

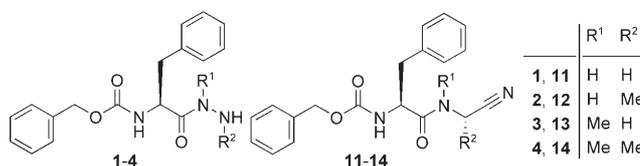
Azadipeptidnitrile – hochpotente und proteolysestabile Inhibitoren Papain-ähnlicher Cysteinproteasen**

Reik Löser, Maxim Frizler, Klaus Schilling und Michael Gütschow*

Cysteinproteasen des Klans CA, die Papain-ähnlichen Cysteinproteasen, sind wegen ihrer Bedeutung als Virulenzfaktoren verschiedener humanpathogener Parasiten und ihrer Beteiligung an verschiedenen systemischen Erkrankungen von außerordentlichem medizinischem Interesse. Gemeinsam sind ihnen ein Thiol im aktiven Zentrum sowie eine ausgeprägte Substratspezifität bezüglich der Aminosäure in der Position P². Bisher wurden beim Menschen elf Papain-ähnliche lysosomale Cysteinproteasen, die Cathepsine, beschrieben, die untereinander einen hohen Grad an Homologie aufweisen.^[1] Für die Cathepsine L, S und K konnte eine Beteiligung an verschiedenen pathologischen Zuständen wie Tumorwachstum und -invasion, Autoimmunerkrankungen sowie Osteoporose nachgewiesen werden,^[2] weshalb diese Enzyme wichtige Zielmoleküle für die Wirkstoffentwicklung sind.^[3] Inhibitoren für Papain-ähnliche Cysteinproteasen sind hauptsächlich von Peptiden abgeleitet und enthalten elektrophile Strukturelemente, die kovalente Wechselwirkungen mit dem Thiol im aktiven Zentrum eingehen können. Unter den Inhibitoren, die diesem allgemeinen Typ angehören, haben Peptidnitrile in letzter Zeit große Aufmerksamkeit erlangt.^[4] Nitrile inhibieren Cysteinproteasen durch die Bildung eines Thioimidat-Addukts, das aus dem Angriff des aktiven Thiols an der C-N-Dreifachbindung resultiert,^[5] und sind daher – wegen der Weich/weich-Wechselwirkung im Sinne des HSAB-Konzepts – potente und selektive Inhibitoren von Cysteinproteasen. Wegen ihrer Anfälligkeit gegenüber dem Abbau durch andere Proteasen sind peptidische Inhibitoren im Allgemeinen jedoch schlecht bioverfügbar.

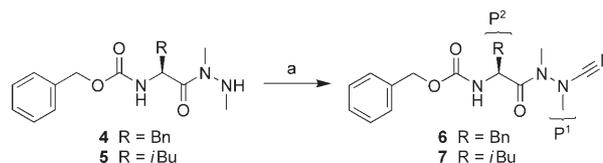
Der zu Azapeptiden führende isoelektronische Ersatz der C_αH-Gruppe durch ein Stickstoffatom ist eine gebräuchliche Strukturmodifizierung in der Chemie von Peptiden und Peptidmimetika.^[6] Diese Strukturmodifizierung wurde jedoch bisher bei den Peptidnitrilen, anders als im Fall anderer Proteaseinhibitoren,^[7] nicht auf die Position P¹ angewendet. Nichtpeptidische Cyanamide, chemisch eng mit den Nitrilen verwandt, wurden als potente Cathepsin-K-Inhibitoren beschrieben.^[8] Wir konnten zeigen, dass der Ersatz der C_αH-Gruppe durch ein Stickstoffatom in der Position P² eines Cathepsin inhibierenden Dipeptidnitrils zu einem Verlust der Hemmaktivität führt.^[9] Das anhaltende Interesse an der Hemmung von Cysteinproteasen veranlasste uns, die Auswirkungen des CH/N-Austauschs in der Position P¹ von Dipeptidnitrilen auf die Enzym-Inhibitor-Wechselwirkung zu untersuchen. Wir beschreiben hier einen präparativen Zugang zu Azadipeptidnitrilen sowie deren Hemmkinetik und Bindungsaffinität gegen Papain und die therapeutisch bedeutsamen Cathepsine L, S und K.

