

- [5] a) A. G. Palmer III, J. Cavanagh, P. E. Wright, M. Rance, *J. Magn. Reson.* **1991**, *93*, 151–170; b) J. Cavanagh, M. Rance, *J. Magn. Reson.* **1990**, *88*, 72–85; c) L. E. Kay, P. Keifer, T. Saarinen, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10663–10665; d) J. Schleucher, M. Sattler, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1518–1521; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1489–1491.
- [6] a) R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun, *The Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, Clarendon, Oxford, **1987**; b) O. W. Sorensen, G. W. Eich, M. H. Levitt, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *Prog. NMR Spectrosc.* **1983**, *16*, 163–192.
- [7] D. I. States, R. A. Haberkorn, D. J. Buben, *J. Magn. Reson.* **1982**, *93*, 151.
- [8] Anmerkung bei der Korrektur (25. September 1998): Ein Gutachter wies uns darauf hin, daß die Spektrometer der Firmen Varian und Bruker diesbezüglich einer unterschiedlichen Vorzeichenkonvention folgen, weshalb die *y*-Achse der Empfängerphase sowie die Phase des *y*-Pulses invertiert werden müssen. In der in Abb. 1 gezeigten Pulsssequenz ist bei diesem Phasencyclus nur die Phase des zweiten  $90^\circ$ - $^1\text{H}$ -Pulses betroffen: Für eine optimale Empfindlichkeit sollte die Phase dieses Pulses – *y* bei Varian- und +*y* bei Bruker-Spektrometern sein. Wenn diese Phase invertiert wird, geht die "Gleichgewichts"-Verstärkung, die von Pervushin et al. (*J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6394–6400) nach dem Einreichen unseres Manuskripts beschrieben wurde, verloren. Die von uns hier vorgestellte Empfindlichkeitserhöhung hängt allerdings nicht von der Phase dieses Pulses ab, und eine Verstärkung um den Faktor  $\sqrt{2}$  wird gegenüber dem entsprechenden TROSY-NMR-Experiment mit der gleichen Phase hinsichtlich dieses Pulses erzielt.

## Effiziente Sialyltransferase-Inhibitoren auf der Basis von Übergangszustandsanaloga des Sialyldonors\*\*

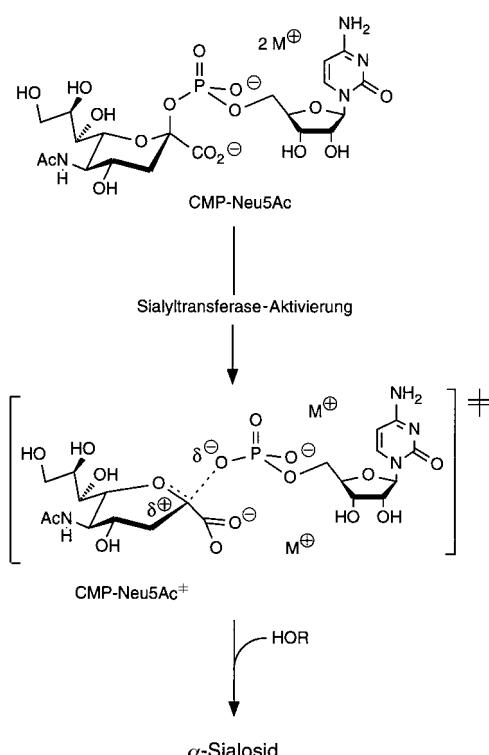
Bernd Müller, Christoph Schaub und Richard R. Schmidt\*

Neuraminsäure enthaltende Epitope sind an der Zelladhäsion, an Entzündungen und anderen wichtigen biologischen Prozessen beteiligt.<sup>[1]</sup> So gibt es einen Zusammenhang zwischen der Sialylierung von Glykonjugaten und der Bösartigkeit von Tumorzellen.<sup>[2]</sup> Außerdem unterscheiden sich Tumorzellen und normale Zellen in der Art der Sialylie rung:<sup>[3, 4]</sup> Beispielsweise wurde *N*-Glycolylneuraminsäure auf der Oberfläche von normalen menschlichen Zellen bisher nicht nachgewiesen, während 30–50% von Tumorzellen unterschiedlicher Herkunft diese Verbindung in kleinen Mengen enthalten.<sup>[3]</sup> Kürzlich wurde über eine medizinisch interessante Beziehung zwischen der  $\alpha(2\text{-}6)$ -Sialylierung von *N*-Acetylglucosamin, der Aktivierung von B-Lymphozyten und der Funktion des Immunsystems berichtet.<sup>[5]</sup> Um den Einfluß von Sialinsäureresten in biologischen Prozessen untersuchen zu können, ist die Entwicklung leistungsfähiger Inhibitoren für Sialyltransferasen äußerst wünschenswert.

