

Atropisomerie als Herausforderung in der Medikamentenentwicklung**

Jonathan Clayden,* Wesley J. Moran, Paul J. Edwards und Steven R. LaPlante*

Atropisomerie · Chiralität · Konformere · Reaktionskinetik · Wirkstoffentwicklung

In der modernen pharmazeutischen Industrie spielt das Thema Chiralität eine wichtige Rolle: Seit langem ist bekannt, dass die Enantiomere einer Substanz ganz verschiedene biologische Aktivitäten, pharmakokinetische Eigenschaften und Toxizitäten besitzen können.^[1] Die Fälle von Thalidomid^[2] und Perhexilin^[3] belegen eindrucksvoll die Bedeutung der Stereochemie bei der Medikamentenentwicklung. Aufsichtsämter wie die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) führen an, dass chirale Wirkstoffe bei höherer Sicherheit und/oder Wirksamkeit bevorzugt als einzelne Enantiomere entwickelt werden.^[4] Allerdings gibt es auch Wirkstoffe, bei denen die Enantiomermischung ein akzeptables toxikologisches Profil hat (z.B. Ibuprofen, das als Racemat verkauft wird).^[5] Diesen Richtlinien zufolge, und weil das einzelne Enantiomer meist mit einer höheren biologischen Aktivität ausgestattet ist, kamen zwischen 2004 und 2006 tatsächlich 65 % aller Medikamente als einzelne Enantiomere auf den Markt. Dies liegt vor allem an Fortschritten auf dem Gebiet der asymmetrischen Synthese und an verbesserten Racematspaltungsverfahren.^[6] Nur 7 % der Substanzen waren Racemate oder Diastereomermischungen.^[5]

In diesem Kurzaufsatz wollen wir uns mit einer bisher größtenteils übersehenen Quelle von Chiralität bei Wirkstoffen beschäftigen, der Atropisomerie,^[7] und ihre Bedeutung für die pharmazeutische Anwendung diskutieren. Atropisomere sind Konformere, die sich aufgrund von sterischer oder elektronischer Hinderung hinreichend langsam ineinander umwandeln (definitionsgemäß mit einer Halbw-

wertszeit über 1000 s) und somit isoliert werden können.^[7,8] Als stereochemische Konsequenz einer gehinderten Rotation um eine Einfachbindung kann sich zum Beispiel eine scheinbar reine Verbindung als Mischung von zwei Verbindungen entpuppen, oder eine scheinbar achirale Verbindung kann tatsächlich ein Racemat sein. Wenn solche Stereoisomerenpaare trennbar sind, bedeutet es für die Medikamentenentwicklung dasselbe wie bei klassischen Verbindungen mit einem Chiralitätszentrum. Da es derzeit jedoch weder Standardverfahren zum Umgang mit der Atropisomerie gibt, noch bestimmte Regeln zur Stereochemie von Konformeren existieren, betrachten wir hier einige jüngere Beispiele für atropisomere Verbindungen, die sich in der Medikamentenentwicklung befinden oder befanden. Aus diesen Beispielen leiten wir dann die besten Strategien für das Wirkstoffdesign unter Berücksichtigung der Atropisomerie ab. Dies ist notwendig, denn falls die Atropisomerie einfach ignoriert wird, besteht die Gefahr, dass die Kosten für pharmazeutische Forschungs- und Entwicklungsprojekte in die Höhe schnellen können.