Die azaanalogen Nitrile sollten durch Reaktion der entsprechenden Aminosäurehydrazide (Schema 1) mit Bromcyan synthetisiert werden. Dieser Ansatz führte zunächst



Schema 1. Hydrazide 1–4 und Carbadipeptidnitrile 11–14.

nicht zum Erfolg, da im Falle der unsubstituierten und monomethylierten Hydrazide 1–3 die Bildung unterschiedlicher Cyclisierungsprodukte beobachtet wurde. Um eine Cyclisierung zu verhindern, wurden N1,N2-dimethylierte Hydrazide in Betracht gezogen. Tatsächlich führte die Umsetzung des Hydrazids 4 mit Bromcyan zum gewünschten offenkettigen Azadipeptidnitril 6 (Schema 2). Diese erste aus einem CH/N-Austausch in der Position P¹ resultierende Beispielverbindung der Azadipeptidnitrile zeigte eine Inhibitoraktivität



Schema 2. Synthese der Azadipeptidnitrile 6 und 7. a) BrCN, NaOAc, MeOH, RT. Bn = Benzyl.

[*] Dr. R. Löser,^[1] M. Frizler, Prof. Dr. M. Gütschow
Pharmazeutisches Institut, Pharmazeutische Chemie I
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität
An der Immenburg 4, 53121 Bonn (Deutschland)
Fax: (+49) 228-73-2567
E-Mail: guetschow@uni-bonn.de

Dr. K. Schilling
Institut für Biochemie I, Klinikum
Friedrich-Schiller-Universität
Nonnenplan 2, 07743 Jena (Deutschland)

[†] aktuelle Adresse: Institute for Molecular Bioscience, The University of Queensland, 306 Carmody Road, Brisbane Qld 4072 (Australien)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (GRK 804 „Analyse von Zellfunktionen durch kombinatorische Chemie und Biochemie“) unterstützt. Wir danken Prof. D. Brömme, Vancouver, für die Bereitstellung von Cathepsin K und Dr. J. Abbenante, Brisbane, für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Tabelle 1: Hemmung der Cysteineproteasen durch die Azadipeptidnitrile **6–10** und Dipeptidnitrile **11–14**.

Verb.	Cathepsin L		Cathepsin S		Cathepsin K		Papain	
	K_i [nM]	k_{on} [$10^3 M^{-1} s^{-1}$]	K_i [nM]	k_{on} [$10^3 M^{-1} s^{-1}$]	K_i [nM]	k_{on} [$10^3 M^{-1} s^{-1}$]	K_i [nM]	k_{on} [$10^3 M^{-1} s^{-1}$]
6	0.074 ± 0.010	7300 ± 100	0.22 ± 0.01	2700 ± 100	0.022 ± 0.001	5800 ± 100	3.9 ± 0.4	100 ± 10
7	0.69 ± 0.07	1400 ± 100	0.38 ± 0.05	3700 ± 200	0.029 ± 0.004	8900 ± 100	8.2 ± 1.1	9.6 ± 0.1
8	0.92 ± 0.03	1400 ± 100	1.5 ± 0.1	1200 ± 100	0.36 ± 0.03	950 ± 70	42 ± 3	13 ± 1
9	0.84 ± 0.12	2600 ± 100	2.2 ± 0.2	1400 ± 100	0.26 ± 0.02	1900 ± 100	6.3 ± 0.8	9.4 ± 0.3
10	0.63 ± 0.07	2300 ± 100	1.4 ± 0.2	1300 ± 100	0.30 ± 0.03	1500 ± 100	10 ± 1	12 ± 2
11 ^[a]	230 ± 20		510 ± 50		260 ± 10		360 ± 10	
12	280 ± 20		1900 ± 200		1400 ± 100		2200 ± 100	
13	46000 ± 6000		> 100000 ^[b]		7700 ± 1000		610000 ± 20000	
14	57000 ± 7000		> 100000 ^[b]		12000 ± 4000		750000 ± 80000	