[\*] Prof. Dr. R. R. Schmidt, Dipl.-Chem. B. Müller, Dipl.-Chem. C. Schaub  
Fakultät für Chemie der Universität, Fach M 725  
D-78457 Konstanz  
Fax: (+49) 7531-88-3135

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. C.S. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Stipendium. Dr. A. Geyer danken wir für seine Hilfe bei den Strukturaufklärungen durch NMR-Experimente.

Sialyltransferasen verwenden unabhängig von ihrem Ursprung und ihrer Acceptorspezifität als Sialyldonor Cytidin-monophosphat-*N*-acetylneuraminsäure (CMP-Neu5Ac, Schema 1).<sup>[6]</sup> Die vom mutmaßlichen Reaktionsverlauf abgeleiteten Analoga des Übergangszustands (CMP-Neu5Ac<sup>+</sup> in Schema 1)<sup>[7, 8]</sup> könnten eine hohe Enzymaffinität aufweisen und



Schema 1. Mechanismus der Sialylierung.

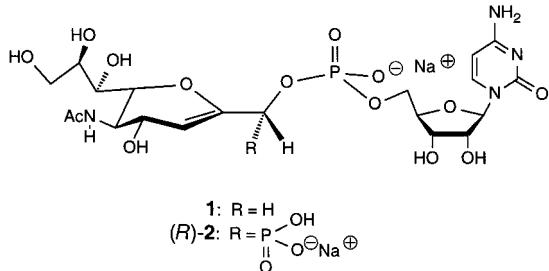
daher besonders effiziente Inhibitoren sein. Bisher wurden nur wenige Donor- und Acceptoranaloga (= Substratanaloga) als Inhibitoren für Sialyltransferase beschrieben.<sup>[7–13]</sup> Ihre Wirksamkeit liegt jedoch nur im mikromolaren Bereich und entspricht damit der des Substrats CMP-Neu5Ac, das an  $\alpha(2\text{-}6)$ -Sialyltransferase aus Rattenleber (EC 2.4.99.1) mit  $K_M = 46 \mu\text{M}$  bindet (Tabelle 1).<sup>[7]</sup> Dies veranlaßte uns, Analoga des Übergangszustands als Inhibitoren zu synthetisieren.<sup>[7, 14]</sup> Die Verbindungen **1** und **2** basieren auf dem Modell des

Tabelle 1. Affinität von CMP-Neu5Ac ( $K_M$ ) zu  $\alpha(2\text{-}6)$ -Sialyltransferase aus Rattenleber und Inhibierungskonstanten ( $K_i$ ) der Übergangszustandsanaloga (*R*)-**2**, **3h,l**, **4h,l**, (*R*)-**6**, (*S*)-**6**, (*R*)-**7**, (*S*)-**7**, (*E*)-**8** und (*Z*)-**9**.<sup>[a]</sup>

	$K_M [\mu\text{M}]$	$K_i [\mu\text{M}]$	Lit.
CMP-Neu5Ac	$46 \pm 7$	–	[7]
( <i>R</i> )- <b>2</b>	–	$0.35 \pm 0.05$	[8]
<b>3h</b>	–	$0.20 \pm 0.05$	–
<b>3l</b>	–	$1.0 \pm 0.2$	–
<b>4h</b>	–	$0.28 \pm 0.06$	–
<b>4l</b>	–	$1.0 \pm 0.3$	–
( <i>R</i> )- <b>6</b>	–	$10 \pm 2$	–
( <i>S</i> )- <b>6</b>	–	$7 \pm 2$	–
( <i>R</i> )- <b>7</b>	–	$15 \pm 3$	–
( <i>S</i> )- <b>7</b>	–	$23 \pm 5$	–
( <i>E</i> )- <b>8</b>	–	$6.0 \pm 0.5$	[8]
( <i>Z</i> )- <b>9</b>	–	$0.04 \pm 0.008$	–

