

Systematische Untersuchung von Halogenbrücken in Protein-Ligand-Wechselwirkungen**

Leo A. Hardegger, Bernd Kuhn, Beat Spinnler, Lilli Anselm, Robert Ecabert, Martine Stihle, Bernard Gsell, Ralf Thoma, Joachim Diez, Jörg Benz, Jean-Marc Plancher, Guido Hartmann, David W. Banner,* Wolfgang Haap* und François Diederich*

Als Halogenbrücken (XBs) werden nicht-kovalente Wechselwirkungen mit der allgemeinen Struktur $\text{DX}\cdots\text{A}$ zwischen Halogenverbindungen (DX: XB-Donor, wobei $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) und Nukleophilen (A: XB-Akzeptor) bezeichnet.^[1,2] Seit ihrer ersten Beobachtung in Cokristallstrukturen von 1,4-Dioxan mit Br_2 durch Hassel und Hvoslef im Jahre 1954^[3] wurden XBs zunehmend im Kristall-Engineering und in der supramolekularen Chemie im Festkörper genutzt.^[4–6] Die Natur der Wechselwirkung und das ihr zugrundeliegende σ -Loch im XB-Donor wurden in theoretischen Studien ausführlich untersucht.^[1,2,7–9] Kürzlich wurde die attraktive Natur der XB-Wechselwirkungen in Komplexen zwischen 1-Iodperfluoralkanen und verschiedenen Donoren auch in Lösung bestätigt und quantifiziert.^[10,11]

Neuartige Inhibitoren für humanes Cathepsin L (hCatL) wurden entdeckt.^[12] Diese binden kovalent an die Seitenkette des katalytischen Cys25 in der S1-Tasche unter Bildung von Thioimidaten, die durch das Oxyanionen-Loch der Protease stabilisiert werden. Zusätzlich bilden die Liganden Wasserstoffbrücken zum Rückgrat-NH von Gly68 und Rückgrat-C=O von Asp162 und füllen die S2- und S3-Taschen über mehrere hydrophobe Kontakte mit dem Enzym. Wir fanden Anzeichen für eine XB-Wechselwirkung zwischen dem 4-Chlorphenylrest eines Liganden, dessen Bindungsaffinität 13-mal höher war als diejenige des unsubstituierten Phenylderivats, und dem Rückgrat-C=O von Gly61 in der S3-Tasche

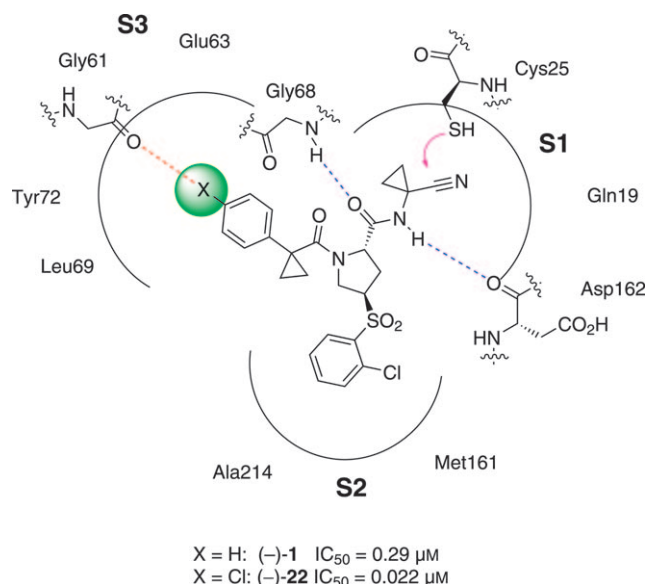


Abbildung 1. Bindungsmodus des kovalent bindenden Inhibitors im aktiven Zentrum von hCatL mit seinen drei Taschen. Der Substituent in der 4-Position des Phenylrings in der S3-Tasche, der mit der C=O-Gruppe von Gly61 wechselwirkt, ist grün markiert. Für $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$ oder I erhöht die XB-Bildung (rote, gestrichelte Linie) zwischen X und dem Carbonylsauerstoff von Gly61 die Bindungsstärke.

(Abbildung 1). Dieser Befund initiierte die Synthese der Verbindungen (–)-**1** bis (–)-**40** (Tabelle 1) für die systematische Untersuchung von XBs in biologischer Umgebung.