Atropisomerie kann zu geometrischen Isomeren, Diastereomeren oder Enantiomeren führen. Alle diese Isomere können im Prinzip thermisch aquilibriert werden. Solange noch keine bestimmten Regeln vorliegen, sollten solche Atropisomere am besten wie Stereoisomere mit klassischen Chiralitätszentren behandelt werden – allerdings mit dem Zusatz, dass die Isomerisierungsgeschwindigkeit und, wo notwendig, verschiedene Konformerenpopulationen zu berücksichtigen sind. Für racemische Wirkstoffkandidaten schreibt die FDA in einer Grundsatzerklärung von 1992 vor, dass die therapeutische Hauptaktivität der Isomere aufgeklärt sein soll, und zwar durch In-vivo- und In-vitro-Studien. Untersuchungen über die Pharmakokinetik der einzelnen Enantiomere, die frühzeitig in der Medikamentenentwicklung ausgeführt werden, sind ebenfalls sehr wertvoll. Die Kenntnis dieser Parameter hilft bei der Entscheidung, ob ein einzelnes Enantiomer oder ein Racemat entwickelt werden soll. Als Racemat wird ein Wirkstoff dann hergestellt, wenn sich die Mischung nicht gut trennen lässt (durch Synthese, HPLC usw.), oder wenn die Racemisierung in vitro und/oder in vivo sehr schnell verläuft (wie bei Ibuprofen oder Thalidomid). In diesem Fall ist es sinnlos, nur das Eutomer (das aktiver Isomer) zu verabreichen. Dennoch wird absolut empfohlen, dass für beide Isomere die kritischen pharmakologischen Parameter zur Sicherheit und Wirksamkeit ermit-

[*] Prof. J. Clayden, Dr. W. J. Moran
School of Chemistry
The University of Manchester
Oxford Road, Manchester M13 9PL (UK)
Fax: (+44) 161-275-4939
E-Mail: j.p.clayden@manchester.ac.uk
Homepage: <http://clor2.ch.man.ac.uk/home.htm>

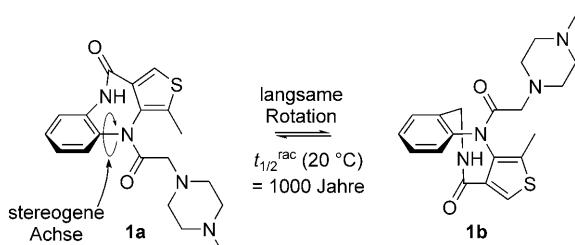
Dr. P. J. Edwards, Dr. S. R. LaPlante
Department of Chemistry, Boehringer-Ingelheim (Canada) Ltd.
2100 Cunard St., Laval, Québec, H7S 2G5 (Kanada)
Fax: (+450) 682-8434
E-Mail: steven.laplante@boehringer-ingelheim.com

[**] Wir danken EPSRC für finanzielle Unterstützung. Ferner danken wir P. Bonneau, L. Fader, J. Gillard, O. Hucke, A. Jakalian, N. Goudreau und D. Krishnamurthy für kritische Diskussionen sowie B. Lu für Unterstützung bei der Anfertigung dieses Manuskripts.

telt werden: Es muss ein akzeptables toxikologisches Gesamtprofil und ein geeignetes therapeutisches Fenster in vitro, im Tiermodell und beim Menschen gewährleistet sein.

Solche Überlegungen gelten auch für Atropisomere. Wegen des möglichen Gleichgewichts kommen zwei Hauptstrategien in Frage: 1) Bei hoher IsomerisierungsbARRIERE wird der atropisomere Wirkstoff als reines und stereochemisch stabiles Isomer entwickelt, und 2) bei niedriger IsomerisierungsbARRIERE wird er als konsistente und reproduzierbare Mischung sich ineinander umwandelnder Isomere entwickelt.

Der selektive Muscarin-Antagonist Telenzepin (**1**; Schema 1), der für die Behandlung von Magengeschwüren eingesetzt wird,^[9] dient als Beispiel für die erste Strategie. Te-

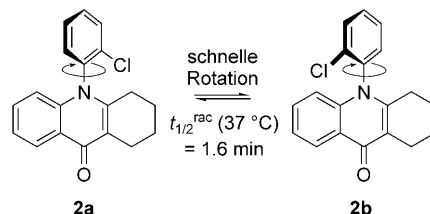


Schema 1. Langsame Umwandlung der Atopenantiomere von Telenzepin (**1**).