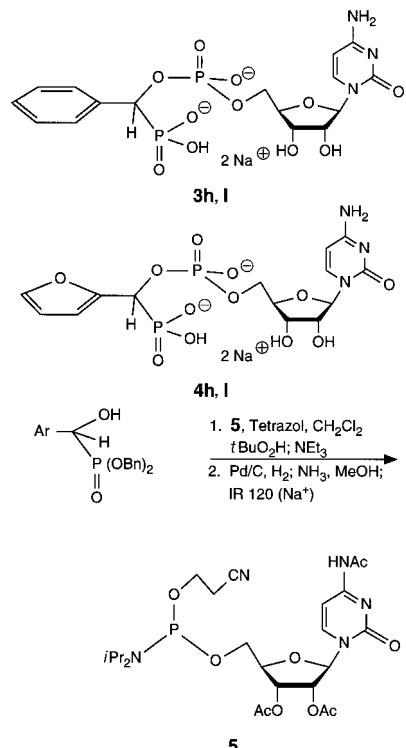
[a] Einzelheiten siehe Lit. [7a].

Übergangszustands CMP-Neu5Ac<sup>+</sup> (Schema 1), das aus dem kürzlich bestätigten S<sub>N</sub>1-Mechanismus abgeleitet wird.<sup>[7, 8, 15]</sup> Sie wurden als potentielle Inhibitoren angesehen, da der Abstand zwischen dem anomeren Zentrum (C-2 des Neu5Ac-Restes) und der Abgangsgruppe (CMP) größer ist und damit



dem Abstand im Übergangszustandsmodell (CMP-Neu5Ac<sup>+</sup>) gleicht. Besonders interessant war die Verbindung 2,<sup>[8]</sup> weil sie wie CMP-Neu5Ac zwei durch fünf Bindungen voneinander getrennte negative Ladungen hat. Außerdem ist das anomere Zentrum in 2 trigonal-planar und hat damit eine Konformation, wie sie auch für den Übergangszustand einer S<sub>N</sub>1-ähnlichen Reaktion angenommen wird. Dieses Konzept erwies sich als sehr erfolgreich, denn (R)-2 ist ein sehr wirksamer Inhibitor, der im nanomolaren Bereich an  $\alpha$ (2-6)-Sialyltransferase bindet (Tabelle 1).<sup>[8]</sup> Aus diesem Ergebnis resultierten zwei Fragen, die hier diskutiert werden: 1. Ist der Neuraminyrest in der Verbindung (R)-2 überhaupt erforderlich, oder kann er durch einfache Aryl-, Hetaryl- oder ähnliche Substituenten ersetzt werden, so daß derartige Verbindungen leichter zugänglich sind? 2. Würde eine andere Substituentenanordnung am anomeren Zentrum die Affinität vergrößern?

Um die erste Frage klären zu können, wurden die Verbindungen 3 und 4 hergestellt (Schema 2). Dazu wurde Benzaldehyd bzw. Furfural zunächst mit Dibenzylphosphonat in



Schema 2. Synthese von 3 und 4. Bn = Benzyl.

die entsprechenden  $\alpha$ -Hydroxyphosphonate (racemische Mischungen) überführt.<sup>[16]</sup> Ihre Kondensation mit dem Cytidinphosphitamid 5<sup>[17]</sup> in Gegenwart von Tetrazol und die nachfolgende Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid lieferte nach basenkatalysierter Abspaltung der Cyanethylschutzgruppe, Hydrogenolyse der Benzylgruppen und Desacetylierung die gewünschten Verbindungen. Die Diastereomerentrennung von 3h,l und 4h,l (high, low R<sub>f</sub>) gelang durch Chromatographie an RP-18-Kieselgel (Et<sub>3</sub>NH·HCO<sub>3</sub>-Puffer als Eluens) und anschließenden Ionenaustausch mit IR-120 (Na<sup>+</sup>) (Tabelle 2). Die Konfiguration des neuen Stereozentrums wurde

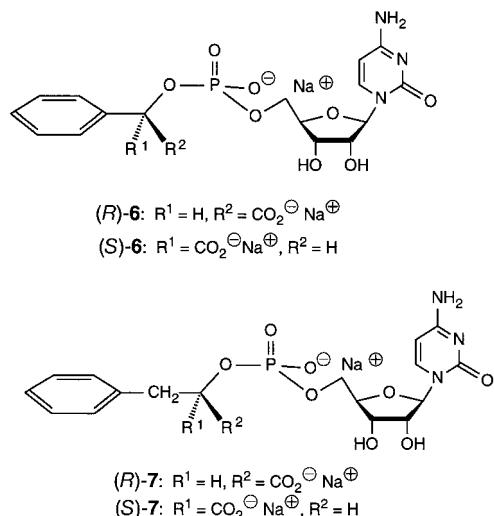
Tabelle 2. Ausgewählte physikalische Daten von 3h,l, 4h,l, (R)-6, (S)-6, (R)-7, (S)-7 und (Z)-9.<sup>[a]</sup>