[a] Daten stammen aus Lit. [9]. [b] Schätzung aufgrund der begrenzten Löslichkeit unter den Bedingungen des Cathepsin-S-Assays mit 1% (v/v) DMSO.

gegenüber Papain im unteren nanomolaren Bereich und gegenüber den therapeutisch relevanten Cathepsinen L, S und K gar im pikomolaren Bereich (Tabelle 1). Die unerwartet starke Hemmung war zeitabhängig im Sinne einer langsamen Ausbildung des Gleichgewichts zwischen freiem und gehemmtem Enzym (Slow-Binding-Inhibition),^[10] wie aus Abbildung 1 ersichtlich ist. Die Tatsache, dass die Auftragungen der Geschwindigkeitskonstanten pseudo-erster Ordnung

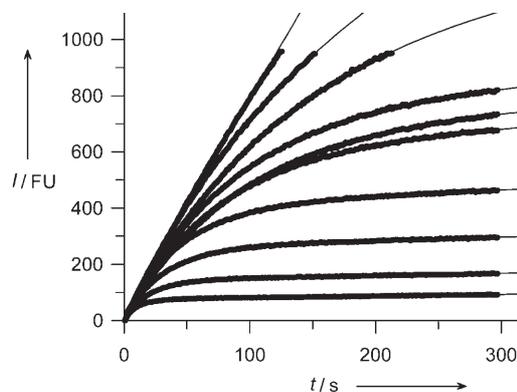


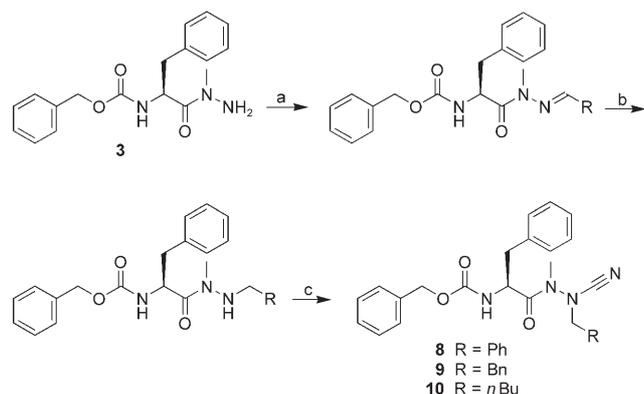
Abbildung 1. Cathepsin-L-katalysierte Hydrolyse von Z-Phe-Arg-NHMec ($10 \mu M$; Mec = 4-Methylcumarin-7-yl) in Gegenwart steigender Konzentrationen von **6** (von oben nach unten: 0, 3, 4, 8, 9, 10, 20, 30, 50, 100 nM). Die Reaktion (100 mM Natriumphosphat pH 6.0, 100 mM NaCl, 5 mM Ethylendiamintetraacetat, 0.01% (v/v) Polyoxyethylen(23)-laurylether (Brij 35), $25 \mu M$ 1,4-Dithiothreitol, 1% (v/v) DMSO, $37^\circ C$) wurde durch Zugabe des Enzyms gestartet. I = Fluoreszenzintensität, FU = Fluoreszenzeinheiten.

gegen die Inhibitor-Konzentrationen einen linearen Verlauf haben, lässt auf einen Einschritt-Mechanismus der Enzym-Inhibitor-Wechselwirkung schließen (siehe Hintergrundinformationen). Die Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung k_{on} für die Hinreaktion zum Enzym-Inhibitor-Gleichgewicht lagen im Bereich von 10^5 bis $10^7 M^{-1} s^{-1}$, was auf eine relativ schnelle Assoziation des Enzyms mit dem Inhibitor schließen lässt (Tabelle 1). Trotz der N-methylierten Amidbindung zwischen P^2 und P^1 , die die Wechselwirkung von Proteasen mit ihren Substraten oder Inhibitoren im Allgemeinen beeinträchtigt,^[11] waren die Affinitäten des Azadipeptidnitrils **6** zu den Papain-ähnlichen Enzymen um mindestens zwei Größenordnungen höher als die des entsprechenden Carbaanalogons **11**^[9] (Schema 1, Tabelle 1). Obwohl **6** zu allen vier Enzymen hohe Affinitäten aufweist, ist die Hemmung eindeutig reversibel, was anhand der Reaktivierung von Cathepsin L und Papain gezeigt wurde (siehe Hintergrundinformationen).