lenzepin, eine atropisomere Verbindung mit einer stereogenen C-N-Achse, hat bei 20°C in neutraler wässriger Lösung eine Racemisierungshalbwertszeit in der Größenordnung von 1000 Jahren. Eine teilweise Trennung der Enantiomere **1a** und **1b** erfolgte anhand ihrer unterschiedlichen Affinität für den Muscarinrezeptor. Dabei erwies sich das (–)-Isomer als inaktiv mit einer wesentlich geringeren Selektivität als das (+)-Isomer; in der Großhirnrinde von Ratten wurde eine 500-fache Aktivitätsdifferenz zwischen den Atropisomeren beobachtet.

Dagegen wurde Sch 40120 (**2**), ein Inhibitor der 5-Lipoxigenase, der für die Behandlung von akuten Entzündungen wie der Schuppenflechte eingesetzt wird, als eine Mischung sich ineinander umwandelnder Konformere hergestellt.^[10] Wie Telenzepin verfügt auch Sch 40120 über eine stereogene Achse, in diesem Fall aufgrund einer gehinderten Rotation um eine C-N-Bindung (Schema 2). Die Enantiomere **2a** und

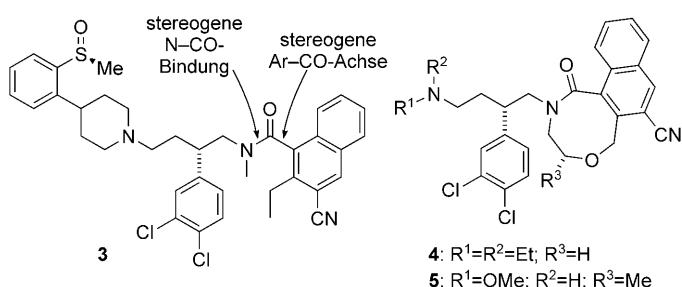
2b sind durch HPLC an einer chiralen stationären Phase trennbar, allerdings wandeln sie sich mit einer Halbwertszeit von lediglich 1.6 Minuten bei 37°C ineinander um. Deshalb können die Atropisomere bei Raumtemperatur oder darun-



Schema 2. Schnelle Umwandlung der Atopenantiomere von Sch 40120 (**2**).

ter voneinander getrennt werden, unter In-vivo-Bedingungen ist das nicht möglich. Also schrieb hier die kurze Halbwertszeit der beiden Enantiomere vor, dass eine racemische Mischung und nicht eine enantiomerenreine Verbindung als Arzneimittel entwickelt wurde.

Die Entscheidung, ob ein Wirkstoff als reines Enantiomer oder als Racemat hergestellt wird, sollte so früh wie möglich während der Optimierung der Leitstruktur fallen. Beispielsweise identifizierten Forscher bei AstraZeneca den NK₁-Antagonisten **3** (Schema 3) als Kandidaten zur Behandlung von Depressionen.^[11] Allerdings wies **3** eine gehinderte Rotation um zwei Bindungen auf, die zu vier durch HPLC-Analyse und NMR-Spektroskopie beobachtbaren Atropidiastereomeren mit Halbwertszeiten bei 37°C in der Größenordnung von Tagen führt. Diese Atropisomere waren leicht



Schema 3. Leitstruktur **3** des NK1-Antagonisten und die modifizierten Wirkstoffe **4** und **5**.

