

- [3] Zusammenfassung: W. Sander, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 362–372; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 344.
- [4] Y.-P. Lee, G. C. Pimentel, *J. Chem. Phys.* **1981**, *74*, 4851–4857.
- [5] a) C. Harries, R. Koetschau, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1909**, *42*, 3305–3311; b) R. Criegee, *Angew. Chem.* **1953**, *65*, 398–399; c) C. W. Gillies, R. L. Kuczowski, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6337–6343.
- [6] Präsentation in vorläufiger Form: G. Mloston, *Abstr. Pap. 19th Int. Symp. Org. Chem. Sulfur* (Sheffield, Großbritannien) **2000**, Nr. 59.
- [7] S. B. Tjan, J. C. Haakman, C. H. Teunis, H. G. Peer, *Tetrahedron* **1972**, *28*, 3489–3500.
- [8] R. Huisgen, J. Rapp, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 902–903; R. Huisgen, J. Rapp, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 939–960, zit. Lit.
- [9] H. Bock, T. Hirabayashi, S. Mohmand, *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 492–503.
- [10] Zusammenfassung: J. Fabian, A. Senning, *Sulfur Rep.* **1998**, *21*, 1–42.
- [11] R. B. Bohn, G. D. Brabson, L. Andrews, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 1582–1589.
- [12] a) A. Ishii, T. Akazawa, T. Maruta, J. Nakayama, M. Hoshino, M. Shiro, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 829–830; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 777; b) A. Ishii, T. Akazawa, M.-X. Ding, T. Honjo, T. Maruta, S. Nakamura, H. Nagaya, M. Ogura, K. Teramoto, M. Shiro, M. Hoshino, J. Nakayama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, *70*, 509–523.
- [13] a) A. Senning, *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 1006–1007; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, *18*, 941–942; b) A. Senning, H. C. Hansen, M. F. Abdel-Megeed, W. Mazurkiewicz, B. Jensen, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 739–746.

## Subnanomolar wirksame Inhibitoren aus dem Computerscreening: eine Modellstudie an der humanen Carboanhydrase II

Sven Grüneberg, Bernd Wendt und Gerhard Klebe\*

Die Suche nach neuen Leitstrukturen in der Pharma- und der Pflanzenschutz-Wirkstoff-Forschung ist eine zunehmend zeit- und kostenintensive Aufgabe. Durch neue Methoden der Targetsuche, die in Zukunft vor allem durch die Resultate des Genomsequenzierungsprogramms mitbestimmt werden,<sup>[1]</sup> ist ein deutliches Anwachsen der Zahl interessanter Targets für neue Therapieansätze zu erwarten. Wie gut ist die Leitstruktursuche auf diese Flut vorbereitet? In den letzten Jahren ist unter massivem apparativem Aufwand das experimentelle Hochdurchsatz-Screening (High-Throughput-Screening, HTS) etabliert und weitgehend automatisiert worden. Die anfänglich euphorisch bejubelten Zukunftsperspektiven dieser Methode im Hinblick auf das effektive Auffinden neuer Leitstrukturen sind heute angesichts der enormen Kosten des Verfahrens sowie der häufig nicht optimalen Qualität und Quantität der verfügbaren Verbindungen einer realistischen, teilweise pessimistischen Einschätzung gewichen.<sup>[2]</sup> Da-

her stellt sich die Frage, ob Computermethoden inzwischen so weit entwickelt sind, dass sie – nicht als Ersatz, eher als Ergänzung – zum Screening nach neuen Leitstrukturen eingesetzt werden können.

Die Voraussetzungen für das Computerscreening<sup>[3]</sup> sind völlig gegensätzlich zu denen für das HTS. Das HTS ist technologiegetrieben und weist für mehrere strukturell teilweise extrem diverse „Hits“ die Wechselwirkung mit dem Target nach. Es eröffnet aber keinerlei Einblicke, warum die gefundenen Verbindungen mit dem Target wechselwirken können. Das virtuelle Computerscreening dagegen kann nur dann eingesetzt werden, wenn Wissen um die Bindung an das Target vorhanden ist, es ist damit erkenntnisgetrieben. Es liefert somit die Gründe für die Wechselwirkung mit dem Target automatisch mit. Nun sind die Zusammenhänge, die letztlich zur Bindung eines Liganden an ein Protein führen, sehr komplex und bisher nur teilweise verstanden.<sup>[4]</sup> Daher stellt sich die Frage, ob die heute entwickelten Computerprogramme bereits eine Zuverlässigkeit erreicht haben, die ein solches Computerscreening aussichtsreich erscheinen lässt.