<b>3h:</b> HPLC (2proz. CH <sub>3</sub> CN, 10 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 10.1 min; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = -37.9 (c = 0.8, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.38 (br. d, 1H; 4'-H), 3.60 (m, 1H; 5a'-H), 3.81 – 3.95 (m, 3H; 2', 3', 5b'-H), 5.04 (dd, <sup>3</sup> J(1'',P) = 13.0 Hz, <sup>2</sup> J(1'',P) = 11.0 Hz, 1H; 1''-H); MS: m/z = 494 [M - 3Na <sup>+</sup> 2H] <sup>-</sup> , 559.30 für C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>11</sub> P <sub>2</sub>
<b>3l:</b> HPLC (2proz. CH <sub>3</sub> CN, 10 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 12.5 min; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = +23.3 (c = 0.8, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.66 – 3.95 (m, 5H; 2', 3', 4', 5a, b'-H), 5.02 (dd, <sup>3</sup> J(1'',P) = 14.0 Hz, <sup>2</sup> J(1'',P) = 10.0 Hz, 1H; 1''-H); MS: m/z = 494 [M - 3Na <sup>+</sup> 2H] <sup>-</sup> , 559.30 für C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>11</sub> P <sub>2</sub>
<b>4h:</b> HPLC (1proz. CH <sub>3</sub> CN, 8 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 15.7 min; <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.5 – 4.0 (m, 5H; 2', 3', 4', 5a, b'-H), 5.04 (dd, <sup>3</sup> J(1'',P) = 15 Hz, <sup>2</sup> J(1'',P) = 9.2 Hz, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = 0.73 (d, <sup>3</sup> J(P,P) = 33.4 Hz; Phosphat), 12.56 (d; Phosphonat); MS: m/z = 486 [M - 2Na <sup>+</sup> H - H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 504 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 525 [M - Na] <sup>-</sup> , 549.2 für C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>12</sub> P
<b>4l:</b> HPLC (1proz. CH <sub>3</sub> CN, 8 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 19.9 min; <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.65 – 3.82 (m, 2H; 5a, b'-H), 3.9 – 4.0 (m, 3H; 2', 3', 4'-H), 5.03 (dd, <sup>3</sup> J(1'',P) = 15.1 Hz, <sup>2</sup> J(1'',P) = 9.5 Hz, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = 1.07 (d, <sup>3</sup> J(P,P) = 33.4 Hz; Phosphat), 12.49 (d; Phosphonat); MS: m/z = 486 [M - 2Na <sup>+</sup> H - H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> , 504 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 525 [M - Na] <sup>-</sup> , 549.2 für C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>12</sub> P
<b>(R)-6:</b> HPLC (3proz. CH <sub>3</sub> CN, 8 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 13.67 min; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = -41 (c = 1.09, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.55 – 3.64 (m, 2H; 5a, b'-H), 3.80 – 3.92 (m, 3H; 2', 3'', 4'-H), 5.19 (d, <sup>3</sup> J(1'',P) = 8.9 Hz, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = -0.13 (s; Phosphat); MS: m/z = 455 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 501.3 für C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>10</sub> P
<b>(S)-6:</b> HPLC (3proz. CH <sub>3</sub> CN, 8 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 21.32 min; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = +37.6 (c = 0.5, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 3.70 – 3.91 (m, 5H; 2', 3', 4', 5a, b'-H), 5.16 (d, <sup>3</sup> J(1'',P) = 9.1 Hz, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = 0.20 (s; Phosphat); MS: m/z = 455 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 501.3 für C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>10</sub> P
<b>(R)-7:</b> DC: R <sub>f</sub> = 0.81; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = +5.5 (c = 1, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 2.80 – 2.97 (m, 2H; 2a, b'-H), 3.50 – 3.58 (m, 1H; 5a, b'-H), 3.80 – 3.94 (m, 4H; 2', 3', 4', 5b'-H), 4.38 – 4.48 (m, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = 0.07 (s; Phosphat); MS: m/z = 470 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 515.07 für C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>10</sub> P
<b>(S)-7:</b> DC: R <sub>f</sub> = 0.81; [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = -9.4 (c = 1, H <sub>2</sub> O); <sup>1</sup> H-NMR: δ = 2.81 (dd, J(2a'', 2b'') = 14.2 Hz, J(2a'', 1'') = 7.0 Hz, 1H; 2a'', 1''); 2.89 (dd, J(2b'', 1'') = 5.3 Hz, 1H; 2b'', 1''), 3.60 – 3.74 (m, 2H; 5a, b'-H), 3.88 – 3.96 (m, 2H; 2', 3', 4'-H), 4.00 (dd, J(4', 3') = J(4', 5a') = 4.5 Hz, 1H; 4', 1''), 4.38 (ddd, J(1'', P) = 8.4 Hz, 1H; 1''-H); <sup>31</sup> P-NMR: δ = -0.04 (s; Phosphat); MS: m/z = 470 [M - 2Na <sup>+</sup> H] <sup>-</sup> , 515.07 für C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>10</sub> P
<b>(Z)-9:</b> HPLC (2proz. CH <sub>3</sub> CN, 10 mL min <sup>-1</sup> ): t <sub>R</sub> = 14.4 min; <sup>1</sup> H-NMR (600 MHz, D <sub>2</sub> O): δ = 1.89 (s, 3H; NHAc), 3.42 (dd, J(7'', 8'') = 9.1 Hz, J(7'', 6'') = 1.9 Hz, 1H; 7'', 1''), 3.51 (dd, J(9a'', 9b'') = 11.9 Hz, J(9a'', 8'') = 7.0 Hz, 1H; 9a'', 1''), 3.75 (dd, J(9b'', 8'') = 2.8 Hz, 1H; 9b'', 1''), 3.84 (dd, J(6'', 5'') = 9.8 Hz, 1H; 6'', 1''), 3.91 (m, 1H; 8'', 1''), 4.13 (m, 2H; 3', 4'-H), 4.15 – 4.20 (m, 3H; 2', 3', 4'-H), 4.73 (ddd, J(5'', 4'') = J(5'', 3'') = 1.9 Hz, 1H; 5'', 1''), 5.76 (ddd, J(4', 3') = 10.4 Hz, J(4', P) = 2 Hz, 1H; 4'', 1''), 5.85 (d, J(1', 2') = 4.2 Hz, 1H; 1'', 1''), 6.50 (ddd, J(3', P) = 2.8 Hz, 1H; 3'', 1''); <sup>31</sup> P-NMR (242.5 MHz, D <sub>2</sub> O): δ = -3.6 (br. s; Phosphat), 3.6 (br. s; Phosphonat); MS: m/z = 644 [M - 3Na <sup>+</sup> 2H] <sup>-</sup> , 710.42 für C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>16</sub> P <sub>2</sub>

