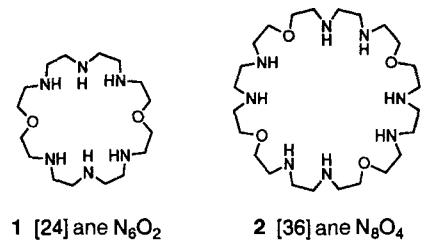


Supramolekulare Katalyse des H/D-Austausches in der α -Position bei Malonat-Ionen durch makrocyclische Polyamine: ein Modell-Enzym mit Enolase-Aktivität**

Hicham Fenniri, Jean-Marie Lehn* und Annie Marquis-Rigault

Die Enolisierung von Carbonylverbindungen wie Carbonsäuren und Ketonen ist bei vielen Schlüsselreaktionen chemischer und biochemischer Umsetzungen^[1] entscheidend. Beispiele hierfür sind die enzymkatalysierte Knüpfung von C-C-Bindungen^[2], Racemisierungen^[3], β -Eliminierungen^[4] und Isomerisierungen^[5]. Modellsysteme wurden hergestellt und Reaktionsschemata vorgeschlagen, um die vielen Schritte dieses Prozesses^[6] aufzuklären. Von besonderem Interesse ist die Frage, wie die katalytisch aktive Gruppe eines Enzyms, deren pK_a -Wert gewöhnlich kleiner als 8 ist, effektiv ein Proton von einem Substrat mit einem pK_a -Wert größer als 20 abstrahieren kann^[7, 8]. Wir berichten hier, daß die Bindung von Malonat-Ionen an mehrfach protonierte Formen der makrocyclischen Polyamine **1** und **2** den H/D-Austausch an der CH_2 -Gruppe enorm be-



schleunigt. Dies röhrt von einem supramolekularen Katalyseprozeß^[9] her, durch den die Enolisierung beträchtlich erleichtert wird. Darüber hinaus sind so Informationen über den Mechanismus der Enolisierung zugänglich.

Makrocyclische Polyamine zeichnen sich dadurch aus, daß sie gleichzeitig infolge Protonierung mehrfach positiv geladen sein können^[10, 11], unprotonierte nucleophile Zentren aufweisen und als potentielles Protonenreservoir bei der Reaktion mit einem gebundenen Substrat dienen können. Diese Eigenschaften spielen bei der Katalyse der ATP-Hydrolyse und von Phosphorylierungen mit einigen makrocyclischen Polyaminen, besonders mit dem [24]ane N₆O₂-Makrocyclus **1**^[9a, 12], eine Rolle und sollten ebenso Enolisierungen erleichtern.

Protonierte makrocyclische Polyamine bilden mit Polycarboxylaten stabile Komplexe^[11, 13]. So bindet die protonierte Verbindung **1** Malonat-Ionen^[14], die das geometrische und elektrostatische Gegenstück zu diesem Rezeptor sind^[15]. Bei pH ≈ 7 ist der Komplex aus dem vierfach protonierten Makrocyclus und dem Dianion^[16] der Malonsäure die vorherrschende Spezies. Er weist eine Stabilitätskonstante von 240 M^{-1} auf. Das Polyamin **1** ist daher eine geeignete Verbindung, um den Einfluß der Komplexierung auf den H/D-Austausch in der α -Position von Malonat-Ionen zu untersuchen. Die Studien wurden mit der

leichter zugänglichen Verbindung **1** durchgeführt und durch Experimente mit dem Makrocyclus **2** ergänzt.

