

Molekulare Erkennung in der aktiven Tasche der Catechol-O-Methyltransferase: energetisch günstige Verdrängung eines von einem Bisubstratinhibitor importierten Wassermoleküls^{**}

Manuel Ellermann, Roland Jakob-Roetne, Christian Lerner, Edilio Borroni, Daniel Schlatter, Doris Roth, Andreas Ehler, Markus Georg Rudolph* und François Diederich*

Biologisch aktive Catechole wie L-DOPA und der Neurotransmitter Dopamin werden durch Methylierung inaktiviert. Diese Reaktion wird in Gegenwart von S-Adenosylmethionin (SAM) und Mg²⁺ vom Enzym Catechol-O-Methyltransferase (COMT) katalysiert.^[1] Bei der Behandlung der Parkinsonschen Krankheit kommen niedermolekulare Nitrocatecholinhibitoren zum Einsatz, um die ungewollte Methylierung des verabreichten L-DOPA zu verhindern und dadurch die Dopaminkonzentration im Gehirn zu erhöhen.^[2,3] Neuere Studien haben gezeigt, dass die Hemmung von COMT auch bei anderen Krankheiten des zentralen Nervensystems, wie Schizophrenie^[4] oder Depression,^[5] Anwendung finden kann.

Wir haben eine Reihe potenter Bisubstratinhibitoren entwickelt, die sowohl in der Catechol- als auch in der SAM-Bindungstasche kompetitiv binden.^[6] Basierend auf der Kristallstruktur des Liganden **1** ($IC_{50} = 9 \text{ nM}$)^[7a] im ternären Komplex mit COMT und Mg²⁺ (PDB-Code: 1JR4)^[8] untersuchten wir detailliert die molekulare Erkennung des gesamten aktiven Zentrums des Enzyms.^[9] Wesentlich war dabei die Entdeckung, dass die potenziell hepatotoxische Nitrogruppe, die für Catechol-basierte Monosubstrathemmer notwendig ist, nicht für hochaffine Bisubstratinhibitoren benötigt wird.^[10] So ersetzten wir die Nitrogruppe in Position 5 von Verbindung **1** mit passenden lipophilen Resten wie 4-Fluorphenyl (**2**, $IC_{50} = 31 \text{ nM}$),^[7] wobei die hohe, kompetitive Hemmwirkung beibehalten wurde. Computermodellierung ließ darauf schließen, dass der neu eingefügte lipophile Rest eine hydrophobe Tasche an der Oberfläche des Enzyms besetzt.^[11] Diese ursprüngliche Hypothese wird hier experimentell durch Röntgenstrukturanalyse validiert.

In der Struktur des ternären Komplexes von **1** mit COMT und Mg²⁺ im Kristall bildet das Adenin zwei Wasserstoffbrücken zu einem Wassermolekül (H₂O; Abbildung 1), eine starke und eine schwächere ($d(\text{N}\cdots\text{O}) = 3.0$ bzw. 3.4 Å). Dieses Wassermolekül wird vermutlich mit dem Liganden