[a] <sup>1</sup>H-NMR: 250 MHz, D<sub>2</sub>O, sofern nicht anders angegeben. <sup>31</sup>P-NMR: 161.7 MHz, D<sub>2</sub>O, sofern nicht anders angegeben. MS: MALDI, negativer Modus, Matrix ATT. HPLC: RP-18, 1–3proz. CH<sub>3</sub>CN, 0.05 M Et<sub>3</sub>NH·HCO<sub>3</sub>. DC: Ethylacetat/Methanol/1M CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>NH<sub>4</sub> 1/1/1.

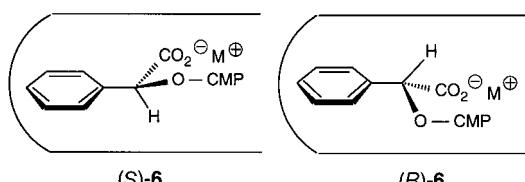
nicht bestimmt. Die Verbindungen **6** und **7**, die anstelle des Phosphonatrestes eine Carboxylatgruppe enthalten, können auf ähnliche Weise aus (*R*)- und (*S*)-Mandelsäuremethylester bzw. (*R*)- und (*S*)-Phenylmilchsäuremethylester erhalten werden (Schema 3, Tabelle 2).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, ist die Bindungsaffinität des Phenylderivats **3h** für  $\alpha$ (2-6)-Sialyltransferase sogar noch höher als die des Neuraminylderivats (*R*)-**2**, und auch das Furylderivat **4h** ist ein sehr guter kompetitiver Inhibitor.<sup>[18]</sup> Offenbar hat die Konfiguration des mit dem CMP-Rest verknüpften Kohlenstoffatoms keinen großen Einfluß auf die Inhibition ( $K_i$ -Werte: **3h**:**3l** ≈ 1:5, **4h**:**4l** ≈ 1:4). Der Austausch des Phosphonatrestes durch eine Carboxylatgruppe in (*R*)- und (*S*)-**6** sowie in (*R*)- und (*S*)-**7** vermindert die Bindungsaffinität um etwa eine Größenordnung, und auch in diesem Fall wirkt sich die Konfiguration des mit dem CMP-Rest verknüpften Kohlenstoffatoms kaum auf die  $K_i$ -Werte aus. Man kann daher annehmen, daß die Bindung unter Anpassung an die Konfiguration erfolgt, wie Schema 4 am Beispiel von (*R*)- und (*S*)-**6** zeigt.