Um die Aktivität des Azadipeptidnitrils **6** genauer im Vergleich beurteilen zu können, wurden die Carbaanaloge **12–14** (Schema 1) synthetisiert (siehe Hintergrundinformationen). Die Nitrile **12** und **14** wurden durch Dehydratisierung der entsprechenden Dipeptidamide mit Cyanurchlorid in DMF erhalten.^[12] Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zeigten die N-methylierten Carbaanaloge **13** und **14** Affinitäten im oberen mikromolaren Bereich. Durch den Vergleich der direkten Analoga **6** und **14** wird offensichtlich, dass der iso-

elektronische CH/N-Austausch einen Zuwachs der Inhibitoraktivität um mehr als fünf Größenordnungen verursacht.

Mit der für das Azadipeptidnitril **6** angewendeten Synthesemethode wurde auch das Leucin-Derivat **7** erhalten (Schema 2), das sich mit einem K_i -Wert von 29 μM als selektiv für Cathepsin K erwies (Tabelle 1). Um andere Substituenten als die Methylgruppe in die Position P^1 einzuführen, sollte das *N*1-methylierte Hydrazid **3** durch reduktive Alkylierung in *N*1,*N*2-dialkylierte Hydrazide überführt werden; dem sollte sich eine Umsetzung mit Bromcyan anschließen (Schema 3).

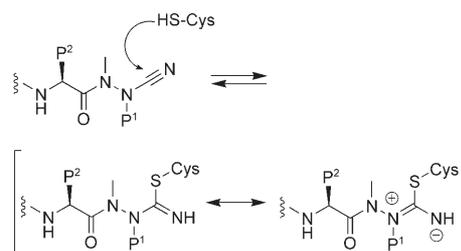


Schema 3. Synthese der Azadipeptidnitrile **8–10**. a) RCHO, THF, RT; b) 1. $(\text{CH}_3)_2\text{NH}\cdot\text{BH}_3$, *p*-Toluolsulfonsäure, CH_2Cl_2 , 4 °C; 2. 1.5 M NaOH, RT; c) BrCN, NaOAc, MeOH, RT.

Durch die Reaktion von **3** mit Aldehyden konnten in guten Ausbeuten Hydrazone erhalten werden. Um die C-N-Doppelbindung dieser Intermediate zu reduzieren, wurden verschiedene gebräuchliche Reduktionsmittel getestet: Natriumtriacetoxyborhydrid,^[13] Natriumcyanoborhydrid,^[14] Natriumborhydrid und Natriumborhydrid in Gegenwart von Ni^{2+} -Ionen als aktivierenden azaphilen Lewis-Säuren.^[15] Alle diese Versuche schlugen fehl; meist wurden die nicht umgesetzten Hydrazone zurückerhalten. Mithilfe eines alternativen Reduktionsmittels, Dimethylamin-Boran-Komplex, das von Casarini et al. zur 1,2-Reduktion von α,β -ungesättigten Hydrazonen eingesetzt wurde,^[16] konnte eine glatte und nahezu quantitative Reduktion der Hydrazone zu den *N*1-Methyl-*N*2-alkylhydraziden erreicht werden. Durch Reaktion mit Bromcyan konnten die von Phenylalanin abgeleiteten *N*1-Methyl-*N*2-alkylhydrazide leicht in die gewünschten Azadipeptidnitrile **8–10** mit verschiedenen Resten in der Position P^1 überführt werden. Die Cathepsine wurden durch **8–10** mit subnanomolaren Affinitäten inhibiert, wobei diese Verbindungen weniger aktiv als **6** waren. Die Einführung unterschiedlicher Reste in die Position P^1 von Azadipeptidnitrilen führte nicht zu einer selektiven Hemmung der einzelnen Cathepsine, insbesondere nicht zwischen Cathepsin L und S. Um jedoch Rückschlüsse darauf ziehen zu können, welchen Einfluss der P^1 -Substituent auf die Selektivität hat, muss in zukünftigen Untersuchungen eine größere Zahl von Analoga hergestellt werden. Dieses Vorhaben ist vielversprechend, da eine breite Palette von Aldehyden eingesetzt werden kann.