In einer Modellstudie haben wir für das Enzym humane Carboanhydrase II nach Inhibitor-Leitstrukturen gesucht. Voraussetzung ist zunächst die Kenntnis der Kristallstruktur dieses Enzyms. Weiterhin müssen Programme zur Verfügung stehen, die eine detaillierte Analyse der Proteinbindungsstasche erlauben, um daraus eine geeignete Suchanfrage an eine Datenbank mit abgespeicherten Leitstrukturkandidaten zu richten. Zum Übersetzen der Proteineigenschaften in eine Suchanfrage haben wir eine Reihe neuer Strategien entwickelt. Anschließend wird die Zahl der Suchkandidaten stufenweise verringert. Unterschiedliche, teilweise neu entwickelte Filter kommen zum Einsatz, die im Hinblick auf molekulare Ähnlichkeit, Liganden-Docking und Abschätzen von Bindungsaffinitäten ausreichend zuverlässig sind.

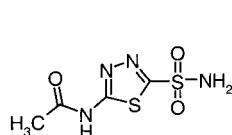
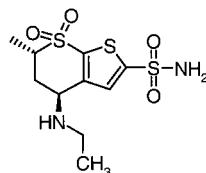
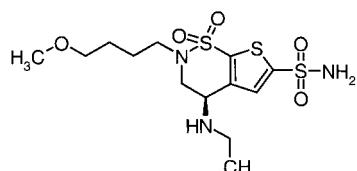
Als Molekülkandidaten für unsere Suchen setzen wir die mit dem Programm CORINA<sup>[5]</sup> generierten Geometrien von ca. 90000 Einträgen aus der Maybridge-<sup>[6]</sup> sowie der Lead-Quest-Datenbank<sup>[7]</sup> ein. Letztere enthält insbesondere Verbindungen, die präparativ einfach zugänglich sind, aber dennoch vom chemischen Standpunkt aus eine große Vielfalt abdecken.<sup>[8]</sup> Aus kapazitiver Beschränkung wurden nur die 13 besten „Hits“ aus diesen Datenbanken einer experimentellen Überprüfung unterzogen. Unter diesen konnten wir drei in subnanomolarer, einen in nanomolarer und sieben in mikromolarer Konzentration wirksame Inhibitoren entdecken. Zum wirklichen „Proof-of-concept“ wurde von zwei dieser besten Verbindungen der Bindungsmodus in humarer Carboanhydrase II kristallstrukturanalytisch aufgeklärt.

Das Metalloenzym Carboanhydrase II (CAII; EC 4.2.1.1) katalysiert die reversible Hydratation von CO<sub>2</sub> zu HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.<sup>[9]</sup> Ein durch drei Histidinreste koordiniertes Zinkion befindet sich am Boden einer konischen amphiphilen Bindungstasche. Eine Isoform der CAII befindet sich in hoher Konzentration in den Ziliarkörperfortsätzen des Auges und ist dort neben anderen Enzymen für die Kammerwasserproduktion verantwortlich. Ein behinderter Kammerwasserabfluss bei Glaukomen führt zu einem den Sehnerv schädigenden Augenüberdruck. CAII-Inhibitoren sind ein effektives Mittel zur Ver-

[\*] Prof. Dr. G. Klebe, Dipl.-Chem. S. Grüneberg  
Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität  
Marbacher Weg 6, 35032 Marburg (Deutschland)  
Fax: (+49) 6421-282-8994  
E-mail: klebe@mail.uni-marburg.de

Dr. B. Wendt  
Tripos Receptor Research Ltd.  
Bude-Stratton Business Park  
Bude, Cornwall EX23 8LY (Großbritannien)

ringierung des Augeninnendrucks. Durch Kristallstrukturanalyse wurde der Bindungsmodus der auf dem Markt befindlichen Produkte Acetazolamid **1**,<sup>[10]</sup> Dorzolamid **2**<sup>[11]</sup>

**1****2****3**

(Abbildung 1) und Brinzolamid **3**<sup>[12]</sup> aufgeklärt. Sowohl Sulfonamidine als auch Hydroxamate<sup>[13]</sup> weisen eine inhibitorische Wirkung auf, allerdings fallen die Hydroxamate deutlich in der Wirkung ab.