Die Synthese der Liganden ist in Schema 1 exemplarisch gezeigt (für Details siehe Hintergrundinformationen). Das enantiomerenreine 4-Hydroxyprolinderivat (2*S*,4*S*)-**41** wurde in den Thioether (2*S*,4*R*)-**42** überführt, der zum entsprechenden Sulfon oxidiert und anschließend verseift wurde. Die dabei erhaltene Säure wurde mit 1-Aminocyclopropan-carbonitril-hydrochlorid zum Amid (2*S*,4*R*)-**43** gekuppelt. N-Entschützung (→(2*S*,4*R*)-**44**) und Amidkupplung mit α -Arylsäuren **45** (siehe Hintergrundinformationen) lieferten die Zielverbindungen (2*S*,4*R*)-**46**. Eine zweite Verbindungs-kategorie mit einem 2-Chlor-4-(2,2,2-trifluoroethoxy)phenyl-sulfonylrest anstelle von 2-Chlorphenylsulfonyl wurde ebenfalls hergestellt und untersucht (siehe Hintergrundinformationen).

In beiden Verbindungsklassen wurde der aromatische Ring in der S3-Tasche mit H, Me, F, Cl, Br, I und CF_3 substituiert, um den Einfluss von XB-Wechselwirkungen mit dem C=O von Gly61 in der S3-Tasche zu untersuchen. Als aro-

[*] L. A. Hardegger, Prof. Dr. F. Diederich
Laboratorium für Organische Chemie, ETH Zürich
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, HCI, 8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 44-632-1109
E-Mail: diederich@org.chem.ethz.ch

Dr. B. Kuhn, B. Spinnler, L. Anselm, R. Ecabert, M. Stihle, B. Gsell,
Dr. R. Thoma, Dr. J. Benz, Dr. J.-M. Plancher, Dr. G. Hartmann,
Dr. D. W. Banner, Dr. W. Haap
F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124, Bau 92, 4070 Basel (Schweiz)
Fax: (+41) 61-688-8714
E-Mail: david.banner@roche.com
wolfgang.haap@roche.com

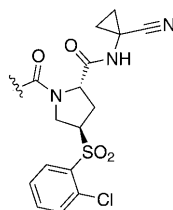
Dr. J. Diez
Expose GmbH, Grabenstrasse 11, 5313 Klingnau (Schweiz)

[**] Diese Arbeit wurde durch ein Novartis-Stipendium an L.A.H., die ETH-Forschungskommission und F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, unterstützt. Wir danken Dr. B. B. Bernet für die Korrekturen und Dr. M. Stahl und Dr. H. Mauser für hilfreiche Diskussionen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201006781> zu finden.

Tabelle 1: Kovalente hCatL-Inhibitoren.^[a]

X	H	Me	F	Cl	Br	I	CF ₃
	(-)-1 IC ₅₀ 0.29 log D 2.11	(-)-15 0.13 2.57	(-)-18 0.34 2.36	(-)-22 0.022 2.73	(+)-34 0.012 2.96	(+)-38 0.0065 3.23	(-)-40 0.095 3.12
	(-)-2 IC ₅₀ 0.32 log D 1.98		(-)-19 0.35 2.02	(+)-23 0.030 2.63	(+)-35 0.0065 2.75	(+)-39 ^[b] 0.0043 3.00	
	(-)-3 IC ₅₀ 0.52 log D 2.37		(-)-20 0.93 2.46	(-)-24 0.022 2.98	(+)-36 ^[b] 0.030 3.08		
	(-)-4 IC ₅₀ 1.48 log D 0.85			(-)-25 0.25 1.69	(+)-37 0.14 1.85		
	(-)-5 IC ₅₀ 0.16 log D 2.03	(-)-16 0.41 2.49		(-)-26 0.16 2.89			
	(+)-6 IC ₅₀ 0.69 log D 2.22		(+)-21 0.36 2.45	(+)-27 0.022 3.0			
	(-)-7 IC ₅₀ 0.88 log D 2.51			(2S,4R)-28 0.055 2.98			
	(+)-8 IC ₅₀ 0.30 log D 2.42			(+)-29 0.023 3.19			
	(-)-9 IC ₅₀ 0.34 log D 2.7			(+)-30 0.032 3.35			
	(-)-10 IC ₅₀ 0.46 log D 2.94			(-)-31 0.18 3.38			
	(-)-11 IC ₅₀ 0.52 log D 2.14	(+)-17 0.22 2.82					



matische Ringe wurden entweder Phenyl-, Pyridin- oder Thiophenringe verwendet, die teilweise einfach oder zweifach mit F, CF₃ oder Cl substituiert wurden (Tabelle 1 sowie Tabelle 1SI in den Hintergrundinformationen).