Die Azadipeptidnitrile wiesen eine zeitabhängige Slow-Binding-Hemmung gegenüber allen untersuchten Cys-

teinproteasen (Tabelle 1, Abbildung 1) und überraschenderweise eine um fünf Größenordnungen höhere Bindungsaffinität als ihre Carbaanaloga auf. Dieses Phänomen lässt sich aus der Zeitabhängigkeit der von Azadipeptidnitrilen verursachten Hemmung erklären. Im Allgemeinen ermöglicht eine Slow-Binding-Hemmung die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten k_{on} und k_{off} .^[10] Die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung k_{on} beschreibt die Assoziation von Enzym und Inhibitor zum Enzym-Inhibitor-Komplex und k_{off} dessen Zerfall. Da die carbaanalogen Peptidnitrile eine zeitunabhängige Hemmung zeigten (siehe Hintergrundinformationen), lässt sich schlussfolgern, dass sie höhere k_{on} -Werte als ihre Azaanaloga aufweisen. Dennoch haben die Azadipeptidnitrile kleinere Hemmkonstanten als die Carba-dipeptidnitrile. Wegen der Beziehung $K_i = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ müssen die Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung k_{off} der Azadipeptidnitrile deutlich geringer sein als die entsprechenden Werte ihrer Carbaanaloga. Dies wird verständlich, wenn man sich vor Augen führt, dass in den Azadipeptidnitrilen die Cyangruppe mit einem Stickstoffatom verbunden ist, das ein nichtbindendes Elektronenpaar trägt. Durch Angriff des Thiols wird aus der Cyanamid-ähnlichen Einheit ein trigonal-planares Isothiosemicarbazid-Addukt gebildet. Die erhöhte Stabilität eines solchen kovalenten Enzym-Inhibitor-Komplexes könnte aus der Resonanz des freien Elektronenpaares am Stickstoffatom mit dem von der Cyangruppe stammenden sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatom resultieren (Schema 4).



Schema 4. Reversible Bildung von Isothiosemicarbaziden aus Azadipeptidnitrilen und Cysteinproteasen.

Da die Amidbindung dieser neuartigen Dipeptidderivate *N*-methyliert ist, wurde eine erhöhte Stabilität beim Abbau durch proteolytische Enzyme vermutet.^[17] Um dies zu prüfen, wurde die Chymotrypsin-katalysierte Spaltung des von Phenylalanin abgeleiteten Azadipeptidnitrils **6** sowie seiner Carbaanaloga **12** und **14** untersucht, da diese Serinprotease eine deutliche Spezifität für Phenylalanin in der Position P^1 aufweist. **6**, **12** und **14** wurden zunächst auf die Hemmung des Chymotrypsin-katalysierten Umsatzes eines chromogenen Peptids bei einer Enzymkonzentration von 10 ng mL^{-1} getestet (siehe Hintergrundinformationen). Das Azadipeptidnitril **6** zeigte nur eine schwache Hemmung ($\text{IC}_{50} = 1300 \mu\text{M}$), während **12** und **14** bei einer Konzentration von 600 μM Chymotrypsin überhaupt nicht hemmten. Danach wurde die Stabilität von **6**, **12** und **14** gegenüber Chymotrypsin durch HPLC-Analyse ermittelt (Abbildung 2). Das Carbaanalogon **12** wurde bei einer recht hohen Chymotrypsinkonzentration von 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mit einer Halbwertszeit von 45 min abge-