Der Reaktionsverlauf wurde ¹H-NMR-spektroskopisch^[17] ($\text{D}_2\text{O} > 98\%$) unter unterschiedlichen Bedingungen verfolgt, um den Einfluß von pH-Wert, Ionenstärke und Temperatur auf den Enolisierungsprozeß in Gegenwart und in Abwesenheit von **1** zu studieren. Der Prozeß verläuft nach einer Michaelis-Menten-Kinetik mit Sättigungsverhalten (Abb. 1). Die Lineweaver-

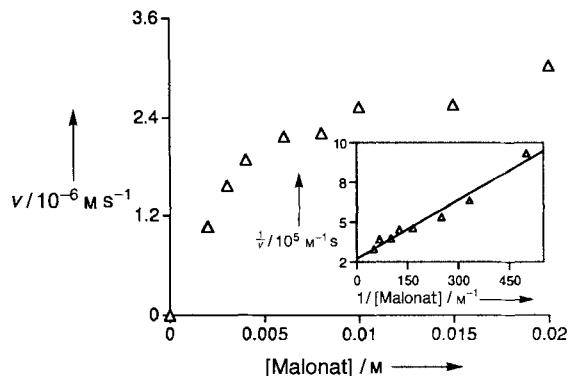


Abb. 1. Michaelis-Menten- und Lineweaver-Burk-Auftragungen (Einschub) für den durch **1** katalysierten H/D-Austausch in der α -Position von Malonat-Ionen; $[1] = 2 \text{ mM}$, $[\text{Malonat}] = 2, 3, 4, 6, 8, 10, 15 \text{ und } 20 \text{ mM}$, $\text{pD} = 7, 25^\circ\text{C}$, D_2O ; $K_m = 3.8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $k_{\text{cat}} = 1.75 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $v_{\text{max}} = 3.5 \times 10^{-6} \text{ M s}^{-1}$.

Burk-Auftragung der Daten (Einschub in Abb. 1) lieferte einen K_m -Wert von $3.8 \times 10^{-3} \text{ M}$ und eine Geschwindigkeitskonstante k_{cat} für die katalysierte Reaktion von $1.75 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, was im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion ($k_{\text{uncat}} = 1.2 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, Tabelle 1) eine starke Beschleunigung bedeutet ($k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$

Tabelle 1. Kinetische Daten für den H/D-Austausch in der α -Position von Malonat-Ionen mit sowie ohne Katalysator (25°C , $\text{pD} = 7$ in D_2O).

Katalysator	k_{cat} [s^{-1}] [a]	K_m [M] [a]	v_{max} [M s^{-1}] [a]	$k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$ [a]
–	1.2×10^{-6} [b]	–	–	–
DET	7.2×10^{-6} [c]	–	–	–
1	(1.62×10^{-3})	(4.0×10^{-3})	(3.25×10^{-6})	(1.3×10^3)
2	0.22	(7×10^{-2})	(2.16×10^{-5})	(1.8×10^5)
	(0.215)	(6.6×10^{-2})	(2.15×10^{-5})	(2.0×10^5)

[a] Die Daten wurden aus Lineweaver-Burk- oder aus Eadie-Hofstee-Auftragungen (Werte in Klammern) in ähnlicher Weise für beide Katalysatoren erhalten (Bedingungen siehe Legende zu Abb. 1 (1) und Lit. [23] (2)). Der pD-Wert wurde durch Zugabe von kleinen Mengen an NaOH oder HCl eingestellt und am Ende der Reaktion überprüft (Abweichung kleiner ± 0.1 pD-Einheiten). [b] k_{uncat} entspricht der Steigung in der Beziehung $v = k_{\text{uncat}} \cdot [\text{Malonat}]$ mit $[\text{Malonat}] = 2, 5$ und 10 mM . [c] k_{obs} erhalten für $[\text{DET}] = 2 \text{ mM}$ und $[\text{Malonat}] = 10 \text{ mM}$; unter diesen Bedingungen wurde mit **1** $k_{\text{obs}} = 225 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ erhalten.