IC₅₀-Werte gegenüber hCatL wurden in einem Fluoreszenzbindungsassay ermittelt, wobei die Intensitätsänderung der Emission durch die hCatL-vermittelte Spaltung des Substrats Z-Val-Val-Arg-AMC verfolgt wurde (für Definitionen und Details siehe Hintergrundinformationen).

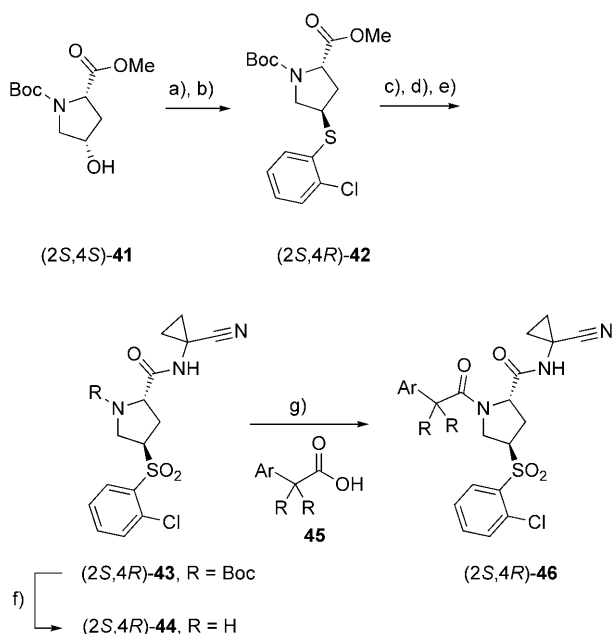
In beiden Verbindungsklassen änderte sich die Bindungsaffinität erwartungsgemäß für XB in Abhängigkeit des Substituenten in der 4-Position des Phenylrings. Zum Beispiel unterscheidet sich der IC₅₀-Wert des unsubstituierten Liganden (-)-1 (X = H; 0.29 μM) kaum von demjenigen für Ligand (-)-18 (X = F; 0.34 μM), weil Fluor keine σ-Loch-induzierte Bindung eingehen kann. Demgegenüber sinken die IC₅₀-Werte für schwerere Halogene, in Übereinstimmung mit ihrer zunehmenden XB-Donorstärke, von 0.022 μM ((-)-22, X = Cl) zu 0.012 μM ((+)-34, X = Br) und 0.0065 μM ((+)-38, X = I). Wird H durch Cl ersetzt, gewinnt man einen Faktor 12 ± 9 an Aktivität für alle Einträge der Verbindungsklasse 1 in Tabelle 1. Unter Annahme kompetitiver Inhibition entspricht dies einem Gewinn an freier Bindungsenthalpie von $-\Delta\Delta G = 1.5 \pm 1.3 \text{ kcal mol}^{-1}$.^[13] Für die Verbindungsklasse 2 (Tabelle 1SI) wurde ein Affinitätsgewinn von 14 ± 20 für die Substitution von H durch Cl gefunden, was bei kompetitiver Inhibition einem Gewinn von $-\Delta\Delta G = 1.5 \pm 1.8 \text{ kcal mol}^{-1}$ entspricht.

Wird die 4-Position durch Br oder I besetzt, kann ein zusätzlicher Affinitätsgewinn von ungefähr einem Faktor 2 bzw. 4 erzielt werden. So ist die Iodverbindung (+)-39 (IC₅₀-Wert: 0.0043 μM) der wirksamste Hemmer in der ganzen Verbindungsklasse. Obwohl in der Größe einem Chlor sehr ähnlich, steigert ein 4-Methylsubstituent

Tabelle 1: (Fortsetzung)

X	H	Me	F	Cl	Br	I	CF ₃
	(-)-12 IC ₅₀ 0.52 log D 2.86						
	(-)-13 IC ₅₀ 0.97 log D 1.62			(-)-32 0.56 2.48			
	(-)-14 IC ₅₀ 0.39 log D 2.48			(-)-33 0.024 > 3.0			

[a] Jeweils obere Zeile: Verbindungsnummer; mittlere Zeile: IC₅₀-Werte (μM); untere Zeile: log D-Werte. Die Verbindungen der zweiten Verbindungsklasse zeigen ein ähnliches Verhalten. Für Details zu den IC₅₀- und log D-Bestimmungen, siehe die Hintergrundinformationen. Die IC₅₀-Werte wurden anhand von zwei oder drei Messungen bestimmt und haben eine Unsicherheit von 2–30%. [b] Die IC₅₀-Werte wurden durch acht Messungen bestimmt.



