxygruppe an den Sialinsäuren acetyliert. Die Bindung von Influenza-C-Viren (Johannesburg/1/66) an das Glycopolymer **17** konnte mit einem Mikrotiterplattentest^[18] gezeigt werden (Abb. 1). Außerdem inhibierte das Glycopolymer **17** die Hämagglutination^[4] von Mäuseerythrozyten bereits bei einer Konzentration von 3.3×10^{-6} M Sialinsäureresten. Die Inhibition war spezifisch für 9-*O*-acetylierte Sialinsäuren, da das entsprechende Glycopolymer **16** und dessen Methyl-ester **15** keinerlei Inhibition zeigten.

Interessanterweise war das 9-*O*-acetylierte Glycopolymer **17** ein sehr schlechtes Substrat für die virale Esterase (Abb. 2). Dieser Befund läßt die Vermutung zu, daß die strukturellen Erfordernisse für die biologische Funktion von Hämagglutinin und Esterase unterschiedlich sind. Ähnliche Beobachtungen wurden auch mit natürlichen Verbindungen gemacht.

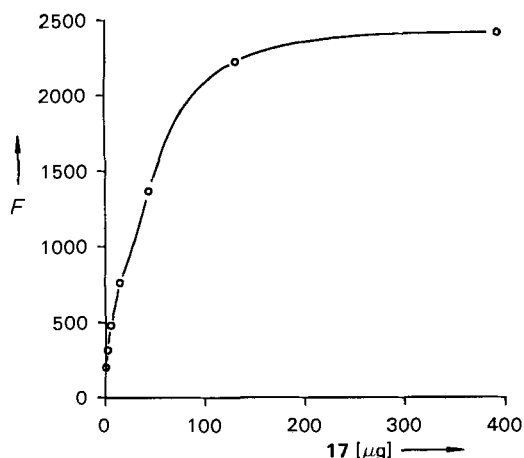


Abb. 1. Bindung von Influenza-C-Viren an das Glycopolymer **17**. *F* = relative Fluoreszenz als Maß für die Esterase-Aktivität. Vertiefungen von Mikrotiterplatten wurden mit den angegebenen Mengen **17** in 100 μ L Phosphat/Kochsalz-Pufferlösung (PBS, pH = 7.2) 12 h beschichtet. Influenza-C-Viren wurden in diesen Vertiefungen zur Bindung inkubiert und die Menge gebundener Viren durch Bestimmung der Esterase-Aktivität mit dem fluorogenen Substrat 4-Methylumbelliferylacetat ermittelt [18].

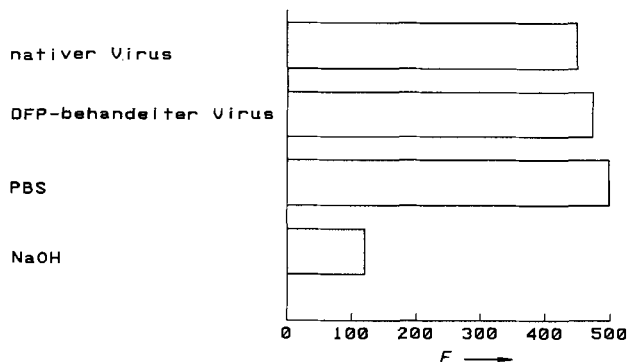


Abb. 2. Beständigkeit des Glycopolymers **17** gegen Influenza-C-Esterase. *F* = relative Fluoreszenz als Maß für die Esterase-Aktivität. 250 μ g Glycopolymer **17** wurden mit nativem (1.9 mU Esterase) oder mit einer äquivalenten Menge mit Diisopropylfluorophosphat (DFP) behandeltem Virus in 35 μ L PBS 1 h bei 37 °C inkubiert. Die Reaktionen wurden durch Zugabe von 315 μ L eiskaltem PBS beendet und Viruspartikel durch 90 min Zentrifugation bei $10^5 \times g$ entfernt. Zur Kontrolle wurden 250 μ L Glycopolymer **17** mit 0.1 M NaOH oder PBS bei 0 °C 1 h behandelt. Diese Reaktionen wurden durch Zugabe des gleichen Volumens von 0.1 M HCl bzw. 0.1 M NaCl-Lösung beendet und die Lösungen mit PBS auf 350 μ L verdünnt. Um die Menge verbliebener 9-*O*-Acetylgruppen am Glycopolymer **17** nach diesen Behandlungen zu bestimmen, wurden Vertiefungen einer Mikrotiterplatte in Triplicaten mit 100 μ L der Lösungen beschichtet und anschließend die 9-*O*-Acetylgruppen, wie bei Abbildung 1 beschrieben, bestimmt.

