

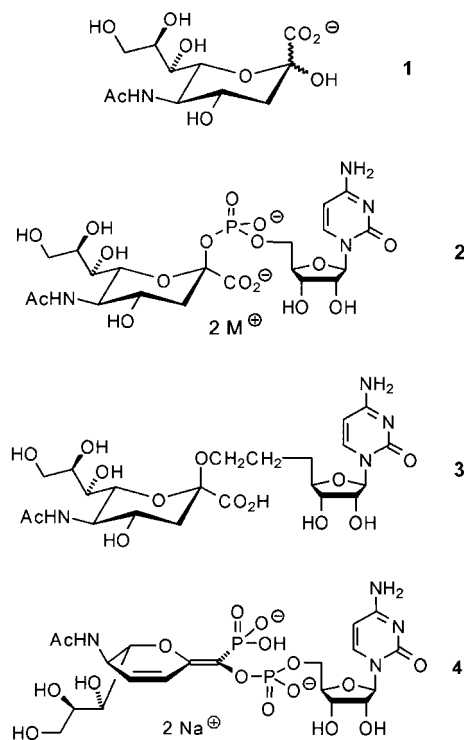
Vom Substrat- zum Übergangszustandsanalogon: der erste potente Sialyltransferase-Inhibitor

Peer Nils Schröder und Athanassios Giannis*

Sialinsäurehaltige Glycokonjugate findet man als zellspezifische Marker im gesamten Organismus. Sie spielen bei einer Reihe fundamentaler physiologischer und pathologischer Vorgänge, z.B. bei Embryogenese, Organbildung, Immunabwehr, Migration und Homing von Leukozyten, Metastasierung neoplastischer Zellen sowie entzündlichen Prozessen, aber auch dem Eindringen von Pathogenen in Zellen, eine zentrale Rolle.^[1–3] Bis heute kennt man über vierzig Sialinsäuren, unter denen die *N*-Acetylneuraminsäure **1** am häufigsten vorkommt. Sialinsäuren tragen wegen ihrer exponierten Position als terminale Gruppe vieler Oligosaccharidketten von Glycokonjugaten maßgeblich zu deren biologischen Eigenschaften bei. Als prominentestes Beispiel für eine sialinsäurevermittelte Zell/Virus-Interaktion sei die Influenza-Infektion genannt. Sowohl das Eindringen in die Zelle als auch das Freisetzen neugebildeter Viren verlaufen über sialinsäurehaltige Verbindungen. Das Virus-freisetzende Enzym, die Influenza-Sialidase, war daher schon früh das Ziel pharmazeutischer Forschung.^[3] Inhibitoren der Sialinsäure-Biosynthese wiederum kommen als antiinflammatorische, immunsuppressive und antimetastatische Agentien in Betracht. Obwohl die Biosynthese der *N*-Acetylneuraminsäure **1** seit längerem bekannt ist,^[4] sind wenige solche Inhibitoren entwickelt worden.^[5]

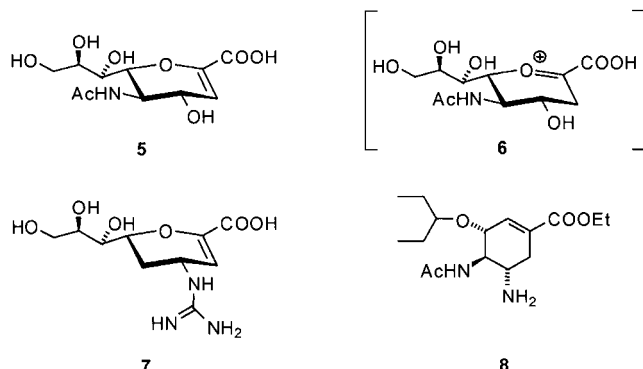
Eine weitere Zielrichtung ist die Hemmung von Sialyltransferasen, Enzymen, welche die Übertragung von Sialinsäureresten auf die entsprechenden Acceptoren katalysieren. Bis heute kennt man 19 Sialyltransferasen.^[6] Potente und spezifische Inhibitoren dieser Enzymklasse waren bisher nicht bekannt. Kürzlich berichteten jedoch R. R. Schmidt et al. über die Synthese der Verbindung **4**, die mit einer Inhibierungskonstante K_i von 40 nM eine 1000mal höhere Affinität zur $\alpha(2-6)$ -Sialyltransferase aus Rattenleber [EC2.4.99.1] aufweist als das natürliche Substrat.^[7] Das rationale Design dieses Inhibitors ging zunächst von der Cytidinmonophosphat-*N*-acetylneuraminsäure (CMP-Neu5Ac **2**) aus, dem gemeinsamen Donorsubstrat aller bisher bekannten Sialyltransferasen. Ein Beispiel für auf **2** basierende Substratanaloga-Inhibitoren ist die Verbindung **3**. Sie inhibiert die Über-