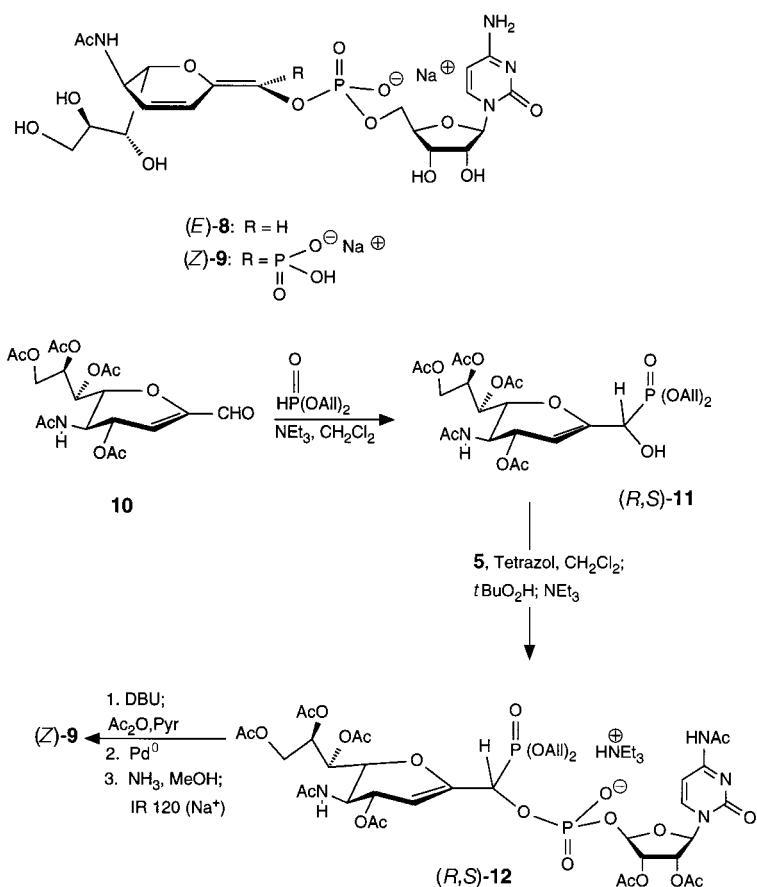


Schema 3. Synthese von **6** und **7**.

Die hohe Affinität der Verbindung **3h** mit flachem Benzolring, der geringe Einfluß der Konfiguration des mit dem CMP-Rest verknüpften Kohlenstoffatoms sowie die unerwartet hohe Affinität des Eliminierungsprodukts (*E*)-**8** (Schema 5),



Schema 4. Bindung von **6** unter Anpassung an die Konfiguration.



Schema 5. Synthese von **12**. All = Allyl, DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en.

das bei der Synthese von (*R*)-**2** durch Desacetoxyphosphorylierung entstanden war,<sup>[8]</sup> veranlaßte uns, die positiven Effekte von (*R*)-**2,3h** und (*E*)-**8** zu kombinieren, indem wir an der Methylenegruppe in **8** eine Phosphonatgruppe einführten. In der so abgeleiteten Verbindung (*Z*)-**9** haben die beiden entscheidenden Gruppierungen – die Phosphonat- und die CMP-Einheit – die gewünschte Geometrie, und der aus dem Neuraminyrest gebildete Pyranring ist flacher als in (*R*)-**2** und gleicht somit dem Benzolring in **3h**. Die Synthese von (*Z*)-**9** war unproblematisch (Schema 5): Die Reaktion des Aldehyds **10**<sup>[8]</sup> mit Diallylphosphonat<sup>[19]</sup> lieferte das  $\alpha$ -Hydroxyphosphonat als Diastereomerengemisch (*R,S*)-**11**, das wie oben beschrieben mit **5** zu den Diastereomeren (*R,S*)-**12** umgesetzt wurde. Basische Eliminierung von Essigsäure, anschließende Desallylierung mit [(Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>Pd] in Gegenwart von Dimedon und basenkatalysierte Abspaltung der Acetylgruppen lieferten ausschließlich (*Z*)-**9** (Tabelle 2). Diese Verbindung ist mit  $K_i$  = 40 nm (Tabelle 1) ein sehr starker kompetitiver Inhibitor von  $\alpha$ (2-6)-Sialyltransferase. Die Affinität von (*Z*)-**9** zu  $\alpha$ (2-6)-Sialyltransferase<sup>[20]</sup> ist um drei Zehnerpotenzen höher als die des natürlichen Substrats CMP-Neu5Ac und bestätigt eindrucksvoll das hier diskutierte Konzept.

