

Molekulare Erkennung in chemischen und biologischen Systemen

Elke Persch, Oliver Dumele und François Diederich*

Stichwörter:

Dipolare Wechselwirkungen ·
Molekulare Erkennung ·
Protein-Ligand-
Komplexierung ·
Supramolekulare
Chemie · Wasser



Strukturbasiertes Ligandendesign in der medizinischen Chemie und im Pflanzenschutz beruht auf der Identifizierung und Quantifizierung von schwachen, nichtkovalenten Wechselwirkungen und dem Verständnis der Rolle von Wasser. Ein wichtiges Werkzeug zum Abrufen von vorhandenem Wissen ist die Suche in Datenbanken von kleinen Molekülen und Proteinen. Die Erstellung eines thermodynamischen Profils zusammen mit der Röntgenstrukturanalyse und theoretischen Untersuchungen ist der Schlüssel zur Aufklärung des Energieprofils der Wasserverdrängung durch den Liganden. Biologische Bindungsstellen unterscheiden sich stark in ihrer Form, konformativen Dynamik und Polarität, weshalb verschiedene Entwicklungsstrategien für Liganden benötigt werden, wie hier anhand mehrerer Fallstudien gezeigt ist. Die Wechselwirkung zwischen Dipolen ist zu einem zentralen Baustein der molekularen Erkennung geworden. Orthogonale Wechselwirkungen, Halogenbrücken und Amid... π -Stapelung bieten neue Möglichkeiten für innovative Leitstrukturoptimierung. Die Kombination von Untersuchungen an synthetischen Modellen und biologischen Rezeptoren ist notwendig, um verlässliche Informationen über schwache, nichtkovalente Wechselwirkungen und die Rolle von Wasser zu erlangen.

1. Einleitung

Mit nahezu 90 000 Röntgenkristallstrukturen von Proteinen, Nukleinsäuren und deren Komplexen in der „Protein Data Bank“ (PDB), mehr als 10 000 Strukturen aus NMR-Studien^[1] und 600 000 Kristallstrukturen von niedermolekularen Molekülen in der „Cambridge Structural Database“ (CSD)^[2] sind heute in großer Menge Strukturdaten über molekulare und supramolekulare Konformationen^[3] und intermolekulare Wechselwirkungen^[4] zugänglich und bilden einen beachtlichen Ausgangspunkt für die rationale Leitstrukturoptimierung von biologisch aktiven Liganden in der Suche nach neuen Arzneimitteln und Agrochemikalien. Trotz der steigenden Effizienz moderner strukturbasierter Strategien^[5–7] entspricht das Ergebnis nicht immer der Vorhersage. Die molekulare Erkennung in chemischen und biologischen Systemen in wässriger Umgebung birgt noch immer etliche Rätsel, vor allem in Bezug auf die Rolle des Wassers.^[8]

Seit Beginn der 80er Jahre beschäftigt sich unsere Arbeitsgruppe mit Studien zur molekularen Erkennung.^[9] Ein Schlüsselthema der ersten Jahre war die Untersuchung der Wirt-Gast-Komplexierung von synthetischen Cyclophanrezeptoren in wässriger Lösung.^[10,11] Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC, isothermal titration calorimetry)^[12] führte zu der überraschenden Entdeckung, dass die starke Bindung von apolaren, aromatischen Gästen in vororganisierten Cyclophanen mit engen Hohlräumen in Wasser nicht entropisch getrieben ist, so wie im klassischen hydrophoben Effekt beschrieben,^[13] sondern durch einen großen enthalpischen Term begünstigt ist, der sogar oftmals durch einen ungünstigen entropischen Beitrag kompensiert wird.^[14,15] Die Rolle des Wassers und das Energieprofil der Wasserverdrängung in

synthetischen und biologischen Ligandenerkennungsprozessen ist heute ein lebhaft diskutiertes Thema vieler laufender experimenteller und theoretischer Arbeiten und wird im zweiten Abschnitt anhand von Fallstudien präsentiert.

Nach dem Umzug im Jahr 1992 an die ETH Zürich erhielt unsere Gruppe durch die Kooperation mit Wissenschaftlern der Firma Roche in Basel die einzigartige Möglichkeit, die Forschung im Bereich der molekularen Erkennung um die Untersuchungen der passgenauen Ausfüllung von Taschen in biologischen Rezeptoren, speziell in Enzymen, zu erweitern. Das strukturbasierte Design von nichtpeptidischen Inhibitoren wurde auf verschiedene Enzyme angewendet, angefangen mit der Serinprotease Thrombin aus der Blutgerinnungskaskade, welche strukturell wohldefinierte hydrophobe Taschen im aktiven Zentrum enthält.^[6b,16] Anschließend befassten wir uns mit anspruchsvolleren Wirkstoffzielen, die sich durch Bindungsstellen größerer konformativer Flexibilität, hydrophileren Charakters oder besonders großer Größe auszeichnen. Zusätzlich wurden Konzepte wie Bisubstratinhibition erforscht. Auch hier wurde die Forschung auf Seiten der biologischen und strukturbologischen Fragestellung durch

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	3342
2. Die Rolle von Wasser bei der Komplexierung an synthetische und biologische Bindungsstellen	3343
3. Liganden zum Ausfüllen von Enzymtaschen unterschiedlicher Form, konformativer Dynamik und Polarität	3350
4. Wechselwirkungen zwischen Dipolen: orthogonale Wechselwirkungen, Halogenbrücken und Amid... π -Stapelung	3362
5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	3372

[*] Dipl.-Chem. E. Persch,^[†] Dipl.-Chem. O. Dumele,^[‡]

Prof. Dr. F. Diederich

Laboratorium für Organische Chemie, Departement Chemie und Angewandte Biowissenschaften, ETH Zürich

Vladimir-Prelog-Weg 3, 8093 Zürich (Schweiz)

E-Mail: diederich@org.chem.ethz.ch

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu diesem Aufsatz beigetragen, die Reihenfolge wurde durch Münzwurf bestimmt.



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201408487> zu finden.

fruchtbare Zusammenarbeit mit akademischen und industriellen Kooperationspartnern, wie unter anderem der Firma Roche in Basel und der BASF in Ludwigshafen, ermöglicht. Diese Arbeiten wurden zum ersten Mal im Jahr 2008 zusammenfassend besprochen. In Abschnitt 3 werden neue Fallstudien vorgestellt, die einen besonderen Fokus auf Enzyme legen, welche das Potenzial haben, sich im Kampf gegen Malaria und die menschliche afrikanische Trypanosomiasis (HAT, Schlafkrankheit) zu neuen Wirkstoffzielen zu entwickeln.^[17,18] Gleichzeitig fassen wir unsere Untersuchungen zur Gastbindung in klar definierten Hohlräumen von synthetischen, containerähnlichen Rezeptoren zusammen. Die Studien folgen dem Vorbild von Cram^[19] und Rebek,^[20] die zeigen konnten, dass kovalente und supramolekulare Kapseln ideal für die detaillierte, vom freien Lösungsmittel abgeschirmte Erforschung der spezifischen intermolekularen Wechselwirkungen und molekularen Konformationen der Gäste sind, die in den entsprechenden Hohlräumen eingeschlossen sind.^[21]

Die in Kooperation ausgeführte Entwicklung nichtpeptidischer, niedermolekularer Thrombininhibitoren führte in 2003 zu der Entdeckung, dass die C-F-Bindungen der Liganden in einer orthogonalen Weise mit den C=O-Gruppen der Enzympeptidbindungen wechselwirken.^[22] Dies weckte bei uns das Interesse, orthogonale dipolare Wechselwirkungen^[23,24] und später auch Halogenbrücken zu quantifizieren, wiederum zu Beginn in Kooperation mit Wissenschaftlern der Firma Roche.^[25] Die Untersuchung und Quantifizierung der dipolaren Wechselwirkungen sowohl in Protein-Ligand-Komplexen als auch in synthetischen Modellen ist Thema des Aufsatzes in Abschnitt 4.

2. Die Rolle von Wasser bei der Komplexierung an synthetische und biologische Bindungsstellen

Wasser ist unentbehrlich für alles Leben auf der Erde. Genau genommen erscheint ein Leben ohne Wasser schwer vorstellbar: Bei der Suche nach möglichem Leben im interstellaren Raum halten die Wissenschaftler zuallererst Ausschau nach Spuren von Wasser. In diesem Abschnitt stellen wir überzeugende neue Studien von verschiedenen Forschungsgruppen vor, die die enthalpisch kontrollierte Kom-

plexierung (den „nichtklassischen hydrophoben Effekt“) von unpolaren Liganden in Bindungstaschen in wässriger Umgebung bestätigen. Es folgen Beispiele, bei denen ein großer Zuwachs an freier Bindungsenthalpie von Protein-Ligand-Komplexen durch die Verdrängung eines einzelnen Wassermoleküls erreicht wurde, sowie Fallstudien, die sich mit der Energetik der Wasserverdrängung in Wassernetzwerken beschäftigen, die in Protein-Cokristallstrukturen aufgelöst werden konnten.

2.1. Enthalpisch kontrollierte Komplexierung in apolaren Bindungsstellen in Wasser

Der nichtklassische hydrophobe Effekt, der für die Komplexierung von aromatischen Liganden in unpolaren Cyclophankavitäten mittels ITC gemessen wurde,^[26] konnte auch für viele andere Wirt-Gast-Systeme bestätigt werden.^[27,28] Wir erklärten die enthalpische Triebkraft sowohl mit der Ausbildung attraktiver Van-der-Waals-Kontakte im gebildeten Komplex als auch mit dem Gewinn an kohäsiven Wechselwirkungen des Lösungsmittels,^[10b,14] die entstehen, wenn Wassermoleküle, die den Cyclophanhohlraum und den Rezeptor solvatisieren, durch die Komplexierung des Gastes in das freie Lösungsmittel überführt werden. Ein günstiger enthalpischer Term wurde zuvor schon durch ITC-Messungen für die Bindung von apolaren Solvaten in Enzymtaschen und für Einschlusskomplexe mit Cyclodextrinen gefunden.^[14c] Allerdings kann der nichtklassische hydrophobe Effekt (günstiger enthalpischer Term, der durch einen ungünstigen entropischen Anteil partiell kompensiert wird) auch von zusätzlichen polaren Wechselwirkungen (H-Brücken, Ionenpaarung, dipolare Wechselwirkungen) zwischen Ligand und biologischem Rezeptor bzw. Cyclodextrin überlagert werden, da diese Wechselwirkungen verschiedene thermodynamische Merkmale aufweisen.^[11b,29] Bei der Ionenpaarung wird z. B. eine große Anzahl von Wassermolekülen aus der geordneten Solvationshülle der geladenen Spezies freigesetzt, was einen Entropiegewinn zur Folge hat.

Bender und Saenger waren unter den Ersten, die die Vermutung aufstellten, dass Wassermoleküle innerhalb einer Kavität – in diesem Fall dem Cyclodextrintorus – energiereich (enthalpisch frustriert) sind, da sie nicht wie im freien Lö-



Oliver Dumele wurde 1987 in Ludwigshafen geboren und studierte Chemie an der Universität Mainz und der UC Berkeley (bei J. M. J. Freché). Er schloss sich der Gruppe von Prof. K. Müllen am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz an, wo er in der Untergruppe von Prof. T. Weil seine Diplomarbeit erstellte. Nach einem Industriepraktikum bei der BASF in Ludwigshafen und einem Forschungsaufenthalt an der NUS Singapur (Prof. C.-H. Tan) schloss er sich für seine Dissertation der Gruppe von Prof. F. Diederich an der ETH Zürich an und beschäftigt sich zurzeit mit Halogenbrücken in Modellsystemen.



Elke Persch wurde 1986 in Duisburg geboren und studierte Chemie an den Universitäten Heidelberg und Lund (2005–2010). Ihr Studium schloss sie mit der Diplomarbeit in der Gruppe von Prof. D. Menche auf dem Gebiet der Naturstoffe ab. Nach einem Industriepraktikum bei der BASF in Ludwigshafen schloss sie sich der Gruppe von Prof. F. Diederich an der ETH Zürich an. Momentan arbeitet sie an der Entwicklung von Trypanothion-Reduktase-Inhibitoren.

sungsmittel vier günstige H-Brücken zu vier anderen Wassermolekülen ausbilden können.^[30] Dieses Konzept der enthalpisch frustrierten Wassermoleküle fand in neuesten theoretischen Arbeiten, die ebenfalls die Rolle der konkaven Geometrie unpolarer Bindungstaschen und der Natur und Form des Gastes aufzeigen, Unterstützung.^[17b,31]

Synthetische Wirt-Gast-Chemie erfährt momentan eine echte Renaissance, zu der die Entwicklung der Chemie der Cucurbiturile (CBn) und die Untersuchung ihrer herausragenden Rezeptoreigenschaften einen wesentlichen Beitrag leisten.^[32] Diese Makrocyclen sind aus *n* Glykolorileinheiten aufgebaut, und besonders die kleineren, am meisten untersuchten Derivate CB7, CB8 und CB9 (Abbildung 1) besitzen tiefe, starre Hohlräume mit ausgeprägtem hydrophobem Charakter. Die Assoziationskonstanten der 1:1-Einschluss-

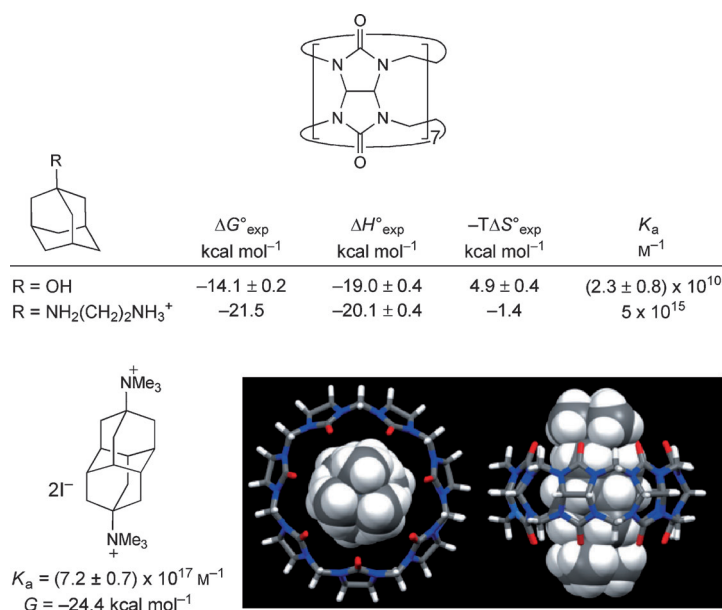


Abbildung 1. a) Chemische Struktur von Cucurbit[7]uril (CB7) und Bindungsmerkmale der neutralen und dicationischen Adamantyl-derivate gemessen mit ITC in H₂O bei T = 298 K. b) Diadamantyldiammonium-Gast und seine rekordhohe Bindungsaffinität in D₂O bei 298 K. Auf- und Seitenansicht der Röntgenkristallstruktur von Diadamantyldiammoniumdiodid im Komplex mit CB7. Die Kristallstruktur wurde mit Genehmigung des Verlages reproduziert.^[38]

komplexe für in der Größe komplementäre Gäste, wie neutrale Ferrocen-, Bicyclo[2.2.2]octan- und Adamantanderivate, gegenüber CB7 (Abbildung 1a) sind sehr hoch, mit K_a -Werten bei 298 K zwischen 10⁹ und 10¹⁰ M⁻¹.^[33] Die ITC-Daten zeigen für alle untersuchten neutralen Gäste, dass die Komplexierung deutlich enthalpisch getrieben ist, teilweise kompensiert durch einen ungünstigen, entropischen Term, wie in Abbildung 1 für Adamantanol als Gast dargestellt ist. Wie anhand der Kristallstrukturanalyse von inversen CB6^[28,34] (in dem eine Glykolorileinheit seitenverkehrt ist) und Molekulardynamik(MD)-Simulationen in Kombination mit ITC^[14a,28,35] gezeigt werden konnte, sind Cucurbiturile im Inneren ihrer Kavität durch enthalpisch frustrierte Wassermoleküle, denen es an H-Brückenpartnern mangelt, solvatisiert. So sind in der Kristallstruktur des inversen CB6 drei Wassermoleküle zu sehen, die keine Tetrakoordination aufbauen. Durch die Komplexierung des Gastes werden diese hochenergetischen Wassermoleküle aus der Kavität in das freie Lösungsmittel überführt, wodurch sie wieder vorteilhaft vierfachkoordiniert werden, was die wesentliche Triebkraft zur Assoziation des Wirt-Gast-Komplexes liefert.^[36] Cucurbiturile haben Hohlräume sehr geringer Polarisierbarkeit – geringer als Wasser^[35a] – und so ist es in diesem Fall unwahrscheinlich, dass ein Gewinn an attraktiven Dispersionswechselwirkungen während der Bindung des Gastes einen Beitrag zur Triebkraft der Einschlusskomplexierung leistet. Ein schöner, aktueller Aufsatz von Biederman, Nau und Schneider erweitert diese Analyse von hochenergetischem Wasser in konkaven Hohlräumen und dessen Verdrängung durch den Gast auf eine große Vielfalt synthetischer Rezeptoren mit Bindungstaschen verschiedenster Größen und Formen.^[28]

Beim Wechsel vom neutralen Alkohol zu einem Adamantyldiammoniumkation (Abbildung 1, oder die entsprechenden Ferrocen- oder Bicyclo[2.2.2]octanderivate) als Gast^[33] ändert sich der enthalpische Anteil an der freien Bindungsenthalpie kaum, während der Entropieterm deutlich günstiger wird. Dies ist eine Folge der Freisetzung der Wassermoleküle, die sowohl die Ammoniumionen als auch die konvergierenden Carbonyl-Dipole der Glykolorile am Rand von CB7 solvatisieren, wobei es in den Komplexen zur Ausbildung enger Ion-Dipol-Wechselwirkungen kommt.^[29,37] Durch Ausnutzen beider Vorgänge – der optimalen Ausfüllung der Kavität unter gleichzeitiger Verdrängung von energiereichem Wasser und der Freisetzung der Ammoniumionen-solvatisierenden Wassermoleküle durch die Wechselwirkung mit den C=O-Dipolen des Wirtes – konnten Isaacs und Mitarbeiter vor kurzem eine Assoziationskonstante mit dem Rekordwert von $K_a = 7.2 \times 10^{17} \text{ M}^{-1}$ ($\Delta G = -24.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) für den Komplex von CB7 und einem Diadamantandiammonium-Ion als Gast erreichen (Abbildung 1b).^[38]

Diese Arbeiten bestätigen ein weiteres Mal den Wert der Forschung an strukturell klar definierten Wirt-Gast-Systemen für die Entschlüsselung der Lösungsmittelleffekte auf die molekulare Erkennung in Wasser. Es kann mit ziemlicher Sicherheit geschlossen werden, dass die unpolare Bindung in



François Diederich wurde im Großherzogtum Luxemburg geboren (1952) und studierte Chemie an der Universität Heidelberg (1971–1977). Für seine Dissertation schloss er sich der Gruppe von Prof. H. A. Staab am Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung in Heidelberg an (1977–1979). Nach einem Aufenthalt als Postdoktorand bei Prof. O. L. Chapman an der UCLA (1979–1981) kehrte er für seine Habilitation nach Heidelberg zurück (1981–1985). Anschließend schloss er sich der Fakultät des Departements Chemie und Biochemie der UCLA an, wo er 1989 Full Professor wurde. Seit 1992 ist er Professor am Laboratorium für Organische Chemie im Departement Chemie und Angewandte Biowissenschaften an der ETH Zürich.

konkaven Taschen biologischer Rezeptoren von den gleichen Kräften – den attraktiven Dispersionwechselwirkungen und der Verdrängung hochenergetischer Wassermoleküle – angetrieben ist. Allerdings sind Liganden in biomolekularen Erkennungsprozessen oft deutlich größer und in mannigfaltigere Wechselwirkungen wie H-Brücken oder Ionenpaarung mit dem Protein involviert, weshalb der Anteil der unpolaren Bindung an der freien Bindungsenthalpie viel schwieriger aufzuschlüsseln und zu benennen ist. Zudem ist die Bandbreite der Größen und Formen von Taschen in biologischen Systemen viel größer, was wiederum einen Einfluss auf die thermodynamischen Merkmale ausübt.

Die ITC-Ergebnisse sind besonders lehrreich für das Ligandendesign im Bereich der biologischen molekularen Erkennung. Durch das Ausfüllen von tiefen, unpolaren Proteintaschen kann eine große Menge an Enthalpie gewonnen werden, jedoch auf Kosten eines Entropieverlustes. Durch gezielte, zusätzliche Dekoration der Liganden mit Gruppen, die polare Wechselwirkungen wie Ionenpaarung oder Ion-Dipol-Wechselwirkungen ausbilden können, kann der Gewinn an Enthalpie durch den nichtklassischen hydrophoben Effekt erhalten bleiben und gleichzeitig ein günstigerer Entropieterm erzielt werden. Wasser spielt dabei eine entgegengesetzte Rolle in den beiden Prozessen: Bei der hydrophoben Bindung in den engen Taschen trägt es günstig zur Enthalpie bei, während es bei der Ausbildung polarer Wechselwirkungen einen günstigen Entropieterm bewirkt.

2.2. Verdrängung von in Röntgenkristallstrukturen von Proteinen und ihren Komplexen aufgelösten Wassermolekülen durch Liganden

Mit dem Aufkommen der kryogenen Röntgenkristallographie wurden die Erkenntnisse über die Hydratisierung von Proteinen und ihren Ligandenkomplexen maßgeblich ausgeweitet.^[39] Die Hydratisierung von Bindungsstellen reicht von einzelnen Wassermolekülen bis hin zu ganzen Wassernetzwerken. Durch Überlagerung verschiedener Cokristallstrukturen von Proteinen mit ihrer Apostruktur (wenn vorhanden) können konservierte und geordnete Wassermoleküle identifiziert werden. Die daran anknüpfende, entscheidende Frage für die Leitstrukturoptimierung ist folgende: Können einige dieser Wassermoleküle mit einem Gewinn an Bindungsenergie durch zusätzlich eingeführte Ligandensubstituenten verdrängt werden? Dunitz sagte voraus, dass der Entropiegewinn, der durch die Entfernung eines schwach gebundenen Wassermoleküls aus dem Inneren eines Proteins ins freie Lösungsmittel erreicht wird, einen Beitrag von bis zu 2 kcal mol⁻¹ bei 300 K zur freien Enthalpie erzeugen kann.^[40]

Im vergangenen Jahrzehnt wurde eine große Anzahl nützlicher Wasser-Scoringfunktionen und theoretischer Ansätze entwickelt, die die Unterscheidung zwischen fest gebundenen und leichter zu verdrängenden Wassermolekülen in Protein-Ligand-Cokristallstrukturen als Leitgedanken implementiert haben.^[41] Zweck dieser Forschung ist es, die Ligandenoptimierung durch die energetisch günstige Verdrängung kristallographisch aufgelöster Wassermoleküle für Vorhersagen zu bereichern. Diese Arbeiten haben sicherlich

zum Anstieg der in der medizinisch-chemischen Literatur beschriebenen, energetisch günstigen Wasserverdrängungen durch zusätzliche Ligandenteile beigetragen. Als einfache Faustregel können Wassermoleküle, die vier attraktive Wechselwirkungen mit dem Protein eingehen (H-Brücken, dipolare Wechselwirkungen) als zu stark gebunden angesehen werden, als dass sie durch Ligandenteile verdrängt werden könnten. In der Modellierung sollte man sie ähnlich der Proteinoberfläche behandeln. Die Verdrängung von Wassermolekülen, die drei enge Kontakte mit dem Protein eingehen, ist ebenfalls schwierig und nicht empfehlenswert. Wassermoleküle mit zwei gerichteten Wechselwirkungen mit dem Protein hingegen können verdrängt werden, allerdings meist nur mit einem geringen Gewinn an freier Enthalpie. Demgegenüber ist es oftmals möglich, Wassermoleküle mit nur einer polaren Wechselwirkung zum Protein mit einem erheblichen Gewinn an freier Enthalpie zu verdrängen.

In diesem Abschnitt stellen wir die energetisch günstige Verdrängung einzelner Wassermoleküle in zwei Fallstudien vor und besprechen anschließend die aktuellen, anspruchsvollen Untersuchungen, die sich mit dem Verdrängen von Wassermolekülen aus ganzen Wassernetzwerken beschäftigen.