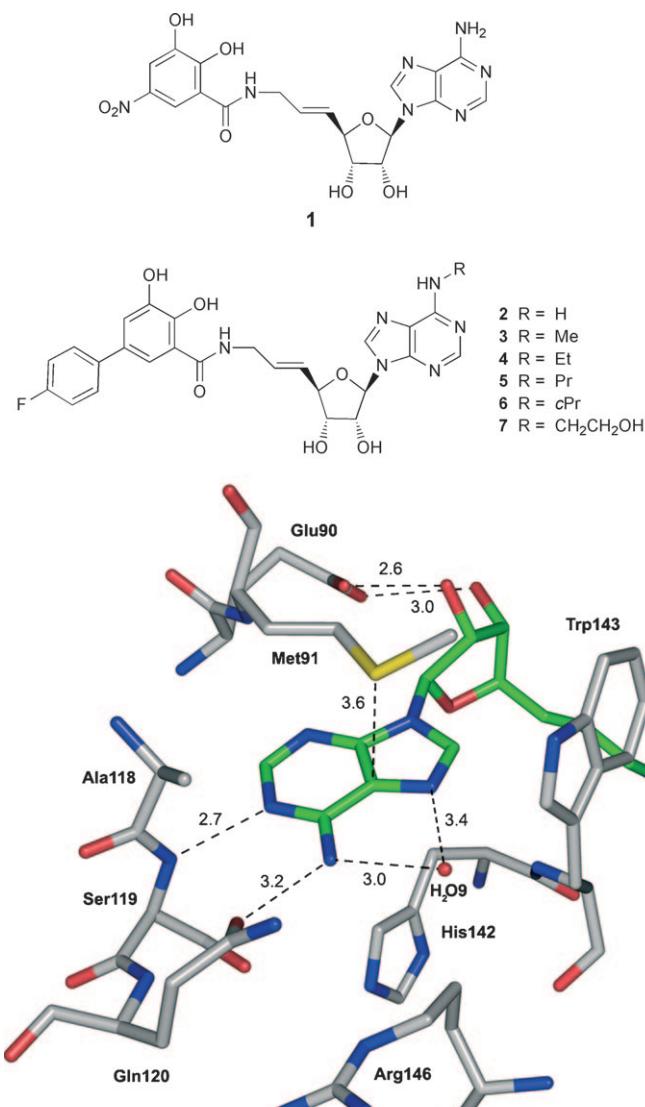


Abbildung 1. Oben: Bisubstratinhibitoren von COMT. cPr = Cyclopropyl. Unten: Struktur des ternären Komplexes von **1** mit COMT und Mg²⁺ im Kristall.^[8] Abstände sind in Å angegeben (graue C_{COMT}, grüne C_{Ligand}, rote O, blaue N, gelbe S; PDB-Code: 1JR4).

[*] Dr. R. Jakob-Roetne, Dr. C. Lerner, Dr. E. Borroni, Dr. D. Schlatter, Dr. D. Roth, A. Ehler, Dr. M. G. Rudolph
Pharma Division, Präklinische Forschung
F. Hoffmann-La Roche AG, 4070 Basel (Schweiz)
E-Mail: markus.rudolph@roche.com
M. Ellermann, Prof. Dr. F. Diederich
Laboratorium für Organische Chemie, ETH Zürich
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, 8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 44-632-1109
E-Mail: diederich@org.chem.ethz.ch

[**] Wir danken F. Hoffmann-La Roche für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit und Dr. Manfred Kansy für wertvolle Diskussionen. Wir sind auch Pia Warga und Valérie Goetschy-Meyer für ihre Unterstützung beim Assay und Jörg Benz für seine Hilfe bei der Planung der Kristallisationsexperimente zu Dank verpflichtet.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200904410> zu finden.