Wie die Verbindungen **1**, (*R*)-**2,3h**, (*E*)-**8** und (*Z*)-**9** belegen, basiert die Struktur hochwirksamer Sialyltransferase-Inhibitoren auf flachen Ringen, die über ein Methyl- oder Methylenekohlenstoffatom mit einem Phosphonat- und einem CMP-Rest verknüpft sind. Aus diesen Ergebnissen kann auf weitere

Einzelheiten zur Geometrie des Übergangszustands bei der enzymatischen Neuraminsäureübertragung geschlossen werden, die eine Fortsetzung dieser Arbeiten ermöglichen.

## Experimentelles

A) Vorschrift zur Synthese von  $\alpha$ -Hydroxyphosphonaten: Ein Äquivalent des Aldehyds wurde in wenig  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und mit zwei Äquivalenten des Phosphonsäurediesters und einigen Tropfen Triethylamin versetzt. Die Lösung wurde 18 h gerührt, eingeengt und durch Chromatographie an Kieselgel gereinigt.

B) Vorschrift für die Kondensation mit 5: 1.5 Äquivalente 5 und 1 Äquivalent  $\alpha$ -Hydroxyphosphonat wurden in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und zur Trockne eingeengt. Der verbliebene Schaum wurde unter Stickstoff in wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und mit 1H-Tetrazol (2 Äquiv.) versetzt. Nach 3 h Röhren wurde wasserfreie tert-Butylhydroperoxidlösung (1.5 Äquiv.) und nach 1 h Triethylamin (50 Äquiv.) zugegeben. Nach 18 h Röhren wurde das Reaktionsgemisch bei 20°C eingeengt und durch Chromatographie an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat/Methanol 5/1, 1%  $\text{NEt}_3$ ).

O-Debenzylierungen und/oder ON-Desacetylierungen wurden nach Lit. [8] durchgeführt und lieferten 3h,l, 4h,l, (R)-, (S)-6, und (R)-, (S)-7.

C) Synthese von (Z)-9: (R,S)-11 und (R,S)-12 wurden wie unter A bzw. B beschrieben synthetisiert. (R,S)-12 (180 mg, 0.16 mmol) und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU, 70  $\mu\text{L}$ , 0.48 mmol) wurden in 2 mL wasserfreiem THF gelöst und auf 60°C erhitzt. Nach 2 h wurde nochmals DBU (50  $\mu\text{L}$ , 0.33 mmol) zugegeben und weitere 3 h bei 60°C gerührt. Anschließend wurde bei Raumtemperatur mit 2 mL Acetanhydrid und 4 mL Pyridin versetzt und nach 15 h eingeengt. Chromatographie des Rückstands an Kieselgel (Ethylacetat/Methanol 5/1, 1%  $\text{NEt}_3$ ) lieferte geschütztes (Z)-9 (120 mg, 70%);  $R_f = 0.10$  (Ethylacetat/Methanol 4/1, 1%  $\text{NEt}_3$ ). – Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 40 mg geschütztes (Z)-9 unter Stickstoff in 2 mL THF gelöst und mit [(Ph<sub>3</sub>P)<sub>2</sub>Pd] (4.2 mg, 4  $\mu\text{mol}$ ) und Dimedon (21 mg, 0.15 mmol) versetzt; die Mischung wurde 30 min unter Lichtausschluß gerührt. Nach Chromatographie des Reaktionsgemisches an RP-18-Kieselgel (Wasser/Ethanol 3/1) und Einengen im Vakuum wurden die Acetylgruppen durch Aufnehmen des Rückstands in wäßriger Ammoniaklösung (30proz., 3 mL) abgespalten. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, in 1 mL Wasser aufgenommen und mit IR-120 ( $\text{Na}^+$ ) gerührt. Filtrieren und anschließendes Ausfällen mit 8 mL Ethanol ergab (Z)-9 (Ausbeute 24 mg, 80%).