tragung von *N*-Acetylneuraminsäure auf Lactosylceramid um 38%, auf das Gangliosid GM₃ sogar um 63%.^[8] Bei der Entwicklung der Verbindung **4** rückte jedoch das Konzept der Übergangszustandsanaloga immer mehr in den Vordergrund.

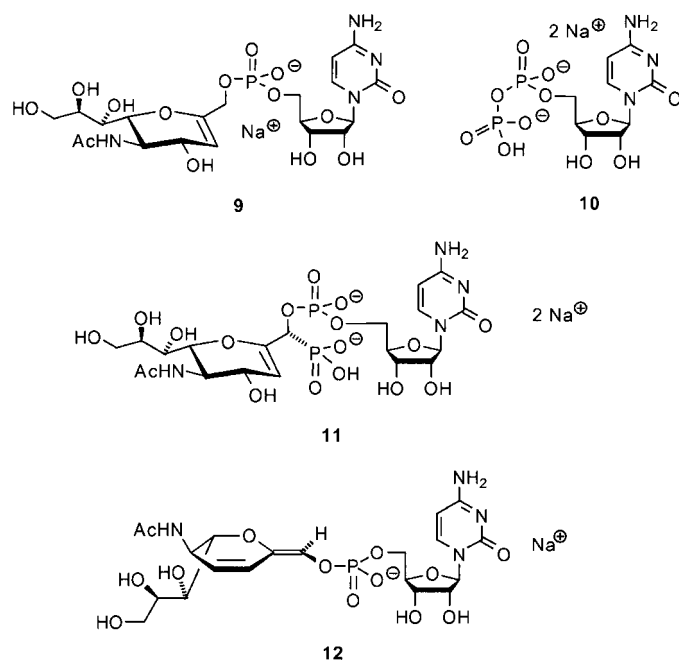


Bereits 1946 hatte Linus Pauling postuliert, daß Inhibitoren, die eine strukturelle Ähnlichkeit mit dem Übergangszustand der vom Enzym katalysierten Reaktion aufweisen, stärker an das aktive Zentrum des Enzyms gebunden werden als Analoga des Substrats im Grundzustand.^[9] Kinetikstudien ergaben, daß im Falle einer Ein-Substrat-Reaktion ein Übergangszustandsanalogon vom Enzym 10^7 - bis 10^{15} mal fester gebunden wird als das Substrat im Grundzustand.^[10] Zu Beginn des Projekts waren für die mit dem Replikationszyklus des Grippevirus assoziierten Sialidasen bereits potente Übergangszustandsanaloga bekannt. Diese Verbindungen leiten sich von der Dehydroacetylneuraminsäure Neu5Ac2en **5** ab und imitieren die Geometrie der für die *N*-Acetylneuraminsäure-Abspaltung postulierten Oxonium-Zwischenstufe **6**.

[*] Prof. Dr. A. Giannis, Dipl.-Chem. P. N. Schröder
Institut für Organische Chemie der Universität
Richard-Willstätter-Allee 2, D-76128 Karlsruhe
Fax: (+49) 721-608-7652
E-mail: giannis@ochhades.chemie.uni-karlsruhe.de



Zwei dieser Wirkstoffe, das Derivat **7** mit einem Guanidino-substituenten (Zanamivir, Glaxo Wellcome) und das Cyclohexenderivat **8** (GS4104, Hoffmann-La Roche), haben die klinischen Testphasen I–III erfolgreich durchlaufen und werden voraussichtlich die Arzneimittelzulassung erhalten.^[3, 11] Ob eine direkte Übertragung dieses Konzepts auf die Sialyltransferasen möglich sein würde, schien jedoch fraglich, da die Transferase-Reaktion im Gegensatz zur Abspaltung unter Inversion am anomeren C-Atom verläuft, die Reaktionen sich also mechanistisch unterscheiden. So konnte es nicht überraschen, daß erste Versuche enttäuschend verliefen: Die Affinität der Verbindung **9** zur $\alpha(2-6)$ -Sialyltransferase aus Rattenleber [EC2.4.99.1] ist mit einem K_i -Wert von über 2 mM nur gering.^[12] Zum Vergleich: Das natürliche Substrat CMP-Neu5Ac **2** bindet an das Enzym mit einer Michaelis-Menten-Konstante K_M von 46 μ M. Erst die Kombination des Neu5Ac2en-Bausteins mit der dianioni-