2.3. Verdrängung einzelner Wassermoleküle

Wie in Abschnitt 3 diskutiert, verfolgen wir in einem Kooperationsnetzwerk die Entwicklung von Inhibitoren für drei der sieben Enzyme des Mevalonat-unabhängigen Isoprenoid-Biosynthesewegs. Beim Screening einer BASF-Verbindungsbibliothek gegen das dritte Enzym des Stoffwechselweges, IspD aus *Arabidopsis thaliana* (At), auf der Suche nach neuen Herbiziden wurde eine Komplexierung von Triazolopyrimidin **1** (Abbildung 2a) mit einem IC₅₀-Wert (mittlere inhibitorische Konzentration) von 140 nM beobachtet.^[42] Die Röntgenstrukturanalyse des Cokristalls ergab die Bindung an eine neu entdeckte allosterische Tasche des IspD-Enzyms (Abbildung 2b). Da die Verbindung gute herbizide Aktivität zeigte, wurde sie mit strukturbasierten Methoden weiterentwickelt. Die Analyse der Cokristallstruktur zeigte die Bindung eines geordneten Wassermoleküls an die Seitenkette von Arg157 und an ein Stickstoffatom des Triazolrings im Liganden auf. Der Versuch, die biologische Aktivität durch den Ersatz dieses Wassermoleküls weiter zu erhöhen, scheiterte jedoch, wenn eine zusätzliche Carboxylatgruppe in **2** eingeführt wurde, um mit der Arg157-Seitenkette in Wechselwirkung zu treten. Zwar konnte das Wassermolekül verdrängt werden, wie die Kristallstruktur zeigte, jedoch war die Aktivität der Verbindung **2** deutlich geringer (IC₅₀ = 274 μM), was durch die hohen energetischen Kosten der Desolvatation des Carboxylatrestes bei der Bindung an das Protein erklärt wurde. Wurde stattdessen eine Nitrilgruppe in Ligand **3** eingeführt, so konnte eine hohe Aktivitätsverbesserung im Vergleich zur Ausgangsverbindung **1** beobachtet werden (IC₅₀ = 35 nM). Die Cokristallstruktur (Abbildung 2c) bestätigte wiederum die Verdrängung des Wassermoleküls durch Ligand **3**, welcher eine mäßig starke Wasserstoffbrücke mit der Seitenkette des Arg157 eingeht.^[42]

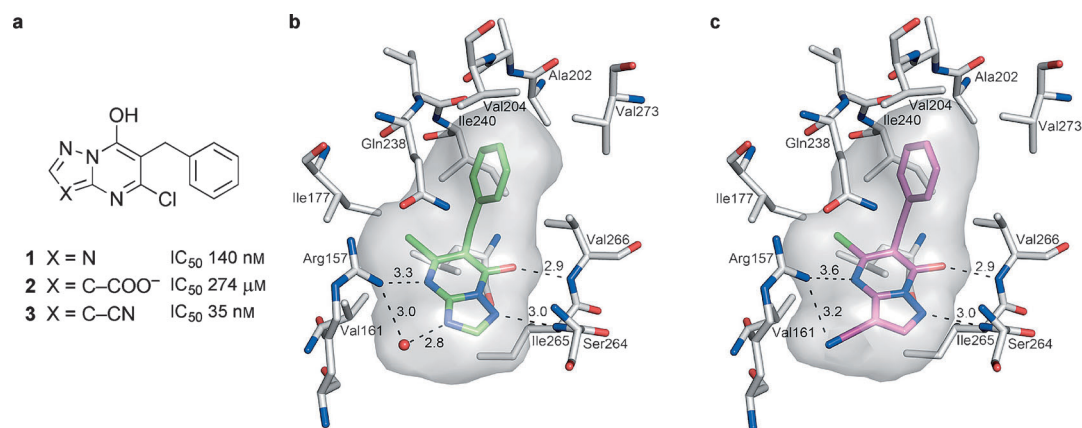


Abbildung 2. a) Allosterische Inhibitoren des Enzyms IspD und Röntgenkristallstrukturen von AtIspD, kokristallisiert mit b) **1** (1.4 Å Auflösung; PDB ID: 2YC3) und c) **3** (1.6 Å Auflösung, PDB ID: 2YC5).^[42] Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, Cl grün, C_{Ligand(1)} grün, C_{Ligand(3)} „hot pink“.

In einer weiteren Studien, in Kooperation mit Roche Basel, wurden Bisubstratinhibitoren für das Enzym Catechol-*O*-Methyltransferase (COMT) entwickelt, welches die Methylierung von biologisch aktiven Catecholen in der Anwesenheit von *S*-Adenosylmethionin (SAM) und Mg²⁺-Ionen katalysiert.^[43] Die Inhibition dieses Enzyms ist für verschiedene Störungen des zentralen Nervensystems wichtig und findet Anwendung in der Behandlung von Parkinsonpatienten. Es wird dadurch eine Blockierung der unerwünschten Methylierung von verabreichtem L-DOPA erreicht, was zu einem erhöhten Dopaminspiegel im Gehirn führt.^[44]

Nachdem die Kokristallstruktur von COMT mit gebundenem Bisubstratinhibitor **4** (IC₅₀ = 9 nM, Abbildung 3a) gelöst wurde, wurde ersichtlich, dass ein Wassermolekül in die SAM-Nukleobasentasche eingeführt worden war, welches N(6)H₂ und N(7) vom Adeninteil des Inhibitors durch mäßig starke H-Brücken solvatisiert (Abbildung 3b).^[43b] Dieses Wassermolekül zeigte jedoch keine polaren Kontakte zum Protein. In einer neuen Ligandenserie,^[45] in der die Nitrogruppe am Catecholteil durch eine 4-Fluorphenylgruppe ausgetauscht wurde, führten wir kleinere Alkylsubstituenten (Me, Et, Pr, *c*Pr, CH₂CH₂OH) am Adenin-N(6) ein. Für vier dieser Liganden konnten die Kokristallstrukturen im Komplex mit COMT gelöst werden.^[45a] In jeder Struktur nahm der eingeführte Substituent am N(6) die Position des Wassermoleküls ein, wie für den gebundenen Liganden **5** (IC₅₀ = 12 nM) in Abbildung 3c beispielhaft gezeigt ist.

Die neuen *N*-alkylierten Liganden zeigten IC₅₀-Werte zwischen 9 und 41 nM, was unerwarteterweise im gleichen Bereich wie der IC₅₀-Wert des unsubstituierten Ligand **6** lag (31 nM).^[45a] Dies war vor allem deswegen unerwartet, weil der freie Ligand die *s-cis*-Konformation um mindestens ΔΔ*G* = −1.8 kcal mol^{−1} in wässriger Lösung bevorzugt, was durch ¹H-NMR-Studien ermittelt wurde. Jedoch binden die *N*-alkylierten Liganden in ihrer energetisch ungünstigen *s-trans*-Konformation (Abbildung 3d). Dies deutet darauf hin, dass die Verdrängung des Wassermoleküls in der Kokristallstruktur mindestens −1.8 kcal mol^{−1} zu der gemessenen Bindungsaffinität beiträgt, wodurch der gleichwertige Energieaufwand für das Einnehmen der *s-trans*-Konformation des Liganden kompensiert wird (Abbildung 3d).

2.4. Adressierung von Wasserclustern

In Kooperation mit der Gruppe von G. Klebe (Univ. Marburg) haben wir *lin*-Benzoguanine (*lineares* Benzologe von Guanin) und deren 2- und 4-substituierten Derivate als potente Inhibitoren der tRNA-Guanin-Transglycosylase (TGT) aus *Zymomonas mobilis* (*Zm*) etabliert.^[46] TGT ist ein homodimeres Enzym, welches den Basenaustausch (Guanin gegen preQ1) an der Wobble-Position (G₃₄) im Anticodon der tRNA in Prokaryoten katalysiert, wonach preQ1 in weiteren Schritten letztendlich in die Nukleobase Queuin umgewandelt wird.^[47] Parasiten ohne das TGT-Gen sind apathogen, was die Inhibition von TGT als Target gegen die hoch ansteckende Shigellendysenterie validiert. Das humane TGT-Enzym führt Queuin aus der Nahrungskette direkt ein.

Die *lin*-Benzoguanine binden an die Nukleobasenbindungsstelle (G₃₄) und hinterlassen im Falle eines fehlenden Substituenten an der Benzoleinheit, wie beispielsweise in **7** (*K*_i = 77 nM, Abbildung 4a), einen pyramidalen „fünf-Wasser“-Cluster, der die Seitenketten der zwei katalytischen Reste Asp280 und Asp102 solvatisiert (Abbildung 4b).^[46c] Es sollte erwähnt werden, dass sich dieser Cluster vom sogenannten Walrafen-„fünf-Wasser“-Cluster (Walrafen-Pentamer) unterscheidet,^[48] in welchem ein Wassermolekül tetraedrisch von vier weiteren Wassermolekülen koordiniert ist, so wie es hauptsächlich in der freien flüssigen Wasserphase der Fall ist.^[30c] In der Nähe der Bindungsstelle der tRNA-Ribose 34 liegt eine flache hydrophobe Kerbe (Val45, Val282, Leu68), welche durch Phenyl- oder Cycloalkylringe, die über einen Linkerbaustein an der 4-Position des Liganden verknüpft sind, erreicht und gefüllt werden kann. Der Linker ist gezwungen, den Wassercluster zu durchdringen und verursacht somit die Verdrängung mehrerer Wassermoleküle aus dem Cluster. Kurze lipophile Alkyllinker ergaben die richtige Ausdehnungsrichtung und erlaubten das Füllen dieser Kerbe. Diese Linker stellten sich jedoch als ungeeignet heraus, da sie die erforderliche starke Solvation der beiden Aspartat-Seitenketten auf energetisch höchst ungünstige Weise beeinträchtigen.^[41i] Wurde aber ein protonierter 2-Aminoethylsubstituent an der 4-Position installiert (**8**, *K*_i = 55 nM), so konnten im Vergleich zum unsubstituierten Derivat **9** (*K*_i =

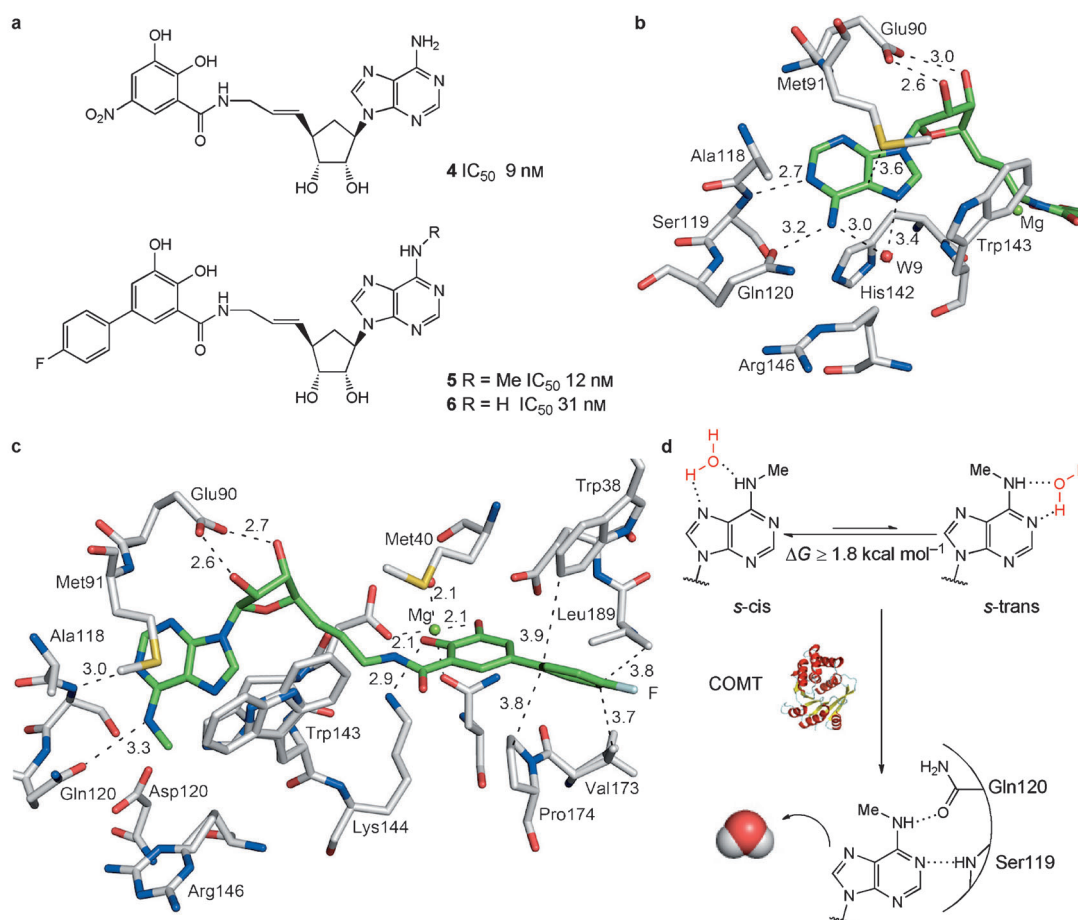


Abbildung 3. a) Bisubstratinhibitoren von COMT.^[43b,45a] b) Struktur der Adenosinbindungsstelle des ternären Komplexes von **4** mit COMT, einem Mg^{2+} -Ion (2.6 Å Auflösung, PDB ID: 1JR4)^[43b] und dem importierten Wassermolekül (W9). c) Bindungsmodus des Bisubstratinhibitors **5** (1.30 Å Auflösung, PDB ID: 3HVH).^[45a] Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, S gelb, F türkis, Mg hellgrün, C_{Ligand} grün. d) Zusammenfassung des Prozesses, der zu der Freisetzung des Liganden-gebundenen Wassers führt.

58 nm) einige Wassermoleküle des Clusters energetisch neutral verdrängt werden (Abbildung 4c).^[49] Das weitere Verlängern des Substituenten mit sterisch passenden hydrophoben Resten ergab nunmehr hochaktive Liganden, wie beispielsweise das Cyclohexylmethyl-Derivat **10** ($K_i = 4$ nm, Abbildung 4d). Die Kombination von biologischen Assays und Röntgenstruktur-Cokristallanalysen lieferte den multiplen Beweis dafür, dass die erwähnte flache hydrophobe Enzymkerbe mit einem substanziellen Gewinn an freier Bindungsenthalpie gefüllt werden kann, wenn sekundäre Ammoniumlinker als Brücke durch den ursprünglichen Wassercluster fungieren.^[50]

Diese Studie zeigt, dass das Durchdringen eines Wasser-Netzwerks, um von einer Bindungstasche in eine hydrophobe zweite zu gelangen, spezielle Beachtung erfordert, um energetisch erfolgreich zu sein. Das Ligandendesign muss sicherstellen, dass die umliegenden funktionellen Gruppen des Proteins und die übrigen Wassermoleküle des ursprünglichen Clusters durch den Linker weiterhin günstig solvatisiert und vernetzt bleiben. Ohne die richtige Polarität des Linkers muss der Gewinn an freier Enthalpie, welcher durch das Binden in die erreichte zweite Tasche gewonnen wird, für das ungüns-

tige Zerschlagen des Wasserclusters bezahlt werden, wobei die energetischen Kosten sogar noch höher sein können.

Wurden *lin*-Hypoxanthine, welche keine exocyclische NH_2 -Gruppe im Vergleich zu den *lin*-Benzoguaninen tragen (Abbildung 5a), als Liganden für TGT eingeführt, so konnte eine starke Abschwächung der Inhibition beobachtet werden.^[50b,51] Drei ionische H-Brücken gehen im Falle des Liganden **11** ($K_i = 6500$ nm; im Vergleich zu Ligand **9** ($K_i = 58$ nm, Abbildung 4a) verloren: Das Asp156 bildet nur noch eine ionische H-Brücke aus, während Asp102, welches zwei solcher Kontakte im Komplex mit **7** (Abbildung 4b) und **9** eingeht, an seine ursprüngliche Position der Apoenzymstruktur zurückkehrt. Der Pyrimidinonring ohne die exocyclische Aminogruppe ist nicht mehr ausreichend basisch, um protoniert vorzuliegen, und kann daher nicht mehr günstig mit der Carboxylatgruppe von Asp102 wechselwirken.^[51] Asp102 bildet nunmehr Wasserstoffbrücken zu der NH_2 -Seitenkettengruppe von Asn70 und dem Rückgrat-NH von Thr71 aus. Als Ergebnis dieser Konformationsänderung öffnet sich ein großer Hohlraum, in den ein zweiter „sechs-Wasser“-Cluster importiert wird, der mit dem pyramidalen „fünf-Wasser“-Cluster neben dem Asp280 verknüpft ist

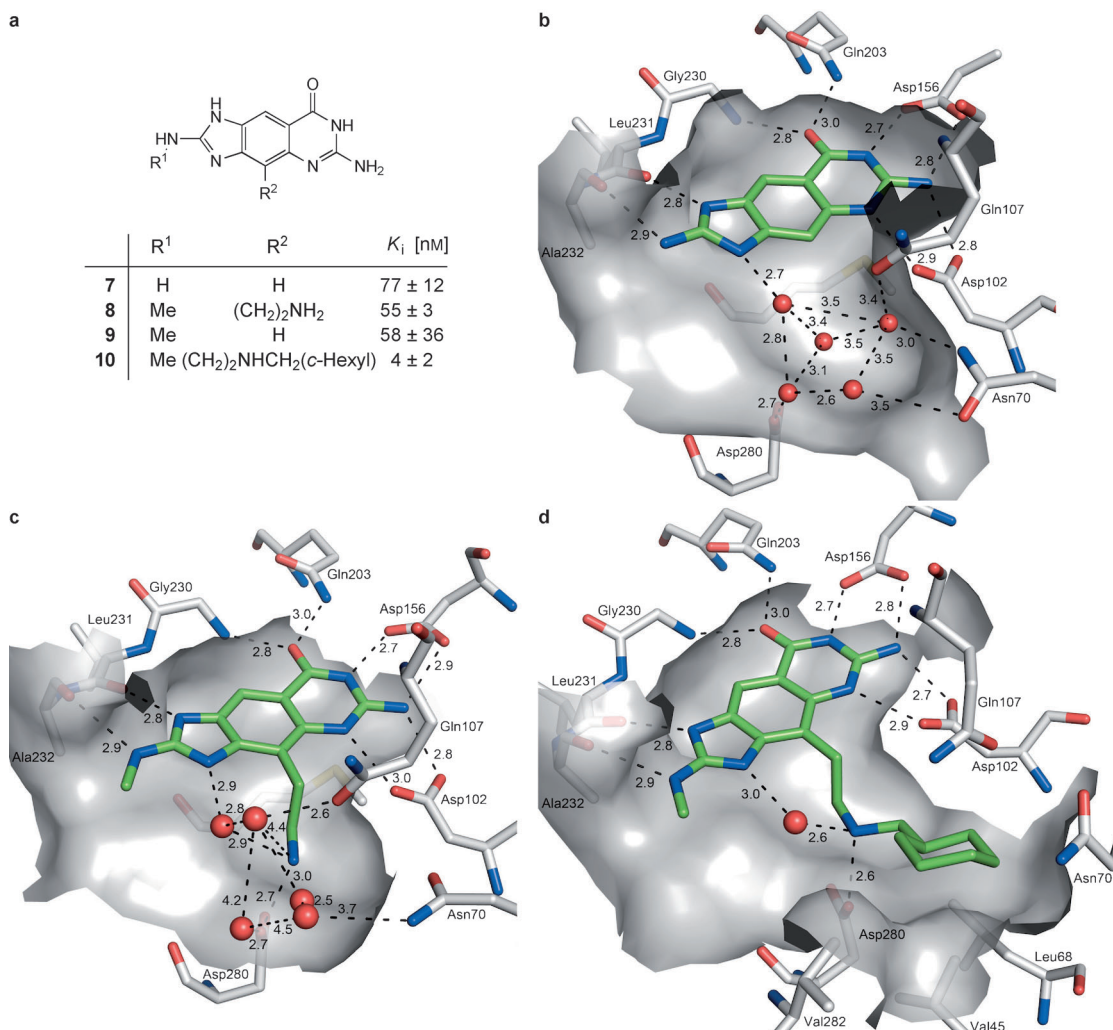


Abbildung 4. a) Ausgewählte *lin*-Benzoguanin-Liganden von *Zm*TGT. b) Cokristallstruktur von Ligand **7** im Komplex mit TGT (1.28 Å Auflösung, PDB ID: 2Z7K).^[46c] c) Cokristallstruktur von Ligand **8** im Komplex mit TGT (1.4 Å Auflösung, PDB ID: 3GC5).^[49] d) Cokristallstruktur von Ligand **10** im Komplex mit TGT (1.78 Å Auflösung, PDB ID: 3EOS).^[49] Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, C_{Ligand} grün.

(Abbildung 5b). Die zusätzliche Solvation des Proteins und des Liganden, kombiniert mit der Konformationsänderung im Protein kann den Verlust der drei ionischen Wasserstoffbrücken nicht wettmachen, was sich in der stark gesenkten Inhibitionskraft widerspiegelt. Durch die Alkylierung (Me, Et) der exocyclischen NH₂-Gruppe der *lin*-Benzoguanine konnte eine ähnliche Konformationsverschiebung des Asp102 aus sterischen Gründen beobachtet werden, und es wurde wiederum ein Netzwerk aus sechs Wassermolekülen eingebaut (Abbildung 5c). Jedoch wurde die Inhibitionsaffinität der Liganden noch weiter herabgesetzt, wie Messungen für das *N*-Methyl-Derivat **12** zeigten ($K_i = 28050$ nM). Eine detailliertere Untersuchung der individuellen Wassermoleküle im Netzwerk ergab, dass eines der Wassermoleküle (W1) von den hydrophoben Teilen der *N*-Me-Gruppe von **12** und der Reste Asp102, Ile201 und Met153 des Proteins umgeben wird,^[51] was energetisch recht ungünstig sein sollte (Abbildung 5d).

Es wird ersichtlich, dass die bereits durch kleine Änderungen am Liganden hervorgerufene Reorganisation der

Proteinkonformation und Veränderungen in der Solvation durch das Wassernetzwerk die Gesamtsituation recht komplex gestalten.^[52] Ohne hochaufgelöste Strukturinformationen wäre eine sinnvolle Interpretation der gemessenen freien Protein-Ligand-Bindungsenthalpien unmöglich, wie auch Whalen und Spies in ihren Arbeiten über Inhibitoren der Glutamatracemase schlussfolgern.^[53]

Ein vertieftes Verständnis des Beitrags von Wassernetzwerken zu Struktur und thermodynamischem Profil von Protein-Ligand-Komplexen wird zunehmend durch die gleichzeitige Anwendung von mehreren Methoden gewonnen. Diese beinhalten hochaufgelöste Cokristall-Röntgenstrukturanalysen, computergestützte Methoden, pK_a-Bestimmungen, Mutationen von Schlüsselsequenzen der Proteine (diejenigen Sequenzen, die mit Ligand und Wasser wechselwirken) und ITC. Ein solch multidimensionaler Ansatz wurde kürzlich angewendet, um die Komplexbildung von *lin*-Benzoguaninen und *lin*-Hypoxanthinen mit TGT zu untersuchen.^[54] Whitesides und Mitarbeiter untersuchten die Komplexbildung von Sulfonamid-Liganden durch die humane

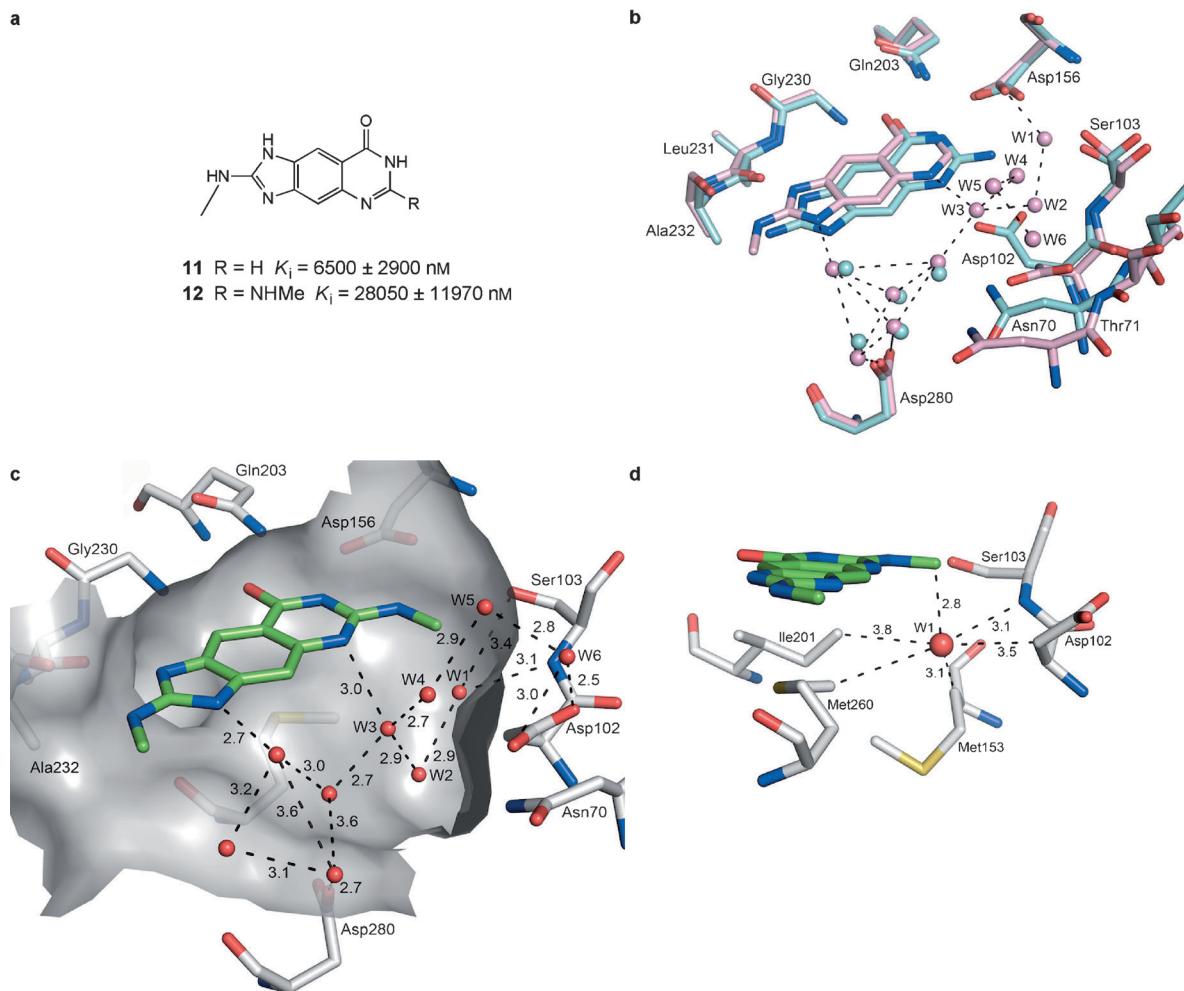


Abbildung 5. a) Beispiele von *lin*-Benzohypoxanthin- und *N*-alkylierten *lin*-Benzoguanin-Inhibitoren von ZmTGT. b) Überlagerung der Cokristallstruktur von Ligand **7** (1.28 Å Auflösung, PDB ID: 2Z7K)^[46c] und **11** (1.82 Å Auflösung, PDB ID: 3S1G)^[51] jeweils im Komplex mit TGT. Farbgebung: C_{Ligand(7)} + C_{Enzym} + Wassermoleküle(7) blaugrün, C_{Ligand(11)} + C_{Enzym} + Wassermoleküle(11) pink, O rot, N blau. c) Cokristallstruktur von Ligand **12** im Komplex mit TGT (1.68 Å Auflösung, PDB ID: 3RR4)^[51] und d) Wasser W1 des neu importierten Wassernetzwerkes in der energetisch ungünstigen, hydrophoben Umgebung.^[51] Farbgebung: C_{Ligand} grün, C_{Enzym} grau, S gelb.