$\approx 1.4 \times 10^3$)^[18]. Ähnliche Werte wurden aus Eadie-Hofstee-Auftragungen der Reaktionsgeschwindigkeit v gegen $v/[\text{Malonat}]$ (Tabelle 1) erhalten. Im Vergleich dazu wurde mit Diethyltriamin (DET), das die reaktive Strukturuntereinheit von **1** repräsentiert, nur eine Erhöhung der Geschwindigkeit um etwa den Faktor 6 erreicht (Tabelle 1). Wie erwartet ist der H/D-Austausch bei Malonat-Ionen ohne **1** gegenüber Säurekatalyse empfindlicher als gegenüber Basenkatalyse, wobei die Geschwindigkeitskonstante im pH-Bereich 7–11 am kleinsten ist^[19] (Abb. 2).

[*] Prof. Dr. J.-M. Lehn, Dr. A. Marquis-Rigault
Laboratoire de Chimie Supramoléculaire, URA 422 des CNRS
Institut Le Bel, Université Louis Pasteur
4 rue Blaise Pascal, F-67000 Strasbourg (Frankreich)
Telefax: Int. + 88 41 10 20

H. Fenniri
The Scripps Research Institute, La Jolla, CA (USA)

[**] Teilweise vorgetragen auf dem XVIIIth International Symposium on Macrocyclic Chemistry, Enschede, Niederlande, 1993.

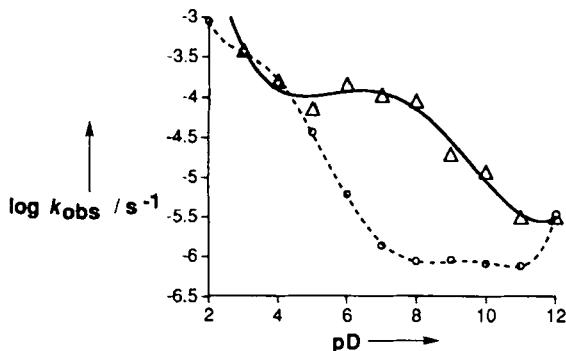


Abb. 2. pH-Abhängigkeit der gemessenen Geschwindigkeitskonstante des H/D-Austausches in der α -Position von Malonat-Ionen mit (Δ) und ohne I (\circ): $[I] = 2 \text{ mM}$, [Malonat] = 10 mM , $[\text{NaClO}_4] = 100 \text{ mM}$, 25 °C, D_2O .

In Gegenwart von **I** hängt die Größe der Geschwindigkeitskonstante vom Ausmaß der Protonierung des Polyamins ab. Bei niedrigem pH-Wert (< 2) wird das Malonat-Anion protoniert^[16] und wechselwirkt deshalb nicht mit dem protonierten Polyamin; bei hohem pH-Wert (> 10) ist das Polyamin nicht protoniert und kann daher nicht mit dem Malonat-Anion wechselwirken. Im Neutralen liegt das Malonat-Dianion vor und das Polyamin ist vierfach protoniert^[10], so daß ein recht stabiler Komplex gebildet wird^[14]. Die Tatsache, daß die Reaktion in diesem pH-Bereich beschleunigt wird, deutet darauf hin, daß der H/D-Austausch durch die Komplexbildung erleichtert wird, was in Übereinstimmung mit der Sättigungskinetik ist, nach der die Reaktion unter Bildung eines Michaelis-Menten-Komplexes abläuft.

Die Ionenstärke hat einen vernachlässigbaren Einfluß auf die unkatalysierte Reaktion; hingegen kann eine große Menge an NaCl (500 Äquiv.) bei der katalysierten Reaktion das Polyamin vollständig blockieren^[20]. Die größte Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit wurde in Gegenwart des Octaamins [36]ane-N₈O₄ **2**^[21, 22] festgestellt ($k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} \approx 1.8 \times 10^5$)^[18, 23] (Tabelle 1). Dieses Ergebnis steht offenbar im Widerspruch zu den Strukturbesonderheiten von **2**, wie dessen Ringgröße, und könnte ein Hinweis darauf sein, daß das protonierte Polyamin **2** eine spezielle Konformation einnimmt, in der es eine hohe Aktivität aufweist. Tatsächlich zeigt die Kristallstruktur des Octahydrobromids von **2**^[24], daß der Makrocyclus in einer taschenförmigen Konformation vorliegt, in die ein Malonat-Ion gut passen würde.