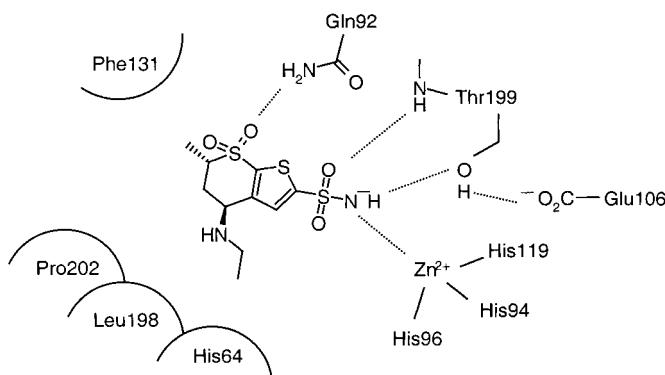


Abbildung 1. Allen Sulfonamid-Inhibitoren ist die Bindung des Zinkions durch die sehr wahrscheinlich einfach deprotonierte Sulfonamidgruppe gemein. Diese bindet das Metallion unter Bildung einer tetraedrischen Koordinationsgeometrie. Das verbliebene Sulfonamid-Proton bildet eine Wasserstoffbrückenbindung zum Hydroxy-Sauerstoffatom von Thr199. Eine weitere Wasserstoffbrückenbindung besteht zwischen einem der beiden Sulfonamid-Sauerstoffatome und der NH-Gruppe von Thr199, während das zweite Sauerstoffatom keine intermolekulare Wechselwirkung eingeht. Bei dem hier dargestellten Bindungsmodus von Dorzolamid kommt als weitere Wechselwirkung eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen einem der beiden Sauerstoffatome der zweiten Sulfoneinheit und dem Stickstoffatom von Gln92 hinzu.

Unsere Inhibitorsuche begann mit dem Studium der Bindungstasche. Zur Analyse ihrer Rigidität wurden 24 uns zugängliche hochauflöste Komplexe<sup>[14]</sup> mit dem bei uns weiterentwickelten Datenbankprogramm Relibase+<sup>[15]</sup> anhand ihrer C<sub>a</sub>-Atome überlagert. Dabei wurde festgestellt, dass allein der Rest His64 unterschiedliche Positionen einnimmt<sup>[11]</sup> (Abbildung 2).

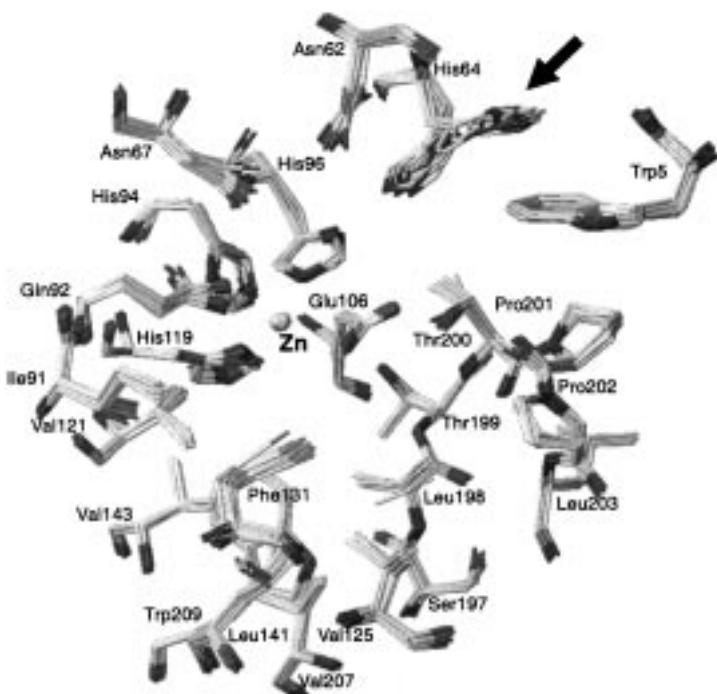


Abbildung 2. Überlagerung von 24 Protein-Ligand-Komplexen (Liganden nicht gezeigt) der CAII, berechnet mit Relibase+ auf der Basis der fixierten C<sub>a</sub>-Atome. Die Bindungstasche erweist sich bis auf His64 (schwarzer Pfeil) als sehr rigide.

Aufbauend auf diesem Schritt wurde die Bindungstasche mit verschiedenen Sonden mit den Programmen GRID,<sup>[16]</sup> SuperStar,<sup>[17]</sup> LUDI<sup>[18]</sup> und DrugScore<sup>[19]</sup> untersucht. Diese Sonden tasten die Bindungstasche auf Wechselwirkungen mit möglichen funktionellen Gruppen eines Liganden ab. Wir verwendeten als Sonden eine C=O-Gruppe (H-Brücken-Acceptor), eine Amid-NH-Gruppe (H-Brücken-Donor) und eine CH<sub>3</sub>-Gruppe (hydrophobe Sonde). Qualitativ führen alle vier Methoden zu den gleichen Bereichen („Hot Spots“), gewichten sie aber unterschiedlich. Anschließend übertrugen wir die mit den drei Sonden gefundenen „Hot Spots“ in ein Pharmakophormodell für die Datenbanksuche mit dem Programm UNITY<sup>[20]</sup> (Abbildung 3). Neben der so definierten Suchanfrage musste zumindest eine zinkbindende Gruppe<sup>[21]</sup> in den Molekülen aus den Datenbanken LeadQuest und Maybridge vorhanden sein. Unter die Datenbankenverbindungen wurden 35 literaturbekannte CAII-Inhibitoren gemischt, die bei jedem Suchschritt anhand ihrer Wiederfindungsrate und ihrer Bewertung eine Validierung des Verfahrens erlaubten.<sup>[22]</sup>