Eingegangen am 29. Mai 1998 [Z11914]

**Stichwörter:** Enzyminhibitoren • Neuraminsäuren • Phosphonate • Übergangszustände

- [5] T. Hennet, D. Chui, J. C. Paulson, J. D. Marth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 4504–4509.
- [6] A. Harduin-Lepers, A. Recchi, P. Delaunoy, *Glycobiology* **1995**, *5*, 741–758.
- [7] a) C. Schaub, B. Müller, R. R. Schmidt, *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 345–354; b) C. Schaub, R. R. Schmidt, *Abstr. Pap. 2nd Eur. Conf. Carbohydr. Mimics* (La Garda, Italien), **1996**, S. C10.
- [8] F. Amann, C. Schaub, B. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1106–1115.
- [9] B. Müller, T. J. Martin, C. Schaub, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 509–512.
- [10] a) W. Korytnyk, N. Angelino, W. Klohs, R. J. Bernacki, *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, *15*, 77–84; b) I. Kijima-Suda, Y. Migamata, S. Toyoshima, M. Itoh, T. Osawa, *Cancer Res.* **1986**, *46*, 858–862; c) S. H. Khan, K. L. Matta in *Glycoconjugates, Composition, Structure, Function* (Hrsg.: H. J. Allen, E. C. Kisailus), Dekker, New York, **1992**, S. 361–378, zit. Lit.
- [11] a) H. Hashimoto, K. Sato, T. Wakabayashi, H. Kodama, Y. Kajihara, *Carbohydr. Res.* **1993**, *247*, 179–193; b) M. Imamoto, H. Hashimoto, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1451–1454.
- [12] a) R. G. Kleineidam, T. Schmelter, R. T. Schwarz, R. Schauer, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 57–66; b) D. H. van den Eijnden, T. J. Martin, R. R. Schmidt, unveröffentlichte Ergebnisse; c) G. Dufner, Dissertation, Universität Konstanz, **1997**.
- [13] Kürzlich wurde die Antisense-Technologie zur Verminderung der Expression von Sialyltransferase untersucht: W. Kemmner, K. Hoehaus, P. M. Schlag, *FEBS Lett.* **1997**, *409*, 347–350.
- [14] Andere Beispiele für Übergangszustandsanaloga von Zuckernucleotiden: UDP-Gal: a) K. Frische, Dissertation, Universität Konstanz, **1992**; b) K. Frische, R. R. Schmidt, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1747–1750; GDP-Fuc: c) S. Cai, M. R. Strand, S. Hakomori, T. Toyokuni, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6693–6696.
- [15] B. A. Horenstein, M. Bruner, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10371–10379; b) B. A. Horenstein, M. Bruner, *Biochemistry* **1998**, *37*, 289–297, zit. Lit.
- [16] M. Hoffmann, *Synthesis* **1988**, 62–64.
- [17] a) Y. Kajihara, K. Koseki, T. Ebata, H. Kodama, H. Matsusita, H. Hashimoto, *Carbohydr. Res.* **1994**, *264*, C1–C5; b) Y. Kajihara, K. Koseki, T. Ebata, H. Kodama, H. Matsusita, H. Hashimoto, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5732–5735.
- [18] Für Einzelheiten zur Bestimmung der  $K_i$ -Werte siehe Lit. [7a].
- [19] Erhältlich bei Aldrich.
- [20] Untersuchungen einiger Inhibitoren mit einer rekombinannten  $\alpha(2\text{-}3)$ -Sialyltransferase aus Rattenleber führten zu ähnlichen Resultaten: C. Schaub, Dissertation, in Vorbereitung.

## Die erste Anti-Markownikow-Hydratisierung terminaler Alkine: Ruthenium(II)/Phosphan-katalysierte Bildung von Aldehyden

Makoto Tokunaga und Yasuo Wakatsuki\*

In Hinblick auf Wirtschaftlichkeit, Sicherheit und Umwelt spielt Wasser in organischen Synthesen als Reagens eine wichtige Rolle.<sup>[1]</sup> So wurde eine Reihe metallkatalysierter Hydratisierungen entwickelt, die ausgehend von Alkinen einen wichtigen Weg zu Carbonylverbindungen eröffnen. Da die Regiochemie aller bekannten Additionen von Wasser an

[\*] Dr. Y. Wakatsuki, Dr. M. Tokunaga  
The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)  
Wako-shi, Saitama, 351-0198 (Japan)  
Fax: (+81) 48-462-4665  
E-mail: waky@postman.riken.go.jp