Scheme 1. Synthese der Zielmoleküle (2S,4R)-46: a) 3-Nitrobenzol-1-sulfonylchlorid (Nos-Cl), Et₃N, CH₂Cl₂, 0→22 °C, 10 h; b) 2-Chlorbenzothiol, Et₃N, Propionitril, 100 °C, 5.5 h, 90% (2 Stufen); c) mCPBA, CH₂Cl₂, 0→22 °C, 68 h; d) LiOH, THF/H₂O (1:1.5), 22 °C, 1.5 h; e) HATU, iPr₂EtN, 1-Aminocyclopropanecarbonitril-hydrochlorid, DMF, 22 °C, 14.5 h, 79% (3 Stufen); f) HCO₂H, 22 °C, 2.5 h, 80%; g) HATU, iPr₂EtN, Amin (2S,4R)-44, DMF, 22 °C. Alternativ: SOCl₂, CH₂Cl₂, dann iPr₂EtN, Amin (2S,4R)-44, CH₂Cl₂, 22 °C. Für die Substituenten Ar und R, siehe Tabelle 1 und 1SI. mCPBA: *meta*-Chlorperbenzoesäure; HATU: O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetraethyluroniumhexafluorophosphat; Boc: *tert*-Butyloxycarbonyl.

(Verbindungen (–)-15 bis (+)-17) die Affinität nicht wesentlich. Eine unerwartet hohe Affinität wurde für den CF₃-substituierten Liganden (–)-40 (IC₅₀-Wert: 0.095 μM) gefunden.

Es ist wichtig festzuhalten, dass der Aktivitätsgewinn bei der Substitution von X=H durch X=Cl oder höhere Halogene nicht alleine auf XB zurückzuführen ist, sondern dass sich ebenfalls die Stapelwechselwirkungen des Arylringes mit dem planaren Peptidfragment Gly67–Gly68, am Boden der S3-Tasche, mit der Natur von X verändern. Obschon der Cl-Substituent von (–)-22 (Abbildung 2a) den klar kürzesten Kontakt zum Rückgrat-Carbonylsauerstoff von Gly61 (3.1 Å) bildet, dürfen drei weitere Kontakte von Cl mit Distanzen zwischen 3.7 und 4.1 Å zu CH-Gruppen (Glu63 C_γ, Gly68 C_α, Tyr72 C_{ε2}) nicht vernachlässigt werden. Eine Korrelation zwischen log D (logarithmischer Verteilungskoeffizient Octanol/Wasser bei pH 7.4) und der Bindungsaffinität ist nicht ersichtlich (siehe Abschnitt 4 in den Hintergrundinformationen).

Das Verdrängen von Wasser, das in der apo-Struktur wohl das C=O von Gly61 solvatisiert, durch Cl oder schwerere Halogene kann den im Vergleich zu Me- oder F-Substituenten großen Gewinn an Bindungsaffinität nicht erklären. Zusätzliche Substitution von 4-X-Phenyl durch einen oder zwei elektronenziehenden Substituenten (wie z. B. in (+)-29) hatte nur einen kleinen Effekt auf die Bindungsstärke. Höhere Substitutionsmuster wären wünschenswert, waren aber im Rahmen des verwendeten Synthesewegs nicht zugänglich.

Einen vertieften Einblick in die Eigenschaften von XB-Wechselwirkungen in der S3-Tasche von hCatL lieferten vier Cokristallstrukturen (Abbildung 2). Wie erwartet, gehen die X-Arylreste Stapelwechselwirkungen mit dem Peptidrückgrat von Gly67–Gly68 ein und orientieren den X-Substituenten in Richtung des C=O von Gly61. Der Cl-Substituent im kovalent gebundenen Inhibitor (–)-22 (1.45 Å Auflösung, PDB-Code: 2xu1; Abbildung 2a und Abbildung 3SI) hat eine für XB-Wechselwirkungen beinahe ideale Geometrie mit einem O⋯Cl-Abstand von 3.1 Å, der kleiner ist als die Summe der Van-der-Waals-Radien von 3.27 Å,^[14] und einem mit 174° nahe bei 180° liegenden Winkel O⋯Cl-C. Aus elektrostatischen Gründen ist eine XB besonders vom Winkel O⋯X-C abhängig, der möglichst nahe bei 180° liegen sollte.^[2,7,8,15–17] In der Elementarzelle findet man vier leicht verschiedene, unabhängige Protein-Ligand-Komplexe. Wir nehmen deren Werte für Distanz und Winkel als unabhängige Messungen und verwenden die Mittelwerte ($d(\text{O}⋯\text{Cl}) = 3.08 \pm 0.11$ Å; Winkel $\text{O}⋯\text{Cl}-\text{C} = 173.6 \pm 1.1^\circ$; siehe Abschnitt 5.1 in den Hintergrundinformationen).