Die Komplexierung des dianionischen Substrates durch die mehrfach protonierten Rezeptoren könnte die Geschwindigkeit des H/D-Austauschs dadurch erhöhen, daß die Enolisierung durch die Kombination mehrerer Effekte eingeleitet wird: Die negativen Ladungen des Substrats werden unter Bildung eines dikanionischen Komplexes neutralisiert, die Annäherung einer elektronenreichen Base wird elektrostatisch erleichtert, und es werden saure Protonentransferzentren NH⁺ und schwach basische Zentren (das mittlere N-Atom jeder Triaminuntreinheit), die an der Protonenabstraktion teilnehmen können, eingeführt.

Bei der Enolisierung von Mandelsäure kann bei Katalyse mit Elektrophilen der pK_a -Wert des α -CH-Zentrums durch Protonierung der Carbonylgruppe um bis zu 15 Einheiten abnehmen^[4a, 8b, c], und durch konzertierte Säure-Base-Katalyse kann der Weg für den α -Proton-Austausch energetisch abgesenkt werden^[4a]. Im vorliegenden Fall würde eine mehr oder weniger konzertierte Protonenabstraktion von der CH₂-Gruppe und ein Protonentransfer zu einer der Carboxylatgruppen des Malonat-Dianions das Dianion ${}^-\text{O}_2\text{CCH}=\text{C(O}^-\text{)}\text{OH}$ liefern; indem der dianionische Charakter des Substrates erhalten bleibt, ist sicher-

gestellt, daß es während der Reaktion gebunden bleibt. Solch ein durch Wasserstoffbrücken (stark) gebundenes Enolat-Intermediat könnte die richtigen Eigenschaften für die elektrophile Katalyse des α -Protonen-Austauschs haben^[4a]. Der Transfer eines zweiten Protons würde zu dem weniger gut (aber vielleicht ausreichend) gebundenen Intermediat ${}^-\text{O}_2\text{CCH}=\text{C(OH)}_2$ führen. Die schnelle Protonierung beider Spezies am α -C-Atom und der Rücktransfer der HO-Protonen führen zum Malonat-Anion mit ausgetauschten α -Protonen. Wie groß die Menge an der gebildeten negativen Ladung oder wie der Verlauf der Protonentransferprozesse auch sein mögen, klar ist, daß die Stabilisierung des Intermediats und der Übergangszustände im Vergleich mit den Prozessen mit ungebundenen Malonat-Ionen aus einer starken elektrostatischen Wechselwirkung zwischen dem anionischen Substrat und dem kationischen Rezeptor resultiert. Eine der möglichen Anordnungen von Substrat und Rezeptor in der reaktiven supramolekularen Spezies mit einer externen Base als protonenabstrahierendem Agens ist schematisch in **3** gezeigt.

Das vorliegende Rezeptor-Substrat-System ist ein Modell für supramolekulare elektrophile Katalyse zur Aktivierung des α -Protonen-Austauschs bei Carbonsäuren. Die starke Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit wird durch hinsichtlich ihrer Struktur sehr einfache makrocyclische Polyaminrezeptoren erreicht, wobei die Werte in der gleichen Größenordnung wie die von Reaktionen mit katalytischen Antikörpern liegen ($k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} \approx 10^4$)^[25]. Ähnlich große Beschleunigungen wurden auch bei Reaktionen mit wasserstoffbrückengebundenen supramolekularen Spezies in organischen Lösungsmitteln festgestellt ($k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}} \approx 10^3$)^[26]. Durch Strukturvariationen bei den Polyaminen sind möglicherweise weitere Erhöhungen der Reaktionsgeschwindigkeit zu erzielen. Darüber hinaus können der H/D-Austausch bei Ketosäuren (etwa Pyruvaten)^[27] und Aldolreaktionen in Betracht gezogen werden. Derartige Untersuchungen geben über die Faktoren Aufschluß, die die Aktivierung des Protonentransfers und die Katalyse von Reaktionen mit einem Protonentransfer kontrollieren.