Während beispielsweise Influenza-C-Viren sehr gut an 9-*O*-acetylierte Ganglioside binden^[18], werden die *O*-Acetylgruppen dieser Substanzen von der Esterase nur sehr langsam hydrolysiert^[19]. Diese Ergebnisse zeigen, daß Verbindung **17** möglicherweise als Grundlage für die Entwicklung Esterase-beständiger Medikamente für die Bekämpfung von Influenza-C-Infektionen dienen könnte.

Experimentelles

Polymerisation: Eine Lösung von **11** (10.3 mg, 22 μ mol) und Acrylamid (7.7 mg, 109 μ mol, 5 Äquivalente) in entlüftetem Wasser/Dimethylsulfoxid-Gemisch (2:1, 300 μ L) wurde mit Ammoniumpersulfat (15 μ L einer Lösung mit 100 mg mL⁻¹) versetzt und bei 100 °C 15 min gerührt. Nach weiteren 15 min und 25 min wurde jeweils zusätzlich Ammoniumpersulfat-Lösung zugesetzt (15 μ L). Dies stellte sicher, daß das gesamte eingesetzte Monomer **11** reagierte. Nach 30 min wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt und gegen destilliertes Wasser dialysiert. Nach Lyophilisierung wurde **15** als weißes Pulver erhalten (10.8 mg, 60%). ¹H-NMR-Spektroskopie zeigte ein Verhältnis von Sialinsäure zu Acrylamid von 1:5. **15** wurde in **16** durch Behandlung mit 0.1 M NaOH bei Raumtemperatur (ca. 12 h) überführt. Nach Dialyse und Gefriertrocknung wie oben wurde reines **16** erhalten; die Substanz zeigte kein CO₂-Me-Signal bei $\delta = 3.70$ mehr. Die Überführung von **16** in **17**, wie in Lit. [17] beschrieben, ergab **17** mit dem charakteristischen *O*-Acetyl-Signal in den ¹H-NMR-Spektren (D₂O, $\delta = 2.0$; Signalintensität entspricht 0.7 Acetyleneinheiten). Außerdem erschienen die Signale von H_{9a} und H_{9b} in **17** bei niedrigeren Feldstärken ($\delta = 4.00$ bzw. 4.20) im Einklang mit der Struktur. Die Molekulargewichte von **15**–**17** wurden auf einem Waters-991/625-LC-HPLC-System mit einem Diodenarraydetektor und einer TSK-G-4000-SWXL-Säule (7.5 mm \times 300 mm) bestimmt wie in Lit. [13c] beschrieben.

Eingegangen am 21. April 1992 [Z 5312]

CAS-Registry-Nummern:

1, 131-48-6; **2**, 67670-69-3; **3**, 59694-37-0; **4**, 124974-13-6; **5**, 130087-26-2; **6**, 143857-99-2; **7**, 124925-06-0; **8**, 143858-00-8; **9**, 143858-84-2; **10**, 143858-01-9; **11**, 143858-02-0; **12**, 143858-03-1; **13**, 143858-05-3; **14**, 143886-97-9; **15**, 143858-06-4; **16**, 143858-07-5; **17**, 143858-09-7; H₂C=CHCOCl, 814-68-6; 4-NO₂C₆H₄OH, 100-02-7; 4-NO₂C₆H₄SH, 1849-36-1; Esterase, 9013-79-0; Acrylamid, 79-06-1.

- [1] D. C. Wiley, J. J. Skehel, *Annu. Rev. Biochem.* **1987**, *56*, 365; J. C. Paulson, G. N. Rogers, S. M. Carroll, H. H. Higa, T. J. Pritchett, G. Milks, S. Sabesan, *Pure Appl. Chem.* **1984**, *56*, 797; Y. Suzuki, Y. Nagao, H. Kato, M. Matsumoto, K. Nerome, K. Nakajima, E. Nobusawa, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 17057.
- [2] I. A. Wilson, J. J. Skehel, D. C. Wiley, *Nature (London)* **1981**, *289*, 366; W. Weiss, J. H. Brown, S. Cusack, J. C. Paulson, J. J. Skehel, C. D. Wiley, *ibid.* **1988**, *333*, 426.
- [3] N. K. Sauter, M. D. Bednarski, B. A. Wurzburg, J. E. Hanson, G. M. Whitesides, J. J. Skehel, D. C. Wiley, *Biochemistry* **1989**, *28*, 8388.