Carbonicanhydrase (HCA) als Modellsystem und fanden, dass die freie Bindungsenthalpie der Protein-Ligand-Komplexe mit zunehmender hydrophober Oberfläche der Liganden zunimmt.^[55] Allerdings stammen die Unterschiede in den Ligandenaffinitäten auch von bindungsinduzierten Änderungen der Anzahl und der Organisation von Wassermolekülen, welche sich in der aktiven Tasche befinden. Die Studie verdeutlicht, dass Wassernetzwerke im aktiven Zentrum einen bedeutsamen Einfluss auf die Energetik der Protein-Ligand-Komplexierung haben. Unterschiedliche thermodynamische Profile wurden für den Ersatz von Wassermolekülen in Wassernetzwerken gemessen, je nachdem ob diese Moleküle den freien Liganden, die sogenannte „hydrophobe Wand“, die Enzymoberfläche oder das Zn²⁺-Ion solvatisieren. Die Erkenntnis, dass sich die Natur der individuellen Wassermoleküle in den Netzwerken und deren Beitrag zum gesamten thermodynamischen Profil des Bindungsprozesses von Fall zu Fall unterscheidet, macht die Quantifizierung hydrophober Effekte sehr schwierig.

Die Forschungsgruppen um Klebe und Hangauer wenden seit einigen Jahren eine multidimensionale Analyse an, um zu untersuchen, wie die Ligandenbindung Wassernetzwerke in Proteinen, wie Thrombin^[56] und Thermolysin,^[57,58] unterbricht und wie sich dies in den enthalpischen und entropischen Änderungen des Komplexierungsprozesses widerspiegelt. Zusammengefasst kommen sie zum Schluss, dass Protein-Ligand-Wasser-Systeme von hoch anspruchsvoller Komplexität sind, ähnlich wie auch von der Whitesides-Gruppe berichtet. In ihren jüngsten Arbeiten zeigte sich, wie schon kleine Substratänderungen – z. B. beim Wechsel von Methyl- zu Butylsubstituenten in Inhibitoren von Thermolysin – das thermodynamische Profil des Komplexierungsprozesses stark beeinflussen, da durch diese Substitution in das umliegende Wassernetzwerk eingegriffen wird.^[57c]

Die umfangreichen Studien an biologischen Systemen, wie etwa von den Gruppen um Whitesides, Klebe und Hangauer, verdeutlichen, dass das Aufteilen des gesamten thermodynamischen Profils biologischer Komplexierungsprozesse auf Beiträge individueller Änderungen in Wassernetzwer-

ken in höchstem Maße herausfordernd ist. Sorgsam konzipierte Untersuchungen an synthetischen Wirt-Gast-Systeme, wie oben für Cucurbit[7]uril beschrieben (Abschnitt 2.1., Abbildung 1), werden sicherlich auch zukünftig wichtige Beiträge zur Aufklärung und Quantifizierung des nichtklassischen hydrophoben Effekts in chemischen und biologischen Systemen liefern.

3. Liganden zum Ausfüllen von Enzymtaschen unterschiedlicher Form, konformativer Dynamik und Polarität

Taschen in aktiven Zentren von Enzymen und Proteinen im Allgemeinen unterscheiden sich in Größe, Volumen, Grad der Präorganisation (Konformationsflexibilität/Steifheit), Polarität und Polarisierbarkeit.^[59] In diesem Abschnitt stellen wir Fallstudien vor, die die Entwicklung von Liganden mithilfe des strukturbasierten Designs illustrieren, und zeigen, wie durch das richtige Füllen der verschiedenen Enzymtaschen ein erheblicher Gewinn an Bindungsaffinität erzielt wurde. Auch hier beginnen wir den Abschnitt mit synthetischen Modellsystemen, da Lehren aus diesen Studien direkt auf biologische Systeme übertragbar sind.

3.1. Die optimale Belegung von Bindungstaschen – Lehren aus Modellsystemen

Schon 1894 beschrieb Emil Fischer in seinem Schlüssel-Schloss-Prinzip die Bedeutung der geometrischen Komplementarität zwischen Enzymen und ihren Substraten.^[60] Dabei stellt sich die Frage: Was ist die ideale Größe und Form eines Liganden für eine gegebene Tasche in chemischen oder biologischen Rezeptorsystemen?^[61] Die genaue Bestimmung des Volumens von Proteintaschen ist eine anspruchsvolle Fragestellung, da zum einen die Abgrenzungen der Tasche oft nicht eindeutig definierbar sind und zum anderen die die Kavitäten definierenden Proteinteile oft eine konformative Flexibilität aufweisen, die je nach den verwendeten Bedingungen zusätzlich variiert. Dieser Umstand spiegelt sich in der großen Anzahl an publizierten Methoden zur Identifizierung und Charakterisierung von Proteintaschen wider.^[62] Im Gegensatz dazu bieten molekulare Kapseln und Container geometrisch genau definierte Hohlräume mit bekannten Volumina für Wirt-Gast-Studien, wobei das thermodynamische Profil der Komplexbildung mittels NMR-Bindungsstudien oder ITC bestimmt werden kann. Es sind geeignete Modellsysteme, um die Frage nach der optimalen Größe von Liganden zu adressieren. Eine Studie von Mecozzi und Rebek mit mehreren über H-Brücken gebundenen supramolekularen Kapseln verschiedener Hohlraumgrößen führte zur Formulierung der 55 %-Regel. Diese besagt, dass der hydrophobe Hohlraum eines Wirtes durch einen lipophilen, in der Form komplementären Gast energetisch am besten bei einem Packungskoeffizienten (PK, Verhältnis des Gastvolumens zum Wirtvolumen) von 0.55 ± 0.09 gefüllt wird.^[63] Interessanterweise liegt die Packungsdichte vieler üblicher, organischer Flüssigkeiten bei dem gleichen Wert.^[63] Die Komplexbildung

von längeren *n*-Alkanen und *n*-Alkylderivaten im Hohlraum von Resorcin[4]aren-Cavitanden, Rezeptoren, die von Cram et al. 1982 eingeführt wurden, bestätigten diese Befunde.^[64,65] Obwohl *n*-Alkane üblicherweise bis zu einer Länge von Hexadecan^[66] eine vollständig gestreckte (all-*trans*-)Konformation bevorzugen, nehmen sie an den Cavitanden gebunden eine helikale Form ein, wodurch $2\text{--}3 \text{ kcal mol}^{-1}$ sterische Spannung hervorgerufen werden.^[67] Die energetischen Kosten für die helikale Konformation der Alkylkette werden durch die optimale Ausfüllung des Raumes (56 %), die Abschirmung hydrophober Oberfläche mit Ausbildung von stärkeren Dispersionswechselwirkungen (in wässriger Lösung) und bessere C-H $\cdots\pi$ -Kontakte kompensiert.^[65] Kürzlich konnte auch gezeigt werden, dass längere (C_{13} und C_{14}) *n*-Alkyl-Derivate eine gefaltete Konformation einnehmen, um in die hydrophobe Tasche eines wasserlöslichen Cavitanden in Wasser zu passen (D_2O).^[68]

Unsere Untersuchungen konnten die obengenannten Resultate für neue Containermoleküle bestätigen. Resorcin[4]aren-basierte Cavitanden sind hochdynamische Systeme, die durch die Veränderung der Temperatur, des pH-Wertes, der Zink(II)-Ionenkonzentration oder durch Redoxprozesse zwischen der offenen „Drachen“-Konformation und der geschlossen „Vasen“-Konformation geschaltet werden können.^[69] Während die „Drachen“-Konformation nicht in der Lage ist, Gäste zu binden, bildet sich in der „Vasen“-Konformation ein innerer Hohlraum, welcher Gäste einschließen kann. Die Einführung von Diacetylenbrücken unterschiedlicher Länge zwischen zwei Imidwänden in **13a/b** (Abbildung 6a) stabilisiert die „Vasen“-Konformation und versteift die molekularen Container wesentlich im Vergleich zu den entsprechenden offenen Resorcin[4]aren-Cavitanden mit vier Chinoxalinwänden, was mithilfe von MD-Simulationen visualisiert wurde (Abbildung 6b).^[70,71] Die Bindung von Cycloalkanen in den unterschiedlich großen Hohlräumen der beiden verbrückten Container ist deutlich verstärkt, wobei **13a** die höchste Affinität für Cyclopentan (PK 53 %, durch MD-Simulationen bestimmt) aufweist und **13b** für Cyclohexan (PK 54 %).

Schon früher hatten Rebek und Mecozzi vorhergesagt, dass der optimale PK ansteigt, wenn zusätzlich polare Kontakte in einem klar definiertem Raum aufgebaut werden.^[63] Dies konnte durch ITC für die Komplexbildung von heterocyclischen Gästen (eine Auswahl ist in Abbildung 6c dargestellt) durch den *para*-Xylylen-verbrückten Cavitanden **14** bei 303 K in Mesitylen gezeigt werden.^[72] Mesitylen ist als Lösungsmittel zu groß, um mit dem Gast um die Kavität zu konkurrieren. Der optimale PK für diese Wirt-Gast-Komplexbildung steigt auf 0.63 ± 0.09 als Folge polarer Wirt-Gast-Wechselwirkungen, wie C-O \cdots C=O, N-H $\cdots\pi$ und S $\cdots\pi$. Ein experimenteller Nachweis für diese Wechselwirkungen wurde durch Kern-Overhauser-Effekt-Spektroskopie im rotierenden Koordinatensystem (ROESY) erhalten. Die Verstärkung der C-H $\cdots\pi$ -Wechselwirkung durch stärker polarisierte C-H-Bindungen der heterocyclischen Gäste trägt dabei ebenfalls zu dem beobachteten Anstieg des PK bei.^[73] Die stärkste Bindung wurde für sechsgliedrige Heterocyclen mit PK zwischen 0.60 und 0.66 beobachtet (Abbildung 6c).^[72] Die Gastbindung ist sowohl enthalpisch als auch entropisch begünstigt.

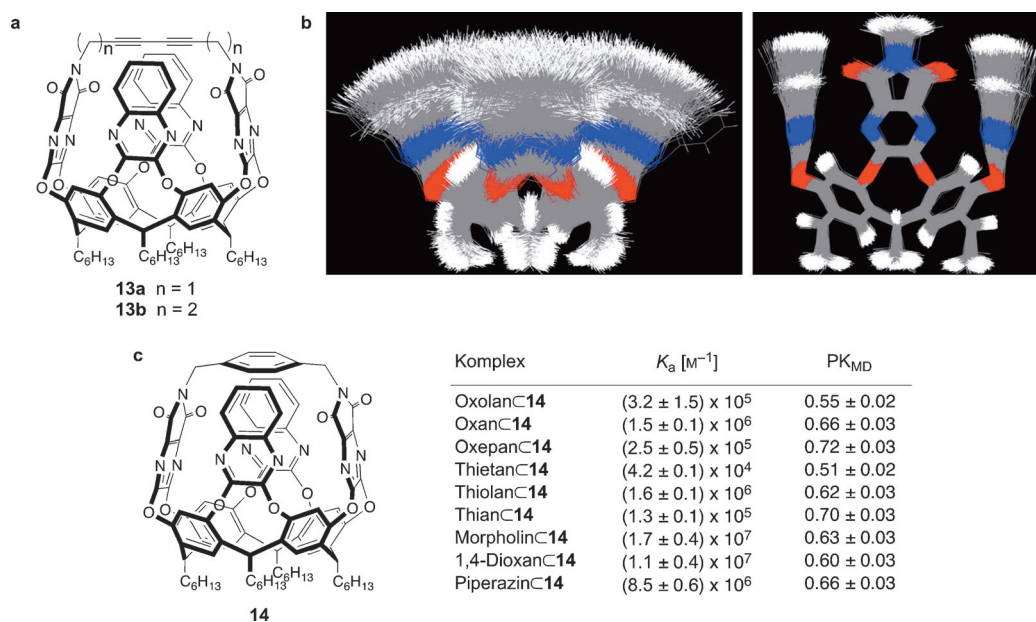


Abbildung 6. a) Chemische Struktur der Diacetylen-verbrückten molekularen Containermoleküle **13a/b**. b) MD-Simulationen (1000 Strukturen)^[71] verdeutlichen die Versteifung der verbrückten Cavitanen. Links: „Vasen“-Form des offenen Resorcin[4]aren-Cavitanen mit vier Chinoxalinwänden. Rechts: Container **13a**. In beiden Fällen wurden die Hexylsubstituenten durch Methylgruppen substituiert. c) *para*-Xylylen-verbrückter Container **14** und Assoziationskonstanten und Packungskoeffizienten aus MD-Simulationen (PK_{MD}) von verschiedenen heteroalicyclischen Gästen, die einen optimalen PK von 0.63 ± 0.09 offenbaren. Bilder wurden mit Genehmigung des Verlages reproduziert.^[70b]

Die Änderung der Entropie ist positiver für kleine Gäste, die weniger Translations- und Rotationsfreiheitsgrade durch die Komplexierung verlieren, während größere Gäste einen höheren enthalpischen Gewinn durch die Ausbildung engerer Wechselwirkungskontakte erfahren. Der günstige Entropie-term wurde durch den hohen Grad an Präorganisation des Wirtes, den Gewinn an Mischungsentropie bei der Komplexierung und die geordnete Ausrichtung des ungebundenen Gastes im aromatischen Lösungsmittel Mesitylen erklärt.^[72]

Die vollständige Umschließung des Gastes durch die Containermoleküle ist eine wesentliche Voraussetzung für eine hohe Bindungsaffinität: Eine Abnahme der Assoziationskonstante um bis zu fünf Größenordnungen wird zum einen bei der Entfernung der zwei Chinoxalinwände des Containers **14**^[74] beobachtet und zum anderen für offene Cavitanen mit vier unverbrückten Chinoxalinwänden.^[75] Die Einführung von Oligo(ethylenglykol)-Ketten am Resorcin[4]aren-Gerüst und an der *para*-Xylylen-Brücke von **14** führte zu einem wasserlöslichen Cavitanen, bei dem die erwähnten polaren Wirt-Gast-Wechselwirkungen mit heteroalicyclischen Gästen ebenfalls in D_2O/CD_3CN (2:1) beobachtet wurden.^[74]

Die Komplexierung formkomplementärer Gastverbindungen durch Containermoleküle und supramolekulare Kapseln mit klar definiertem Hohlraum hat gezeigt, dass es eine optimale Größe für die Gäste gibt. Für lipophile Gäste liegt der optimale PK bei etwa 55 %, während er durch die Ausbildung von zusätzlichen polaren Wechselwirkungen auf etwa 63 % ansteigt. Die vollständige Umschließung ist dabei nicht nur für die genaue Bestimmung des Kavitätsumfanges und die Berechnung des PK wichtig, sondern vor allem für

eine hohe Bindungsaffinität. Obgleich die Bestimmung des Taschenvolumens und des PK in Proteinen größere Schwierigkeiten bereitet, erhält man eine gute Orientierung für die optimale Belegung biologischer Rezeptorsysteme aus glockenförmigen Profilen, die bei der Auftragung der freien Bindungsenthalpie gegen die berechneten PKs erhalten werden.^[72]

3.2. Stark polare aktive Zentren der Enzyme IspE und IspF der Mevalonat-unabhängigen Isoprenoid-Biosynthese

Die Enzyme IspE, IspF und das zuvor erwähnte IspD (Abschnitt 2.3) katalysieren die Mevalonat-unabhängige Isoprenoid-Biosynthese (Abbildung 7).^[76] Dieser Biosyntheseweg kommt ausschließlich in Bakterien, wie *Mycobacterium tuberculosis* (Mt), und Protozoen, wie *Plasmodium falciparum* (Pf), dem Erreger der Malaria, vor. Im Menschen findet man stattdessen ausschließlich den Mevalonatweg, während in höherentwickelten Pflanzen beide Biosynthesewege gleichzeitig, aber räumlich getrennt vorliegen. Die Enzyme der Mevalonat-unabhängigen Biosynthese wurden als vielversprechende Ziele in der Wirkstoffentwicklung gegen Infektionskrankheiten identifiziert.^[77] Bestätigt wurde dies durch den Befund, dass das Antibiotikum Fosmidomycin und seine Derivate, welche das zweite Enzym des Biosynthesewegs IspC inhibieren, starke Antimalariaaktivität in vivo gezeigt haben.^[78] Die Substrate des Mevalonat-unabhängigen Biosynthesewegs sind hoch polar und enthalten Mono- oder Diphosphatgruppen. Dementsprechend zeichnen sich die Enzyme des Biosynthesewegs ebenfalls durch stark polare aktive Zentren aus, was die Herausforderung bei der Entwicklung potenter Inhibitoren erhöht.

3.2.1. IspE – Aktivitätssteigerung durch das Ausnutzen einer kleinen, hydrophoben Tasche

Die Kinase IspE katalysiert die Phosphorylierung von 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol (CDP-ME, Abbildung 7), und ihre aktive Tasche ist in drei Haupttaschen unterteilt: Die Cytidintasche mit der Ribose-Subtasche, die Methylerythritol(ME)-Bindungsstelle mit einer kleinen, hydrophoben Kavität und die ATP-Bindungstasche mit der Gly-

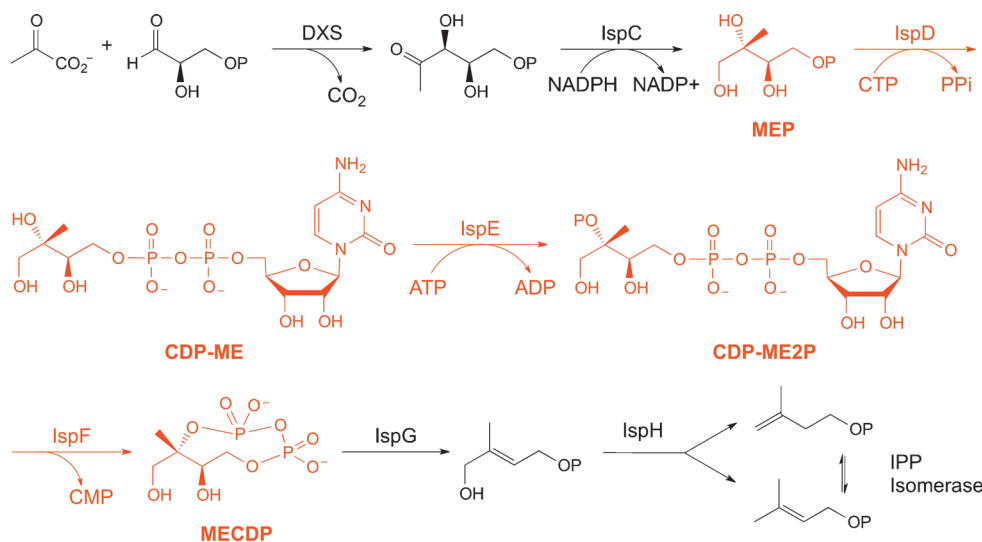


Abbildung 7. Die Mevalonat-unabhängige Biosynthese der Isoprenoide. Drei der sieben beteiligten Enzyme werden in unserer Gruppe erforscht (rot markiert). IspD katalysiert den Transfer einer Diphosphocytidyl-einheit von Cytidintriphosphat (CTP) auf 2C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat (MEP), wodurch 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol (CDP-ME) entsteht. CDP-ME wird durch IspE zu 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol-2-phosphat (CDP-ME2P) phosphoryliert und anschließend durch IspF zum 2C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat (MECDP) cyclisiert.

reichen P-Schleife (P-loop) zur Triphosphaterkennung (Abbildung 8a).^[79,80]

Die richtige Ausfüllung jeder der drei Taschen erwies sich als anspruchsvoll. Die meisten Kinasehemmer binden in der Adenin-Tasche der ATP-Bindungsstelle.^[81] In IspE bindet ATP in der unüblichen *syn*-Konformation, weshalb die Bindungstasche in diesem Fall kleiner als gewöhnlich ist (Abbildung 8a). Daher wurde der Fokus auf die Cytidintasche des Substrats gelegt. Während heterocyclische Adenin-Surrogate durch die große Aktivität auf dem Gebiet der Kinaseinhibitoren zahlreich und vielfältig zu finden sind, ist die Bandbreite der Cytosinanaloga deutlich geringer,^[82] obschon die molekulare Erkennung von Cytosin – durch die Bedeutung seiner Methylierung und Demethylierung in 5-Position auf dem Feld der Epigenetik – gesteigertem Interesse unterliegt.^[83] Wir beobachteten für unsere Liganden fortwährend einen deutlichen Verlust an Aktivität, wenn Cytosin durch Surrogate wie 2-Aminopyridin ersetzt wurde.^[84] Daher wurde der Cytosinring beibehalten. Das Ligandendesign fußt auf der Kokristallstruktur von CDP-ME im Komplex mit *Escherichia coli* IspE (*EcIspE*) und einem stabilem ATP-Analog (2.01 Å Auflösung, PDB ID: 1OJ4)^[80a] und führte zu der Serie der wirkungsstarken Liganden (±)-**15** bis (±)-**23** mit Aktivitäten (Inhibitionskonstanten K_i)^[85] im oberen nanomolaren Bereich (Abbildung 8b).^[86,87] Der Bindungsmodus der Cytosin-basierten Liganden wurde durch Modellierung mit MOLOC^[88] (Abbildung 8c) vorhergesagt und später durch Röntgenstrukturanalyse von Kokristallen von *Aquifex aeolicus* IspE (*AaIspE*) im Komplex mit Ligand **24**^[86b] bestätigt (Abbildung 8d). Dieser Ligand zeichnet sich durch eine erhöhte Wasserlöslichkeit aus, die durch die Einführung eines Oxetanylrings erreicht wurde.^[89]

Im Komplex von *EcIspE* und (±)-**15** ist der Cytosinring zwischen den Ringen von Tyr25 und Phe185 eingebettet und bildet günstige Dreifach-H-Brücken (DDA...AAD-Typ; D = Donor, A = Akzeptor)^[90] mit der Seitenkette und dem Rückgrat-N-H und C=O von His26 aus (Abbildung 8c).^[86a,b] Der Tetrahydrothiophenring belegt die Ribosesubtasche und bildet Wechselwirkungen mit dem Tyr25-Ring aus. Kontroll-experimente zeigten, dass in diesem Fall S... π -Wechselwirkungen nicht zur Bindungsaffinität beitragen, sondern dass die günstigen Effekte aus der Polarisierung der C-H-Bindungen durch das Heteroatom stammen.^[84] Die Substitution des Tetrahydrothiophenringes in (±)-**15** durch einen Cyclopentylring

führte zu einem K_i -Wert von 1.5 μM , wohingegen das Tetrahydrofurananalog ($K_i = 0.7 \mu\text{M}$) eine ähnliche Affinität gegenüber *EcIspE* zeigte wie (±)-**15** ($K_i = 0.29 \mu\text{M}$).^[84,86b]

Der Alkinlinker richtet die Sulfonamideinheit von (±)-**15** in der Weise aus, dass sie in die stark solvatisierte Region zwischen der Substrat- und ATP-Bindungsstelle zeigt und H-Brücken mit dem Ionenpaar aus Lys10 und Asp141 ausbildet. Diese Wechselwirkungen tragen zur Bindungsaffinität bei, was durch die Tatsache unterstrichen wird, dass die N-Methylierung des Sulfonamids, wie in (±)-**22** ($K_i = 2.5 \mu\text{M}$), die hemmende Aktivität um beinahe einen Faktor 10 reduziert (Abbildung 8b). Durch die bevorzugte Konformation, bei der das freie N-Elektronenpaar mittig zwischen der SO_2 -Gruppe steht und die sowohl in gebundener als auch in freier Form^[86a] angenommen wird,^[3] richtet sich der terminale Alkylrest so aus, dass er die kleine, aber klar präorganisierte, hydrophobe Tasche aus Phe185, Leu28 und Leu15 belegt. Im Vergleich dazu belegt die Methylgruppe der Methylerythritoleinheit des Substrats nur den Eingang der Tasche (Abbildung 8a). Die Tasche hat eine ungefähre Größe von 100 Å³ und zeichnet sich durch eine steile Struktur-Aktivitäts-Beziehung (SAR) gegenüber Veränderungen in der Ligandenstruktur aus.^[86] Das Cyclopropylderivat (±)-**15** ist der beste Ligand. Wird die Größe des Alkylrestes zum Methylderivat (±)-**21** reduziert oder zum Cyclohexylderivat (±)-**20** vergrößert, sinkt das Inhibitionspotential schnell um einen Faktor von beinahe 10 (Abbildung 8b). Die 55 %-Regel von Mecozzi und Rebek^[63] (Abschnitt 3.1) trifft auch in diesem Fall zu – der Cyclopropylrest füllt die Tasche laut Berechnungen mit einem PK von 0.56 aus.^[86b] Eine Literaturrecherche von Jorgensen und Mitarbeitern stellt ebenfalls heraus, dass ein großer Gewinn an Bindungsaffinität durch das Füllen von kleinen, aber klar definierten lipophilen Taschen mit unpo-

netzwerkes im Spalt zwischen der Substrat- und ATP-Bindungsstelle nicht erreicht werden.