Eingegangen am 29. April,

veränderte Fassung am 16. Oktober 1995 [Z 7944]

Stichworte: Enolisierung · Makrocyclen · Protonentransfer · Supramolekulare Chemie

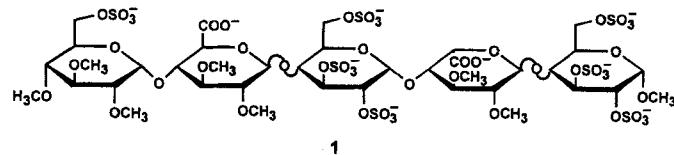
- [1] a) W. P. Jencks, *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, McGraw-Hill, New York, 1969; b) I. A. Rose, *Methods Enzymol.* **1982**, *87*, 84.
- [2] a) L. C. Kurz, S. Shah, B. R. Crane, L. J. Donald, H. W. Duckworth, G. R. Drysdale, *Biochemistry* **1992**, *31*, 7899; b) P. Dowd, S. W. Ham, S. J. Geib, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7734; c) J. R. Knowles, *Annu. Rev. Biochem.* **1989**, *58*, 195.
- [3] a) V. M. Powers, C. W. Koo, G. L. Kenyon, J. A. Gerlt, J. W. Kozarich, *Biochemistry* **1991**, *30*, 9255; b) W. J. Albery, J. R. Knowles, *ibid.* **1986**, *25*, 2572.
- [4] a) J. A. Gerlt, P. G. Massman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5928; b) V. E. Anderson in *Enzyme Mechanisms from Isotope Effects* (Hrsg.: P. F. Cook), CRC Press, Cleveland, 1991, Kap. 16.
- [5] a) P. J. Lodi, J. R. Knowles, *Biochemistry* **1993**, *32*, 4338; b) J. R. Knowles, *Nature* **1991**, *350*, 121; c) L. Xue, P. Talalay, A. S. Mildvan, *Biochemistry* **1990**, *29*, 7491.
- [6] a) E. T. Harper, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5625; b) R. P. Bell, D. W. Earls, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1976**, *45*; c) R. P. Bell, S. Grainger, *ibid.* **1976**, 1367; d) B. M. Tadayoni, J. Huff, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2247; e) F. Cramer, *Chem. Ber.* **1953**, *86*, 1576; f) A. J. Kirby, *Adv. Phys. Org. Chem.* **1980**, *17*, 183; g) J. R. Keeft, A. J. Kresge in *The Chemistry of Enols* (Hrsg.: H. Rappoport), Wiley, New York, **1990**, Kap. 7; h) A. F. Hegarty, J. Dawling, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 996; i) A. F. Hegarty,