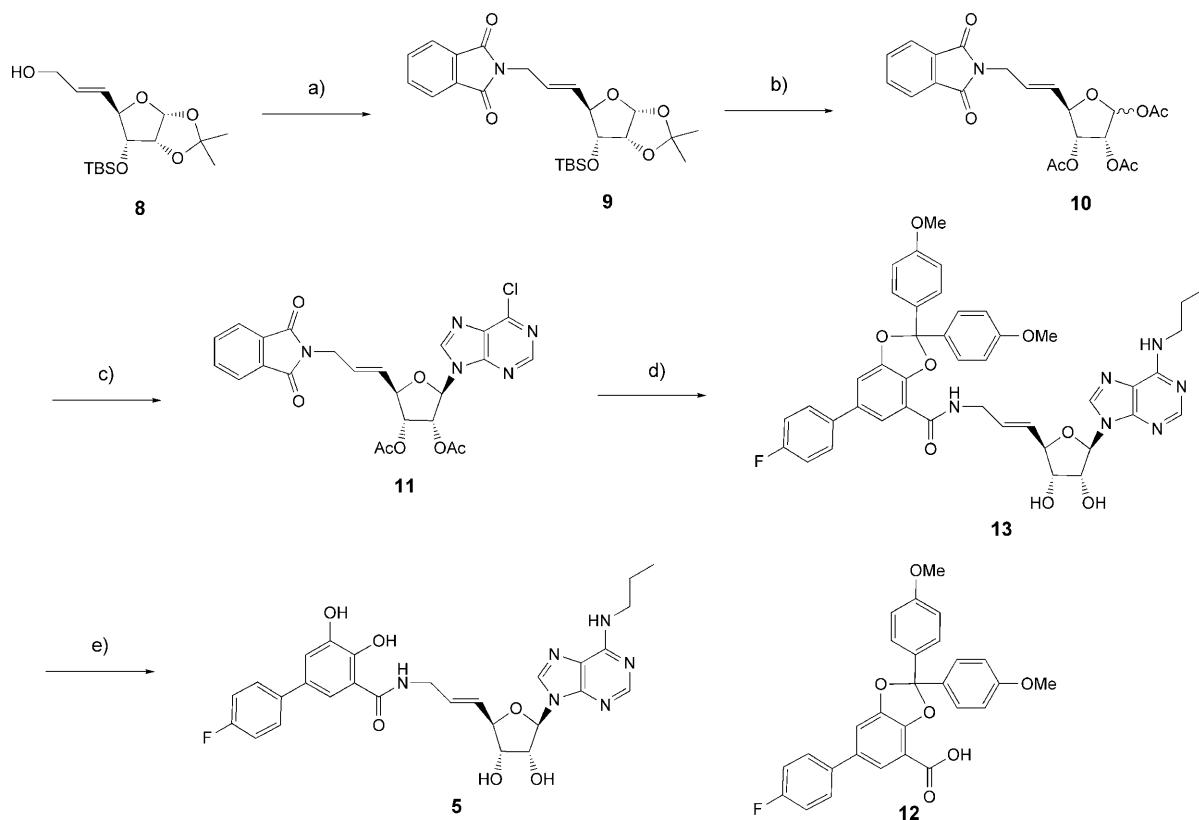
importiert, da es keine Wasserstoffbrücken zum Protein, sondern höchstwahrscheinlich nur zum dynamischen Wasser an der Oberfläche bildet.^[8a] Wir kamen zu dem Schluss, dass eine Verdrängung dieses Wassermoleküls durch einen hydrophoben Rest am Liganden günstige entropische und enthalpische Beiträge zur freien Bildungsenthalpie liefern sollte, indem das Lösungsmittelmolekül freigesetzt wird und sich bessere Wechselwirkungen mit dem Protein bilden.^[12] Die Verdrängung von in Kristallstrukturen beobachteten, lokalisierten Wassermolekülen zur Verbesserung von Protein-Ligand-Wechselwirkungen ist zurzeit ein viel beachtetes Thema in der strukturbasierten Wirkstoff-Forschung, sowohl vom experimentellen als auch vom theoretischen Standpunkt.^[13] Die Verdrängung lokalisierter, vom Liganden importierter Wassermoleküle, die nicht mit dem Protein wechselwirken,^[14] wurde bislang noch nicht untersucht, obwohl solche Wassermoleküle recht häufig vorkommen, wie eine erste Recherche in der Protein Data Bank (PDB; siehe Hintergrundinformationen) ergab. Wir stellen hier die neuen Bisubstrathemmer **3–7** vor und zeigen, dass die Verdrängung des in der Cokristallstruktur von **1** beobachteten, durch den Liganden importierten Wassermoleküls (Abbildung 1) tatsächlich ein energetisch günstiger Prozess ist.

Die Synthese der neuen Bisubstratinhibitoren geht von Alkohol **8** aus (wie in Schema 1 für das Propylderivat **5** gezeigt), der über **9**^[15] in das triacetylierte Ribosederivat **10**

überführt wurde.^[16] Dessen Nucleosidierung mit 6-Chlorpurin gemäß einer modifizierten Vorbrüggen-Vorschrift lieferte Nucleosid **11** in ausgezeichneter Ausbeute.^[17] Die anschließende Umsetzung mit Propylamin entfernte die Phthalimid- und Acetylenschutzgruppen unter gleichzeitiger Substitution des Chloratoms am Purin. Das resultierende Allylamin wurde mit dem geschützten Catecholderivat **12** zum Amid **13** umgesetzt, das unter Erhalt des gewünschten Bisubstratinhibitors **5** entschützt wurde. Die anderen Inhibitoren wurden auf dem gleichen Syntheseweg erhalten.