3.2.2. *IspF – Mangel an energetischem Gewinn beim Binden an hochflexible, hydrophobe Taschen*

Die Hemmung von IspF, welches die Cyclisierung von 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol-2-phosphat (CDP-ME2P, Abbildung 7)^[76,93] katalysiert, stellte sich als noch anspruchsvoller heraus. Das Enzym ist ein C₃-symmetrisches Homotrimer, und die Substratbindung findet an den drei Proteinschnittstellen statt, wobei die Aminosäuren von zwei benachbarten Proteinen beteiligt sind. Wir entwarfen die ersten Inhibitoren, wie **25**, auf Basis der Cokristallstrukturen von CDP und 2C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat jeweils im Komplex mit EcIspF (PDB IDs: 1GX1 und 1JY8).^[94,95] Die Liganden sind Substratanaloga^[96] und enthalten eine Cytidindiphosphateinheit für die Bindung in Tasche III (Abbildung 9a) und eine fluoreszente Sonde, wie den Dansylrest (5-(Dimethylamino)naphthalin-1-sulfonyl) (in **25**, Abbildung 9b), für die Belegung der Tasche II.^[97] Es wurden zwei Cokristallstrukturen erhalten, die zeigten, dass die Tasche II hochflexibel ist und stark unterschiedliche Konformationen annehmen kann, was den limitierten Gewinn an freier Bindungsenthalpie durch die Bindung in dieser Tasche erklärt. Die außergewöhnlich hohe konformative Flexibilität der Schleife, welche die Gestalt der Tasche II prägt, wurde auch in zahlreichen anderen Kristallstrukturen beobachtet,^[95] einschließlich der kürzlich publizierten Struktur von PfIspF.^[98] Eine Überlagerung von zehn EcIspF-Strukturen, die in Abbildung 9c gezeigt ist, verdeutlicht die hohe konformative Flexibilität dieser Schleife.^[99] Das Binden an solche Taschen kann zu einem enthalpischen Gewinn führen, welcher aber oft durch den Verlust an Entropie durch das Ausfrieren einer von vielen Proteinkonformationen nahezu vollständig kompensiert wird. Im Gegensatz dazu ist die Tasche III über alle Strukturen hinweg hochkonserviert. Viele Anstrengungen wurden unternommen, um die Bindung in Tasche II zu verbessern, allerdings erfolglos.^[100] Andererseits konnten wir zeigen, dass die Riboseeinheit^[101] und der Diphosphatlinker in **25** energetisch günstig durch ein hydrophoberes Naphthalin-1,4-diyl-Verbindungsstück, wie in Ligand **26**, ersetzt werden kann. Es wird vermutet, dass Ligand **26** mit einem IC₅₀-Wert von 0.45 mM (EcIspF) mit seinen Enden in den beiden Tasche II und III bindet.^[100] Eine Steigerung des Inhibitionswertes ist aufgrund der konformativen Flexibilität von Tasche II und dem Fehlen von potenten Cytosinersatzverbindungen anspruchsvoll.

Für die neuesten Entwicklungen von Liganden aus anderen Laboratorien wurden daher andere Herangehensweisen gewählt. Ziel des Ligandendesigns war die Bindung an die Cytidinbindungsstelle (Tasche III) und die Koordination an das konservierte Zn²⁺-Ion (Abbildung 9d), welches durch drei Aminosäuren des Enzyms gebunden ist (Asp10', His12' und His44').^[102] Verbindungen **27** und **28** sind Beispiele für solche ditopen Binder, für die Cokristallstrukturen mit IspF von *Burkholderia pseudomallei* (Bp) gelöst werden konnten (Abbildung 9d). Der Bindungsmodus der Cytidineinheit der zwei Ligandentypen (Tasche II/III- und Tasche III/Zn²⁺-

Binder) ist identisch, wobei der Cytosinring drei H-Brücken mit der konservierten Peptidsequenz Met105 (N-H, Ec-Beschriftung)–Lys104 (Rückgrat-N-H)–Pro103 (C=O) (Abbildung 9a) eingeht. Die 2'-OH- und 3'-OH-Gruppen der Ribose stehen in Wechselwirkung mit der Seitenkette von Asp56'.

Die beste Bindungsaffinität gegenüber dem Zn²⁺-Kation, welches auch durch Kationen wie Mn²⁺ oder Co²⁺ ersetzt werden kann,^[95] wird durch aromatische Stickstoffdonoren erreicht, wie in einem fragmentbasierten Ansatz gezeigt werden konnte.^[102b,c] Dabei weisen die aromatischen N-Heterocyclen in **27** (K_D = 70 μM) und **28** (K_D = 180 μM) im Vergleich zu CDP ähnliche oder leicht schwächere Affinitäten gegenüber BpIspF^[102c] auf, welches mit einem K_D-Wert von 75 μM in der Tasche III und an das Zn²⁺-Ion von BpIspF bindet.^[102a] Während Verbindung **28** direkt an das Zink(II)-Ion koordiniert, bindet Ligand **27** an ein Wassermolekül an der vierten Koordinationsstelle (Abbildung 9d).

Im Großen und Ganzen konnten bisher noch keine effektiven Lösungen für die Bindung an IspF-Enzyme durch die Verwendung von strukturbasiertem Design gefunden werden. In der Cytidinbindungsstelle (Tasche III) kann am zuverlässigsten mit einem Gewinn an freier Bindungsenthalpie gerechnet werden, wohingegen die hochflexible Tasche II nicht für eine energetisch günstige Bindung von Liganden geeignet ist. Bindungsaffinität durch Koordination an das Zn²⁺-Ion kann verlässlich aufgebaut werden, allerdings bisher ohne durchschlagenden Erfolg in Bezug auf den Gewinn von Bindungsenergie. Das Screening großer Substanzbibliotheken scheint daher eine erstrebenswerte Lösung im Fall von IspF und dessen Hemmung zu sein. In der Tat konnten Thiazolo-[3,2-a]pyrimidine, wie Ligand **29**, durch Screenen einer Substanzbibliothek mit 40000 Molekülen als IspF-Hemmer der Enzyme von Pf und Mt mit IC₅₀-Werten im niederen mikromolaren Bereich identifiziert werden (Abbildung 9b).^[103] Zudem wurde eine gute, zellbasierte Aktivität gegenüber dem Pf-Stamm NF54 gefunden. Ihr Bindungsmechanismus ist bisher jedoch unbekannt.

3.2.3. *Enzyme mit sehr großen aktiven Zentren – Trypanothion-Reduktase*

Protozoische Parasiten der Familie der Trypanosomatidae weisen einen speziellen Thiolredoxmetabolismus auf, der sich von dem System der Säugetiere unterscheidet und das essentielle Flavoenzym Trypanothion-Reduktase (TR) umfasst.^[104] Mitglieder dieser Parasitenfamilie sind die Erreger der menschlichen Afrikanischen Trypanosomiasis, der Chagas-Krankheit und der verschiedenen Formen der Leishmaniose. Verbindungen, die in der Lage sind, die TR zu inhibieren, könnten als Therapeutika mit neuem Wirkmechanismus gegen diese zum Einsatz kommen.^[105]

Trypanothion-Reduktase ist charakterisiert durch ein großes, negativ geladenes aktives Zentrum mit Abmessungen von ungefähr 22 × 20 × 28 Å³ (Abbildung 10a).^[106] Die negative Ladung wird durch die Seitenkette des essentiellen Glu18 eingeführt, und es konnte nachgewiesen werden, dass dieses sowohl für die Substrat- als auch Inhibitorerkennung von Relevanz ist.^[107] Die erfolgreiche Hemmung der TR wird

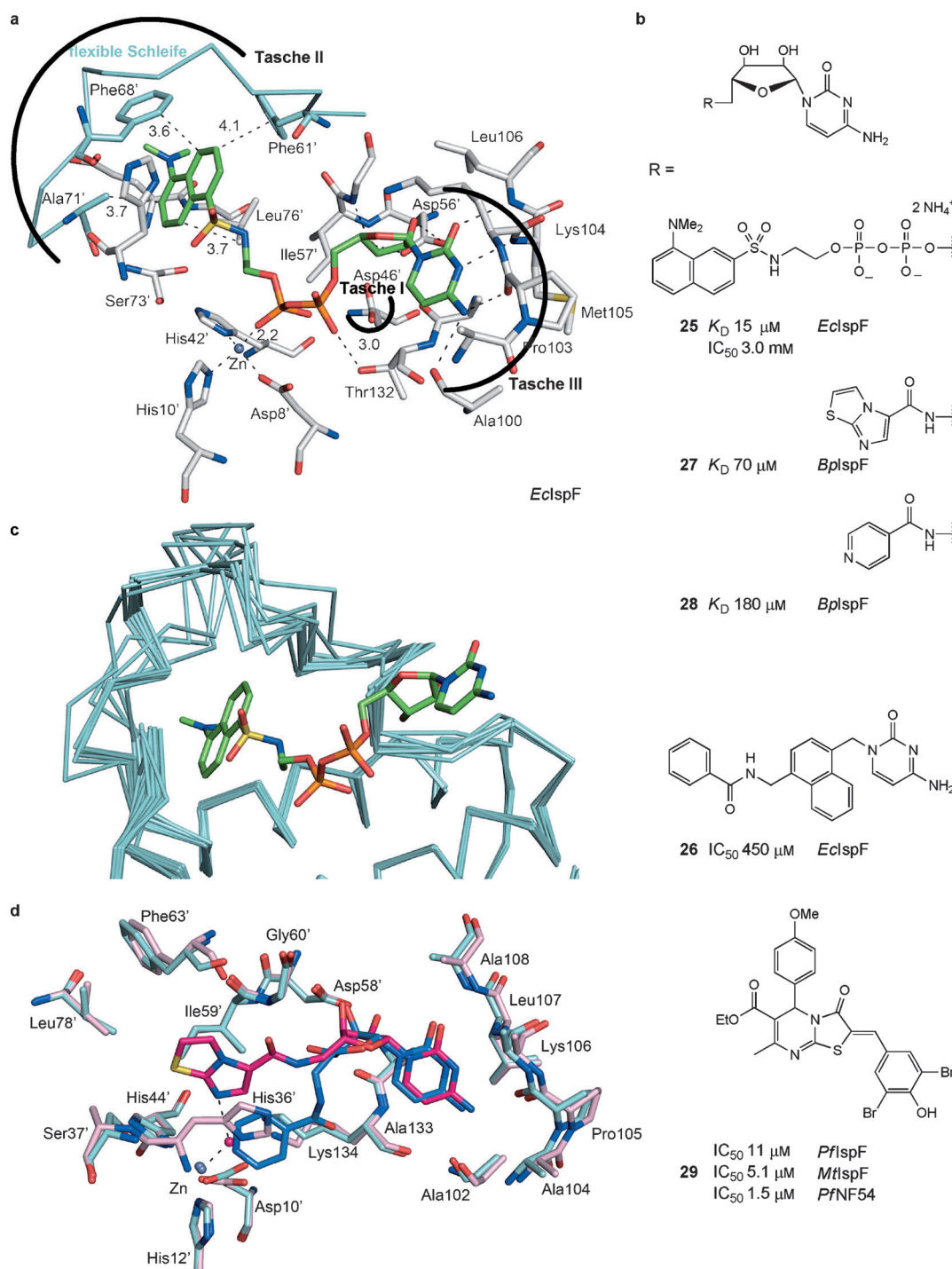


Abbildung 9. a) Cokristallstruktur des CDP-basierten Liganden **25** im Komplex mit *EclspF* (2.50 Å Auflösung, PDB ID: 2GZL).^[96] Die aromatischen Substituenten gehen π - π -Wechselwirkungen mit den Phe-Seitenketten in der flexiblen Schleife in Tasche II ein. Reste, die mit einem Strich markiert sind, gehören zu der zweiten Untereinheit des homotrimeren Enzyms. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, S gelb, C_{Ligand} grün, $C_{\text{flexible Schleife}}$ blaugrün. b) Ausgewählte *EclspF*-Inhibitoren. Ligand **26** umgeht die polare Ribose- und Phosphatbindungsstelle mit einem Naphthyl-Verbindungsstück. c) Überlagerung von zehn *EclspF*-Kristallstrukturen, die die hohe Flexibilität der Tasche II verdeutlicht (PDB IDs: 1GX1, 1JY8, 1KNJ, 1KNK, 1U3L, 1U3P, 1U40, 1U43, 1YQN, 2GZL).^[99] c) Bindungsmodus der Liganden **27** und **28** im Komplex mit *BplspF* (**27**: 2.05 Å Auflösung, PDB ID: 3KE1; **28**: 1.75 Å Auflösung, PDB ID: 3Q8H).^[102c] Farbgebung: $C_{\text{Ligand(27)}}$ „hot pink“, $C_{\text{Enzym(27)}}$ „old pink“, $C_{\text{Ligand(28)}}$ dunkelblau, $C_{\text{Enzym(28)}}$ blaugrün.

meist durch Liganden großer Molekülgröße erreicht, und auch die Ausbildung von Protein-Ligand-Komplexen mit einer 1:2-Stöchiometrie wird vielfach beobachtet.^[108] Ein Hochdurchsatzscreening identifizierte 1-(1-Benzo[*b*]thio-

phen-2-yl-cyclohexyl)piperidin (BTCP) mit einem Volumen von etwa 366 Å³ und seine Analoga als wirkungsvolle, niedermolekulare TR-Inhibitoren, die in der Lage sind, mit dem doppelt so großen Substrat Trypanthiondisulfid (TS₂)

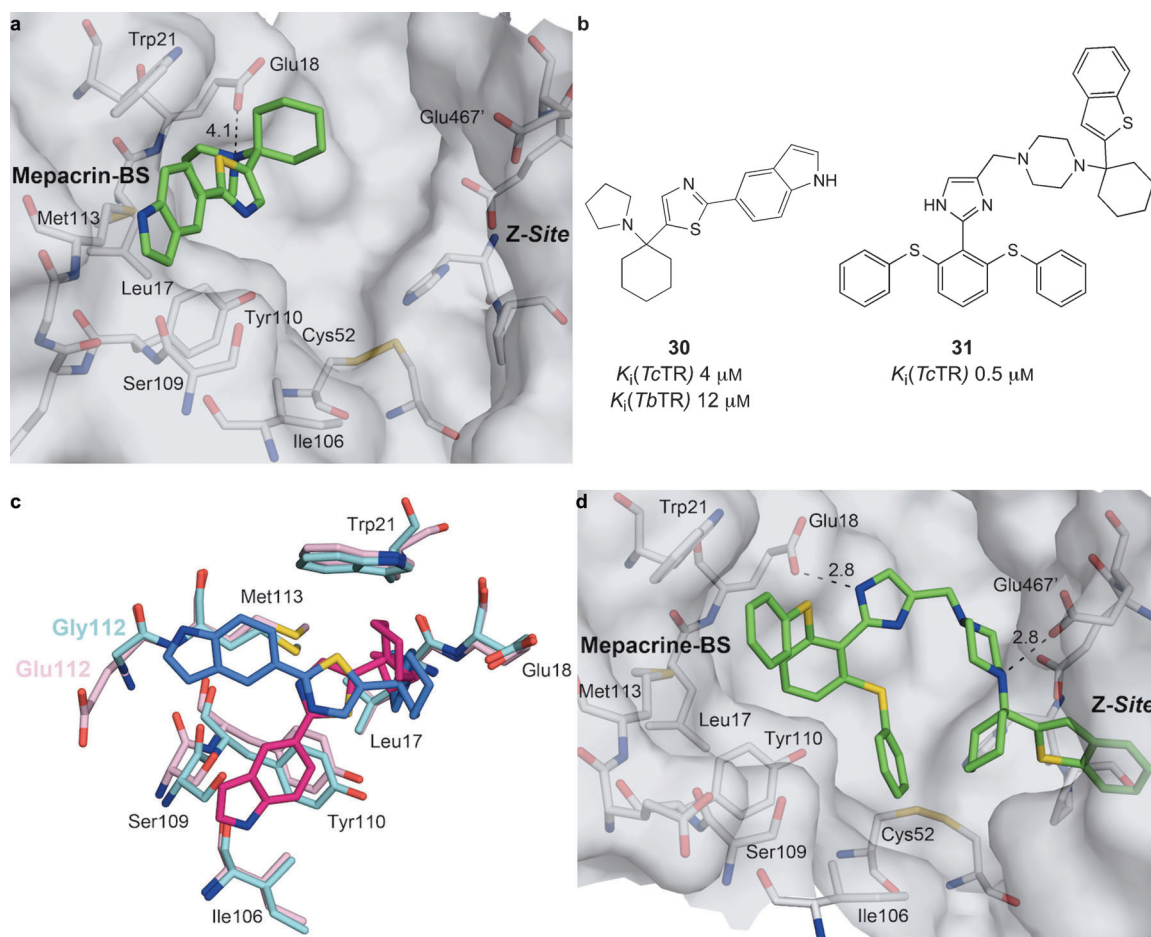


Abbildung 10. a) Übersicht über das große aktive Zentrum der *TbTR* im Komplex mit BTCP-Analoga **30** (2.50 Å Auflösung, PDB ID: 4NEV).^[109c] Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, S gelb, C_{Ligand} grün. b) Chemische Struktur des BTCP-Analogons **30** und des Diarylsulfid-basierten Liganden **31**. c) Überlagerung der Röntgen-Cokristallstrukturen von Inhibitor **30** im Komplex mit *Tb* und *TcTR* (2.80 Å Auflösung, PDB ID: 4NEV).^[109c] Farbgebung: *TcTR*: C_{Ligand} „hot pink“, C_{Enzym} pink; *TbTR*: C_{Ligand} dunkelblau, C_{Enzym} blaugrün. d) Bindungsmodus des Diarylsulfid-basierten Liganden **31** an *TcTR* vorhergesagt mit MOLOC (2.40 Å Auflösung, PDB ID: 1BZL).^[107b]

(817 Å³) um die Bindungsstelle zu konkurrieren.^[109] Auf diese Leitstruktur haben wir uns in unseren neueren Untersuchungen fokussiert.^[108d,109c]

Mithilfe von Mutationsstudien und Cokristallstrukturanalysen konnte am Beispiel des Inhibitors **30** gezeigt werden, dass diese Ligandenklasse an der hydrophoben Wand in der Mepacrinbindungsstelle^[110] bindet. Das protonierte, tertiäre Amin steht dabei über Coulomb-Wechselwirkungen mit Glu18 in Kontakt (Abbildungen 10a,b). Der Beitrag dieser Wechselwirkung zur Bindung wurde aufgrund der Mutationsstudie auf etwa $-0.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ geschätzt; mit einem N...O-Abstand von 4.1 Å ist eine ladungsunterstützte H-Brücke unwahrscheinlich.^[111] Cokristallstrukturen des Liganden **30** im Komplex mit TR der Spezies *Trypanosoma brucei* (*Tb*) und *T. cruzi* (*Tc*) zeigten, dass der Inhibitor leicht unterschiedliche Bindungsmodi, je nach bindender Spezies, aufweist ($K_i(\text{TcTR}) = 4 \mu\text{M}$; $K_i(\text{TbTR}) = 12 \mu\text{M}$) (Abbildung 10b,c). Die Biareinheit nimmt zwei unterschiedliche Orientierung ein: Wahrscheinlich aufgrund der Mutation von Gly112 in *TbTR* zu Glu112 in *TcTR* wird der Indolring in der *TcTR*-Struktur in eine neue Position, entfernt von der stark

solvatisierten Seitenkette von Glu112, gezwungen. Schlüsselwechselwirkungen zwischen Protein und Ligand in der *TbTR*-Struktur sind, neben der bereits erwähnten Coulomb-Ionenpaarung, C-H... π -Kontakte zwischen Trp21 und den Cyclohexyl- und Pyrrolidineinheiten, S... π - ($d(\text{S}_{\text{Met113}} \cdots \text{Thiazol}) = 4.0 \text{ Å}$), SC-H... π - ($d(\text{SCH}_{2\text{Met113}} \cdots \text{Indol}) = 3.7 \text{ Å}$) und S...S-Wechselwirkungen ($d = 4.1 \text{ Å}$) (Abbildung 10c). In der *TcTR*-Struktur geht der Indolring Dispersionswechselwirkungen mit Ile106 ($d(\text{C} \cdots \text{C}) = 3.9 \text{ Å}$) und kurze O-H... π -Kontakte ($d(\text{O} \cdots \text{C}) = 2.8 \text{ Å}$) mit der Seitenkette von Ser109 ein. Das große aktive Zentrum der TR erlaubt eine Vielzahl von möglichen Ligandenorientierungen – nicht nur für BTCP-Analoga^[108f] –, und daher wird der Bindungsmodus generell sehr leicht durch kleine strukturelle Veränderungen des Proteins und auch des Inhibitors beeinflusst. Erwähnenswert ist hierbei eine Studie von Patterson et al., die mithilfe von Cokristallstrukturanalyse zeigen konnten, dass eine Serie von Dihydrochinazolin-Inhibitoren in der Lage ist, eine konformative Veränderung der Seitenkette von Met113 zu induzieren, wodurch sich eine neue Tasche für die Liganden ausbildet.^[112] Diese konformationelle Änderung von

Met113 wurde weder in unseren Untersuchungen noch bei einer anderen bisher publizierten Kristallstruktur beobachtet.