- W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7188; j) W. J. Albery, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1982**, 1579; k) R. Breslow, A. Graff, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10988; l) J. Wolfe, A. Muehldorf, J. Rebek, Jr., *ibid.* **1991**, *113*, 1453; m) B. Siegel, A. Pinter, R. Breslow, *ibid.* **1977**, *99*, 2309.
- [7] J. A. Gerlt, J. W. Kozarich, G. L. Kenyon, P. G. Gassman, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9667.
- [8] a) P. Renaud, M. A. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5705; b) A. J. Kresge, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 213; c) Y. Chiang, A. J. Kresge, *Science* **1991**, *253*, 395; d) B. Zeng, R. M. Pollack, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3838.
- [9] a) J.-M. Lehn, *Pure Appl. Chem.* **1979**, *51*, 979; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1986**, *471*, 41; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89; b) C. Sirlin, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **2** **1984**, 5.
- [10] B. Dietrich, M. W. Hosseini, J.-M. Lehn, R. B. Sessions, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 1262.
- [11] a) A. Bianchi, M. Micheloni, P. Paoletti, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *110*, 17; b) E. Kimura, *Top. Curr. Chem.* **1985**, *128*, 113.
- [12] Übersichtsartikel: M. W. Hosseini, *Bioorg. Chem. Front.* **1993**, *3*, 67.
- [13] a) B. Dietrich, M. W. Hosseini, J.-M. Lehn, R. B. Sessions, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 1282; b) M. W. Hosseini, J. M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 587; c) *ibid.* **1988**, *71*, 749.
- [14] R. J. Motekaitis, A. E. Martell, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 5534.
- [15] Kristallstruktur des Hexahydrochlorids von 1: S. Boudon, A. DeCian, J. Fischer, M. W. Hosseini, J.-M. Lehn, G. Wipff, *J. Coord. Chem.* **1991**, *23*, 113.
- [16] Ionisierungskonstanten $pK_a = 2.63$ und 5.27 [14].
- [17] Der Reaktionsverlauf wurde anhand der Integration des CH_2 -Signals bei $25 \pm 3^\circ\text{C}$ verfolgt. Der Austausch jedes Protons und der Isotopeneffekt des zuerst eingebrachten D-Atoms auf den Austausch des zweiten Protons sind untersucht worden [19]. Da wir den Austausch beider Protonen verfolgten, sind die vorliegenden Werte eine untere Grenze für die Geschwindigkeitskonstante des H/D-Austauschs. Zwischen dem Mischen der Proben und der Aufnahme der Spektren vergingen 1 bis 5 Minuten. Die Konzentration, der pH-Wert und die Temperatur sind in den Legenden zu den Abbildungen angegeben. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von sehr kleinen Mengen an konzentrierter wässriger Salzsäure oder Natronlauge eingestellt.
- [18] Es war nicht möglich, Messungen unter Sättigungsbedingungen durchzuführen, da die gemessenen Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} zu groß waren, um mit den verwendeten NMR-Methoden bestimmt werden zu können. Der festgestellte Faktor von ca. 100 zwischen dem Verhältnis $k_{\text{cat}}/k_{\text{uncat}}$ bei der Reaktion mit **1** und dem bei der mit **2** kann auch durch die Tatsache illustriert werden, daß **1** mit **2** – bei gleicher Malonat-Konzentration (10 mM) – etwa ebenso groß ist (ca. $260 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$) wie die mit **1** bei einer zwanzigfach kleineren Konzentration (10^{-4} M gegenüber 10^{-3} M bei **2**), d.h. unter Bedingungen, die für **2** viel weiter von der Sättigung entfernt sind als für **1**.
- [19] E. W. Hansen, P. Ruoff, *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 2641.
- [20] Es konnte gezeigt werden, daß Cl^- -Ionen mit protonierten Polyaminen stabile Komplexe bilden (M. W. Hosseini, J. P. Kintzinger, J. M. Lehn, A. Zahidi, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1078) und daß Na^+ -Ionen mit Protonen bei der Wechselwirkung mit dem Polyamid konkurrieren können [13c].
- [21] Dieser Makrocyclus ist im Rahmen anderer Arbeiten synthetisiert worden; A. Marquis-Rigault, J.-M. Lehn, unveröffentlichte Ergebnisse; ein anderer Zugang wurde beschrieben [22].
- [22] T. Shimada, M. Kodera, H. Okawa, S. Kida, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, *1121*.
- [23] $[2] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{Malonat}] = 2.5 \times 10^{-3} - 10^{-2} \text{ M}$. Lineweaver-Burk-Darstellung (6 Wertepaare, $r = 0.996$).
- [24] N. Kyritsakas, J. Fischer, H. Fenniri, J.-M. Lehn, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [25] Geschwindigkeits erhöhung beim Protonentransfer zu einem Enolether durch einen katalytischen Antikörper: J. L. Reymond, G. K. Jahangiri, C. Stoudt, R. A. Lerner, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3909.
- [26] J. Wolf, A. Castero, J. Rebek, Jr., *Israel J. Chem.* **1992**, *32*, 97.
- [27] H. Fenniri, C. Dallaire, J.-M. Lehn, unveröffentlichte Ergebnisse.