Die biologische Aktivität der neuen Bisubstrathemmer wurde über einen radiochemischen Assay (Hintergrundinformationen) bestimmt,^[6,18] und die gemessenen IC₅₀- und berechneten K_i-Werte sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die neuen Bisubstratinhibitoren mit einem Substituenten am exocyclischen N6-Atom der Adenineinheit zeigen eine ähnliche Hemmwirkung wie die schon beschriebene Referenzsubstanz **2**.^[7] Die Lineweaver-Burk-Diagramme^[16] (Hintergrundinformationen) offenbaren für alle Inhibitoren eine kompetitive Hemmung bezüglich der SAM-Bindungstasche.

Die Kristallstrukturen der vier Bisubstratinhibitoren **3**, **4**, **5** und **7** im ternären Komplex mit COMT und Mg²⁺ (PDB-Codes: 3HVH (Auflösung: 1.30 Å), 3HVI (1.20 Å), 3HVJ (1.79 Å) und 3HVK (1.30 Å)) konnten gelöst werden. Der Bindungsmodus der Liganden ist in allen vier Strukturen sehr ähnlich, wie eine Überlagerung zeigt (Hintergrundinforma-



Schema 1. Synthese des Bisubstratinhibitors **5**: a) Phthalimid, DIAD, PPh₃, THF, 20°C, 20 h, 95%; b) 1. AcOH (80%), 70°C, 15 h; 2. Ac₂O, Pyridin, 4-(N,N-Dimethylamino)pyridin, 20°C, 16 h, 88%; c) BSA, Me₃SiOSO₂CF₃, 6-Chlorpurin, Toluol, 60°C, 16 h, 84%; d) 1. Propylamin, MeOH, 20°C, 6 d; 2. **12**, HBTU, HOEt, iPr₂NEt, DMF, 20°C, 25%; e) Trifluoroessigsäure (50%), THF, 0°C, 1 h, 76%. TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, DIAD = Diisopropylazodicarboxylat, BSA = N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamid, HBTU = O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorophosphat, HOEt = 1H-Benzo[d][1,2,3]triazol-1-ol.

Tabelle 1: Biologische Daten aus dem radiochemischen Assay.

Inhibitor	$IC_{50}^{[a]}$ [nM]	$K_i^{[b]}$ [nM]	$c \lg P^{[c]}$	$\lg D^{[d]}$
2 ($R=H$) ^[e]	31	7	1.12	1.64
3 ($R=Me$)	12	3	1.96	2.14
4 ($R=Et$)	21	5	2.48	2.00
5 ($R=Pr$)	9	2	3.01	3.15
6 ($R=cPr$)	41	9	2.31	2.57
7 ($R=CH_2CH_2OH$)	15	3	1.19	1.58

[a] IC_{50} =mittlere inhibitorische Konzentration. [b] K_i =Inhibitierungskonstante der kompetitiven Hemmung von SAM. IC_{50} - und K_i -Werte wurden, wie in den Hintergrundinformationen beschrieben, nach Präinkubation gemessen. [c] Logarithmischer Verteilungskoeffizient der neutralen Spezies für Octanol/Wasser. [d] Logarithmischer Verteilungskoeffizient für Octanol/Wasser bei pH 7.4. [e] Lit. [7].

tionen). Die Struktur des Ethyladeninderivats **4** im Komplex mit COMT und Mg^{2+} ist in Abbildung 2 dargestellt.

Das Adenosinfragment bindet, wie erwartet, in die SAM-Bindungstasche, während der Catecholteil an das Mg^{2+} -Ion