Bei der sukzessiven 2D- und 3D-Suche mit UNITY unter Berücksichtigung der Flexibilität verblieben 3314 Verbindungen, auf die das Programm FlexS<sup>[23]</sup> angewendet wurde, um sie hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften in eine bewertete Reihenfolge zu bringen. FlexS superpositioniert einen Testliganden flexibel auf ein Referenzmolekül durch Vergleich der räumlichen Verteilung von physikochemischen Eigenschaften. Als Referenz wurde Dorzolamid, der wirksamste bisher bekannte Inhibitor mit charakterisiertem Bindungsmodus, gewählt. Anhand der zugemischten Testliganden zeigte sich, dass eine Größennormierung des zu berechnen-

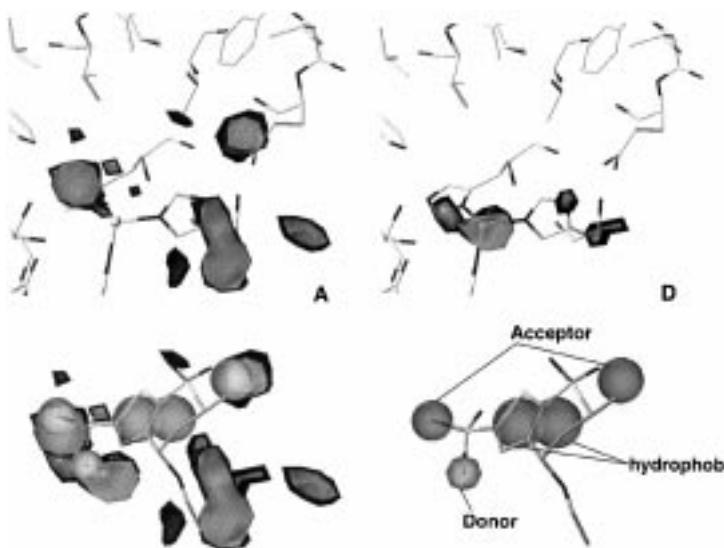


Abbildung 3. Analyse bevorzugter Wechselwirkungen für H-Brücken-Acceptoren (A; links oben) und -Donoren (D; rechts oben) in der Bindungstasche der CAII. Gezeigt sind die Ergebnisse mit SuperStar; analoge, wenn auch räumlich und im relativen Gewicht etwas andere Muster ergeben sich mit GRID und DrugScore. LUDI liefert in entsprechenden Bereichen Wechselwirkungszentren für eine C=O- und eine NH-Gruppe oder ein aliphatisches Kohlenstoffatom. Die so ermittelte Verteilung von „Hot-Spots“ (links unten) wurde in eine Pharmakophor-Suchanfrage für UNITY übersetzt (rechts unten), wobei gleichzeitig die hydrophobe Raumerfüllung durch Inhibitoren mit bekanntem Bindungsmodus berücksichtigt wurde. SuperStar beruht auf Wahrscheinlichkeitsdichten, die sich aus der Überlagerung einer Vielzahl von Kontaktgeometrien in Kristallstrukturen niedermolekularer Verbindungen ergeben. GRID basiert auf einem Kraftfeldansatz und kann für eine große Zahl unterschiedlicher Sonden das Wechselwirkungspotential in der Bindungstasche berechnen. DrugScore verwendet das so genannte „inverse Boltzmann-Gesetz“ und bewertet die Bereiche einer Bindungstasche nach den Häufigkeiten, mit denen für bestimmte Atomtypen eines möglichen Liganden Kontaktgeometrien in bekannten Protein-Ligand-Komplexen gefunden wurden. LUDI platziert nach einem Regelwerk, das auf der Grundlage experimenteller Strukturdaten parametrisiert wurde, mögliche Wechselwirkungszentren für H-Brücken-Donoren, -Acceptoren und hydrophobe Gruppen in der Bindungstasche.