Da die Bindungstasche der TR eher einer dem Lösungsmittel stark ausgesetzten Furche ähnelt als einer wirklichen Tasche, ist die Wechselwirkungsfläche zwischen Protein und Ligand vergleichsweise klein. Trotz der Tatsache, dass größere Moleküle weniger „wirkstoffähnlich“ sind, haben sie in diesem Fall den Vorteil, dass sie mehr Wechselwirkungen mit der Proteinoberfläche ausbilden und daher die Bindungsaffinität erhöhen. In der Tat gelangten wir durch die Konjugation unserer Diarylsulfid-basierten Inhibitoren^[107c,113] mit dem BTCP-Motiv zu Liganden, die TcTR im submikromolaren Bereich (K_i (**31**; TcTR) = 0.5 μ M) hemmen (Abbildung 10b).^[108d] Abbildung 10d zeigt einen Vorschlag für den Bindungsmodus von **31** im aktiven Zentrum, der durch Modellierung mit MOLOC entstanden ist, basierend auf der Cokristallstruktur von TS₂ im Komplex mit TcTR (PDB ID: 1BZL).^[107b] Die Ligandeneffizienz (LE) für **31** (LE 0.18 kcal mol⁻¹/Nichtwasserstoffatom) nimmt im Vergleich zu **30** (LE 0.30 kcal mol⁻¹/Nichtwasserstoffatom) ab, was in Übereinstimmung ist mit dem generellen Trend für größere Moleküle; in künftigen Ansätzen sollte dieser Wert verbessert werden.^[114] Noch nützlicher für die Medikamentenentwicklung ist wohl die kürzlich eingeführte lipophile Ligandeneffizienz (LLE;^[115] auch bekannt als lipophile Effizienz (LipE)),^[116] welche der Effizienz lipophiler Wechselwirkungen Rechnung trägt und oft invers proportional zu den pharmakokinetischen Eigenschaften wie Ausscheidung, Löslichkeit, Toxizität und Nebenwirkungen ist.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass bei der Anwendung des strukturbasierten Designs die Möglichkeit, dass verschiedene Bindungsmodi für Liganden in großen aktiven Zentren vorliegen, sorgfältig bedacht werden sollte. Um die Bindungsaffinität zu steigern, kann es bei solch großen aktiven Zentren angebracht sein, die Kontaktfläche zwischen Protein und Ligand über diejenige der üblichen, niedermolekularen Leitstrukturen hinaus zu erweitern.

3.2.4. Tiefe und starre Taschen von reduzierter Polarität – Faktor Xa

Das gut untersuchte Enzym Faktor Xa ist eine Serinprotease aus der menschlichen Blutgerinnungskaskade und Ziel mehrerer Antikoagulantien in therapeutischer Verwendung oder in klinischen Studien.^[117] Die wichtigsten Taschen des aktiven Zentrums in diesem Enzym sind die zwei orthogonal ausgerichteten S1- und S4-Taschen, die von allen potenten Liganden besetzt werden, wie beispielsweise die in unserem Labor hergestellten (\pm)-**32** (K_i = 280 nM) und (\pm)-**33** (K_i = 9 nM, Abbildung 11).^[118] Diese Taschen sind sehr formstabil und daher besonders gut für detaillierte molekulare Erkennungsstudien geeignet (Abbildung 11a). Die S1-Tasche wird von zwei planaren Peptidgerüstsegmenten ausgekleidet (Trp215–Gly216 und Gln192–Cys191–Ala190) und bietet Platz für die Einlagerung flacher, (hetero-)aromatischer Ligandenteile. Die S4-Tasche enthält einen aromatischen Kasten, welcher von den Seitenketten von Tyr99, Phe174 und Trp215 gebildet wird; die vierte Seite des Kastens ist offen und dem freien Lösungsmittel ausgesetzt. Unsere Liganden

besitzen ein tricyclisches Grundgerüst^[6b] und binden mit den orthogonalen Vektoren des Grundgerüsts in der S1- und S4-Tasche (Abbildung 11a,b).

Ein großer Beitrag zur Bindungsaffinität wird durch die Ausbildung von Kationen $\cdots\pi$ -Wechselwirkungen im aromatischen Kasten der S4-Tasche gewonnen.^[11a,d,14e,18b] Der Austausch der quartären Triethylammoniumkationen in (\pm)-**32** und (\pm)-**33**, welche im Zentrum des aromatischen Kastens binden (Abbildungen 11a,c), durch eine isosterische *tert*-Butylgruppe führte zu einer Verringerung der freien Bindungsenthalpie um 2.5–2.8 kcal mol⁻¹. Dieses Ergebnis quantifiziert den Anteil der Kationen $\cdots\pi$ -Wechselwirkung an der freien Bindungsenthalpie auf 0.8–0.9 kcal mol⁻¹ pro aromatischem Ring.^[118] Durch die schrittweise Demethylierung von (\pm)-**33** zu den entsprechenden protonierten tertiären, sekundären und primären Ammoniumionen wird die Bindungsaffinität um 1.2–1.8 kcal mol⁻¹ pro Demethylierungsschritt reduziert.^[118b,118b] Ähnliche Ergebnisse wurden von Dougherty^[11d] und Waters^[120] gefunden, die Kationen $\cdots\pi$ -Wechselwirkungen jeweils an Cyclophanen und Peptidmodellen von Haarnadelschleifen untersuchten.

Die konkave Subtasche S1 ist eine tiefe und starre Proteinkavität und weist unterschiedliche Polaritäten auf. Der Boden der Tasche wird durch die polaren Seitenketten von Asp189 und Tyr228 und die lipophilen Aminosäuren Ala190, Val213 und Gly226 charakterisiert (Abbildungen 11a,c). Das Phenylamidinium-Motiv von (\pm)-**32** wurde in vorangegangener Medikamentenentwicklungsforschung für die Bindung an das Carboxylat von Asp189 über geladene H-Brücken in der S1-Tasche verwendet.^[118a] Heutzutage wird es vielfach durch halogensubstituierte Heteroaromaten ersetzt, die ein Markenzeichen der zweiten Generation von Faktor Xa-Inhibitoren sind.^[121] Mit dem Ersatz des Phenylamidinium-Substituenten von (\pm)-**32** durch das Motiv eines Chlortheterobiaryls in (\pm)-**33** erreichten wir einen Gewinn an Bindungsaffinität von $-\Delta\Delta G$ = 2.0 kcal mol⁻¹ (Abbildung 11b).^[118b]

Der Chlorsubstituent in (\pm)-**33** leistet einen wesentlichen Beitrag zur Bindung: Die Entfernung dieses Substituenten reduziert die hemmende Wirkung um einen Faktor von 68.^[119,122] Die Analyse von Cokristallstrukturen zeigte, dass dieser Effekt mehrere Gründe hat und das Chloratom in allen potenten Inhibitoren mit Chlortheteroaryl-Substituenten eine ähnliche Position im Verhältnis zu Tyr228 einnimmt.^[118b,119] Der Vergleich mit der Apostruktur von Faktor Xa^[123] deutet darauf hin, dass zum einen ein Wassermolekül verdrängt wird und zum anderen günstige, orthogonale dipolare Wechselwirkungen mit dem phenolischen C-O-Dipol von Tyr228 aufgebaut werden (Abbildung 11c).^[23] Ebenfalls werden enge Van-der-Waals-Kontakte mit den lipophilen Aminosäuren Ala190, Val213 und Gly226 am Boden der Tasche realisiert. Die Bedeutung des Chlorsubstituenten, welcher ähnliche groß wie ein Wassermolekül ist, wurde auch in einer Studie von Kuhn et al. untersucht. Sie erklären besonders starke Ligandenbindungen mit dem Aufbau von mehrdimensionalen Wechselwirkungsnetzwerken.^[124] Dazu implementierten sie eine „Kleine-Welt-Netzwerk“-Beschreibung^[125] in eine empirische Scoring-Funktion, um den Effekt der lokalen Kooperation nichtkovalenter Wechselwirkungen auf die Bindung aufzudecken, und zeigten, dass die Bindungsaffinität

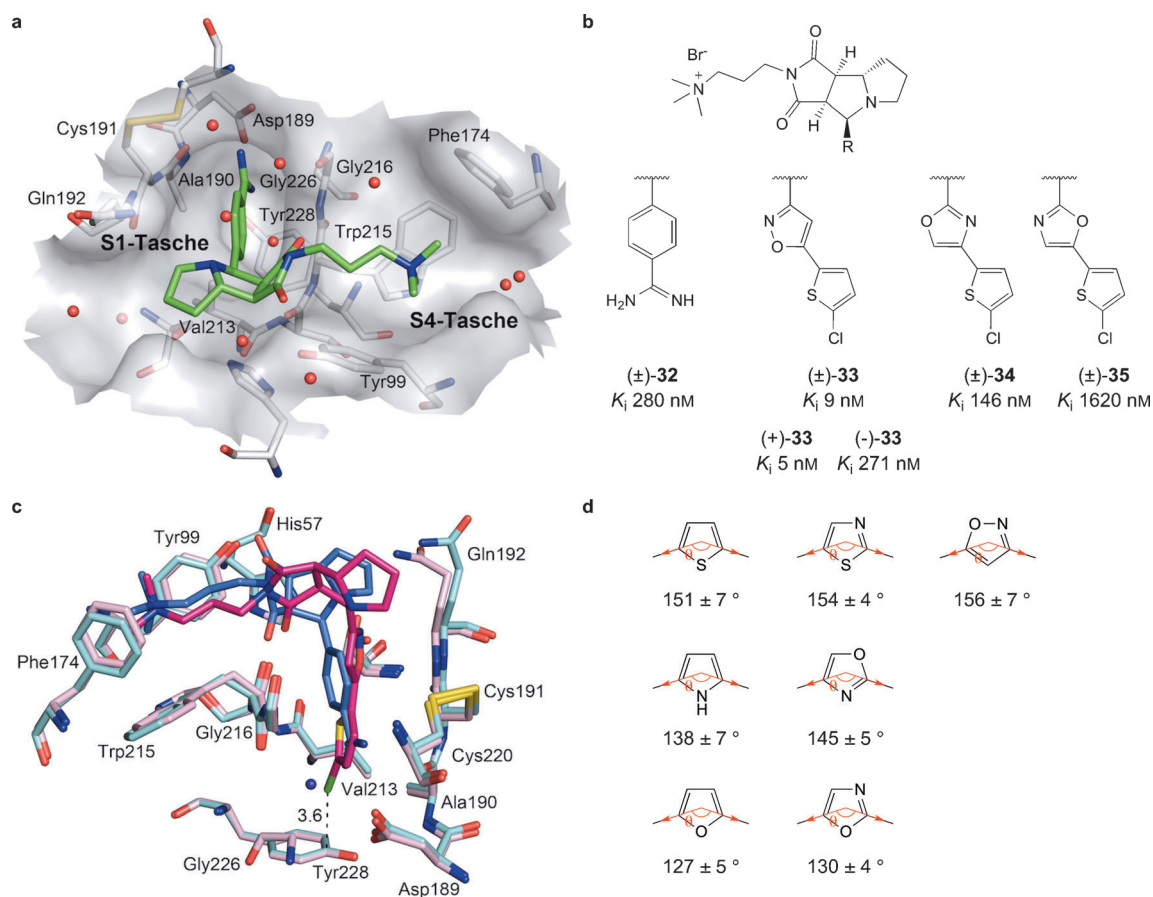


Abbildung 11. a) Röntgen-Cokristallstruktur des Phenylammonium-substituierten Liganden **32** im Komplex mit Faktor Xa (1.64 Å Auflösung, PDB ID: 2BOK).^[118a] Der Ligand besitzt eine L-Form, belegt die S1-Tasche mit der Phenylammoniumeinheit und bindet mit dem Ammoniumion im aromatischen Kasten, welcher durch Tyr99, Phe174 und Trp215 in der S4-Tasche gebildet wird. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, S gelb, C_{Ligand} grün. b) Ausgewählte Inhibitoren von Faktor Xa mit unterschiedlichen Substituenten für die tiefe und starre S1-Tasche. c) Überlagerung der Röntgen-Cokristallstrukturen der Inhibitoren **32** und **33** im Komplex mit Faktor Xa (**33**: 1.25 Å Auflösung, PDB ID: 2JXH).^[119c] Der Chlorsubstituent der Heterobiaryle verdrängt das strukturelle Wasser am Boden der S1-Tasche und bildet orthogonale, dipolare Wechselwirkungen mit Tyr228 aus. Farbgebung: C_{Ligand}(**33**) „hot pink“, C_{Enzym}(**33**) pink, C_{Ligand}(**32**)+Wassermolekül dunkelblau, C_{Enzym}(**32**) blaugrün. d) Mittelwerte und Standardabweichungen einer CSD-Suche nach den Austrittsvektoren der häufigsten, fünfgliedrigen heteroaromatischen Ringe.

nicht nur eine Summe der einzelnen Wechselwirkungen ist. Es wurde festgestellt, dass ein hoher Netzwerkscore oft für tief vergrabene Ligandenatome, die mehrere günstige Wechselwirkungen ausbilden, erhalten wird und dass das Weglassen oder der Austausch dieser Atome zu einer erheblichen Abnahme der Ligandenstärke führt. Solch ein hoher Netzwerkscore wurde ebenfalls für das Chloratom der Faktor Xa-Inhibitoren in der S1-Tasche erhalten. Dies bestätigt unser experimentelles Ergebnis, dass der Chlorsubstituent durch mehrere Wechselwirkungen mit dem Protein zur Bindung beiträgt.^[124]

Des Weiteren gewinnen die Inhibitoren (±)-**33–35** Bindungsenergie durch die Stapelung ihrer Heterobiarylsysteme auf den planaren Peptidgerüstsegmenten Trp215–Gly216 und Gln192–Cys191–Ala190 in der S1-Tasche (Abbildung 11c).^[119] Je nach Auswahl des fünfgliedrigen, heteroaromatischen Verbindungsstücks zwischen dem tricyclischen Grundgerüst und dem Chlorthienylring variieren die K_i -Werte über den Bereich von über zwei Größenordnungen. Die unterschiedlichen Konformationspräferenzen der beiden

heterocyclischen Ringe infolge der freien Elektronenpaarwechselwirkungen spielen dabei sicherlich eine Rolle.^[3,126] Zudem stießen wir aber auch auf die bemerkenswerten Unterschiede der Winkel zwischen den Austrittsvektoren der fünfgliedrigen heteroaromatischen Ringe.^[119] Eine CSD-Suche lieferte uns das unerwartete Ergebnis, dass die Mittelwerte der gefundenen Austrittsvektoren der häufigsten fünfgliedrigen, heteroaromatischen Ringe zwischen 127° und 156° variieren (Abbildung 11d, siehe auch Hintergrundinformationen, Abbildungen S1–S7). Fujita und Mitarbeiter konnten zeigen, dass diese Unterschiede in den Austrittsvektoren auch einen erheblichen Einfluss auf die strukturelle Präferenz von metallsupramolekularen, selbstorganisierten Anordnungen haben.^[127] Zusätzlich ist die Ausrichtung der Heteroaromatendipole gegenüber denen der Peptidbindungen, auf denen sie stapeln, von Bedeutung für die Bindungsstärke. Eine theoretische Studie kam zu dem Ergebnis, dass die antiparallele Orientierung der Dipole der Heteroaromaten und der stapelnden Peptidbindung deutlich gegenüber der parallelen Anordnung bevorzugt ist (siehe Abschnitt 4.3).^[128]

Schon früher wurde gezeigt, dass die Wechselwirkung der Dipole die Stapelung von substituierten Phenylringen auf Flavine beeinflusst.^[129]

Die Untersuchung der molekularen Erkennung im aktiven Zentrum von Faktor Xa,^[119] welches die beiden starren und konkaven Taschen S1 und S4 reduzierter Polarität beinhaltet, stellt ein gutes Beispiel dafür dar, wie der Austausch eines einzelnen Atoms einen enormen Einfluss auf die Bindungsaffinität haben kann. Der Ersatz von $\text{Me}_3\text{CCH}_2^-$ durch $\text{Me}_3\text{CCH}_2^-$ am Substituenten der S4-Tasche verringert die Bindungsaffinität um einen Faktor von bis zu 100 und die Substitution des Chloratoms am Thienylring, welches die S1-Tasche ideal ausfüllt, durch ein Proton um einen Faktor von 68. Darüber hinaus ergaben unsere Untersuchungen an diesen Liganden, dass überraschend große Unterschiede in den Austrittsvektoren der fünfgliedrigen, heteroaromatischen Ringe vorliegen. Eine theoretische Studie wurde eingeleitet, welche die Rolle der dipolaren Wechselwirkung in der π -Stapelung von Heteroaromaten auf Peptidbindungen herausstellte, und dies wird nun experimentell weiter untersucht.

3.2.5. Lipophile Tasche in Aspartatproteasen – Plasmepsine

Aspartatproteasen sind Schlüsselenzyme in der Wirkstoffentwicklung unterschiedlicher Therapeutika.^[130] Die Hemmung von Renin führte zu Antithrombotika,^[131] verschiedene HIV-Proteaseinhibitoren sind Teil der Mehrkomponenten-Arzneimitteltherapie gegen HIV-Infektionen,^[132] und β -Sekretaseinhibitoren haben den Schritt in die klinische Phase als Alzheimermedikamente geschafft.^[133] Im Kampf gegen die Malaria Parasiten *Pf* wurden die Aspartatproteasen Plasmepsin (PM) I, II und IV als potentielle Wirkstoffziele identifiziert.^[134]

Zusammen mit den Cysteinproteasen, den Falcipainen (siehe Abschnitt 3.2.6), sind die Plasmepsine am Abbau des menschlichen Hämoglobins beteiligt. Aufgrund überlappender Substratspezifität wird angenommen, dass alle von ihnen durch ein potentiell Antimalariamittel gehemmt werden müssen.^[135] Unter diesen Aspartatproteasen ist PM II das am besten, durch Röntgenkristallographie studierte Enzym.^[136] Das aktive Zentrum wird durch die hydrophile Aspartatdiade Asp34–Asp214 und eine eher große, hydrophobe Bindungsstelle, die durch die S1/S3-Tasche und die S1'-Tasche aufgespannt wird, charakterisiert (Abbildung 12a). Üblicherweise sind die Inhibitoren mit einem Übergangszustandsanalogon oder einem protonierten Ammoniumion an der katalytischen Asp-Diade verankert.^[135,137] Bur

und Mitarbeiter konnten zeigen, dass sogar zwei Moleküle mit einem C_{37} -Gerüst gleichzeitig im aktiven Zentrum gebunden werden können.^[137] Des Weiteren kann die Bindung von entsprechend funktionalisierten Inhibitoren zu der Ausbildung und Öffnung der sogenannten Schleifentasche führen (Abbildung 12a).^[137,138] Die Liganden induzieren zum einen eine erhebliche Verschiebung der langen und flexiblen Haarnadelschleife, die aus Lys72–Phe85 zusammengesetzt ist, und zum anderen die Rotation von Trp41, wodurch der Eingang in die lange, unpolare Tasche freigegeben wird (Abbildung 12a).

Unsere Gruppe führte protonierte, schwach basische *exo*-3-Amino-4-*endo*-arylsulfonyl-7-azabicyclo[2.2.1]heptane als Ankergruppe an der katalytischen Diade ein (Abbildung 12).^[138e] Dieses zentrale Gerüst ermöglicht die Installation von Substituenten, die im Komplex mit dem Enzym die Schleifentasche und die S1/S3-Tasche adressieren. Die resultierenden Liganden zeigen hohe inhibitorische Potenz mit IC_{50} -Werten für PM I, II und IV im nanomolaren Bereich.

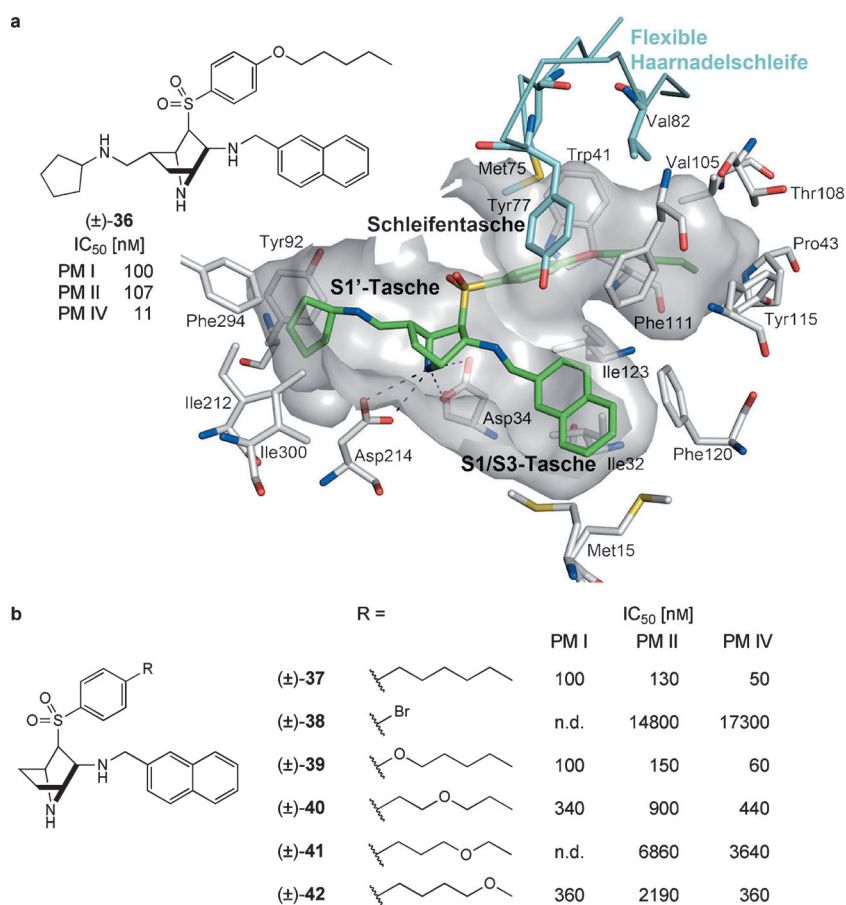


Abbildung 12. a) Bindungsmodus der *exo*-3-Amino-7-azabicyclo[2.2.1]heptan-basierten Liganden von *Pf*PM II, abgebildet durch Inhibitor **36** und modelliert mit MOLOC (1.56 Å Auflösung, PDB ID: 2BJU).^[137] Das einfach protonierte 7-Azabicyclo[2.2.1]heptan wird durch die katalytische Diade erkannt (Asp34, Asp214) und ermöglicht es, drei Vektoren zu installieren, die die S1', S1/S3- und die Schleifentasche adressieren können. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, S gelb, C_{Ligand} grün, $\text{C}_{\text{flexible Schleife}}$ blaugrün. b) Ausgewählte „Zweivektorenliganden“ von PM I, II und IV mit unterschiedlichen Schleifentaschensubstituenten. Die Einführung eines Ether-Sauerstoffatoms in die Alkylkette erniedrigt die Bindungsaffinität mit einer klaren Positionsabhängigkeit.

Durch Enantiomerentrennung der racemischen Liganden konnte eine beeindruckende chirale Erkennung der einzelnen Enantiomere gegenüber PM IV beobachtet werden, mit einem Unterschied in den IC_{50} -Werten von einem Faktor bis zu 3390.^[138e] Während sich verschiedene aromatische Reste für die Belegung der geräumigen S1/S3-Tasche eignen (eine ideale Ausfüllung der Tasche wurde bisher noch nicht erreicht), legten wir unseren Fokus auf die bestmögliche Ausfüllung der Schleifentasche. Die optimale Füllung dieser Kavität befolgt die 55 %-Regel von Mecozzi und Rebek,^[63,139] und *n*-Pentyloxy-, *n*-Hexyl- oder am besten *n*-Heptylketten in *para*-Position des Sulfonylarylrings führen zu den höchsten Bindungsaffinitäten. Die Substituenten binden spannungsfrei in einer all-*anti*-Konformation und füllen die lipophile Tasche vollständig aus.^[139] In einem früheren Aufsatz wurde die Suche nach der optimalen Volumenausfüllung der Schleifentasche durch vollständig vergrabene Alkylsubstituenten und deren Konformation im gebundenen Zustand bereits diskutiert.^[59] Hier berichten wir über neu gewonnene Daten der Liganden (\pm)-**36** bis (\pm)-**42** (Abbildung 12).

Vor kurzem entwickelten wir eine synthetische Methode, um einen zusätzlichen Vektor in der 5-*exo*-Position des Azanorbornangerüsts einzuführen, um so mit einem Substituenten in die S1'-Subtasche des aktiven Zentrums reichen zu können.^[140] Dies ist im Bindungsmodell des Liganden (\pm)-**36** dargestellt, welches auf der Basis der Röntgen-Cokristallstruktur von PM II im Komplex mit einem nichtpeptidischen Liganden entwickelt wurde (1.56 Å Auflösung, PDB ID: 2BJU)^[137] (Abbildung 12a). Die schmale S1'-Subtasche wird durch Phe294, Tyr92, Ile212 und Ile300 ausgekleidet. Die meisten der neuen „Dreivektorenliganden“, ähnlich (\pm)-**36**, hemmen die drei PM-Enzyme mit Aktivitäten im nanomolaren Bereich. Gegenüber PM I und II war die Bindungsaffinität generell nur leicht verändert oder schwach verbessert im Vergleich zu den „Zweivektorenliganden“ wie (\pm)-**37** und (\pm)-**39** (Abbildung 12b).^[139,140] Im Gegensatz dazu wurde die Hemmung von PM IV deutlich gesteigert, wie durch den Vergleich der IC_{50} -Werte von (\pm)-**36** (11 nM) und (\pm)-**39** (60 nM) gezeigt ist. 5-*exo*-Cycloalkylaminomethyl-Substituenten, wie in (\pm)-**36**, füllten die S1'-Tasche am besten. Röntgenstrukturdaten sind bisher jedoch nicht verfügbar.