Das 5-Chlorthiophen-2-yl-Derivat (–)-26 (IC₅₀-Wert: 0.16 μM) hatte keine höhere Bindungsstärke als die unsubstituierte Kontrollverbindung (–)-5 (IC₅₀-Wert: 0.16 μM). Der Grund hierfür wurde ersichtlich, als die Cokristallstruktur von (–)-26 mit hCatL gelöst wurde (0.9 Å Auflösung, PDB-

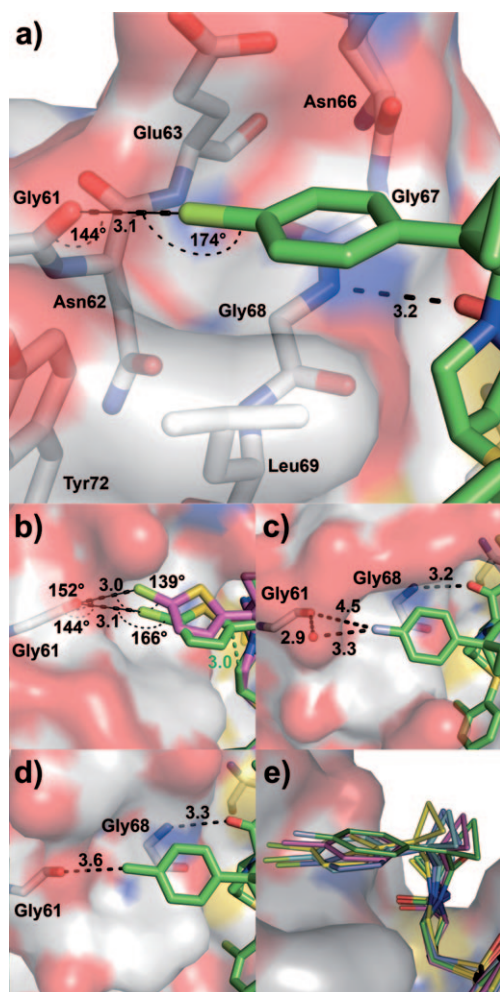


Abbildung 2. a) Cokristallstruktur der Verbindung (–)-**22** mit hCatL bei 1.45 Å Auflösung (PDB-Code: 2xu1). Die Aminosäuren der S3-Tasche wurden hervorgehoben, ebenso die XB-Wechselwirkung zwischen dem Rückgratcarbonyl von Gly61 und dem Cl-Atom. b) Die Cokristallstruktur der Verbindung (–)-**26** im Komplex mit hCatL bei 0.9 Å Auflösung (PDB-Code: 2xu3) zeigt zwei unterschiedliche Bindungsmodi: 75 % der Liganden (grün) gehen XB ein, besitzen aber eine intramolekulare Konformationsspannung (grüne, gestrichelte Linie), 25 % der Liganden (lila) binden ohne offensichtliche intramolekulare Abstoßung, bilden jedoch nur eine schwache XB. c) Cokristallstruktur der Verbindung (–)-**18** mit hCatL bei 1.12 Å Auflösung (PDB-Code: 2xu4). Die Abstoßung zwischen dem Carbonylsauerstoff und dem F-Atom und die Distanzen zum überbrückenden Wasser sind angegeben. d) Cokristallstruktur der Verbindung (–)-**15** mit hCatL bei 1.6 Å Auflösung (PDB-Code: 2xu5). Abstände in Å. C grau (Enzym), grün oder lila (Inhibitor); O rot; N blau; S gelb; Cl zitronfarben; F hellblau. e) Überlagerung von (–)-**15** (magenta), (–)-**18** (grün), (–)-**22** (türkis) und den zwei Bindungsmodi von (–)-**26** (gelb mit starker XB, violett mit schwacher XB). Die Positionierung des Phenylrestes in der S3-Tasche wird durch den 5-Ringpucker bestimmt.