den Ähnlichkeitsmaßes für die korrekte Reihung der Verbindungen ausschlaggebend ist. Das Einbeziehen eines Ähnlichkeitsvergleiches in die Leitstruktursuche hat den Vorteil, dass auch Wissen über die chemische Struktur bekannter Inhibitoren in die Auswahl einfließt. Bei einem reinen Docking-Ansatz wird dieses Wissen ignoriert. Beispielsweise deuten die gesamten bisher bekannten Befunde über CAII-Inhibitoren darauf hin, dass für dieses Enzym praktisch ausschließlich die Sulfonamidgruppe ein geeigneter Anker zur Zinkkoordination ist. Dieses Wissen wird implizit über die Reihung mit FlexS eingebracht. Kürzlich konnten Fradera et al.<sup>[24]</sup> in das Programm DOCK eine Bedingung einführen, die gleichzeitig das Wissen um die Ähnlichkeit wirksamer Liganden bei den für das Docking generierten Bindungsmoden berücksichtigt. Wir versuchen in DrugScore ebenfalls das Wissen um die Bindungsmoden bekannter Inhibitoren einzubeziehen.<sup>[25]</sup>

Im Folgenden wurden die besten der so bewerteten Strukturen mit FlexX<sup>[26]</sup> in die Bindungstasche gedockt. Besondere Berücksichtigung erfordert hier die partielle

Hydratisierung der Bindungstasche. Durch Überlagerung aller Komplex- und Apostrukturen mit Relibase+ unter gleichzeitiger Berücksichtigung strukturtypischer Deskriptoren

Tabelle 1. Zusammenstellung der durch Computerscreening erhaltenen Leitstrukturen für CAII-Inhibitoren.

Nr. Verbindung	FlexX <sup>[a]</sup>	DrugScore <sup>[a]</sup>	IC <sub>50</sub> [nM]	Datenbank
1	-25.7	- 102.2	21	LeadQuest
2	- 15.0	- 107.1	0.9	LeadQuest
3	- 17.3	- 116.5	185	LeadQuest
4	- 23.4	- 100.6	488	LeadQuest
5	- 19.9	- 100.9	117	LeadQuest
6	- 21.6	- 112.4	248	LeadQuest
7	- 25.7	- 105.1	0.6	LeadQuest
8	-	-	> 10 <sup>6</sup>	LeadQuest
9	- 16.0	- 83.5	169	LeadQuest
10	- 23.4	- 88.6	5500	Maybridge
11	- 16.5	- 97.4	0.8	Maybridge
12	- 23.0	- 94.1	2300	Maybridge
13	-	-	> 10 <sup>6</sup>	Maybridge

[a] Große negative Scoringwerte entsprechen hohen Bindungsaffinitäten. Einzelne FlexX- und DrugScore-Werte sind nicht direkt miteinander zu vergleichen, nur innerhalb der einzelnen Methoden ist ein relativer Vergleich möglich. Für die beiden Hydroxamate wurden keine Werte angegeben, da wegen der abweichenden Zink-koordinierenden Gruppe ein direkter Vergleich nicht zulässig wäre.

ren wie B-Faktor, lokaler Hydrophobie und benachbarter H-Brücken-Partner konnten vier konservierte Wassermoleküle identifiziert werden. Eine zusätzliche Überprüfung dieser Wasserbrückenbindungsnetze mit dem Programm MAB/Moloc<sup>[27]</sup> legte weiter die Konservierung dieser Wassermoleküle nahe. Während des Dockings wurden diese Wassermoleküle dann zur sterischen Beschränkung der Bindungstasche genutzt.

Für die abschließende Bewertung, die zur Auswahl der 13 Inhibitoren für die Testung führte, wurden die Affinitätsvoraussagen durch FlexX und DrugScore herangezogen. Zusätzlich wurden die mit FlexX erzeugten Bindungsmoden visuell inspiziert. Die ausgewählten 13 Verbindungen, von denen 10 aus LeadQuest stammten, sind in Tabelle 1 zusammen mit dem Computerscoring und den experimentell gefundenen IC<sub>50</sub>-Werten aufgeführt.

Als abschließende Validierung wurde von zwei der hochaffinen „Hits“ der Bindungsmodus kristallographisch aufgeklärt (Abbildung 4).<sup>[28]</sup> Es zeigte sich, dass in beiden Fällen