- [4] T. J. Pritchett, R. Brossmer, U. Rose, J. C. Paulson, *Virology* **1987**, 160, 502; T. J. Pritchett, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 9850.
 [5] Y. Suzuki, Y. Nagao, H. Kato, T. Suzuki, M. Matsumoto, J. Murayama, *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, 903, 417.
 [6] G. Herrier, R. Rott, H.-D. Klenk, H.-P. Müller, A. K. Shukla, R. Schauer, *EMBO J.* **1985**, 4, 1503.
 [7] G. Herrier, I. Dürkop, H. Brecht, H.-D. Klenk, *J. Gen. Virol.* **1988**, 69, 839.
 [8] R. Roy, C. A. Laferrière, A. Gamian, H. J. Jennings, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, 6, 161; R. Roy, C. A. Laferrière, *Can. J. Chem.* **1990**, 68, 2045.
 [9] R. Roy, C. A. Laferrière, *Carbohydr. Res.* **1988**, 177, C1; R. Roy, C. A. Laferrière, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1709.
 [10] A. Gamian, M. Chomik, C. A. Laferrière, R. Roy, *Can. J. Microbiol.* **1991**, 37, 233.
 [11] M. N. Matrosovich, L. V. Mochalova, V. P. Marinina, N. E. Byramova, N. V. Bovin, *FEBS Lett.* **1990**, 272, 209; A. Spaltenstein, G. M. Withesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 686; N. E. Byramova, L. V. Mochalova, J. M. Belyanchikov, M. N. Matrosovich, N. V. Bovin, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, 10, 691.
 [12] G. D. Glick, J. R. Knowles, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4701; S. Sabesan, J. O. Duus, P. Domaille, S. Kelm, J. C. Paulson, *ibid.* **1991**, 113, 5865.
 [13] a) R. Roy, F. D. Tropper, T. Morrison, J. Boratynski, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 536; b) R. Roy, C. A. Laferrière, *ibid.* **1990**, 1709; c) R. Roy, F. D. Tropper, A. Romanowska, *Bioconjugate Chem.* **1992**, 3, 256.
 [14] R. Kuhn, P. Lutz, D. L. McDonald, *Chem. Ber.* **1966**, 99, 611.
 [15] Alle neuen Verbindungen wurden elementaranalytisch (C, H, N, S) und NMR-spektroskopisch sowie massenspektrometrisch charakterisiert. Siehe auch Tabelle 1.
 [16] S. Kelm, J. C. Paulson, U. Rose, R. Brossmer, W. Schmid, B. P. Bandgar, E. Schreiner, M. Hartmann, E. Zbiral, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 205, 147.
 [17] H. Ogura, K. Furukata, S. Sato, K. Anazawa, M. Itoh, Y. Shitori, *Carbohydr. Res.* **1987**, 167, 77.
 [18] G. Zimmer, G. Reuter, R. Schauer, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 204, 209.
 [19] R. Schauer, G. Reuter, S. Stoll, F. Posadas del Rio, G. Herrier, H.-D. Klenk, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1988**, 369, 1121.

Ein- und zweikernige Molybdänkomplexe von 4-(4-Hydroxyphenyl)pyridin: Metall-Metall-Wechselwirkungen über einen asymmetrischen verbrückenden Liganden**

Von Amitava Das, John C. Jeffery, John P. Maher, Jon A. McCleverty*, Erik Schatz, Michael D. Ward* und Gerd Wollermann

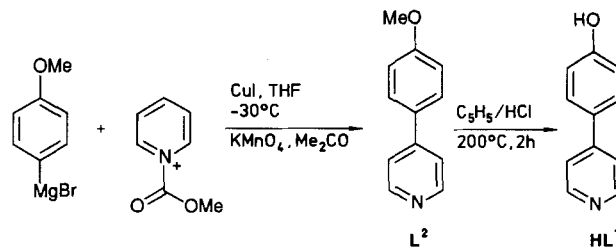
Zweikernkomplexe mit einem ungesättigten verbrückenden Liganden interessieren im Hinblick auf die intramolekulare Übertragung von Elektronen in gemischtvalenten Systemen^[1] und die magnetischen Wechselwirkungen zwischen paramagnetischen Zentren. Der am intensivsten untersuchte Komplex dieser Art ist das Creutz-Taube-Ion^[2]; in neuerer Zeit wurde 4,4'-Bipyridin-verbrückten Zweikernkomplexen viel Aufmerksamkeit zuteil^[3]. So wurde beispielsweise über die Synthese des symmetrischen Zweikernkomplexes $[\{\text{Mo}(\text{NO})\text{L}^*\text{Cl}\}_2(\mu\text{-bpy})]$ [$\text{L}^* = \text{Tris}(3,5\text{-dimethylpyrazolyl})\text{hydroborat}$, $\text{bpy} = 4,4'\text{-Bipyridin}$] berichtet^[4], in dem eine starke elektronische Kopplung zwischen den $[\text{Mo}(\text{NO})\text{L}^*\text{Cl}]$ -Einheiten einen Unterschied von 765 mV zwischen den Reduktionen des ersten und des zweiten Metallzentrums verursacht; ESR-spektroskopische Messungen zeigten bei Raumtemperatur einen raschen Platzwechsel der beiden ungepaarten Elektronen. Wir berichten nun über die Synthese sowie die elektronischen und ESR-spektroskopischen Eigenschaften asymmetrischer gemischt- (17VE-16VE) und homovalenter (17VE-17VE) (VE = Valenzelektronen)