Code: 2xu3; Abbildung 2b und Abbildung 4SI) und zwei unterschiedliche Ligandenkonformationen gefunden wurden. Im Konformer mit einer Population von 75 % ist die Geometrie für eine XB-Wechselwirkung günstig ($d(\text{O}\cdots\text{Cl}) = 3.1 \text{ Å}$; Winkel $\text{O}\cdots\text{Cl}-\text{C} = 166^\circ$), jedoch wird dieser Gewinn an Wechselwirkungsenergie durch intramolekulare Spannung im Liganden kompensiert, da ein kurzer abstoßender Kontakt

(3.0 Å) zwischen dem Thiophenyl-C-Atom in α -Stellung zum Cyclopropanring und dem unsubstituierten C-Atom neben dem Pyrrolidin-N-Atom (grüne, gestrichelte Linie in Abbildung 2b) beobachtet wird. Das zu 25 % populierte Konformer besitzt eine für XBs weniger günstige Geometrie (Winkel $\text{O}\cdots\text{Cl}-\text{C} = 139^\circ$ bei $d(\text{O}\cdots\text{Cl}) = 3.0 \text{ Å}$), zeigt dafür aber keine intramolekulare Abstoßung. Unsere quantenmechanischen Rechnungen (siehe unten) ergaben, dass der Energieunterschied der XB-Wechselwirkung in beiden Konformeren ca. 1 kcal mol^{-1} betragen sollte (Abbildung 9SI). Ein ungünstiger Winkel $\text{O}\cdots\text{Cl}-\text{C}$ ist höchstwahrscheinlich auch der Grund für die geringe Aktivität des Chlorphenylderivats (–)-**9** (IC_{50} -Wert: $0.34 \text{ }\mu\text{M}$) im Vergleich zu Verbindung (–)-**22** (IC_{50} -Wert: $0.022 \text{ }\mu\text{M}$).

Die Cokristallstruktur des 4-Fluorphenylderivats (–)-**18** mit hCatL (1.12 Å Auflösung, PDB-Code: 2xu4; Abbildung 2c und Abbildung 5SI) bestätigt eindeutig frühere Berichte, dass Organofluorsubstituenten Bereiche hoher Elektronendichte meiden und nicht direkt auf Sauerstoffatome peptidischer C=O-Bindungen zeigen.^[18] Um die elektrostatische Abstoßung zu minimieren, entfernt sich das F-Atom so weit wie möglich vom Carbonyl. Dies führt zu einem $\text{O}\cdots\text{F}$ -Abstand von 4.5 Å (Summe der Van-der-Waals-Radien: 2.99 Å),^[14] wobei ein Wassermolekül den Kontakt zusätzlich überbrückt.

Die Methylgruppe im Cokristall von Verbindung (–)-**15** mit hCatL (1.6 Å Auflösung, PDB-Code: 2xu5; Abbildung 2d und Abbildung 6SI) zeigt zwar auf die C=O-Gruppe, hat aber im Vergleich zum Cl-Derivat einen erheblich größeren $\text{O}\cdots\text{C}$ -Abstand (3.6 Å). Interessanterweise weitet sich in diesem Fall die S3-Tasche durch Seitenkettenbewegungen von Glu63, Leu69 und Tyr72 im Vergleich zur Cl-Struktur auf, was zu einer verringerten Wechselwirkung der Methylgruppe mit dem Protein führt.

Eine Überlagerung aller vier Cokristallstrukturen (Abbildung 2e und Abbildung 7SI) deckt den einzigartigen Mechanismus auf, der die verschiedenen Positionierungen des X-Aryl-Restes in der S3-Tasche ermöglicht. Während alle vier Liganden identische Bindungsgeometrien in den S1- und S2-Taschen aufweisen, verändert sich der Ringpucker des zentralen Pyrrolidinringes geringfügig. Die verschiedenen Ringpucker beeinflussen jedoch die Konformationsenergie des Liganden sowie dessen intermolekulare Wechselwirkungen in dieser Region des Proteins nur unwesentlich. Die kleine Bewegung des 5-Rings hat jedoch einen großen Effekt auf die Eindringtiefe des X-Aryl-Restes in die S3-Tasche.

Wir verglichen unsere experimentellen Resultate mit den Energien eines isolierten $\text{C}=\text{O}\cdots\text{X}-\text{Phe}$ -Kontakts. Hierfür wurden quantenmechanische Rechnungen auf einem geeigneten Theorieniveau (MP2/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ, für Details siehe Hintergrundinformationen) zur Ermittlung von Wechselwirkungsenergiekurven für verschiedene monosubstituierte Phenylderivate mit *N*-Methylacetamid vorgenommen. Modellgeometrien wurden dabei mithilfe der in der Cokristallstruktur von Verbindung (–)-**22** beobachteten relativen Orientierung fixiert. In Übereinstimmung mit früheren Berechnungen ähnlicher, geometrisch nicht-fixierter Modellsysteme^[8] fanden wir anziehende Energiekurven mit einer identischen Distanz im energetischen Minimum von 3.1 Å