schen Struktur von Cytidindiphosphat (CDP **10**), von dem bekannt war, daß es die Sialyltransferase mit einem K_i -Wert von 10 μ M hemmt, führte zum Erfolg: Die Verbindung **11** ist mit einem K_i -Wert von 350 nM tatsächlich ein potenter Inhibitor.^[12] Mit dem Eliminierungsprodukt **12** aus der Reaktionssequenz zur Herstellung von **11** statt des Neu5Ac2en-Bausteins wurde dieses Ergebnis sogar noch übertroffen: Die Verbindung **4** ist der bisher potenteste Inhibitor der $\alpha(2-6)$ -Sialyltransferase. Weiterführende Studien haben gezeigt, daß die $\alpha(2-3)$ -Sialyltransferase durch **4** ebenfalls stark inhibiert wird.

Diese Arbeit von Schmidt et al. ist ein überzeugendes Beispiel rationalen Inhibitor-Designs auf dem schwierigen Gebiet der Glycosyltransferasen. Mit dem Übergangszustandsanalogon **4** steht ein wichtiges Werkzeug zur Verfügung, um zusätzliche Informationen über die Funktion sialinsäurehaltiger Glycokonjugate erhalten zu können. Zu diesem Zweck ist allerdings die Entwicklung zellgängiger Analoga (z. B. Prodrugs) essentiell.

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1379–1380

Stichwörter: Enzyminhibitoren • Neuraminsäuren • Rationales Design • Sialyltransferasen • Übergangszustandsanaloga

- [1] a) A. Rosenberg, *Biology of Sialic Acids*, Plenum, New York, **1995**;
b) W. Reutter, R. Stäsche, P. Stehling, O. Baum in *Glycosciences* (Hrsg.: H. J. Gabius, S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, S. 245–259.
- [2] M. Mammen, S.-K. Choi, G. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2754–2794.
- [3] M. von Itzstein, P. Colman, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, 6, 703–709.
- [4] a) A. P. Corfield, R. Schauer in *Sialic Acids—Chemistry, Metabolism and Function* (Hrsg.: R. Schauer), Springer, Wien, **1982**, S. 195–261;
b) A. Varki, *Glycobiology* **1993**, 3, 97–130.
- [5] a) R. Zeitler, A. Giannis, S. Danneschewski, E. Henk, T. Henk, C. Bauer, W. Reutter, K. Sandhoff, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 204, 1165–1168;
b) O. T. Keppler, P. Stehling, M. Herrmann, H. Kayser, D. Grunow, W. Reutter, M. Pawlita, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 1308–1314.
- [6] A. Harduin-Lepers, M. A. Recchi, P. Delannoy, *Glycobiology* **1995**, 5, 741–751.
- [7] B. Müller, C. Schaub, R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 3021–3024; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2893–2897.
- [8] Y. Hatanaka, Y. Kaneoka (MECT Corp.), JP-A 91-75891 [*Chem. Abstr.* **1993**, 119, 49839v].
- [9] L. Pauling, *Chem. Eng. News* **1946**, 1375–1377.
- [10] R. Wolfenden, L. Frick in *Enzyme Mechanisms* (Hrsg.: M. I. Page, A. Williams), The Royal Society of Chemistry, London, **1987**, S. 97–122.
- [11] a) C. U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Liu, L. Zhang, S. Swaminathan, N. Bischoffberger, M. S. Chen, D. B. Mendel, C. Y. Tai, W. G. Laver, R. C. Stevens, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 681–690;
b) Übersicht: A. Giannis in *Organic Synthesis Highlights III* (Hrsg.: H. Waldmann, J. H. Mulzer), WILEY-VCH, Weinheim, **1998**, S. 342–353.
- [12] F. Amann, C. Schaub, B. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1106–1115.