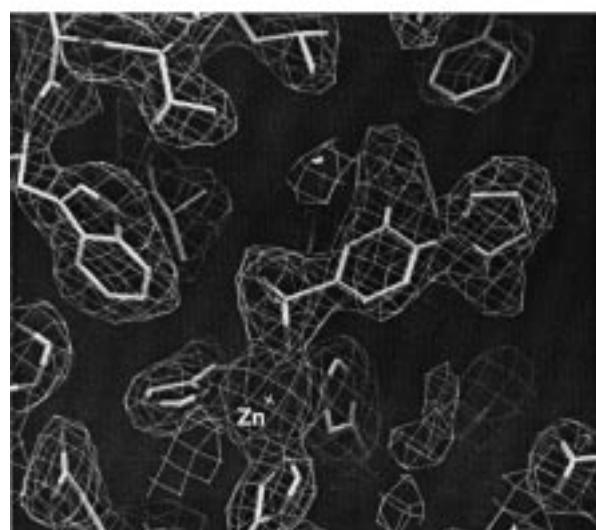
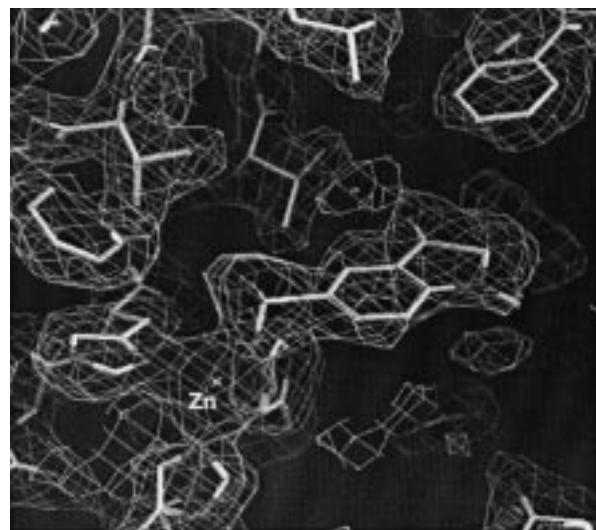


Abbildung 4. Experimentelle Elektronendichte für die unter Nr. 6 (oben) und Nr. 7 (unten) in Tabelle 1 aufgeführten Inhibitoren in der Bindungstasche der CAII.

der mit FlexX generierte und durch DrugScore als beste Lösung hervorgehobene Bindungsmodus sehr gut mit der im Kristall beobachteten Orientierung übereinstimmt (Abbildung 5).

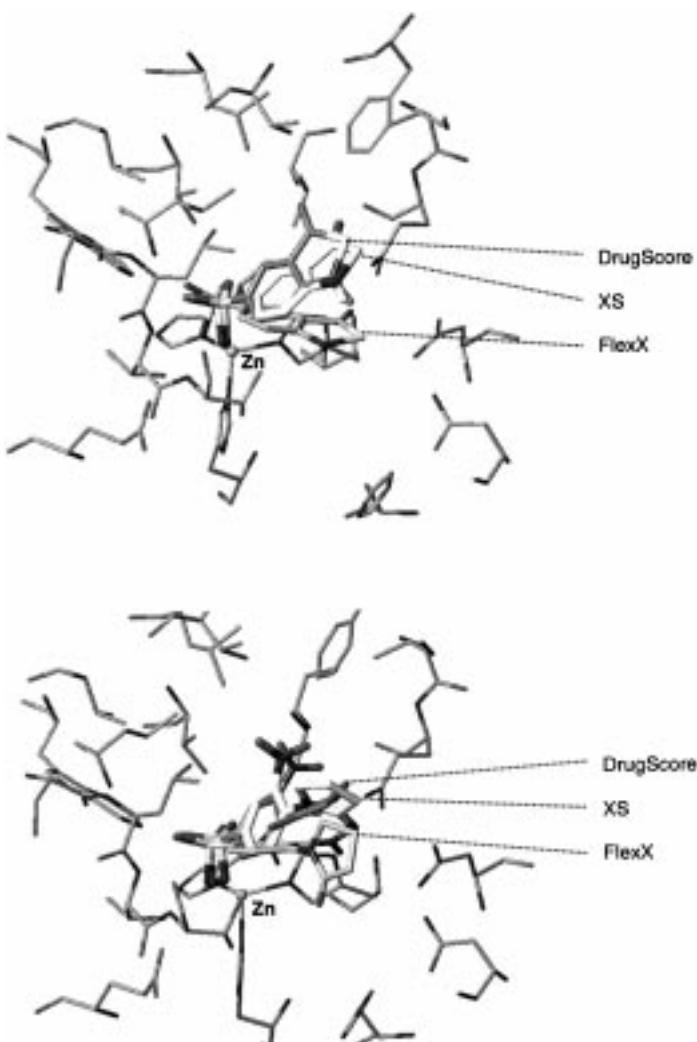


Abbildung 5. Röntgenkristallographisch (XS) bestimmte sowie durch Docking vorhergesagte Bindungsmoden der unter Nr. 6 (oben) und Nr. 7 (unten) in Tabelle 1 aufgeführten Inhibitoren in CAII. Aus der mit FlexX erhaltenen Menge an Lösungen hebt DrugScore in beiden Fällen als beste Lösung eine Orientierung hervor, die der experimentellen Situation sehr nahe kommt. Die alte Bewertungsfunktion in FlexX liefert dagegen deutlich stärker abweichende Geometrien als beste Vorschläge.