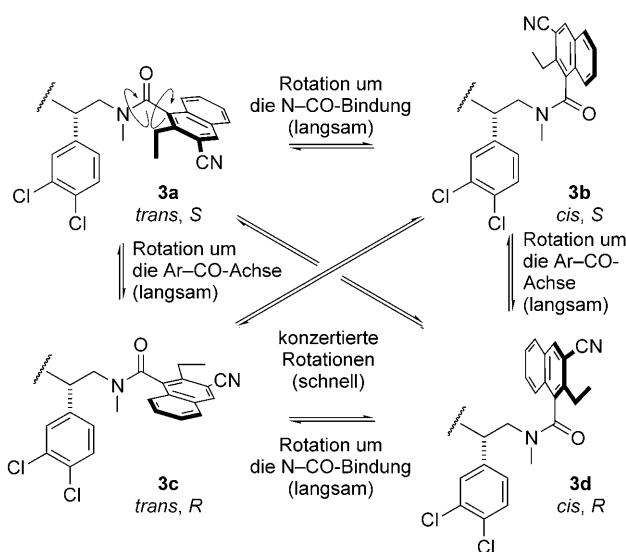


Jonathan Clayden promovierte 1992 an der University of Cambridge bei Dr. Stuart Warren. Nach einem Postdoktoranden-Aufenthalt bei Prof. Marc Julia an der École Normale Supérieure in Paris ging er 1994 als Lecturer nach Manchester. Dort hat er seit 2001 den Lehrstuhl für organische Chemie inne. Seine Forschungsinteressen umfassen verschiedene Gebiete der Synthese und Stereochemie, schwerpunktmäßig unter dem Gesichtspunkt der Konformation: asymmetrische Synthese, Atropisomerie, lithiumorganische Chemie, Entaromatisierungsreaktionen und Stereokontrolle über große Distanzen.



Steven LaPlante promovierte in Biophysik an der Syracuse University, USA. Als Postdoktorand arbeitete er an der Ecole Polytechnique und CNRS in Frankreich. Seit 1991 ist er bei Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd. beschäftigt. Sein Forschungsschwerpunkt liegt auf der Entwicklung von Methoden für das Wirkstoffdesign auf der Grundlage von dynamischen und Strukturparametern mithilfe von NMR-Spektroskopie, Röntgen- und Computertechniken.

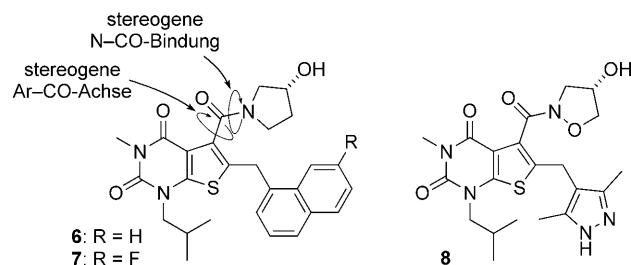
zu trennen und zu isolieren, sodass ihre Strukturen charakterisiert und ihre Aktivitäten *in vivo* bestimmt werden konnten. Entsprechend einem bekannten Beispiel^[12] von konzertierter Rotation um die Ar-CO- und die N-CO-Bindung wandelten sich die Atropisomere **3a** und **3d** beziehungsweise **3b** und **3c** selektiv ineinander um (Schema 4).



Schema 4. Selektive Umwandlung der Atropdiastereomere von **3**.

Weil mehrfach atropisomere Formen ohne Zweifel den Weg zum Arzneimittel verkomplizieren, musste man sich dieser stereochemischen Besonderheit schon früh im Entwicklungsprozess annehmen. Da die In-vivo-Aktivität von NK₁ offenbar vom Atropisomer **3a** herrührte, entwarf die Forschungsgruppe von AstraZeneca ein Analogon der biologisch aktiven Verbindung **3a** mit einer starreren Konformation. Der Einbau der Amid- und Naphthylgruppe in einen achtgliedrigen Ring führte zu Verbindung **4**, deren Amideinheit in der gewünschten *trans*-Konfiguration festgelegt ist. Die Verbindung **4** war hoch wirksam und selektiv, bestand aber – wegen der Drehung um die Ar-CO-Bindung – immer noch aus einer Mischung von zwei Atropdiastereomeren, die sich bei 37°C mit einer Halbwertszeit von 9.7 Stunden ineinander umwandeln. Eine weitere Modifikation führte zu Verbindung **5**, bei der ein zusätzliches stereogenes Zentrum bewirkt, dass die Ar-CO-Achse bevorzugt eine der möglichen Konformationen einnimmt. Die Verbindung **5** ist *in vitro* und *in vivo* hoch wirksam.