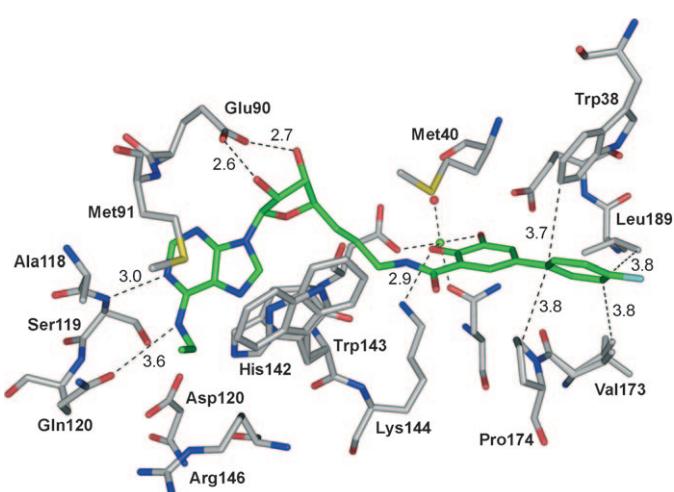


Abbildung 2. Bindungsmodus des Bisubstratinhibitors **4** mit Mg^{2+} in der aktiven Tasche von COMT. Der Indolring von Trp143 kann verschiedene Konformationen einnehmen (rot O, blau N, gelb S, türkis F, hellgrün Mg, grün C_{Ligand}, grau C_{Protein}, PDB-Code: 3HVI). Die Nummerierung der Reste und Atome folgt den Angaben der Kristallstruktur.

koordiniert. Wie durch Modellierung vorhergesagt, besetzt der 4-Fluorphenylsubstituent am Catechol die hydrophobe Tasche an der Oberfläche des Enzyms^[10] und geht mehrere Van-der-Waals-Wechselwirkungen (C···C-Abstände < 4.0 Å mit Pro174, Val173, Leu189 und Trp38) mit dem Protein ein (Abbildung 2 und Hintergrundinformationen). Diese unpolaren Wechselwirkungen zusammen mit der bindungsbedingten, entropisch günstigen Desolvatisierung der Tasche

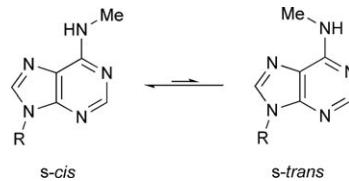
tragen stark zur hohen Affinität der Bisubstratinhibitoren ohne Nitrogruppe am Catechol bei.

Die Adenineinheit von **4** bildet eine Wasserstoffbrücke ($d(N1\cdots N)=3.0$ Å) zum Hauptketten-NH-Atom von Ser119 und eine zweite, schwache H-Brücke ($d(N6\cdots O)=3.6$ Å) zur Seitenkette von Gln120. Der Purinring stapelt auf der Seitenkette von Met91 ($d(S\cdots C5)=3.6$ Å) und geht eine T-förmige Wechselwirkung mit dem Imidazolring von His142 ein ($d(CD2_{His}\cdots C6)=3.8$ Å). Der Indolring von Trp143, der die Adenin-Bindungstasche vom Oberflächenwasser abschirmt, nimmt in den ternären Komplexen von **3–5** zwei verschiedene Konformationen ein, während nur eine im Komplex mit **7** zu beobachten ist (siehe Hintergrundinformationen). Trp143 bildet ebenfalls eine T-förmige Wechselwirkung zur Nucleobase ($d(CD2_{Trp}\cdots C8)=3.4$ Å im Komplex mit **4**).

Die Cokristallstruktur mit komplexiertem **4** zeigt deutlich die Verdrängung des Wassermoleküls (H_2O9), das in der Cokristallstruktur von **1** (PDB-Code: 1JR4, Bild 1) an das Adeninfragment bindet, durch den Ethylsubstituenten. Diese Wasserverdrängung ist bei allen vier Cokristallstrukturen mit den Liganden **3**, **4**, **5** und **7** zu beobachten (siehe Hintergrundinformationen).

Ein Vergleich der thermodynamischen Daten (Tabelle 1) lässt zunächst vermuten, dass die Einführung der N6-Alkylsubstituenten und die damit einhergehende Erhöhung der $c \lg P$ - und $\lg D$ -Werte sowie die Wasserverdrängung keine signifikante Verbesserung der Bindungsaffinität mit sich bringen: Die IC_{50} - und K_i -Werte der N6-alkylierten Inhibitoren **3–5** und **7** sind nur geringfügig kleiner als die des unsubstituierten Liganden **2** (Tabelle 1).