Dies unterstreicht den deutlichen Fortschritt durch die neue DrugScore-Bewertungsfunktion, da die ursprünglich in FlexX implementierte Funktion die richtige Lösung nur auf einem der hinteren Ränge (Nr. 51 bzw. 61) vorschlägt. Hier liegt der entscheidende Fortschritt der wissensbasierten Bewertungsfunktion in DrugScore gegenüber dem derzeit implementierten regressionsbasierten Ansatz. Bei einer Validierung mit bekannten Strukturen weist DrugScore eine wesentlich bessere Wiederfindungsrate für die experimentelle (nativ-ähnlichen) Bindungsgeometrie auf. Die experimentellen Ergebnisse dieser Studie bestätigen diese Erkenntnis.

Die Korrelation der experimentellen IC<sub>50</sub>-Werte mit den mit DrugScore und insbesondere den mit FlexX vorhergesagten Affinitäten ist keinesfalls befriedigend. Bestenfalls werden die Größenordnungen richtig wiedergegeben. Bindungsaffinitäten können heute auf ca. 1.5 lg-Einheiten vorhergesagt werden.<sup>[29]</sup> Zu berücksichtigen ist dabei allerdings, dass experimentelle Bestimmungen häufig ebenfalls mit einem Fehler von etwa einer Größenordnung behaftet sind. Im Rahmen dieser vorgegebenen Fehlern Grenzen müssen die Verfahren zur Vorhersage der Affinität aus der Struktur optimiert werden. Ein erster entscheidender Schritt auf diesem Weg war sicher die Entwicklung einer Methode zur besseren Entdeckung einer nativ-ähnlichen Bindungsgeometrie.

Ebenso hat sich gezeigt, dass die LeadQuest-Datenbank, sowohl was die strukturelle Diversität<sup>[8]</sup> als auch die Reinheit der Verbindungen<sup>[30]</sup> angeht, eine ideale Ausgangsbasis für das Auffinden neuer Leitstrukturen ist.<sup>[31]</sup>

Eingegangen am 14. Juni 2000 [Z15270]

- [1] E. S. Lander, *Science* **1996**, *274*, 536–539.
- [2] R. Lahana, *Drug Discov. Today* **1999**, *4*, 447–448.
- [3] W. P. Walters, M. T. Stahl, M. A. Murcko, *Drug Discov. Today* **1998**, *3*, 160–178.
- [4] H. J. Böhm, G. Klebe, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2750–2778; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2588–2614.
- [5] J. Sadowski, J. Gasteiger, G. Klebe, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1994**, *34*, 1000–1008.
- [6] Maybridge Database (Version August 1999), Maybridge Chemical Co. Ltd. (Großbritannien), **1999**.
- [7] LeadQuest Chemical Compound Libraries, Vol. 1–3, Tripos, Inc., St. Louis, MO, **2000**.
- [8] D. E. Patterson, R. D. Cramer, A. M. Ferguson, R. D. Clark, L. E. Weinberger, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3049–3059.
- [9] S. Lindskog, *Pharmacol. Ther.* **1997**, *74*, 1–20.
- [10] S. K. Nair, J. F. Krebs, D. W. Christianson, C. A. Fierke, *Biochemistry* **1995**, *34*, 3981–3989.
- [11] G. M. Smith, R. S. Alexander, D. W. Christianson, B. M. McKeever, G. S. Ponticello, J. P. Springer, W. C. Randall, J. J. Baldwin, C. N. Habecker, *Protein Sci.* **1994**, *3*, 118–125.
- [12] P. A. Boriack-Sjodin, S. Zeitlin, H. H. Chen, L. Crenshaw, S. Gross, A. Dantanarayana, P. Delgado, J. A. May, T. Dean, D. W. Christianson, *Protein Sci.* **1998**, *7*, 2483–2489.
- [13] L. R. Scolnick, A. M. Clements, J. Liao, L. Crenshaw, M. Hellberg, J. May, T. R. Dean, D. W. Christianson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 850–851.
- [14] Zur Überlagerung wurden folgende Komplexstrukturen der humanen Carboanhydrase II mit einer Auflösung kleiner als 2.5 Å verwendet: 1am6, 1bcd, 1bn1, 1bn2, 1bn3, 1bn4, 1bnn, 1bnq, 1bnt, 1bnu, 1bny, 1bnw, 1bv3, 1cil, 1cim, 1cin, 1cnw, 1cnx, 1cny, 1cra, 1okl, 1okm, 1okn, 3ca2.
- [15] M. Hendlich, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, *45*, 1178–1182.
- [16] P. J. Goodford, *J. Med. Chem.* **1984**, *28*, 849–857.
- [17] M. L. Verdonk, J. C. Cole, R. Taylor, *J. Mol. Biol.* **1999**, *4*, 1093–1108.
- [18] H. J. Böhm, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1992**, *6*, 61–78.
- [19] H. Gohlke, M. Hendlich, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2000**, *295*, 337–356.
- [20] R. E. Babine, S. L. Bender, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1359–1472.
- [21] UNITY Chemical Information Software, Version 4.1.1, Tripos, Inc., St. Louis, MO, **2000**.
- [22] S. Grüneberg, Dissertation, Universität Marburg, **2000**.
- [23] C. Lemmen, T. Lengauer, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4502–4520.
- [24] X. Fradera, R. M. A. Knegtel, J. Mestres, *Proteins* **2000**, *40*, 623–636.
- [25] H. Gohlke, Dissertation, Universität Marburg **2000**.
- [26] M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **1996**, *261*, 470–489.
- [27] P. R. Gerber, K. Müller, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1995**, *9*, 251–268.