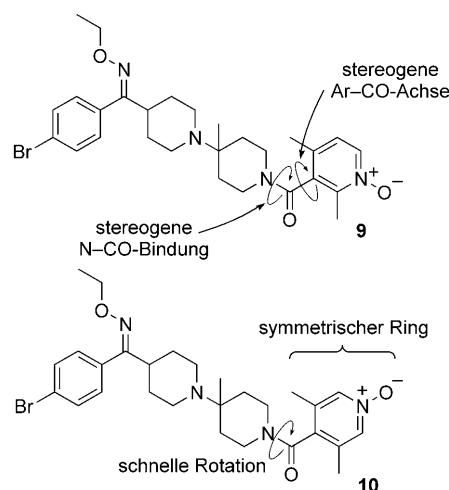
In einem ähnlichen Ansatz wurde die Rotationsgeschwindigkeit um die Bindungssachse verändert – bei einer schnelleren Rotation sollten keine Atropisomere mehr vorkommen. Hierbei erwiesen sich die Verbindungen **6** und **7** (Schema 5) als wirksame Hemmstoffe für den Monocarboxylat-Transporter (MCT1) mit vielen vorteilhaften Eigenschaften.^[13] Bei einer langsamen Rotation um die N-CO- und die Ar-CO-Bindung existieren vier trennbare Diastereomere, die unterschiedlich wirksam sind. Wegen der Halbwertszeiten von 1 bis 12 Stunden bei 37°C konnte das Atropisomerenverhältnis unter physiologischen Bedingungen nicht richtig kontrolliert werden.



Schema 5. Die atropisomeren Wirkstoffkandidaten **6** und **7** und das nicht atropisomere Derivat **8**.

Daher wurde nach Analoga von **6** und **7** gesucht, die Halbwertszeiten unter 15 Minuten für die Isomerisierung aufweisen. Die Verbindung **8**, in der die Pyrrolidin-Gruppe gegen eine Isoxazolidin-Einheit und die Naphthalin-Gruppe gegen eine Pyrazol-Einheit ausgetauscht wurde, ist nicht mehr atropisomer: Ihre Konformere wandeln sich rasch ineinander um, und sie zeigt akzeptable Medikamenteneigenschaften.

Auch die Einführung von Symmetrie hilft bei der Vermeidung von Atropisomerie. Im Zuge der Entwicklung von Medikamenten gegen das HI-Virus versuchten Forscher von Schering-Plough, kleine Antagonisten für CCR5 herzustellen, die den Eintritt des Virus in die Wirtzelle inhibieren.^[14] Aus diesen Studien ging mit Sch 351125 (**9**, Schema 6) ein Kan-

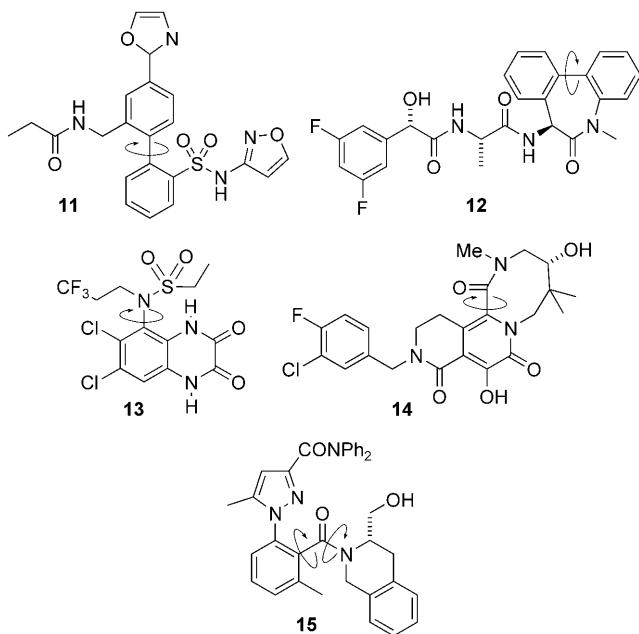


Schema 6. Der CCR5-Antagonist Sch 351125 (**9**) und das symmetrische Analogon **10**.