Synthese von maßgeschneiderten Glycokonjugaten, die AT-III-vermittelt die Blutgerinnungsfaktoren Xa und Thrombin inhibieren **

Pieter Westerduin, Jan E. M. Basten, Marc A. Broekhoven, Vera de Kimpe, Will H. A. Kuijpers und Constant A. A. van Boeckel*

Das sulfatierte Glycosaminoglycan Heparin bindet mit hoher Affinität an das Plasmaprotein Antithrombin III (AT III) und erhöht dadurch dessen Inhibitorkomplexität gegenüber Faktor Xa und Thrombin, zwei an der Blutgerinnung beteiligten Serin-Proteasen^[1, 2]. Die AT-III-bindende Region des Heparins besteht aus einer besonderen Pentasaccharid(PS)-Domäne^[3, 4], deren synthetisches Äquivalent zwar ebenfalls die AT-III-vermittelte Inhibition von Faktor Xa fördert, nicht jedoch die von Thrombin^[5, 6]. Im Rahmen eines Programms zur Herstellung von PS-Analoga^[7, 8] wurden die molekularen Grundlagen der spezifischen Bindung von PS an AT III aufgeklärt und ein räumliches Modell der Wechselwirkungen zwischen PS und AT III entworfen^[9, 10]. Darüber hinaus wurden leicht zugängliche, sehr wirksame O-sulfatierte/O-methylierte PS-Analoga wie **1** identifiziert.



fizierte^[11–13]. Als nächstes war das Konzept der AT-III-vermittelten Inhibition von Faktor Xa durch PS hinsichtlich der Synthese von Derivaten mit sowohl Anti-Faktor-Xa- als auch Anti-Thrombin-Aktivität zu erweitern.

Für die AT-III-vermittelte Inhibition von Thrombin wird ein Heparinfragment mit einer Länge von mindestens 18 Saccharidresten benötigt^[14], das AT III und Thrombin an denselben Polysaccharidketten binden kann („Brücken“- oder „Templat“-Mechanismus)^[15] (Abb. 1). Für die Bildung des ter-

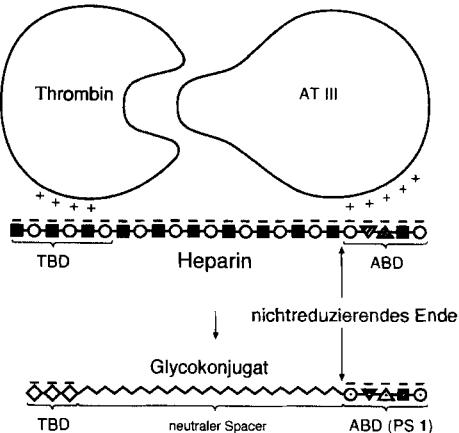


Abb. 1. Schematische Darstellung des Heparin/AT-III/Thrombin-Komplexes, die zum Konzept der synthetischen Heparin-Analoga wie der Glycokonjugate **I–VI** führte.

[*] Prof. Dr. C. A. A. van Boeckel, Dr. P. Westerduin, J. E. M. Basten, M. A. Broekhoven, V. de Kimpe, Dr. Ir. W. H. A. Kuijpers
Department of Medicinal Chemistry, N. V. Organon
PO Box 20, NL-5340 BH Oss (Niederlande)
Telefax: Int. + 412/662546

[**] Diese Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit Sanofi Recherche, Frankreich, durchgeführt. Wir danken Dr. M. Petitou (Sanofi Recherche) für hilfreiche Diskussionen, T. G. van Dinther und E. van As (N. V. Organon) für die Bestimmung der biologischen In-vitro-Aktivitäten sowie Dr. P. A. van Veelen (N. V. Organon) für die MALDI-MS-Messungen.