Allerdings binden die neuen Liganden in der energetisch ungünstigen *s-trans*-Konformation (Schema 2). Frühere kinetische Untersuchungen von N-methylierten Adeninen



Schema 2. *s-cis-s-trans*-Konformerengleichgewicht von N-alkylierten Adeninen.

offenbarten eine freie Aktivierungsenthalpie (ΔG^\ddagger) von ungefähr 13 kcal mol⁻¹ für die Rotationsbarriere des *s-cis-s-trans*-Gleichgewichts.^[19–21] Dies ermöglicht die Bestimmung des Konformerenverhältnisses mit ¹H-NMR-Spektroskopie bei tiefen Temperaturen und langsamem Austausch, wobei das Me-Signal des *s-cis*-Konformers bei ungefähr $\delta = 3.0$ ppm und das des *s-trans*-Konformers bei ungefähr $\delta = 3.5$ ppm erscheint. In verschiedenen polaren Lösungsmitteln wurde eine starke Präferenz für das *s-cis*-Isomer beobachtet, die sich im $\Delta G_{s-trans \rightarrow s-cis}$ -Wert zwischen –1.5 und –1.9 kcal mol⁻¹ widerspiegelt. Zwischen 238 und 310 K führten wir NMR-Messungen mit **3** in perdeuteriertem 2,2,2-Trifluorethanol durch, wobei wir kein Signal des *s-trans*-Isomers beobachten konn-

ten (Hintergrundinformationen). Das Gleiche gilt für Messungen in D₂O/(CD₃)₂SO zwischen 277 und 298 K. Bei einer Genauigkeit der NMR-Integration von ca. 5 % kann somit ein Isomerenverhältnis von mindestens 95:5 (s-cis/s-trans) angenommen werden. Bei 310 K, der Temperatur, in welcher der Bindungsassay durchgeführt wurde, ergibt dies einen minimalen $\Delta G_{s\text{-}trans \rightarrow s\text{-}cis}$ -Wert von mindestens $-1.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ ($\Delta G = -RT \ln K; K = 95/5$), in guter Übereinstimmung mit den früheren Studien.^[19–21] Demzufolge müssen ungefähr 1.8 kcal mol⁻¹ an freier Bindungsenthalpie investiert werden, um die N-alkylierten Liganden im ternären Komplex mit COMT in die s-trans-Konformation zu überführen.

Dennoch bilden sowohl die nichtalkylierte Verbindung **2** als auch die N-alkylierten Inhibitoren **3–7** Komplexe mit ähnlicher Stabilität. Der Preis der ungünstigen Konformation muss mit dem energetischen Gewinn, der aus der Wasser-verdrängung durch die N6-Alkylsubstituenten in der gebundenen s-trans-Form resultiert, kompensiert werden. Diese muss daher mindestens einen Beitrag von $\Delta\Delta G = -1.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ zur freien Bindungsenthalpie leisten. Da sich die Alkylsubstituenten in einer sehr polaren Region in der Nähe der Enzymoberfläche befinden, kommt es kaum zu zusätzlichen Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit dem Protein (siehe Hintergrundinformationen). Die Verteilung in diese stark polare Umgebung ist energetisch nicht sehr günstig: Obwohl der Ig D-Wert von **3** (Me) nach **5** (Pr) (Tabelle 1) stark ansteigt, wird keine zusätzliche freie Bindungsenthalpie gewonnen. Weiterhin hat das Hydroxyethyllderivat **7**, mit einem ähnlich niedrigen Ig D-Wert wie **2**, eine vergleichbare Bindungsaffinität. Daher schlussfolgern wir, dass der größte Teil der gewonnenen ca. $-1.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ von der Verdrängung des Wassermoleküls stammt.^[22] Diese Verdrängung erfolgt vor allem dadurch, dass der N-Alkylsubstituent aus der s-cis-Form in freiem Zustand, in dem die Adeninsolvatisierung vermutlich wie in Abbildung 1 gezeigt vorliegt,^[23] im Komplex mit COMT in die s-trans-Form übergeht.