didat für klinische Studien hervor, der nachgewiesenermaßen das Niveau von HIV-1-RNA bei infizierten Patienten senken kann. Allerdings bedeutet eine eingeschränkte Bindungsrotation, dass Sch 351125 als Mischung von vier Atropisomeren vorliegt (als Paar von racemischen Diastereomeren).^[14a] Sämtliche vier Stereoisomere verfügen über Antivirus-Aktivität – mit einem 15-fachen Unterschied zwischen dem besten und dem schlechtesten Stereoisomer – und ihre Umladungshalbwertszeiten bei 37°C betrugen ungefähr 5 Stunden. Um Atropisomere zu vermeiden, stellte die Forschungsgruppe bei Schering-Plough symmetrische Analoga her.

Durch eine Symmetrie bezüglich der Rotation um die Ar-CO-Bindung wie in Verbindung **10** wird die Diastereomerie ausgeschaltet. Wegen der gehinderten Rotation um die N-CO-Bindung existieren noch enantiomere Konformere, diese wandeln sich jedoch rasch ineinander um. Die Verbindungen mit symmetrischen Substituenten zeigten in Bindungstests und Assays zum Viruseintritt vergleichbare Wirkung, hatten aber ein schlechteres Gesamtprofil als die Ausgangsverbindung, sodass man auch weiterhin nach besseren Kandidaten sucht.^[14b]

Das Vorliegen von Atropisomerie ist nicht immer sofort offensichtlich: Während BMS-207940 (**11**)^[15] und LY-411575 (**12**)^[16] gehinderte Biaryle sind, die sich nicht überraschend unter bestimmten Bedingungen atropisomer verhalten, fallen ähnliche Strukturmotive bei dem Chinoxalindion **13**,^[17] dem HIV-Integrase-Inhibitor **14**^[18] und dem Bcl-2-Liganden **15**^[19] nicht sofort ins Auge (Schema 7). Neben Biarylen werden



Schema 7. Gehinderte Rotation bei BMS-207940 (**11**), LY-411575 (**12**), Chinoxalindion **13**, dem HIV-Integrase-Inhibitor **14** und dem Bcl-2-Liganden **15**.

auch gehinderte Arylamide häufig dadurch charakterisiert, dass sich ihre Konformere langsam ineinander umwandeln. Ebenso ist dies bei Verbindungen mit mittelgroßen Ringen, wie den biologisch aktiven Naturstoffen Colchicin und Vancomycin, der Fall, die beide eine Atropisomerie zeigen.^[20]

Es wird deutlich, dass pharmazeutisch interessante Verbindungen, die kompakt sind oder stark substituiert, mehr als eine kinetisch stabile und stereochemisch unterscheidbare Konformation haben können. Je nach der Zeit, in der sich diese Konformationen ineinander umwandeln (Millisekunden bis Jahrtausende), müssen etwaige Schwierigkeiten beim Design, bei der Entwicklung und bei der Vermarktung sorgfältig bedacht werden. Nur so können stabile, konsistente und zulassungstaugliche Arzneimittel erhalten werden. Ein wichtiger erster Schritt ist das bloße Erkennen von Atrop-

isomerie bei den interessierenden Verbindungen. Im Verlauf der Medikamentenentwicklung müssen dann die Umwandlungsgeschwindigkeiten der Konformere ständig beobachtet werden (durch dynamische NMR-Spektroskopie, HPLC an chiraler Festphase, NMR-Spektroskopie mit chiralen Verschiebungsreagentien usw.). Außerdem sollte die Möglichkeit bedacht werden, dass Atropisomere unterschiedlich verstoffwechselt werden können. Kenntnisse über die Eigenschaften von atropisomeren Verbindungen im Festkörper (z.B. die Möglichkeit einer Trennung durch Kristallisation oder einer Umwandlung bei der Lagerung) könnten überdies eine bessere Qualitätskontrolle ermöglichen. Nützliche Hinweise zu solchen Fragen der Arzneimittelentwicklung gibt die Internetseite der FDA.^[4]