[*] Prof. J. A. McCleverty, Dr. M. D. Ward, Dr. A. Das, Dr. J. C. Jeffery, Dr. J. P. Maher, E. Schatz, G. Wollermann
 School of Chemistry
 Cantock's Close, GB-Bristol BS8 1TS (Großbritannien)

[**] Diese Arbeit wurde vom Science and Engineering Research Council unter anderem durch ein Postdoktorandenstipendium für A.D. und Mittel für ein ESR-Spektrometer gefördert.

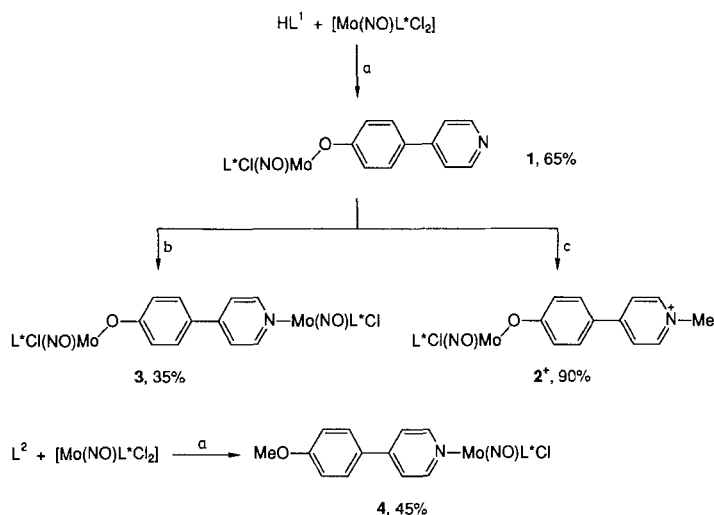
Molybdänkomplexe, die eine 4-(4-Hydroxyphenyl)pyridin-Brücke enthalten.

Der Edukt- und Vergleichsligand L^2 wurde ausgehend von bekannten Vorschriften^[5] erhalten^[6, 7] und mit Pyridiniumchlorid^[8] zu HL^1 demethyliert (Schema 1). Die Synthe-



Schema 1. Synthese der Liganden L^2 [6] und HL^1 .

sen der Komplexe sind in Schema 2 zusammengefaßt^[7]. Die Reaktion von $[\text{MoL}^*(\text{NO})\text{Cl}_2]$ mit HL^1 ergibt den Komplex 1, in dem die Phenoxygruppe an das 16VE-Mo-Zentrum gebunden ist und die Pyridylgruppe frei steht. Diese Reaktion wird offensichtlich durch den Unterschied in den Reaktionsgeschwindigkeiten von anionischer Phenolat- und neutraler Pyridineinheit gegenüber der elektronisch ungesättigten Verbindung $[\text{Mo}(\text{NO})\text{L}^*\text{Cl}_2]$ bestimmt. Eine Bindung des Pyridylrestes an das Molybdän konnte nur erreicht werden, wenn die Phenoxygruppe, wie in L^2 , geschützt ist; so lieferte die Reaktion von $[\text{Mo}(\text{NO})\text{L}^*\text{Cl}_2]$ mit L^2 den Komplex 4, der eine freie Methoxyphenylgruppe aufweist. Es handelt sich bei 4 um einen 17VE-Komplex, d.h. die Anknüpfung des Pyridylliganden geht mit einer Einelektronenreduktion des Molybdänzentrums wahrscheinlich durch Et_3N einher, von dem bekannt ist, daß es als hydridisches Reduktionsmittel auftritt^[9].



Schema 2. Synthese der Komplexe 1–4 in N_2 -Atmosphäre. a) Toluol, Et_3N , 4 h Rückfluß; b) $[\text{Mo}(\text{NO})\text{L}^*\text{Cl}_2]$, Toluol, Et_3N , 6 h Rückfluß; c) MeI , CH_2Cl_2 , 18 h Rückfluß.

Die Methylierung der freien Pyridylgruppe in 1 ergab 2^+ , das als PF_6^- -Salz isoliert wurde. Die elektrochemischen Daten (Tabelle 1) zeigen, daß die Reduktion des Metallzentrums durch die N-Methylierung der freien Pyridylgruppe um 120 mV anodisch verschoben wird. Dies ist ein auffälliger Unterschied zum Verhalten von Polypyridinruthenium(II)-Komplexen mit 4,4'-Bipyridyl-Einheiten, in denen die