Wir haben hier hochpotente Bisubstratinhibitoren für COMT beschrieben und den von uns vorhergesagten Bindungsmodus durch vier Kristallstrukturen bestätigt. Die N6-alkylierten Inhibitoren mit der ungünstigen s-trans-Konformation binden ähnlich stark wie das entsprechende nichtalkylierte Derivat. Unsere Analyse zeigt, dass die Verdrängung des Wassermoleküls in der gebundenen s-trans-Konformation des Liganden mindestens 1.8 kcal mol⁻¹ zur Bindungsaffinität des Liganden zum Protein beiträgt und dadurch die aus der ungünstigen s-trans-Konformation des Liganden resultierenden, vergleichbaren energetischen Kosten kompensiert. Die Untersuchung zeigt deutlich, dass eine Verdrängung von durch den Liganden importierten Wassermolekülen mithilfe von strukturbasiertem Design sehr lohnenswert sein kann, besonders weil solche Wassermoleküle, die nicht über Wasserstoffbrücken mit dem Protein wechselwirken, häufig vorkommen, wie wir in einer ersten PDB-Suche zeigen konnten.

Eingegangen am 6. August 2009
Online veröffentlicht am 30. Oktober 2009

Stichwörter: Enzyme · Inhibitoren · Molekulare Erkennung · Struktur-Aktivitäts-Beziehungen · Wirkstoff-Forschung

- [1] a) P. B. Molinoff, J. Axelrod, *Annu. Rev. Biochem.* **1971**, *40*, 465–500; b) H. C. Guldberg, C. A. Marsden, *Pharmacol. Rev.* **1975**, *27*, 135–206; c) J. Vidgren, L. A. Svensson, A. Liljas, *Nature* **1994**, *368*, 354–358.
- [2] a) P. T. Männistö, I. Ulmanen, K. Lundström, J. Taskinen, J. Tenhunen, C. Tilgmann, S. Kaakkola, *Prog. Drug Res.* **1992**, *39*, 291–350; b) P. T. Männistö, S. Kaakkola, *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51*, 593–628.
- [3] a) J. Borgulya, H. Bruderer, K. Bernauer, G. Zürcher, M. Da Prada, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 952–968; b) J. K. Holm, C. N. Spencer, *Drugs* **1999**, *58*, 159–177; c) G. M. Keating, K. A. Lyseng-Williamson, *CNS Drugs* **2005**, *19*, 165–184.
- [4] a) D. R. Weinberger, M. F. Egan, A. Bertolino, J. H. Callicott, V. S. Mattay, B. K. Lipska, K. F. Berman, T. E. Goldberg, *Biol. Psychiatry* **2001**, *50*, 825–844; b) J. J. McCarthy, *Trends Biotechnol.* **2001**, *19*, 283–284; c) A. Sazci, E. Ergul, I. Kucukali, G. Kilic, G. Kaya, I. Kara, *Mol. Brain Res.* **2004**, *132*, 51–56; d) H. Y. Handoko, D. R. Nyholt, N. K. Hayward, D. A. Nertney, D. E. Hannah, L. C. Windus, C. M. McCormack, H. J. Smith, C. Filipich, M. R. James, B. J. Mowry, *Mol. Psychiatry* **2005**, *10*, 589–597.
- [5] a) V. S. Kostic, *Adv. Exp. Med. Biol.* **2004**, *541*, 75–90; b) M. Fava, J. F. Rosenbaum, A. R. Kolsky, J. E. Alpert, A. A. Nierenberg, M. Spillmann, C. Moore, P. Renshaw, T. Bottiglieri, G. Moroz, G. Magni, *J. Clin. Psychopharmacol.* **1999**, *19*, 329–335.
- [6] B. Masjost, P. Ballmer, E. Borroni, G. Zürcher, F. K. Winkler, R. Jakob-Roetne, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 971–982.
- [7] a) Die IC₅₀-Werte wurden mit Präinkubation bestimmt (siehe Hintergrundinformationen). b) In einer früheren Arbeit^[10] wurde mit demselben Assay ein IC₅₀-Wert von 21 nm für **2** gemessen.
- [8] a) C. Lerner, A. Ruf, V. Gramlich, B. Masjost, G. Zürcher, R. Jakob-Roetne, E. Borroni, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4164–4166; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4040–4042; b) C. Lerner, B. Masjost, A. Ruf, V. Gramlich, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 42–49.
- [9] a) R. Paulini, C. Trindler, C. Lerner, L. Brändli, W. B. Schweizer, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, F. Diederich, *Chem-MedChem* **2006**, *1*, 340–357; b) C. Lerner, R. Siegrist, E. Schweizer, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 1045–1062.
- [10] a) R. Paulini, C. Lerner, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, F. Diederich, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1270–1274; b) R. Paulini, C. Lerner, F. Diederich, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 1856–1887.
- [11] a) M. J. Bonifacio, M. Archer, M. L. Rodrigues, P. M. Matias, D. A. Learmonth, M. A. Carrondo, P. Soares-da-Silva, *Mol. Pharmacol.* **2002**, *62*, 795–805; b) P. N. Palma, M. L. Rodrigues, M. Archer, M. J. Bonifacio, A. I. Loureiro, D. A. Learmonth, M. A. Carrondo, P. Soares-da-Silva, *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 143–153; c) E. Tsuji, K. Okazaki, K. Takeda, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2009**, *378*, 494–497.
- [12] C. Barillari, J. Taylor, R. Viner, J. W. Essex, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2577–2587.
- [13] Eine Auswahl von Publikationen: a) M. Levitt, B. H. Park, *Structure* **1993**, *1*, 223–226; b) C. S. Poornima, P. M. Dean, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1995**, *9*, 500–512; c) J. E. Ladbury, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 973–980; d) A. T. García-Sosa, R. L. Mancera, P. M. Dean, *J. Mol. Model.* **2003**, *9*, 172–182; e) M. Fornabaio, F. Spyros, A. Mozzarelli, P. Cozzini, D. J. Abraham, G. E. Kellogg, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4507–4516; f) M. L. Verdonk, G. Chessari, J. C. Cole, M. J. Hartshorn, C. W. Murray, J. W. M. Nissink, R. D. Taylor, R. Taylor, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6504–6515; g) C. Barillari, J. Taylor, R. Viner, J. W. Essex, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2577–2587; h) A. Amadas, J. A. Surface, F. Spyros, P. Cozzini, A. Mozzarelli, G. E. Kellogg, J.