Die Möglichkeit einer Atropisomerie sollte schon in einem frühen Stadium der Medikamentenentwicklung berücksichtigt werden. Dann lassen sich unter Umständen Analoga der Leitverbindung herstellen, die eine der folgenden Eigenschaften haben: 1) Symmetrie um eine nicht frei rotierbare Bindung, um zu verhindern, dass eine Chiralitätsachse vorliegt; 2) schnellere Rotation um die gehinderte Bindung, um die Halbwertszeit der Konformer-Umwandlung auf Sekunden zu drücken; 3) verstärktes „Einpacken“ einer nicht frei rotierbaren Bindung, um trennbare Atropisomere zu erhalten, die sich vernachlässigbar langsam ineinander umwandeln (z.B. mit Halbwertszeiten von Jahrtausenden); 4) Einführung eines stabilen stereogenen Zentrums, um ein Gleichgewicht von sich ineinander umwandelnden Atropisomeren so zu beeinflussen, dass die gewünschte Konformation überwiegt.

Eingegangen am 30. März 2009

Online veröffentlicht am 27. Juli 2009

Übersetzt von Dr. Roswitha Harrer, Otterberg

- [1] a) M. Eichelbaum, A. S. Gross, *Adv. Drug Res.* **1996**, 28, 1; b) R. Crossley, *Chirality and the Biological Activity of Drugs*, CRC, Boca Raton, FL, **1995**; c) R. R. Shah, J. M. Midgley, S. K. Branch, *Adv. Drug React. Toxicol. Rev.* **1998**, 17, 145.
- [2] a) G. Blaschke, H. P. Kraft, K. Fickentscher, F. Kohler, *Arzneim.-Forsch.* **1979**, 29, 1640; b) S. Fabro, R. L. Smith, R. T. Williams, *Nature* **1967**, 215, 296; c) M. Reist, P. A. Carrupt, E. Francotte, B. Testa, *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, 11, 1521; d) T. Eriksson, S. Bjorkman, B. Roth, A. Fyge, P. Hoglund, *Chirality* **1995**, 7, 44.
- [3] a) I. Agranat, H. Caner, J. Caldwell, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, 10, 753; b) M. Rouhi, *Chem. Eng. News* **2003**, 81, 56.
- [4] a) Department of Health & Human Services, Food and Drug Administration: *FDA's Policy Statement for the Development of New Stereoisomeric Drugs*, Washington, DC, **1992**: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm122883.htm>; b) S. Miller, *18th International Symposium on Chirality*, Busan, Korea, 26. Juni **2006**: www.fda.gov/downloads/AboutFDA/CentersOffices/CDER/ucm103532.pdf.
- [5] a) C. S. Chen, W. R. Shieh, P. H. Lu, S. Harriman, C. Y. Chen, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1991**, 1078, 411; b) T. S. Tracy, S. D. Hall, *Drug Metab Dispos* **1992**, 20, 322.
- [6] a) S. K. Branch, *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach*, 2. Aufl. (Hrsg.: G. Subramanian), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, pp. 317–341; b) M. Strong, *Food Drug Law J.* **1999**,