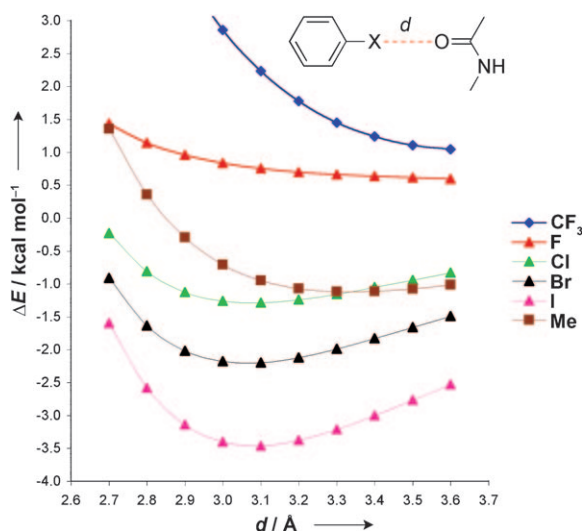


Abbildung 3. Die berechneten Wechselwirkungsenergien für mono-substituierte Phenyl-derivate mit *N*-Methylacetamid als Peptidrückgrat-Mimetikum. Die Torsionswinkel aus der Cokristallstruktur von Verbindung (–)-**22** wurden verwendet, um die relative Orientierung in der aktiven Tasche von hCatL zu erhalten (siehe Hintergrundinformationen).

für Cl, Br und I, mit Wechselwirkungsenergien von -1.3 , -2.2 bzw. -3.5 kcal mol $^{-1}$ (Abbildung 3, Abbildung 8SI). Die in der Cokristallstruktur von (–)-**22** gefundene O...Cl-Distanz von 3.1 Å ist nahe am Optimum, was die Hypothese eines stabilisierenden XB-Effekts im Komplex des Cl-Derivats unterstützt. XB-Wechselwirkungen mit Br- und besonders I-Analogen sollten noch stärker sein, was sich in den etwa zweifachen und vierfachen höheren IC $_{50}$ -Werten für hCatL widerspiegelt.

Im Unterschied zu schwereren Halogenen ist die Wechselwirkung des Fluorderivats abstoßender Natur, und die Energiekurve liefert kein Minimum, in Übereinstimmung mit der gemessenen verringerten Bindungsstärke und der beobachteten Änderung des Bindungsmodus mit einem viel größeren intermolekularen O...F-Abstand. Im Falle des CF $_3$ -Derivats wurde für eine nahezu lineare Anordnung eine noch ungünstigere Wechselwirkungsenergie berechnet. Wir nehmen deshalb an, dass das CF $_3$ -Derivat einen vom Cl-Derivat verschiedenen Bindungsmodus besitzt und die relativ hohe Bindungsstärke von Verbindung (–)-**40** (IC $_{50}$ -Wert: 0.095 µM) durch intermolekulare Wechselwirkungen der CF $_3$ -Gruppe unabhängig von der C=O-Gruppe von Gly61 zu erklären ist. Beim Methylderivat spielen schwache O...HC-Wechselwirkungen eine Rolle. Die Berechnungen sagen eine leicht schwächere Wechselwirkung des Methylderivats mit dem Carbonylsauerstoff im Vergleich zum Cl-Derivat bei der beobachteten Distanz voraus. Dieser Unterschied in „Solvatation“ ist jedoch zu klein, um den sechsfachen höheren IC $_{50}$ -Wert des Methylderivats vollständig zu erklären. In der Cokristallstruktur des Methylderivats wird eine Aufweitung der S3-Tasche beobachtet, und es werden weniger intermolekulare Wechselwirkungen gebildet, was vermuten lässt, dass der Methylsubstituent weniger gut in der „CH-reichen“ Umgebung aufgenommen wird als das polarisierbare Cl-Atom. Anscheinend tragen sowohl die XB-Wechselwirkung als auch ein ausgezeichneter genereller Angleich in der S3-Tasche von

hCatL zur Erhöhung der Bindungsstärke der kein Fluor enthaltenden Halogenverbindungen bei.