- Med. Chem.* **2008**, *51*, 1063–1067; i) P. Ball, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 74–108; j) B. C. Roberts, R. L. Mancera, *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, *48*, 397–408; k) N. Huang, B. K. Shoichet, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4862–4865; l) H. Yu, S. W. Rick, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6608–6613; m) P. C. Kohler, T. Ritschel, W. B. Schweizer, G. Klebe, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10809–10817.
- [14] Y. Lu, R. Wang, C.-Y. Yang, S. Wang, *J. Chem. Inf. Model.* **2007**, *47*, 668–675.
- [15] S. Knapp, G. J. Morriello, G. A. Doss, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 603–606.
- [16] S. Kozaki, O. Sakanaka, T. Yasuda, T. Schimizu, S. Ogawa, T. Suami, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 281–286.
- [17] H. Vorbrüggen, K. Krolkiewicz, B. Bennua, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1234–1255.
- [18] G. Zürcher, M. Da Prada, *J. Neurochem.* **1982**, *38*, 191–195.
- [19] a) J. D. Engel, P. H. von Hippel, *Biochemistry* **1974**, *13*, 4143–4158; b) J. D. Engel, P. H. von Hippel, *J. Biol. Chem.* **1978**, *253*, 927–934.
- [20] A. B. Reitz, D. W. Graden, A. D. Jordan, Jr., B. E. Maryanoff, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5761–5766.
- [21] G. Dodin, M. Dreyfus, J.-E. Dubois, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1979**, 438–442.
- [22] J. D. Dunitz, *Science* **1994**, *264*, 670.
- [23] a) M. Maloň, Z. Trávníček, M. Maryško, R. Zbořil, M. Mašláň, J. Marek, K. Doležal, J. Rolčík, V. Kryštof, M. Strnad, *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *323*, 119–129; b) S. Kolappan, T. P. Seshadri, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1999**, *55*, 603–604.