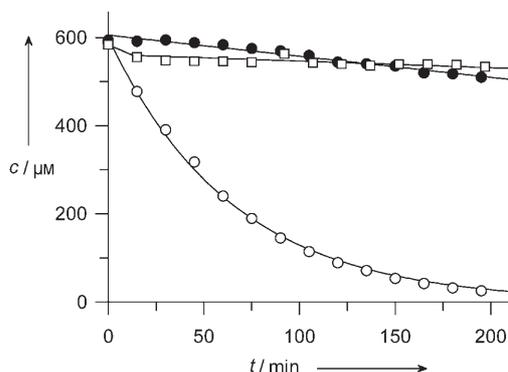


Abbildung 2. Zeitverlauf des Chymotrypsin-katalysierten Abbaus des Azadipeptidnitrils **6** (□) sowie der Dipeptidnitrile **12** (○) und **14** (●). Das jeweilige Nitril (600 μM) und Chymotrypsin (100 μg mL⁻¹) wurden in 20 mM Tris-HCl pH 8.4 (Tris = Tris(hydroxymethyl)aminomethan), 150 mM NaCl, 10% (v/v) Acetonitril bei 25 °C aufbewahrt, und Aliquote von 20 μL wurden in die HPLC-Apparatur injiziert. Die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung für den Abbau von **12** betrug (0.015 ± 0.001) min⁻¹, entsprechend einer Halbwertszeit von 45 min. Lineare Regression der Datenpunkte für die Hydrolyse von **14** ergab eine Anfangsgeschwindigkeit von (0.48 ± 0.03) μM min⁻¹, entsprechend einer Halbwertszeit von 14 h, unter Annahme einer Kinetik erster Ordnung. Die Hydrolyse von **6** war ebenfalls langsam, folgte aber einer komplexeren Kinetik (siehe Hintergrundinformationen).

baut. Eine ähnliche Chymotrypsinkonzentration liegt im menschlichen Dünndarm vor.^[18] Bei der gleichen Enzymkonzentration wurde das *N*-methylierte Carbaanalogon **14** nur mit einer sehr geringen Geschwindigkeit gespalten. Das Azadipeptidnitril **6** zeigte eine ähnliche Stabilität gegen chymotryptischen Abbau wie das Carbaanalogon **14**. Dass tatsächlich eine Chymotrypsin-katalysierte Spaltung der P²-P¹-Amidbindung erfolgt war, wurde durch den Vergleich der Geschwindigkeiten der Bildung von Z-Phe-OH (Z = Benzoyloxycarbonyl) und des Abbaus der Inhibitoren bestätigt (siehe Hintergrundinformationen). Diese Befunde führen zu dem Schluss, dass die Azadipeptidnitrile eine beträchtliche Stabilität gegen Protease-katalysierten Abbau aufweisen.

In dieser Arbeit wurden Azadipeptidnitrile als neuartige, hochpotente und proteolysestabile Inhibitoren für Papain-ähnliche Cysteinproteasen vorgestellt. Weiterhin wird dieser präparative Zugang die Einführung hoher struktureller Diversität in die Position P¹ solcher von Peptiden abgeleiteter Inhibitoren ermöglichen, was eine Strategie zur Entwicklung stabiler und selektiver Hemmstoffe für diese bedeutende Proteaseklasse eröffnen sollte.

Eingegangen am 20. Dezember 2007
Online veröffentlicht am 11. April 2008

Stichwörter: Azapeptide · Enzyminhibitoren · Hydrazide · Medizinische Chemie · Nitrile