In einer weiteren Studie mit den Liganden (\pm)-**37** bis (\pm)-**42** untersuchten wir den Effekt von polaren Atomen, die in die *n*-Alkylketten eingeführt wurden, welche die lipophile Schleifentasche ausfüllen.^[139b] Das Ausfüllen dieser Tasche ist für die Ligandenstärke essentiell. Wird der *n*-Hexylsubstituent von (\pm)-**37** durch ein Bromatom in (\pm)-**38** ersetzt, sinkt die Bindungsaffinität für PM II um einen Faktor von 110 und für PM IV um 350, was einem Verlust an freier Bindungsenthalpie von jeweils etwa 2.8 und 3.5 kcal mol⁻¹ entspricht.^[138e] Das Einfügen einer Etherfunktionalität in der Ligandenserie (\pm)-**39** bis (\pm)-**42** an unterschiedlichen Stellen der Alkylkette führte ebenfalls zu einem Verlust an Aktivität und zeigte eine klare Positionsabhängigkeit auf (Abbildung 12b).^[139b] Die verringerte Affinität kann durch konformative Effekte, höhere Desolvationskosten und Repulsion der freien Sauerstoffelektronenpaare durch die π -Oberfläche von Trp41 erklärt werden. Ein ähnlicher Verlust an Affinität wurde beobachtet, wenn Alkoholgruppen am Ende der Kette einge-

führt wurden.^[139b] Auch die Verwendung eines starren Verbindungsstücks innerhalb der Kette reduzierte die Bindungsaffinität; ähnliche Beobachtungen aus einer anderen Studie, die ebenfalls aus der Versteifung einer Ligandenstruktur resultierten, wurden durch Enthalpie-Entropie-Kompensationseffekte erklärt.^[141]

Schließlich haben wir in einem weiteren Ansatz zeigen können, dass die Hydrate von fünf- und sechsgliedrigen α,α -Difluorketonocycloalkanen, die mit Substituenten zum Füllen der S1/S3- und Schleifentasche dekoriert waren (ähnlich denen in (\pm)-**37**), gute Motive für Übergangszustandsanaloga sind, die an die katalytische Diade der Plasmepsine binden und vermutlich auch an andere polare aktiven Zentren von Enzymen.^[142]

Die Arbeit an den Plasmepsinen hat die empirische Regel von Mecozzi und Rebek zur optimalen Ausfüllung von klar begrenzten, lipophilen Taschen, wie hier der ligandeninduzierten Schleifentasche, weiter bestätigt. Die Einführung eines einzelnen Ethersauerstoffatoms in die Alkylkette, die diese Tasche füllt, führt zu einer erheblichen Verringerung der hemmenden Wirkung. Die Azanorbornannadel für die Bindung an die katalytische Asp-Diade wurde mit einem zusätzlichen Vektor zum Füllen der S1'-Tasche dekoriert, und ein beträchtlicher Gewinn an Bindungsenergie, insbesondere für PM IV, wurde erzielt. Der Entwurf von nichtpeptidischen Liganden für die ganze Familie vakuolarer Plasmepsine nur auf der Basis von PM II-Kristallstrukturen ist eindeutig machbar, sogar auch für Plasmepsine, bei denen bisher keine strukturelle Information zu der Konformation mit geöffneter ligandeninduzierter Schleifentasche vorliegt.

3.2.6. Reversible kovalent gebundene Inhibitoren von Cysteinproteasen

Die Cysteinproteasen Rhodesain und Falcipain-2 sind potentielle Wirkstoffziele in der Medikamentenentwicklung für vernachlässigte Krankheiten.^[143] Beide Proteine gehören zu der Cathepsin-L-ähnlichen Unterfamilie und werden unter anderem von den Erregern der menschlichen Afrikanischen Trypanosomiasis, *Tb* (Rhodesain), und der Malaria, *Pf* (Falcipain-2), für den Abbau von Wirtproteinen eingesetzt.^[144] Die Enzyme sind für die Parasiten lebensnotwendig, und es konnte gezeigt werden, dass Cysteinproteasehemmer in der Lage sind, *Tb* sowohl in Zellkulturen als auch in Tiermodellen abzutöten.^[145] Diese Ergebnisse wecken die Hoffnung, Chemotherapien mit neuartigen Wirkmechanismen für diese parasitären Krankheiten zu entwickeln.

Die aktiven Zentren der beiden Enzyme (Rhodesain und Falcipain-2) ähneln sich stark, und die meisten unserer Liganden sind gegen beide in vergleichbarer Weise wirksam.^[146–148] Hier beschreiben wir hauptsächlich unsere Ergebnisse für die Hemmung von Rhodesain. Das aktive Zentrum von Rhodesain kann am besten als eine dem Lösungsmittel ausgesetzte Spalte mit den drei Untertaschen S1, S2 und S3 beschrieben werden (Abbildung 13a). Die meisten literaturbekannten Rhodesain-Inhibitoren gehen eine reversible oder irreversible kovalente Bindung mit Cys25 der katalytischen Diade Cys25–His162 ein und hemmen so das Enzym.^[144a] Wir entschieden uns, in unseren Liganden eine

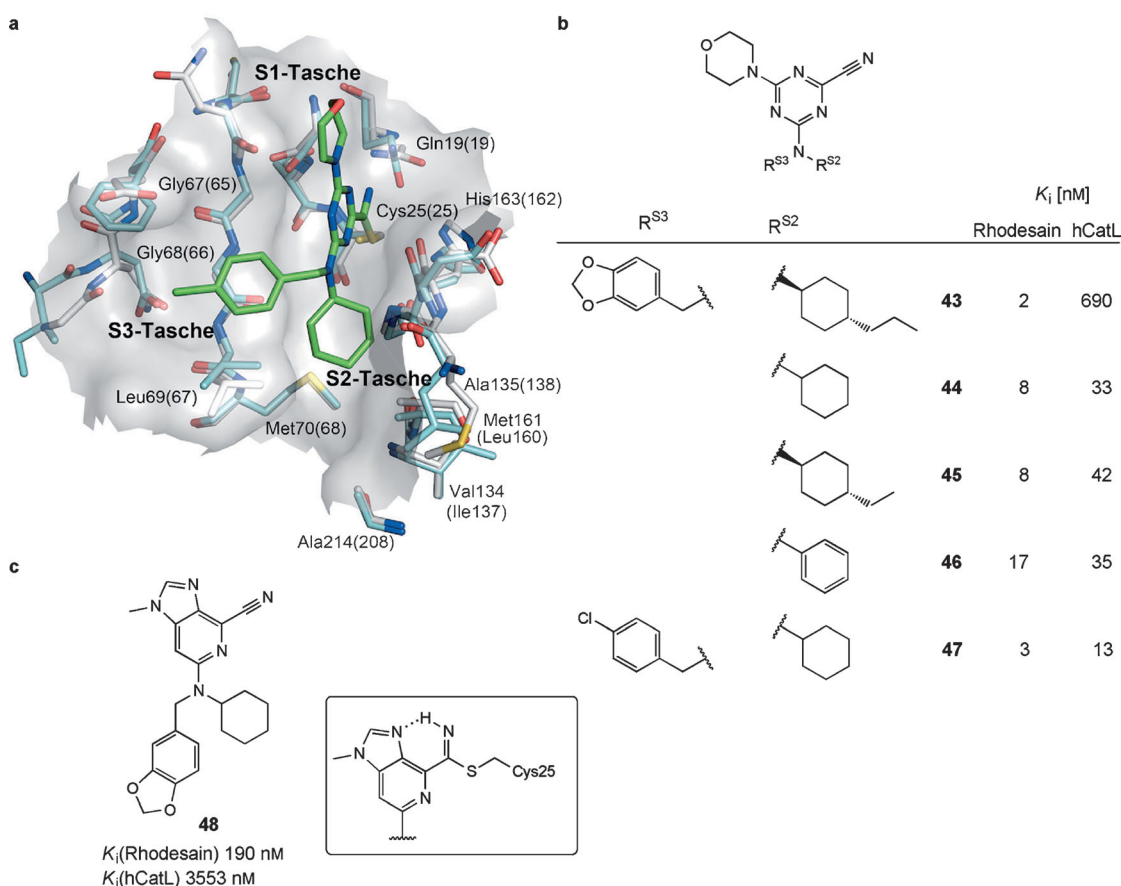


Abbildung 13. a) Überlagerung der Röntgen-Cokristallstrukturen von Triazinnitril **44** im Komplex mit hCatL (2.80 Å Auflösung, PDB ID: 4AXM)^[146d] und der Röntgenkristallstruktur von Tb-Rhodesain (1.16 Å Auflösung, PDB ID: 2P86).^[147b] Der Ligand bildet ein reversibles Thioimidat-Intermediat mit Cys25 und gewinnt Selektivität für Rhodesain über hCatL hauptsächlich durch die optimale Ausfüllung der S2-Tasche. Farbgebung: C_{Enzym(hCatL)} grau, O rot, N blau, S gelb, C_{Ligand} grün, C_{Enzym(Rhodesain)} blaugrün. Aminosäurennummerierung: hCatL (Rhodesain). b) Ausgewählte Triazinnitril-Inhibitoren von Tb-Rhodesain mit verschiedenen Substituenten, die die S2-Tasche adressieren. c) Chemische Struktur des Imidazopyridinnitril-Inhibitors **48** und Darstellung des Thioimidat-Intermediates stabilisiert durch intramolekulare H-Brücken. Die geringere Reaktivität der Nitrilgruppe von **48** reduziert die Toxizität und vermeidet unerwünschte Effekte, wie die Bindung an andere biologische Moleküle.

Nitrilgruppe zu verwenden, die mit der Seitenkette von Cys25 ein reversibel kovalentes Thioimidat-Intermediat bildet, welches durch das Oxyanionloch (Gln19) stabilisiert wird (Abbildung 13a). Unter Verwendung einer einfachen Synthese, die von Trichlor-1,3,5-triazin ausgeht, konnten wir eine Serie von Triazennitril-Liganden, wie **43–47**, herstellen (Abbildung 13b). Während ihre Aktivitäten herausragend waren, wurde ebenfalls eine signifikante Zytotoxizität gegen menschliche Zelllinien festgestellt, welche der hohen Kreuzreaktivität der aktivierten Nitrilgruppe zugewiesen wurde.^[146a,d] Daraufhin führten wir eine experimentelle und theoretische Untersuchung einer Serie von Aryl- und Heteroarylnitril-Liganden durch und beobachteten eine klare Abhängigkeit der Bindungsaffinität gegenüber Rhodesain von der Elektrophilie der Nitrilgruppe.^[146c] Die Bindungsaffinität variierte dabei über vier Größenordnungen. Die Zytotoxizität nimmt mit der Reaktivität der Kopfgruppe zu, was verdeutlicht, dass in der weiteren Optimierung zu einem potentiellen Wirkstoff übermäßig stark aktivierte Kopfgruppen vermieden werden müssen. Ein Weg, diese Zytotoxizitätsprobleme zu umgehen, wurde durch die Einführung der 1-Methyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-carbonitril-Kopfgruppe

in Verbindung **48** illustriert.^[146d] Diese Nitrilgruppe ist signifikant weniger reaktiv, und das entstehende kovalente Thioimidat wird durch intramolekulare H-Brücken stabilisiert. Vor allem ist diese Kopfgruppe auch gegenüber dem unspezifischen Testnukleophil L-Glutathion stabil.^[146d] Aktivitäten im nanomolaren Bereich konnten für den entsprechenden Liganden **48** ($K_i = 190$ nM) erhalten werden, und die Selektivität gegenüber dem strukturell verwandten menschlichen Cathepsin L (hCatL) wurde merkbar erhöht (Selektivitätsverhältnisse 19 (**48**) und 4 (**44**)). Darüber hinaus wurde eine vierfache Abnahme der Zytotoxizität von **48** gegenüber Triazin **44** in einem Test mit Skelettmeyoblasten von Ratten beobachtet.

Mithilfe der Modellierung mit MOLOC, basierend auf der Cokristallstruktur von Rhodesain im Komplex mit einem Vinylsulfoninhibitor (PDB ID: 2P86),^[147b] wurde die optimale Ausfüllung der Subtaschen erforscht, um eine Verbesserung der biologischen Aktivität der Liganden zu erreichen. Obwohl keine Cokristallstruktur unserer Inhibitoren im Komplex mit Rhodesain erhalten wurde, konnte der Bindungsmodus, wie er durch Modellierung vorausgesagt wurde, durch eine Röntgen-Cokristallstruktur von **47** im Komplex

mit hCatL bestätigt werden.^[146d] Die Überlagerung der Co-kristallstruktur mit der Kristallstruktur von Rhodesain (PDB ID: 2P86)^[147b] zeigt die hohe strukturelle Ähnlichkeit von Rhodesain und hCatL (Abbildung 13a).

Die flache, dem Lösungsmittel ausgesetzte S1-Tasche von Rhodesain toleriert eine Vielfalt an Substituenten, ohne dass die Bindungsaffinität stark beeinflusst wird.^[146a,d] Die S3-Tasche ist weiter, wird durch das flache Peptidsegment Gly65–Gly66 charakterisiert und weist eine klare Präferenz für aromatische Substituenten auf, da diese Amid $\cdots\pi$ -Stapelung mit diesem Segment eingehen können (siehe Abschnitt 4.3). Die Hauptanteile der Bindung und Selektivität werden in der unpolaren S2-Tasche gewonnen, welche durch Leu67, Met68, Ala138, Ile137, Leu160 und Ala208 ausgekleidet ist (Abbildung 13a).^[149] Diese gut konservierte, hydrophobe Kavität kann sowohl aromatische Ringe, wie in Ligand **46**, als auch Cycloalkane wie Cyclohexyl (Inhibitor **44**) beherbergen. Nur zwei Aminosäuren der S2-Tasche von Rhodesain (Ile137, Leu160) sind in hCatL (Val134, Met161) mutiert, und diese sind wichtig für die Entstehung der Selektivität. Ein eindrucksvolles Beispiel für den Effekt der idealen Ausfüllung der S2-Tasche auf die Selektivität ist die Verlängerung des 4-(*n*-Ethyl)-Substituenten in **45** zu einer 4-(*n*-Propyl)-Einheit im Ligand **43**, was die Bindungsaffinität gegenüber Rhodesain um einen Faktor von 4 und zur gleichen Zeit die Selektivität gegenüber hCatL um einen Faktor von 65 erhöht (Abbildung 13b).

Während die hohe Affinität der Triazenitril-Liganden hauptsächlich auf der Ausbildung des reversibel kovalenten Thioimidats beruht, führt das zusätzliche optimale Ausfüllen der S2- und S3-Taschen zu Rhodesain-Inhibitoren, die K_i -Werte im einstelligen nanomolaren Bereich besitzen. Durch das Adressieren der S1-Tasche kann nicht viel Bindungsenergie gewonnen werden. Imidazopyridinnitrile wurden als weniger reaktive Elektrophile identifiziert, wodurch unerwünschte Effekte, wie die Bindung an andere biologische Rezeptoren, vermieden werden können. Die Kombination dieser neuen Kopfgruppe mit optimierten Substituenten für die S2- und S3-Taschen könnte in Zukunft zu wirksamen Liganden mit günstigen physikochemischen Eigenschaften führen, die dann in In-vitro- und In-vivo-Studien weiter getestet werden.

4. Wechselwirkungen zwischen Dipolen: orthogonale Wechselwirkungen, Halogenbrücken und Amid $\cdots\pi$ -Stapelung

Die Identifizierung und das Verständnis schwacher intermolekularer Wechselwirkungen sind zweifelsfrei Schlüsselfaktoren für erfolgreiches strukturbasiertes Wirkstoffdesign. Sie werden gelegentlich übersehen, unterschätzt oder beim molekularen Modellieren einfach nicht erkannt.^[150] Einige dieser schwachen Wechselwirkungen können mit dem fundamentalen physikalischen Prinzip der Wechselwirkung zwischen Dipolen beschrieben werden. Obwohl dipolare Wechselwirkungen aus rein elektrostatisch anziehenden Kräften

stammen mögen, spielen beim genaueren Betrachten quantenmechanische Effekte eine zusätzliche Rolle. Nur durch die Kombination aus synthetischen Modellsystemen, computer-gestützten Methoden und der Bestätigung in biologischen Fallstudien kann ein vollumfängliches Verständnis dieser Wechselwirkungen gewonnen werden. Auf diesem Wege werden sie zu nützlichen und verlässlichen Werkzeugen für das Design und die Optimierung von Leitverbindungen in der medizinischen Chemie und im Pflanzenschutz.

In diesem Abschnitt berichten wir über drei verschiedene Wechselwirkungen zwischen Dipolen: orthogonale dipolare Wechselwirkungen, Halogenbrücken und Amid $\cdots\pi$ -Stapelungen (Abbildung 14). Jede dieser Wechselwirkungen liegt

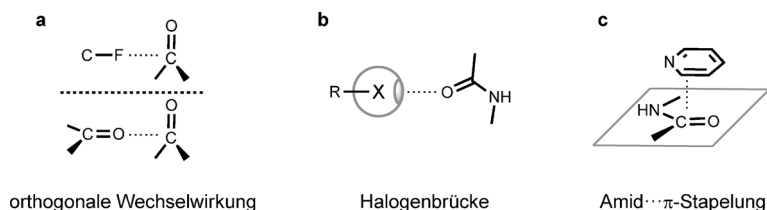


Abbildung 14. Verschiedene Wechselwirkungen von Dipolen, die in diesem Abschnitt behandelt werden: a) orthogonale dipolare Wechselwirkung, b) Halogenbrücken (XB) und c) Amid $\cdots\pi$ -Stapelung.

in einer für sich charakteristischen geometrischen Anordnung vor, was sie im Einzelnen zu attraktiven Themen für detaillierte Untersuchungen macht. So widmete sich ein Großteil unseres Forschungsprogramms in den letzten Jahrzehnten der Studie dieser schwachen Wechselwirkungen.

4.1. Orthogonale Dipolare Wechselwirkung

Innerhalb des breit gefächerten Spektrums der intermolekularen Wechselwirkungen stellen besonders die schwachen Wechselwirkungen eine besondere Herausforderung für ihre Identifizierung, Quantifizierung und maßgeschneiderte Anwendung dar.^[29,151] So wurde den Wechselwirkungen zwischen zwei in etwa orthogonal angeordneten Dipolen genauere Aufmerksamkeit geschenkt, wie wir bereits in den Jahren 2005 und 2008 in Aufsätzen berichteten.^[23,59] Eine CSD-Datenbankenerhebung aller bedeutenden Wechselwirkungen zwischen Bindungsdipolen ergab, dass die häufigste Anordnung bei geringen Kontaktdistanzen, speziell bei Van-der-Waals-Kontakt oder darunter, einer orthogonalen Geometrie der Bindungspartner entspricht. Dies ist vermutlich auf sterische Gründe zurückzuführen.^[23] Zwei spezielle Fälle waren für uns von besonderem Interesse: orthogonale C \cdots C=O- und orthogonale C-X \cdots C=O-Wechselwirkungen, welche beide für die Protein-Ligand-Komplexierung relevant sind.

Aus physikalisch-elektrostatischer Sicht kann durch eine senkrechte Anordnung zweier Dipole tatsächlich kein Energiegewinn erwartet werden, da die potenzielle Energie für die Wechselwirkung zwischen zwei Dipolmomenten vom Kosinus ihrer Winkel zueinander abhängt (siehe Hintergrundinformationen). Sicherlich sind elektrostatische Terme und Dis-

personsterme höherer Ordnung, mit zusätzlichen quantenchemischen Effekten, verantwortlich für die attraktive Wechselwirkung in solchen Dipolausrichtungen.

Frühe Kleinmolekül-Datenbanksuchen^[152] lieferten klare Hinweise für orthogonale $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkungen, welche zu allererst in Röntgenstrukturanalysen von Bolton und Mitarbeitern beobachtet und identifiziert wurden.^[153] Im Jahre 1968 wurde von Bent über diese Arbeiten ausführlich referiert.^[154] Allen et al. untersuchten im Jahre 1998 nochmals die $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkungen in einer CSD-Suche und schlossen daraus auf deren Relevanz für die Stabilisierung von Protein-Sekundärstrukturmotiven.^[152b] Rechnungen mit der Methode der intermolekularen Perturbationstheorie (IMPT) führten zu dem Schluss, dass die Energie der Wechselwirkung bei optimalem Abstand für das senkrechte $C=O \cdots C=O$ -Motiv ähnlich wie die von gescherten antiparallelen Motiven und etwa ein Drittel der Energie von vollständig antiparallelen Motiven ist.^[152b]

Jüngste CSD-Analysen von Raines und Mitarbeitern deckten auf, dass ein kleiner, aber dennoch signifikanter Grad an Pyramidalisierung aus der pseudodreieckigen $R_2C=O$ -Ebene beobachtet werden kann, wenn Halogenidionen mit der Carbonylgruppe in Kontakte unterhalb der Van-der-Waals-Distanz treten (Abbildung 15).^[155] Diese Geometrie-Veränderung kann einer Bürgi-Dunitz-artigen $n \rightarrow \pi^*$ -Wech-

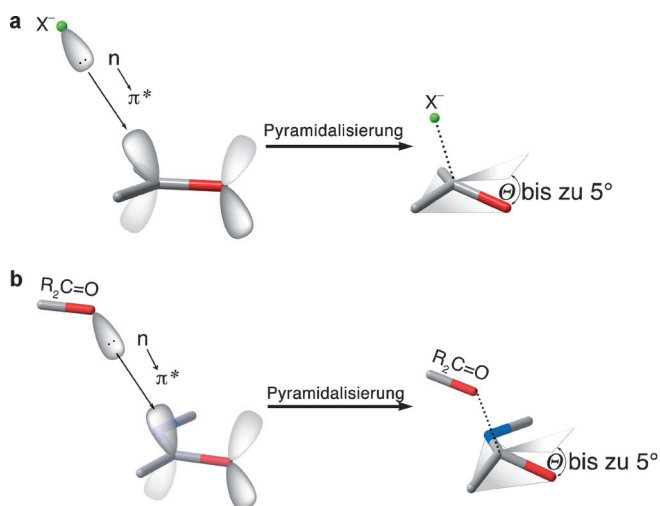


Abbildung 15. a) Halogenidionen und $R_2C=O$ -Carbonylfragmente gehen bei Kontakten unterhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien Bürgi-Dunitz-artige $n \rightarrow \pi^*$ -Wechselwirkungen ein, wobei es zur Pyramidalisierung hin zum Halogenidion kommt und Winkel θ bis zu 5° gemessen werden.^[155] b) Pyramidalisierung der $C=O$ -Amidgruppe in $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkungen als Ergebnis von $n \rightarrow \pi^*$ -Wechselwirkungen, mit Pyramidalisierungswinkeln θ von bis zu 5° .^[157]

selwirkung zugeordnet werden, wobei die einsamen Elektronenpaare (n) der Halogenidionen mit dem π^* -Orbital der Carbonylgruppe überlagern.^[156] Schon davor wurde durch die Gruppe um Raines in einer experimentellen Studie und in Datenbanksuchen der Einfluss solcher $n \rightarrow \pi^*$ -Wechselwirkungen auf Amid- $C=O \cdots C=O$ -Assoziationen bestätigt, welche in Protein-Sekundärstrukturen allgegenwärtig sind.^[157] Hier wurde ebenso bei Kontakten unterhalb der Van-

der-Waals-Distanz zwischen den wechselwirkenden Atomen eine Bürgi-Dunitz-artige Pyramidalisierung der Carbonylgruppe beobachtet.

Elektrostatisch-dipolare Wechselwirkungen und $n \rightarrow \pi^*$ -Wechselwirkungen schließen sich gegenseitig nicht aus, und ihr individueller Beitrag zur Gesamtwechselwirkungsenergie ist sicherlich eine Frage der Distanz und Geometrie der interagierenden Fragmente. Es kann davon ausgegangen werden, dass $n \rightarrow \pi^*$ -Wechselwirkungen einen wichtigen Beitrag bei Kontaktabständen unterhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien bilden, wohingegen elektrostatisch-dipolare Anteile bei Distanzen nahe oder oberhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien dominieren. Für orthogonale $C-F \cdots C=O$ -Wechselwirkungen erwarten wir dagegen nicht einmal für kurze Bindungslängen signifikante kovalente Bindungsanteile.