[28] Die Daten für den Inhibitor unter Nr. 7 wurden bis zu einer Auflösung von 2.4 Å mit einer Vollständigkeit von 81.3% gemessen. Zur Berechnung der Elektronendichte wurden als Koordinaten für Protein und Wasser die der humanen Carboanhydrase II (2cba) verwendet. Nach der Verfeinerung<sup>[32]</sup> bis 2.4 Å von Protein und Inhibitor lag der kristallographische *R*-Wert bei 0.1918 für 8012 Reflexe mit  $F > 2\sigma$  (Standardabweichung für die Bindungslängen 0.007 Å, für die Bindungswinkel 1.637°). Die Daten für Inhibitor unter Nr. 6 wurden bis zu einer Auflösung von 2.3 Å mit einer Vollständigkeit von 95.2% gemessen. Zur Berechnung der Elektronendichte wurden als Koordinaten für Protein und Wasser ebenfalls die von der humanen Carboanhydrase II (2cba) verwendet. Nach der Verfeinerung<sup>[32]</sup> bis 2.3 Å von Protein und Inhibitor lag der kristallographische *R*-Wert bei 0.1955 für 10124 Reflexe mit  $F > 2\sigma$  (Standardabweichung für die Bindungslängen 0.008 Å, für die Bindungswinkel 1.443°).

[29] a) C. M. Murray, T. R. Auton, M. D. Eldridge, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1998**, *12*, 503–519; b) H. J. Böhm, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1998**, *12*, 309–323.

[30] In der Produktbeschreibung des Programms LeadQuest wird garantiert, dass sämtliche Verbindungen eine Reinheit >85% aufweisen (bestimmt durch analytische HPLC (HP1100-System) mit universellem Wasser/Acetonitril-Gradienten und UV-Detektion bei 254 nm).

[31] Patentrecherchen zufolge befindet sich unter den entdeckten in subnanomolaren Konzentrationen wirksamen Verbindungen ein neues, nicht durch aktuelle Patente belegtes Gerüst. Ein solches Gerüst wird allgemein als neue Leitstruktur akzeptiert.

[32] A. T. Brünger, *X-PLOR, Version 3.1*, Yale University Press, New Haven, **1992**.

## Ein effizientes Cobalt(I)-Katalysatorsystem für die selektive 1,4-Hydrovinylierung von 1,3-Dienen\*\*

Gerhard Hilt,\* François-Xavier du Mesnil und Steffen Lüers

Die selektive 1,4-Hydrovinylierung von 1,3-Dienen mit Alkenen unter milden Reaktionsbedingungen für den Aufbau neuer C-C-Bindungen ist von besonderem präparativem Interesse.<sup>[1]</sup> Beispielsweise lassen sich Ethylen und 1,3-Butadien im industriellen Maßstab (duPont-Synthese) rhodium-vermittelt zu 1,4-Hexadien codimerisieren, das dann zur Synthese ungesättigter Polymere eingesetzt wird.<sup>[2]</sup>

Das kürzlich von uns beschriebene Katalysatorsystem [CoBr<sub>2</sub>(dppe)]/ZnI<sub>2</sub>/Bu<sub>4</sub>NBH<sub>4</sub> (dppe = 1,2-Bis(diphenylphosphanyl)ethan) ist hervorragend geeignet, die Diels-Alder-Reaktion zwischen acyclischen 1,3-Dienen und Acetylenen zu katalysieren.<sup>[3]</sup> Beim Versuch, substituierte Alkene als Dienophile für die Diels-Alder-Reaktion mit acyclischen 1,3-Dienen einzusetzen, konnte jedoch kein entsprechendes Diels-Alder-Produkt isoliert werden. Vielmehr wurde bei der Reaktion zwischen 2,3-Dimethyl-1,3-butadien **1** und

[\*] Dr. G. Hilt, F.-X. du Mesnil, S. Lüers  
Department Chemie  
Ludwig-Maximilians-Universität  
Butenandtstraße 5–13 (Haus F), 81377 München (Deutschland)  
Fax: (+49) 89-2180-7425  
E-mail: Gerhard.Hilt@cup.uni-muenchen.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.