Zusammenfassend präsentieren wir die erste systematische Untersuchung von XB-Wechselwirkungen in Protein-Ligand-Komplexen und zeigen, dass XBs in der Tat als „schlagkräftiges Werkzeug“ – vergleichbar mit Wasserstoffbrücken – verwendet werden können, um die Stärke der molekularen Erkennung in biologischen Komplexen zu erhöhen (frühere Beispiele mit möglichen XBs wurden im Abschnitt 7 in der Hintergrundinformation zusammengetragen). Wie kürzlich gezeigt wurde, können XBs auch die Bindungselektivität beeinflussen.^[19] Unsere Studie bestätigt theoretische Vorhersagen und auch die neueren Erkenntnisse aus Modellsystemen. Die Stärke der Halogenbrücken nimmt mit zunehmender Halogenmasse zu (Cl < Br < I), Organofluorverbindungen hingegen bilden keine XBs aus. Die Wechselwirkung hat hohe geometrische Ansprüche: der Abstand zwischen den wechselwirkenden Atomen muss unterhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien liegen, und es besteht eine starke Abhängigkeit vom O...X-C-Winkel. Eine Halogenbrücke kann die Bindungsstärke zwischen Protein und Ligand um einen Faktor 74 erhöhen ((–)-**2** vs (+)-**39**), was einem Gewinn an freier Enthalpie von $-\Delta\Delta G = 2.6$ kcal mol $^{-1}$ entspricht. In Anbetracht dieser günstigen elektronischen Bilanz werden XBs wohl zukünftig zunehmend gebraucht werden, um Protein-Ligand-Bindungsstärken zu erhöhen.

Eingegangen am 28. Oktober 2010

Stichwörter: Halogenbrücken · Medizinische Chemie · Molekulare Erkennung · Protein-Ligand-Wechselwirkungen · Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

- [1] P. Politzer, P. Lane, M. C. Concha, Y. Ma, J. S. Murray, *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 305–311.
- [2] T. Clark, M. Hennemann, J. S. Murray, P. Politzer, *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 291–296.
- [3] a) O. Hassel, J. Hvorslef, *Acta Chem. Scand.* **1954**, *8*, 873; b) O. Hassel, *Science* **1970**, *170*, 497–502.
- [4] G. R. Desiraju, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2541–2558; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2311–2327.
- [5] a) P. Metrangolo, G. Resnati, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2511–2519; b) P. Metrangolo, H. Neukirch, T. Pilati, G. Resnati, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 386–395; c) P. Metrangolo, G. Resnati, *Halogen Bonding: Fundamentals and Applications*, Springer, Berlin, **2008**; d) P. Metrangolo, F. Meyer, T. Pilati, G. Resnati, G. Terraneo, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6206–6220; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6114–6127; e) P. Metrangolo, G. Resnati, *Science* **2008**, *321*, 918–919.
- [6] Siehe z. B.: a) A. Sun, J. W. Lauher, N. S. Goroff, *Science* **2006**, *312*, 1030–1034; b) A. C. B. Lucassen, A. Karton, G. Leiturs, L. J. W. Shimon, J. M. L. Martin, M. E. van der Boom, *Cryst. Growth Des.* **2007**, *7*, 386–392.
- [7] J. P. M. Lommerse, A. J. Stone, R. Taylor, F. H. Allen, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3108–3116.
- [8] a) K. E. Riley, K. M. Merz, Jr., *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 1688–1694; b) K. E. Riley, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 232–242.

- [9] a) P. Politzer, J. S. Murray, P. Lane, *Int. J. Quantum Chem.* **2007**, *107*, 3046–3052; b) P. Politzer, J. S. Murray, T. Clark, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 7748–7757.
 - [10] R. Cabot, C. A. Hunter, *Chem. Commun.* **2009**, 2005–2007.
 - [11] M. G. Sarwar, B. Dragisic, L. J. Salsberg, C. Gouliaras, M. S. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1646–1653.
 - [12] R. Alvarez Sanchez, D. Banner, S. M. Ceccarelli, U. Grether, W. Haap, P. Hartman, G. Hartmann, H. Hilpert, H. Kuehne, H. Mauser, J.-M. Plancher (F. Hoffmann-La Roche AG), US20100267722(A1), **2010**.
 - [13] Y.-C. Cheng, W. H. Prusoff, *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.
 - [14] A. Bondi, *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 441–451.
 - [15] K. E. Riley, J. S. Murray, P. Politzer, M. C. Concha, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 155–163.
 - [16] P. Auffinger, F. A. Hays, E. Westhof, P. S. Ho, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 16789–16794.
 - [17] C. Ouvrard, J.-Y. Le Questel, M. Berthelot, C. Laurence, *Acta Crystallogr. Sect. B* **2003**, *59*, 512–526.
 - [18] K. Müller, C. Faeh, F. Diederich, *Science* **2007**, *317*, 1881–1886.
 - [19] S. Baumli, J. A. Endicott, L. N. Johnson, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 931–936.
-