Die Quantifizierung orthogonaler $C=O \cdots C=O$ - und $C-F \cdots C=O$ -Wechselwirkungen in Lösung wurde über „chemische Doppelmutationszyklen“ mithilfe unimolekularer synthetischer Modellsysteme durchgeführt.^[158] Molekulare Torsionswaagen nach Wilcox, basierend auf dem Gerüst der Träger-Base,^[159] wurden als Modellsysteme ausgewählt, weil diese in der gefalteten Konformation eine senkrechte Anordnung der funktionellen Gruppen bereitstellen, wohingegen deren Wechselwirkung im ungefalteten Zustand nicht vorhanden ist (Abbildung 16).^[160] Aus einem „chemischen

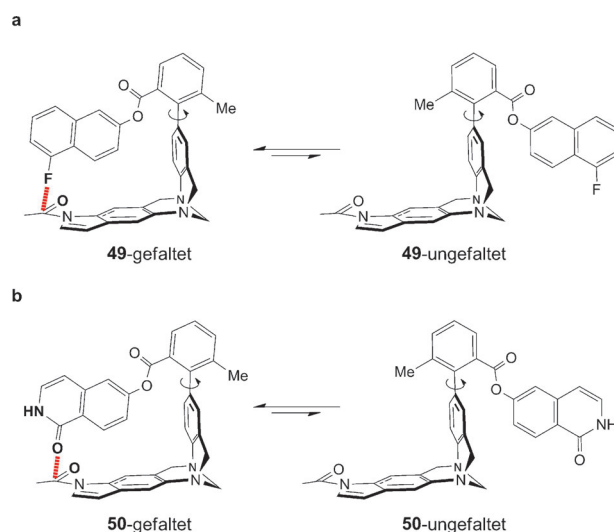


Abbildung 16. Torsionswaagen 49 und 50 nach Wilcox, welche für die Quantifizierung von a) orthogonalen $C-F \cdots C=O$ - und b) $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkungen unter Anwendung von chemischen Doppelmutationszyklen genutzt wurden.^[160,162]

Doppelmutationszyklus“ konnte mithilfe der Torsionswaage 49 (Abbildung 16a) die freie Enthalpie $\Delta(\Delta G)_{C-F \cdots C=O}$ der $C_{sp^2}-F \cdots C=O$ (Amid)-Wechselwirkung in verschiedenen unpolaren Lösungsmitteln bei 298 K zu -0.2 bis -0.3 kcal mol $^{-1}$ bestimmt werden,^[160] was mit früheren Ergebnissen gut übereinstimmt.^[161] Die Quantifizierung der orthogonalen Amid- $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkung in Benzol und halogenierten Lösungsmitteln wie $CHCl_3$ konnte ebenfalls über

einen „chemischen Doppelmutationszyklus“ unter Einsatz der Waage **50** (Abbildung 16b) erreicht werden.^[162] Der Beitrag der freien Enthalpie $\Delta(\Delta G)_{\text{Amid C=O}\cdots\text{C=O}}$ wurde experimentell zu $-0.7 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Benzol, 298 K) bestimmt, ein Wert, der im Bereich der Energetik von Stapel- und T-förmigen Wechselwirkungen zwischen aromatischen Ringen liegt. Die experimentell bestimmte, höhere freie Wechselwirkungsenthalpie für $\text{Amid-C=O}\cdots\text{C=O}$ im Vergleich zu $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-F}\cdots\text{C=O}$ (Amid) ist womöglich auf die höhere Polarisierbarkeit der C=O-Gruppe im Vergleich zum C-F-Fragment zurückzuführen; IMPT-Gasphasenberechnungen zeigten einen substantiellen Beitrag von Dispersionskräften zur orthogonalen Wechselwirkung zwischen Amid-Carbonylen. Während die attraktive Natur orthogonaler $\text{C-F}\cdots\text{C=O}$ - und $\text{C=O}\cdots\text{C=O}$ -Wechselwirkungen erstmals in vier verschiedenen „chemischen Doppelmutationszyklen“ bestätigt werden konnte, sollte man berücksichtigen, dass die molekularen Waagen nicht statisch fungieren und der Gewinn an freier Enthalpie $\Delta(\Delta G)$ für die orthogonalen Wechselwirkungen im Bereich der thermischen Energie kT bei Raumtemperatur liegt. Daher entsprechen die gemessenen Inkremente der freien Enthalpie nicht einer einzelnen Wechselwirkungsgeometrie, sondern eher einem Ensemble, in welchem die Kanten-Komponente auf der Flächen-Komponente herumwackelt.^[163]

Zwei orthogonale $\text{C=O}\cdots\text{C=O}$ -Wechselwirkungen sind in der Tat schon für eine definierte Selbstassoziation im Festkörper und höchst wahrscheinlich auch in unpolarem Lösungsmittel ausreichend.^[164] Die Kristallstruktur von α,α -Difluorcyclopentanon (\pm)-**51** zeigte ein Dimer, welches durch zwei solcher Wechselwirkungen mit kurzem Kontakt (3.05 Å) und senkrechter Anordnung (91°, Abbildung 17) zusammengehalten wird. Diese Selbstassoziation erfolgt mit ähnlicher Geometrie ebenfalls in Lösung, und die Dimerisierungskonstante in perdeuteriertem Cyclohexan (C_6D_{12} , 298 K) wurde über NMR-Verdünnungsstudien zu $K_{\text{dim}} = 17.5 \text{ M}^{-1}$ bestimmt.

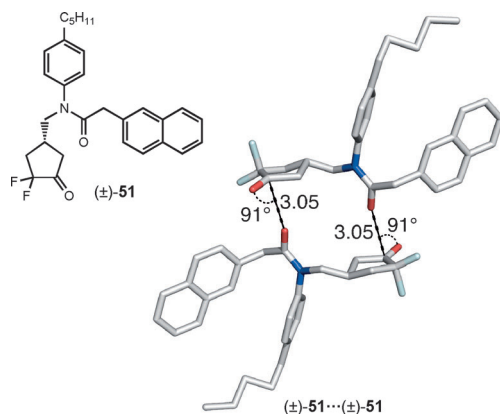


Abbildung 17. α,α -Difluorcyclopentanon (\pm)-**51** und seine Selbstassoziation in der kristallinen Phase über zwei orthogonale $\text{C=O}\cdots\text{C=O}$ -Wechselwirkungen des Motivs $(\text{R}_2\text{N})\text{C=O}\cdots\text{C}(\text{CF}_2)=\text{O}$. CSD-Code: 736727. Distanzen in Å. Für die Selbstdimerisierung von (\pm)-**51** in Lösung (perdeuteriertes Cyclohexan, C_6D_{12} , 298 K) konnte eine Dimerisierungskonstante von $K_{\text{dim}} = 17.5 \text{ M}^{-1}$ durch ^1H -NMR-Verdünnungsstudien gemessen werden. Farbgebung: C grau, O rot, N blau, F türkis.

Außer der Tatsache, dass organisch gebundenes Fluor in Wirkstoffleitverbindungen fast alle pharmakologischen Adsorptions-, Verteilungs-, Metabolisierungs- und Ausscheidungsprozesse („ADME-Eigenschaften“) beeinflusst, wurde dessen Beitrag zur Verbesserung von Affinitäten und Selektivitäten durch $(\text{Ligand-F})\cdots\text{Enzym}$ -Wechselwirkungen nur neuerdings wahrgenommen.^[165] Die Signifikanz solcher Wechselwirkungen für biologische Systeme wurde mithilfe eines „Fluoriscans“^[166] an Thrombin-Inhibitoren aufgedeckt. Hierbei wurde die Fluorophilie/Fluorophobie der aktiven Tasche für diese Trypsin-ähnliche Serinprotease der Blutgerinnungskaskade kartographisch erfasst.^[22a,167] Cokristallstrukturanalysen konnten zeigen, dass die potentesten Liganden einen 4-Fluorphenylring enthalten, um die hydrophobe D-Tasche zu füllen, wobei die C-F-Gruppe in Wechselwirkung mit dem Rückgrat-C=O von Asn98 in eine annähernd orthogonale Geometrie tritt, mit einem $\text{F}\cdots\text{C=O}$ -Winkel von 96° bei einem Abstand von 3.5 Å. Dieser Fluorscan von Thrombin-Inhibitoren wurde bereits ausführlich in früheren Aufsätzen behandelt.^[59,165a]

Eine schöne biologische Fallstudie, welche die beiden orthogonalen $\text{C-F}\cdots\text{C=O}$ - und $\text{C=O}\cdots\text{C=O}$ -Wechselwirkungen gleichzeitig beschreibt, liefern die Komplexe eines Typ-II-Kinasehemmers der zweiten Generation, Nilotinib (Handelsname Tassigna, Abbildung 18a). Dieser Wirkstoff findet Anwendung bei der Behandlung von Philadelphia-Chromosom-positiver chronischer myeloischer Leukämie.^[168,169] Der Inhibitor bindet dabei an die Bcr-Abl-Tyrosinkinase und stabilisiert deren DFG-Schleife ($\text{Asp381-Phe382-Gly383}$) in ihrer „out-Konformation“ („DFG-out“). Die Cokristallstruktur (2.21 Å Auflösung, PDB ID: 3CS9)^[170] zeigte drei Typen von Protein-Ligand-Wechselwirkungen auf, welche die DFG-Schleife und ihre benachbarte Aminosäure Ala380 (Abbildung 18b,c) einbinden. Das Amid-C=O des Liganden geht eine „klassische“ H-Brücke zum N-H-Rückgrat von Asp381 ein. Zwei zusätzliche Wechselwirkungen sind jedoch von dipolarer Natur: Das Rückgrat-C=O von Asp381 geht eine dipolare Wechselwirkung ($d(\text{O}\cdots\text{C})$ 3.4 Å, Winkel ($\text{O}\cdots\text{C=O}$) 85°) mit dem Amid-C=O des Inhibitors ein. Es kann sehr wohl angenommen werden, dass es sich dabei um eine gewisse Kooperativität zwischen den zwei unterschiedlichen Wechselwirkungen (H-Brücken und dipolare Wechselwirkung) handelt, welche beide die C=O-Gruppe des Liganden einbeziehen. Eine dritte Wechselwirkung zeigt sich als kurze dipolare Wechselwirkung einer C-F-Bindung aus der CF_3 -Gruppe des Liganden mit dem Rückgrat-C=O von Ala380 in Nachbarschaft zur DFG-Schleife ($d(\text{F}\cdots\text{C})$ 2.9 Å, Winkel ($\text{F}\cdots\text{C=O}$) 85°). Dieses Beispiel belegt einmal mehr das vorzüglichen Zusammenspiel von multiplen molekularen Erkennungsprozessen, was zur Bildung eines kooperativen Wechselwirkungsnetzwerks führt, wie von Kuhn et al. beschrieben.^[124] In Anbetracht der großen Vielzahl der in der pharmazeutischen Industrie verfolgten Kinase-Targets besteht kein Zweifel, dass es viele weitere Beispiele gibt, in denen Amidbindungen in DFG-Schleifen, aber auch in Triphosphat-bindenden Glycin-reichen P-Schleifen^[79] erfolgreich über orthogonale Wechselwirkungen mit dipolaren Gruppen wie C-X (X = F, Cl), CN, Amid-C=O und anderen adressiert wurden.

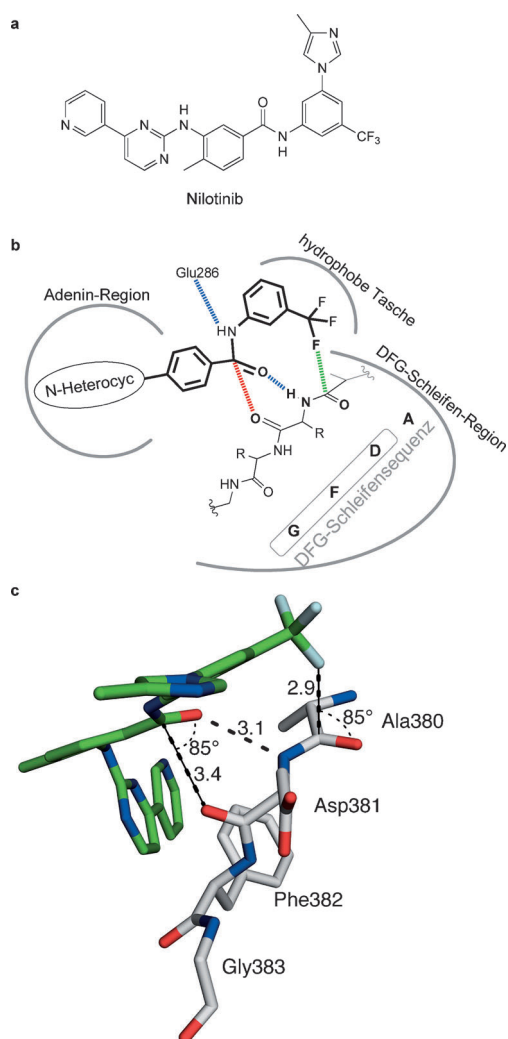


Abbildung 18. a) Struktur von Nilotinib.^[170] b) Wechselwirkungen von Nilotinib mit der DFG-Schleife.^[168b, 170] Orthogonale dipolare C=O...C=O- (rot) und C-F...C=O-Wechselwirkungen (grün), gleichzeitig mit Wasserstoffbrücken (blau), bilden ein Enzym-Ligand-Netzwerk für eine effiziente Komplexierung. c) Cokristallstruktur des Inhibitors Nilotinib mit Bcr-Abl Tyrosin-Kinase, welche kurze Kontakte für die oben diskutierten orthogonalen dipolaren Wechselwirkungen aufzeigt. Distanzen in Å. 2.21 Å Auflösung, PDB ID: 3CS9.^[170] Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, F türkis, C_{Ligand} grün.

4.2. Halogenbrücken

4.2.1. Eine kurze Einführung zu Halogenbrücken

Scatter-Plots sind für C-X...C=O-Wechselwirkungen, wie sie in der CSD gefunden werden, recht aussagekräftig.^[23] Wenn man den X...C=O-Winkel gegen die X...C-Distanz aufträgt, kann man für X = F eine klare Präferenz für orthogonale Wechselwirkungen bei kürzeren Kontaktdistanzen beobachten (siehe Abschnitt 4.1). Dies ist jedoch weniger der Fall für X = Cl, Br, und I. Zusätzlich nimmt der Anteil von kürzeren C-X...C=O-Wechselwirkungen unterhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien mit zunehmender Größe des Halogenatoms zu. Hier kommen attraktive Wechselwirkungen zwischen dem elektronegativen Sauerstoffatom und dem Halogenatom ins Spiel. Die Anordnung von C-X-Frag-

menten, welche auf ein Sauerstoffatom in Carbonylgruppen gerichtet sind, repräsentiert ein wichtiges Beispiel der sogenannten Halogenbrücken.^[171]

Der Ausdruck „Halogenbrücken“, abgekürzt als XB, beschreibt die attraktive Wechselwirkung zwischen der elektrophilen Region eines Halogenatoms in einem molekularen Baustein und einer nukleophilen Region in einem weiteren, oder dem gleichen, molekularen Baustein, wie durch die IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) im Jahr 2013 definiert.^[172] Der halogenierte Teil wird als XB-Donor und der elektronenliefernde Partner als XB-Akzeptor definiert (in Analogie zu „Wasserstoffbrücken-Akzeptor“). Diese Wechselwirkung, in welcher sich die Elektronendichte einer Lewis-Base einem elektronegativen Halogenatom nähert, widerspricht zunächst der eigenen Intuition. Jedoch kann man die Wechselwirkung gut nachvollziehen, wenn man sich die anisotrope Ladungsdichteverteilung um das (höhere) Halogenatom betrachtet: Entgegengesetzt der C-X-Bindungsachse bildet eine positive elektrostatische Potentialfläche („σ-Loch“ genannt) den elektrophilen Teil am Halogenatom (Abbildung 19a).^[173] Im Verständnis der Molekülorbitaltheorie (MO-Theorie) entspricht diese elektrophile Region an der Außenkappe des Halogenatoms dem antibindenden σ^* -Orbital der C-X-Bindung.^[174] In diesem Kontext können Halogenbrücken als eine $n \rightarrow \sigma^*$ -MO-Wechselwir-

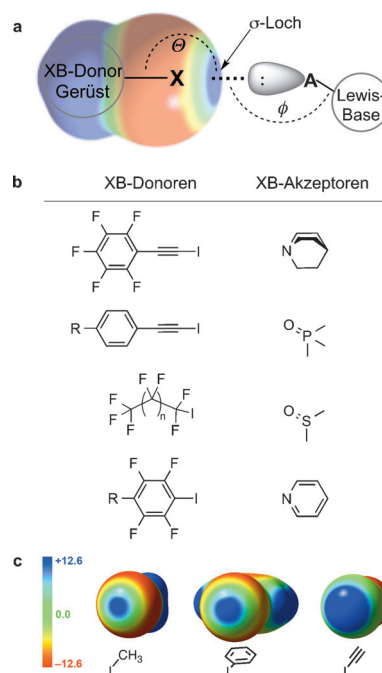


Abbildung 19. a) Schematische Halogenbrücke (XB) mit elektrostatischer Potentialoberfläche, die das σ-Loch an der äußeren Kappe des Halogenatoms X zeigt (blau: positiv, rot: negativ). b) Typische XB-Donor- und XB-Akzeptor-Motive, welche bereits in Lösung studiert wurden.^[191a, b, 192] R: verschiedene elektronenschiebende und -ziehende Gruppen. c) Molekulare elektrostatische Potentialoberflächen (MEPs) von Iodmethan, Iodbenzol und Iodacetylen, die die ansteigende Größe des σ-Lochs durch Herabsetzen des Hybridisierungsgrades (Skala in kcal mol⁻¹) aufzeigen. Geplottet bei 0.001 Elektronen Bohr⁻³, berechnet auf dem DFT:B3LYP/DGDZVP-Theorieniveau.

kung interpretiert werden, in welcher das einsame Elektronenpaar (n) der Lewis-Base mit dem antibindenden σ^* -Orbital entlang der C-X-Bindungsachse in Wechselwirkung tritt. Eine solche Interpretation zeigt auch den Ladungstransfercharakter von XB. Der tatsächliche Ursprung der Halogenbrücken, in welchem Umfang sie von elektrostatischer Natur oder orbitalkontrolliert sind, hängt von der individuellen Struktur der Verbindungen im XB-Komplex ab. Diese grundlegende Fragestellung wird aktuell umfassend diskutiert.^[175,176]

Halogenbrücken werden für die höheren Halogene in der Reihenfolge $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$ verstärkt und können normalerweise nicht für Fluor beobachtet werden. Dieser Trend kann durch die zunehmende Polarisierbarkeit von F nach I innerhalb der Gruppe VIIA im Periodensystem veranschaulicht werden.^[176a] Elektronenziehende Substituenten am XB-Donor verstärken die Bindung, was mit einem erhöhten σ -Loch-Potential erklärt werden kann.^[176b,c] Über Halogenbrücken wurde in den letzten Jahren in einer Vielzahl von verschiedenen Aufsätzen berichtet, was im Folgenden kurz zusammengefasst werden soll.

Der erste Strukturbeweis für Halogenbrücken mittels Röntgenstrukturanalyse wurde von Hassel und Hvoslef im Jahre 1954 erbracht. Sie studierten die Cokristalle von zweiatomigem Brom mit 1,4-Dioxan, welche einen unerwartet kurzen $\text{Br}\cdots\text{O}$ -Kontakt von 2.71 Å mit einem $\text{Br}\cdots\text{Br}\cdots\text{O}$ -Winkel von 178° aufwiesen.^[177] Die Signifikanz der XB für die molekulare Erkennung auf dem Gebiet des Kristall-Engineering wurde später systematisch von Metrangolo und Resnati untersucht.^[171c,178] Gerüste mit höheren Halogensubstituenten, welche mit den freien Elektronenpaaren anderer Atome wechselwirken können, wurden von Desiraju als zuverlässige Synthone für vorhersagbare Festkörperstrukturen identifiziert.^[179] Goroff und Mitarbeiter nutzten die Kraft der Halogenbrücken in beeindruckender Weise für den Entwurf einer Cokristallstruktur, in welcher Diiodbuta-1,3-diin in einer Matrix aus Bis(cyano)oxalamid als XB-Akzeptor ausgerichtet wurde. Dieser Festkörper zeigte eine spontane topochemische Polymerisation des Diiodbuta-1,3-diins zu Poly(diioddiacetylen) in einer Kristall-zu-Kristall-Umsetzung.^[180] Priimagi und Mitarbeiter haben eine anwendungsorientierte Studie mit XB auf amorphen Polymerfilmen durchgeführt. Zunächst wurde halogeniertes Azobenzol über XB an rotationsbeschichtete Lewis-basische Polymere, wie beispielsweise Poly(4-vinylpyridin), assoziiert und nachfolgend eine optische Oberflächenrelief-Vergitterung („optical surface-relief grating“) vorgenommen. Diese supramolekularen Polymerschichten gehen lichtinduzierte Eigenschaftsänderungen ein, welche gut mit der XB-Donorstärke der halogenierten Azobenzole korrelieren.^[181]

Detaillierte Studien aus dem Feld der computergestützten theoretischen Chemie führten zu diversen Modellen für XB,^[173–176,182] und Parametrisierungen von XB für Kraftfelder sind zurzeit in Entwicklung.^[183]

Die Anwendung von Halogenbrücken für den Aufbau von supramolekularen Systemen und Architekturen ist ein aktuelles Thema, und mehrere Aufsätze beschreiben die bisherigen Fortschritte auf diesem Gebiet.^[184] Rebek und Mitarbeiter publizierten eines der ersten XB-basierten supra-

molekularen Systeme, welches aus einem spaltenförmigen Rezeptor mit einer Perylendiimid-Plattform besteht und ein höheres Halogen (Cl, Br) in die Spalte orientiert. Das System bindet Phenazin über $\text{N}\cdots\text{X}$ -Halogenbrücken und π -Stapelung, was durch UV/Vis-Bindungstitration verfolgt werden konnte.^[185] Der erwartete Trend, dass die XB-Donorstärke von Br größer als die des Cl ist, wurde im experimentellen System bestätigt, was sich in einer Verdoppelung der Assoziationskonstante (Benzol, 298 K) widerspiegelt. In der Entwicklung von Anionenrezeptoren wurden Halogenbrücken als zusätzliche verlässliche Erkennungsmotive eingearbeitet. Die negative Ladung der Anionen wird typischerweise in direkter Nähe zu mehreren Organohalogenen stabilisiert, deren σ -Loch zu den Anionen ausgerichtet ist.^[186] Zu den supramolekularen Architekturen höherer Komplexität, in welchen XB zur molekularen Erkennung beiträgt, zählen Rotaxane, Catenane und makrocyclische Wirte, wobei deren Synthese über XB-Templateffekte erleichtert werden kann.^[187] So wurde kürzlich ein selektiver, fluoreszenzlöschender Anionensensor, der ausschließlich auf XB-Erkennungsprozessen basiert, in wässriger Lösung beschrieben.^[187d] Die elektrophile XB-Katalyse, mit bahnbrechenden Entwicklungen durch Huber und Mitarbeiter, ist zurzeit in Entwicklung. Dabei wird die σ -Loch-unterstützte Aktivierung von Substraten durch verschiedene halogenierte Katalysatoren ausgenutzt.^[188]

Die Quantifizierung von XB-Bindungsstärken konnte für mehrere XB-Motive in Lösung durchgeführt werden.^[189–192] Dennoch sind systematische und umfangreiche Untersuchungen noch immer selten.^[189b,c,191,192] Bei diesen Arbeiten dient die NMR-Bindungstitration, neben den heute seltener verwendeten IR- und UV/Vis-spektroskopischen Methoden, als eine moderne und präzise Technik zur Bestimmung der Assoziationskonstanten. Im Jahr 1983 bestimmten Laurence und Mitarbeiter die Bindungsstärke mehrerer Iodalkine mit verschiedenen XB-Akzeptoren mittels IR-spektroskopischer Methoden. Sie fanden dabei eine gute Korrelation zwischen Bindungsstärke und den elektronischen Eigenschaften der Substituenten, welche direkt am C(2)-Atom der 1-Iodethinyl-Einheit gebunden sind.^[189b,c] Stark elektronenziehende Substituenten lieferten höhere Assoziationskonstanten. Taylor und Mitarbeiter sowie Cabot und Hunter verwendeten später NMR-Bindungstitrationen, um die Assoziationskonstanten für die Bindung an verschiedene XB-Akzeptoren zu bestimmen (Abbildung 19b), wozu perfluorierte Iodaromaten und Iodalkane als XB-Donoren eingesetzt wurden.^[191a,b] In unpolaren Lösungsmitteln wie Cyclohexan reichen die freien Bindungsenthalpien für perfluorierte aromatische und aliphatische XB-Donoren von -0.2 bis $-2.1 \text{ kcal mol}^{-1}$, je nach XB-Akzeptorstärke. Abbildung 19b zeigt typische Beispiele von XB-Donoren und XB-Akzeptor, mit abfallender XB-Donor/Akzeptor-Stärke von oben nach unten, die in den genannten Studien behandelt wurden. Zusätzlich sammelten Taylor und Mitarbeiter wertvolle Erkenntnisse über kompetitive Lösungsmittelleffekte auf die Stärke von XB. Es stellte sich dabei heraus, dass protische polare Lösungsmittel (wie *i*PrOH) die Assoziation um eine Größenordnung im Vergleich zu unpolaren Lösungsmitteln (z.B. Cyclohexan, Benzol) verringern.^[191b]

In einer kürzlichen Arbeit untersuchten wir (Iodethinyl)benzole als XB-Donoren und fanden, dass deren XB-Bindungsvermögen so groß wie jenes der perfluorierten Iodverbindungen ist (Abbildung 19b, obere zwei XB-Paare).^[192] Daraus kann geschlossen werden, dass das σ -Loch-Potential mit dem Hybridisierungsgrad des C-Atoms am XB-Donor angepasst und erhöht werden kann. Niedrigere Hybridisierungsgrade n in $C(sp^n)$ -X ergeben stärkere XB, wie deutlich aus unseren experimentellen Ergebnissen und aus Modellen des elektrostatischen Oberflächenpotentials abgeleitet werden kann (Abbildung 19c). In diesem Zusammenhang haben wir auch erstmals experimentell gezeigt, dass die Ausbildung einer Halogenbrücke enthalpiegetrieben ist. Diesem Enthalpieterm steht ein großer entropischer Verlust entgegen, welcher jedoch konstant bleibt, wenn man die XB-Donorstärke mithilfe von verschiedenen Substituenten an der *para*-Position des aromatischen Rings verändert. Die Stärke der XB-Akzeptoren, die mit den (Iodethinyl)benzol-Derivaten wechselwirken, ordnet sich in folgender Reihenfolge an: Pyridin < C=O < S=O < P=O < Chinuclidin.^[192]

Leistungsfähige Halogenbrücken müssen mehrere geometrische Voraussetzungen erfüllen. Das strikte Kriterium der XB für den C-X...Y-Winkel θ (siehe Abbildung 19a), der im Bereich von 165° bis idealerweise 180° liegen muss, wurde aus CSD- und PDB-Datenbankanalysen ermittelt.^[171a,b,179,193] Halogenbrücken werden dann am effektivsten gebildet, wenn die Distanz zwischen Halogenatom X und dem Lewis-basischen Akzeptoratom unterhalb der Summe der Van-der-Waals-Radien liegt.^[175c,d] Im Falle von XB zu Carbonylgruppen kann der Winkel ϕ ($X\cdots O=C$) (Abbildung 19a) zwischen 90° und 180° variieren.^[175c,193] Anders ausgedrückt wechselwirkt die Carbonylgruppe mit Halogenbrücken-Donoren in ähnlicher Weise wie mit Wasserstoffbrücken-Donoren. In beiden Fällen definieren die Annäherungswege der XB- oder HB-Donoren an den Carbonylsauerstoff einen Kegel, der mit der Spitze in Richtung der C=O-Bindung zeigt, und sind nicht auf die Orientierung zu den freien Elektronenpaaren des Sauerstoffs limitiert.^[194]

4.2.2. Halogenbrücken in biologischen Umgebungen

Die geometrischen Charakteristika von XB in biologischen Systemen wurden von Auffinger, Ho und Mitarbeitern in einer ausführlichen PDB-Suche analysiert.^[193] Sie berichteten dabei von einer hohen Häufigkeit an C-X...O-Kontakten der halogenierten Liganden zu Amidrückgrat-Carbonylgruppen. Wie erwartet, werden alle aus dem Bereich des organischen Kristall-Engineerings, der CSD-Suchen und der computergestützten Studien bekannten Kriterien der XB-Wechselwirkung auch in biologischer Umgebung erfüllt, jedoch mit einer etwas breiteren Streuung. Die Rolle der Halogenbrücken für strukturbasiertes Wirkstoffdesign wurde durch zusätzliche systematische Datenbanksuchen weiter herausgestellt.^[195] Dabei wurden auch die Bindungsmodi zu-

gelassener halogenierter Medikamente analysiert, begleitet von einer umfangreichen theoretischen Beschreibung von XB-geeigneten Proteinumgebungen.