- 54, 463; c) I. Agranat, H. Caner, *Drug Discovery Today* **1999**, *4*, 313.
- [7] M. Oki, *Top. Stereochem.* **1983**, *14*, 1.
- [8] G. Bringmann, A. J. P. Mortimer, P. A. Keller, M. J. Gresser, J. Garner, M. Breunig, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5518; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5384.
- [9] P. Eveleigh, E. C. Hulme, C. Schudt, N. J. M. Birdsall, *Mol. Pharmacol.* **1989**, *35*, 477.
- [10] R. F. Friary, M. Spangler, R. Osterman, L. Schulman, J. H. Schwerdt, *Chirality* **1996**, *8*, 364.
- [11] a) J. S. Albert, D. Aharony, D. Andisik, H. Barthlow, P. R. Bernstein, R. A. Bialecki, R. Dedinas, B. T. Dembofsky, D. Hill, K. Kirkland, G. M. Koether, B. J. Kosmider, C. Ohnmacht, W. Palmer, W. Potts, W. Rumsey, L. Shen, A. Shenvi, A. Sherwood, P. J. Warwick, K. Russell, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 3972; b) J. S. Albert, C. Ohnmacht, P. R. Bernstein, W. Rumsey, D. Aharony, B. B. Masek, B. T. Dembofsky, G. M. Koether, W. Potts, J. L. Evenden, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4337.
- [12] a) R. A. Bragg, J. Clayden, G. A. Morris, J. H. Pink, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 1279; b) H. Iwamura, K. Mislow, *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 175.
- [13] a) S. D. Guile, J. R. Bantick, D. R. Cheshire, M. E. Cooper, A. M. Davis, D. K. Donald, R. Evans, C. Eyssade, D. D. Ferguson, S. Hill, R. Hutchinson, A. H. Ingall, L. P. Kingston, I. Martin, B. P. Martin, R. T. Mohammed, C. Murray, M. W. D. Perry, R. H. Reynolds, P. V. Thorne, D. J. Wilkinson, J. Withnall, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2260; b) S. D. Guile, J. R. Bantick, M. E. Cooper, D. K. Donald, C. Eyssade, A. H. Ingall, R. J. Lewis, B. P. Martin, R. T. Mohammed, T. J. Potter, R. H. Reynolds, S. A. St-Gallay, A. D. Wright, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 254.
- [14] a) A. Palani, S. Shapiro, J. W. Clader, W. J. Greenlee, D. Blythin, K. Cox, N. E. Wagner, J. Strizki, B. M. Baroudy, N. Dan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 705; b) A. Palani, S. Shapiro, J. W. Clader, W. J. Greenlee, S. Vice, S. McCombie, K. Cox, J. Strizki, B. M. Baroudy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 709.
- [15] Y. S. Zhou, L. K. Tay, D. Hughes, S. Donahue, *J. Clin. Pharm.* **2004**, *44*, 680.
- [16] H. Tabata, K. Akiba, S. Lee, H. Takahashi, H. Natsugari, *Org. Lett.* **2009**, *10*, 4871.
- [17] C. Deur, A. K. Agrawal, H. Baum, J. Booth, S. Bove, J. Brieland, A. Bunker, C. Connolly, J. Cornicelli, J. Dumin, B. Finzel, X. Gan, S. Guppy, G. Kamilar, K. Kilgore, P. Lee, C.-M. Loi, Z. Lou, M. Morris, L. Philippe, S. Przybranowski, F. Riley, B. Samas, B. Sanchez, H. Tecle, Z. Wang, K. Welch, M. Wilson, K. Yates, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4599.
- [18] a) C. Welch, M. Biba, P. Pye, R. Angelaud, M. Egbertson, *J. Chromatogr. B* **2008**, *875*, 118; b) P. Cotelle, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2009**, *19*, 87.
- [19] J. Porter, A. Payne, I. Whitcombe, B. de Candole, D. Ford, R. Garlish, A. Hold, B. Hutchinson, G. Trevitt, J. Turner, C. Edwards, C. Watkins, J. Davis, C. Stubberfield, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1767.
- [20] a) F. Pietra, *J. Phys. Org. Chem.* **2007**, *20*, 1102; b) D. L. Boger, S. Miyazaki, S. H. Kim, J. H. Wu, O. Loiseleur, S. L. Castle, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3226.