- [1] Übersichtsartikel: F. Lecaille, J. Kaleta, D. Brömme, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4459–4488.
- [2] a) K. Ravanko, K. Järvinen, J. Helin, N. Kalkkinen, E. Hölttä, *Cancer Res.* **2004**, *64*, 8831–8838; b) K. Saegusa, N. Ishimura, K. Yanagi, R. Arakaki, K. Ogawa, I. Saito, N. Katunuma, Y. Hayashi, *J. Clin. Invest.* **2002**, *110*, 361–369; c) D. Brömme, K. Okamoto, B. B. Wang, S. Biroc, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 2126–2132.
- [3] Übersichtsartikel: a) G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Med. Chem.* **2005**, *1*, 71–104; b) R. Vicik, M. Busemann, K. Baumann, T. Schirmeister, *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 331–353; c) O. Vasiljeva, T. Reinheckel, C. Peters, D. Turk, V. Turk, B. Turk, *Curr. Pharm. Des.* **2007**, *13*, 387–403.
- [4] a) P. D. Greenspan, K. L. Clark, R. A. Tommasi, S. D. Cowen, L. W. McQuire, D. L. Farley, J. H. van Duzer, R. L. Goldberg, H. Zhou, Z. Du, J. J. Fitt, D. E. Coppa, Z. Fang, W. Macchia, L. Zhu, M. P. Capparelli, R. Goldstein, A. M. Wigg, J. R. Doughty, R. S. Bohacek, A. K. Knap, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4524–4534; b) J. Bondebjerg, H. Fuglsang, K. Rosendal Valeur, J. Pedersen, L. Naerum, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3614–3617; c) A. W. Patterson, W. J. L. Wood, M. Hornsby, S. Lesley, G. Spraggon, J. A. Ellman, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6298–6307.
- [5] J. B. Moon, R. S. Coleman, R.-P. Hanzlik, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1350–1351.
- [6] Übersichtsartikel: A. Zega, *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 589–597.
- [7] a) Übersichtsartikel: J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1780–1802; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699–1720; b) E. Wiczerczak, P. Drabik, L. Lankiewicz, S. Oldziej, Z. Grzonka, M. Abrahamson, A. Grubb, D. Brömme, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4202–4211; c) S. H. L. Verhelst, M. D. Witte, S. Arastu-Kapur, M. Fonovic, M. Bogyo, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 943–950.
- [8] a) J.-P. Falgoutyret, R. M. Oballa, O. Okamoto, G. Wesolowski, Y. Aubin, R. M. Rydzewski, P. Prasit, D. Riendeau, S. B. Rodan, M. D. Percival, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 94–104; b) D. G. Barrett, D. N. Deaton, A. M. Hassell, R. B. McFayden, A. B. Miller, L. R. Miller, J. A. Payne, L. M. Shewchuk, D. H. Willard, Jr., L. L. Wright, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3039–3043.
- [9] R. Löser, K. Schilling, E. Dimmig, M. Gütschow, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7688–7707.
- [10] J. F. Morrison, C. T. Walsh, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1988**, *61*, 201–301.
- [11] J. D. A. Tyndall, D. P. Fairlie, *J. Mol. Recognit.* **1999**, *12*, 363–370.
- [12] G. A. Olah, S. C. Narang, A. P. Fung, B. G. B. Gupta, *Synthesis* **1980**, 657–658.
- [13] Übersichtsartikel: A. F. Abdel-Magid, S. J. Mehrman, *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 971–1031.
- [14] R. Calabretta, C. Gallina, C. Giordano, *Synthesis* **1991**, 536–539.
- [15] S. Caddick, D. B. Judd, A. K. de Lewis, M. T. Reich, M. R. V. Williams, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5417–5423.
- [16] M. E. Casarini, F. Ghelfi, E. Libertini, U. M. Pagnoni, A. F. Parsons, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7925–7932.
- [17] a) Übersichtsartikel: S. Sagan, P. Karoyan, O. Lequin, G. Chassaing, S. Lavielle, *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 2799–2822; b) S. A. Bizzozero, B. O. Zweifel, *FEBS Lett.* **1975**, *59*, 105–108; c) A. Bianco, D. Kaiser, G. Jung, *J. Pept. Res.* **1999**, *54*, 544–548.
- [18] B. Borgström, A. Dahlqvist, G. Lundh, J. Sjövall, *J. Clin. Invest.* **1957**, *36*, 1521–1536.