Über die erste systematische Studie von Halogenbrücken in Protein-Ligand-Komplexen berichtete unsere Gruppe in Kooperation mit Wissenschaftlern von F. Hoffmann-la Roche im Jahr 2011.^[25] Eine umfangreiche Ligandenbibliothek (über 65 Verbindungen) wurde für die Untersuchung der Charakteristika von Halogenbrücken zu der Rückgrat-Carbonylgruppe von Gly61 in der S3-Tasche von hCatL (siehe Abschnitt 3.2.6) zum Einsatz gebracht.^[25a] Diese Inhibitoren binden reversibel-kovalent an den katalytischen Cys25-Rest in der S1-Tasche unter Bildung von Thioimidaten, welche durch das Oxyanion-Loch der Protease stabilisiert werden (Abbildung 20a; siehe auch Abschnitt 3.2.6). Wasserstoffbrücken zum Rückgrat-NH von Gly68 und zur C=O-Gruppe von Asp162 werden gebildet. Das Füllen der polaren S3-Tasche wird durch Amid- π -Stapelung eines Arylringes auf das flache Peptid-Rückgrat Gly67–Gly68 erreicht (siehe Abschnitt 4.3). Die in der Studie untersuchte Halogenbrücke

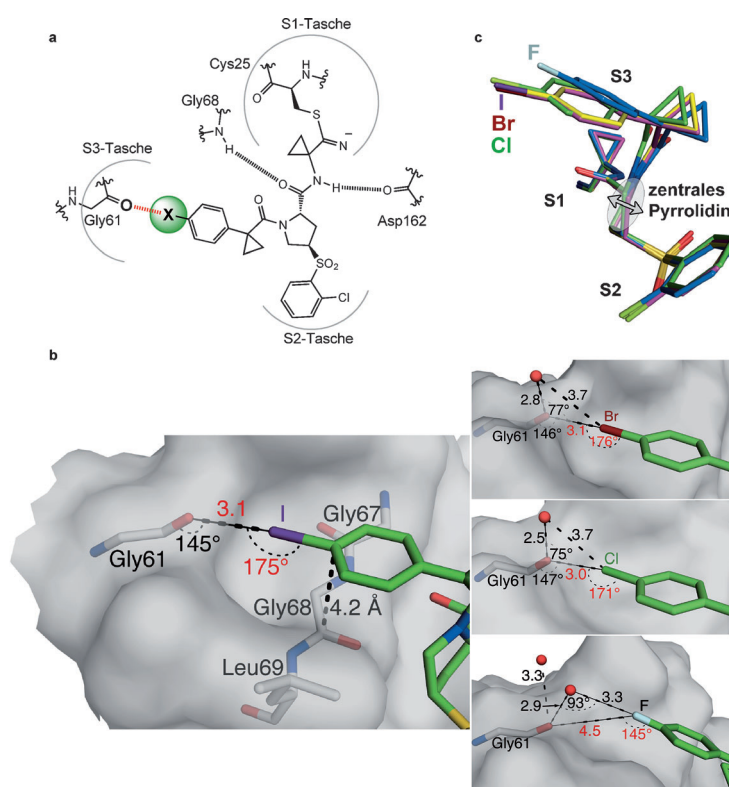


Abbildung 20. a) Bindungsmodi der reversibel-kovalenten Inhibitoren im aktiven Zentrum von hCatL. Die Halogenbrücke des 4-Substituenten zu der C=O-Gruppe von Gly61 in der S3-Tasche ist rot hervorgehoben. b) XB-Geometrien, wie sie in den Cokristallstrukturen von I-Derivat (+)-52f, Cl-Derivat (–)-52d und Br-Derivat (+)-52e vorkommen. Der Bindungsmodus des F-Derivats (–)-52a ist auch gezeigt. Distanzen in Å, XB-Distanzen $X\cdots O=C$ und XB-Winkel $C-X\cdots O(=C)$ sind rot dargestellt. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, I violett, Cl grün, Br braun, F türkis, C_{Ligand} grün. c) Überlagerung der vier halogenierten Liganden (–)-52a, (–)-52d, (+)-52e und (+)-52f aus deren Cokristallstrukturen mit hCatL. Kleinste Änderungen in der Faltung („pucker“) des 5-Rings der zentralen Pyrrolidin-Einheit (grauer Pfeil) justieren die Ausrichtung des *para*-substituierten Phenylrings in die S3-Tasche. Farbgebung: C_{Ligand} abhängig vom Liganden, O rot, N blau, I violett, Cl grün, Br braun, F türkis.

wird zu der Rückgrat-Carbonylgruppe des Gly61 in der S3-Tasche gebildet (rote gestrichelte Linie in Abbildung 20a). Die biologischen Affinitäten (IC_{50}) wachsen beim Ändern des 4-Arylsubstituenten von H (0.29 μ M) zu Cl (0.022 μ M), Br (0.012 μ M) und zu I (0.0065 μ M) stark an (Tabelle 1). Dagegen

Tabelle 1: Inhibitoren **52a–f** von hCatL mit verschiedenen Substituenten an der 4-Position des Phenylrings mit gemessenen Inhibitionswerten (IC_{50}) und Verteilungskoeffizienten (logD). Im Fall von X = Cl, Br, I erhöht sich durch XB die Bindungsaffinität zum Enzym.^[25a]

Verbindung	X	IC_{50} [μ M]	logD	PDB ID	Aufl. [\AA]
(–)- 52a	F	0.34	2.36	2XU4	1.12
(–)- 52b	H	0.29	2.11	–	–
(–)- 52c	CH ₃	0.13	2.57	2XU5	1.60
(–)- 52d	Cl	0.022	2.73	2YJC	1.14
(+)- 52e	Br	0.012	2.96	2YJ2	1.15
(+)- 52f	I	0.0065	3.23	2YJ8	1.30

bleibt der IC_{50} -Wert fast unverändert, wenn man vom unsubstituierten Inhibitor (–)-**52b** (X = H, 0.29 μ M) zum fluorsubstituierten (–)-**52a** (X = F, 0.34 μ M) wechselt. In einem Kontrollexperiment mit Inhibitor (–)-**52c** mit einem Methylsubstituenten (X = CH₃), welcher der Größe von Cl am meisten ähnelt, konnte die Bindungsaffinität nicht deutlich erhöht werden. Wurde der Cl-Substituent an der 2- oder 3-Position des aromatischen Rings oder in einem 2-Thienylring *ortho* zum Schwefelatom angebracht, verringerte sich der kritische XB-Winkel C–X \cdots O (idealerweise 180°) zu viel kleineren Werten (139° in der Cokristallstruktur des Thienyl-Liganden, 0.9 \AA Auflösung, PDB ID: 2XU3).^[25a] Dementsprechend kommt es zu einem starken Verlust an Bindungsaffinität, um einen Faktor von 28.

Cokristallstrukturen für die Cl- ((–)-**52d**), Br- ((+)-**52e**) und I-substituierten Liganden ((+)-**52f**), allesamt in der gleichen Raumgruppe $P2_12_12_1$, bestätigten einerseits den gleichen Bindungsmodus dieser Inhibitoren und die Reihenfolge der gemessenen IC_{50} -Werte (Tabelle 1 und Abbildung 20b).^[25b] Eine klare C=O \cdots X-Halogenbrücke konnte in allen drei Cokristallen bestätigt werden, was durch kurze C=O \cdots X-Kontakte zwischen 3.0 und 3.1 \AA belegt ist (89–92 % der Summe der Van-der-Waals-Radien von O und X). Die lineare Anordnung der Halogenbrücken spiegelt sich in den gemessenen O \cdots X–C-Winkeln im Bereich von 171–176° wider. In scharfem Gegensatz dazu zeigt das F-Atom in (–)-**52a** im Komplex mit hCatL einen großen F \cdots O-Abstand von 4.5 \AA , wobei ein Wassermolekül eine Brücke zur C=O-Gruppe ausbildet. Dies weist auf eine ungünstige Wechselwirkung hin, wenn ein Organofluoratom nahe zum Sauerstoffatom einer C=O-Gruppe ausgerichtet wird. Dennoch ist der restliche Teil des Liganden (–)-**52a** in der gleichen Position und Geometrie innerhalb der S1- und S2-Tasche eingebettet. Diese präzise Justierung des halogenierten Phenylrings in der S3-Tasche wird durch kleine Änderungen der

Faltung („pucker“) des Pyrrolidinrings im Zentrum des Ligandengerüsts bewirkt (Abbildung 20c).

Zusätzliche Wassermoleküle, welche die C=O-Gruppe von Gly61 in der lösungsmittel-exponierten S3-Tasche mit nahezu orthogonalen (H₂O) \cdots O(=C) \cdots X-Winkeln von 75° bzw. 77° solvatisieren, wurden in den Komplexen der Cl- ((–)-**52d**) und Br-Derivate ((+)-**52e**) beobachtet. Hingegen zeigt das I-Derivat ((+)-**52f**) kein Wassermolekül nahe zum XB-Motiv, was wahrscheinlich an der Größe des Iods liegt (Van-der-Waals-Radius: 1.98 \AA). Es ist bemerkenswert, dass starke XB in der optimalen Geometrie ausgebildet werden können, während gleichzeitig die Solvatation des C=O-Amids in der gleichen Geometrie wie im Apoenzym bewahrt werden kann (1.92 \AA Auflösung, PDB ID: 4AXL).^[146d] Solche geometrisch begünstigten Anordnungen, welche eine Wasserstoffbrücke nahezu senkrecht zu der Halogenbrücke aufweisen, wurden bereits von Ho und Mitarbeitern in einer Datenbankrecherche in vielen Cokristallstrukturen von Protein-Ligand-Komplexen aufgefunden.^[196] Protein-Ligand-Strukturen, in welchen H- und X-Brücken einen gemeinsamen Amid-Sauerstoff teilen, sind ziemlich eng um einen durchschnittlichen D \cdots O \cdots X-Winkel [D = elektronegativer H-Brückendonator (O, N, S), X = Cl, Br, I] von 88° verteilt (Bereich etwa von 75° bis 90°, Abbildung 21).

Zusätzlich zeigen Ab-

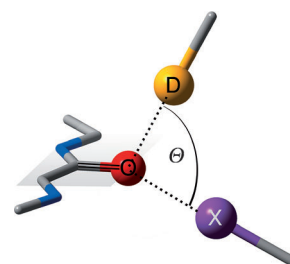


Abbildung 21. Orthogonale Orientierung der Halogenbrücken und Wasserstoffbrücken zu einem Peptid-C=O-Rest, wie sie in einer PDB-Suche für Protein-Ligand-Komplexe gefunden wurden. Typische X \cdots O \cdots D-Winkel θ am Amid-C=O-Carbonylfragment mit einer geteilten Wechselwirkung mit D–H (Wasserstoffbrückendonator) und X (X = Cl, Br, I) reichen von 75° bis 95°, mit höchster Häufigkeit um 88°. ^[196]

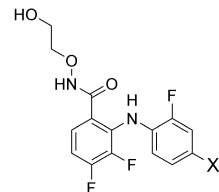
initio-Rechnungen (B3LYP/6-31G), dass Halogenbrücken an Amidcarbonyl-Gruppen energetisch unabhängig von den Wasserstoffbrücken am geteilten Carbonyl-Sauerstoff-Akzeptor ausgebildet werden. Somit kann die Carbonylgruppe innerhalb der analogen Klassen von Wasserstoff- und Halogenbrücken beide Wechselwirkungen genießen.

Während die S3-Tasche von hCatL polar und lösungsmittel-exponiert ist, sind Halogenbrücken ebenso wirkungsvoll in der hinteren unpolaren Tasche im aktiven Zentrum der MEK1-Kinase.^[25b,197] MEK1-Kinase spielt eine wichtige Rolle im extrazellulären signalregulierten Kinase-Weg (Ras-Raf-MEK-ERK1/2) der mutagen-aktivierten Proteinkinasen (MAP), welcher einen der häufigsten deregulierten Signalwege bei humanem Krebs darstellt.^[198] Daher ist die MEK1-Kinase ein attraktives Target für die Krebstherapie, und

Inhibitoren befinden sich derzeit in der klinischen Phase III.^[199]

MEK1-Inhibitoren dringen mit einem substituierten Phenylring tief in die hintere hydrophobe Tasche ein, welche von unpolaren Resten umgeben ist (Met143, Leu118, Cys207, Phe209, Ile126, Val127). Die Bindungsaffinität steigt bei Substitution an der 4-Position in folgender Reihenfolge an: $H < Cl < Br < I$ (Tabelle 2), ähnlich zur bereits diskutierten

Tabelle 2: Inhibitoren **53a–e** der MEK1-Kinase mit erhöhter Affinität (IC_{50}) für die höheren Halogene.^[197a]

	Verbindung	X	IC_{50} [nM] (MEK1)
	53a	F	120
	53b	H	52
	53c	Cl	26
	53d	Br	7.7
	53e	I	2.0

hCatL-Inhibition.^[197b] Cokristallstrukturen der an MEK1 gebundenen halogensubstituierten Inhibitoren **53c–e** bestätigen das Vorliegen einer Halogenbrücke zur Rückgrat-Carbonylgruppe von Val127 (Abbildung 22, 2.7 Å Auflösung,

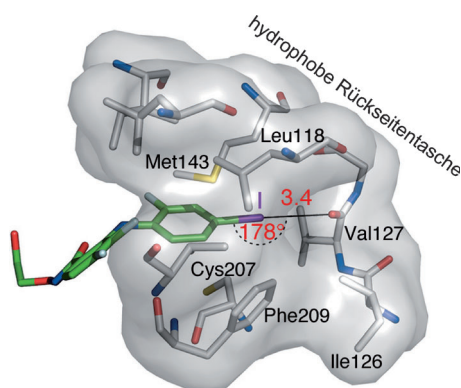


Abbildung 22. Cokristallstruktur von **53e** mit MEK1 (Auflösung 2.7 Å, PDB ID: 3DY7).^[197c] Ein Phenylring des Inhibitors (Tabelle 2) reicht in die hintere unpolare Tasche von MEK1 und gewinnt Bindungsaffinität durch eine XB zur C=O-Gruppe von Val127. XB-Winkel und -Distanzen (in Å) sind rot dargestellt. Die hydrophoben Aminosäuren der hinteren MEK1-Tasche sind beschriftet. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, S gelb, N blau, I violett, F türkis, C_{Ligand} grün.

PDB ID: 3DY7), und zeigen im Falle des Inhibitors **53e** einen kurzen I...O-Kontakt von 3.4 Å mit einem C-I...O-Winkel von 178° (IC_{50} = 2 nM). In einer weiteren Cokristallstruktur mit einem verwandten Liganden (2.3 Å Auflösung, PDB ID: 3DV3, nicht bildlich gezeigt),^[197c] liegt der XB-Abstand I...O bei 3.1 Å, der C-I...O-Winkel bei 175°, und das C=O von Val127 ist zusätzlich durch ein Wassermolekül solvatisiert. Wiederum ist der Winkel (H₂O)...O(=C)...I nahezu orthogonal (98°, $d(H_2O...O(=C))$ = 2.7 Å).

Zusammengefasst zeigen die Studien über Halogenbrücken in der polaren, lösungsmittel exponierten S3-Tasche von hCatL und in der hinteren unpolaren Tasche von MEK1, dass eine XB eine wirksame Wechselwirkung in biologischen Umgebungen von unterschiedlicher Polarität ist. Die Arbeiten mit den beiden Enzymen bestätigen auch, dass das Amid-C=O trotz der XB weiterhin solvatisiert bleiben kann. Halogenbrücken bieten ganz klar eine innovative Möglichkeit für Protein-Ligand-Wechselwirkungen, die im strukturbasierten Wirkstoffdesign nicht übersehen werden sollte.

Halogenbrücken-Donoren können als die hydrophoben Gegenstücke zu Wasserstoffbrücken-Donoren gesehen werden, wobei weniger Desolvationsenergie für XB-Komplexierungen aufgebracht werden muss. Ein gutes Beispiel hierfür wird im nachfolgenden Abschnitt diskutiert, wo ziemlich hydrophobe XB-Donor-Liganden an die polare „Hinge“-Region in der ATP-Bindungsstelle einer Kinase binden. Sogar nur mäßig aktive aromatische XB-Donoren, statt der teureren perfluorierten Vertreter, sind wirksam genug, um die Bindungsaffinität und Selektivität in der biologischen Umgebung zu erhöhen, im Gegensatz zu den meisten 1:1-Komplexierungsprozessen in freier Lösung. Die Ligandenbindung zum Protein kommt schon in Abwesenheit der Halogenbrücke zustande (obschon zu einem kleineren Ausmaß), wodurch bereits der größte Teil des komplexierungsbedingten Entropieverlusts bezahlt wird. Daher kann in der biologischen Komplexierung der Energiegewinn einer enthalpisch getriebenen Halogenbindung weitestgehend abgeerntet werden (bis zu ΔH = -9 kcal mol⁻¹),^[192] wohingegen in Lösungsstudien mit niedermolekularen XB-Donoren und -Akzeptoren eine starke Enthalpie/Entropie-Kompensation wirksam ist.

Kinase-Inhibition mit Liganden, die am „Hinge“ der ATP-Bindungsstelle binden, wird normalerweise durch polare Liganden mit 1–3 Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren realisiert.^[4] Eine alternative Anwendung von XB für die Ausbildung von Wechselwirkungen zur „Hinge“-Region wurde erstmals im Jahr 2003 für die CDK2-Kinase (Phospho-CDK2-Cyclin A) beispielhaft gezeigt.^[200] Einfache perhalogenierte Ligandengerüste, wie etwa 4,5,6,7-Tetrabrombenzotriazol (**54**, IC_{50} = 1.6 μM), bilden zwei C-Br...O=C-Halogenbrücken zu den Rückgrat-Carbonylgruppen von Leu83 und Glu81 aus. Es findet keine weitere direkte Wechselwirkung mit der NH-Gruppe von Leu83 statt, welche gewöhnlich durch Wasserstoffbrücken-Akzeptoren adressiert wird (Abbildungen 23 a,b). Eine dritte Halogenbrücke, obschon in einem etwas ungünstigen Winkel (145°), wird zur C=O-Gruppe des Ile10 eingegangen, und das vierte Br wechselwirkt mit dem π-System des Phenylrings von Phe80.^[193]

In einem neueren Beispiel von Johnson und Mitarbeitern wurde die gleiche Strategie angewendet, um Kinase-Selektivität für CDK9 über CDK1 zu erreichen. Auch dieser außergewöhnlich interessante molekulare Erkennungsprozess konnte mit Röntgenstrukturanalysen der Cokristalle vollständig aufgeklärt werden.^[201] CDK9, die Kinase des positiven Transkriptionselongationsfaktors b (P-TEFb), wird für die prozessive Transkriptionselongation durch die RNA-Polymerase II benötigt.^[202] Da Inhibitoren dieser Kinase hohe Antitumoraktivität zeigen, ergab sich ein Interesse an der

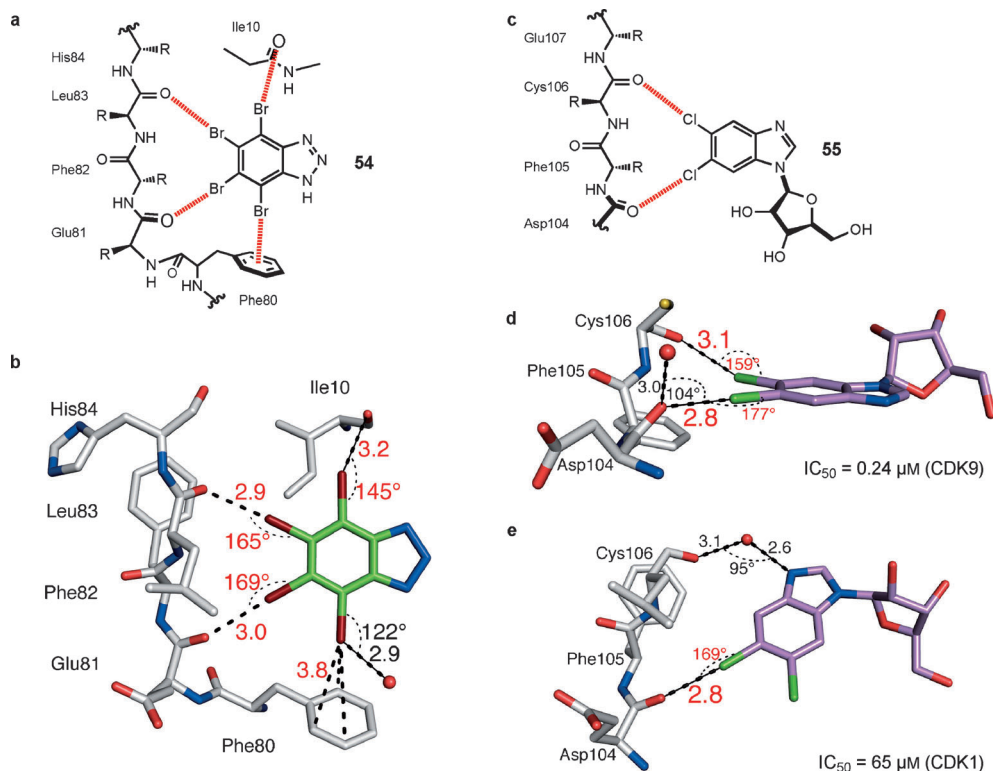


Abbildung 23. Halogenbrücken von verschiedenen Kinaseliganden, die an die „Hinge“-Region der ATP-Bindungsstelle binden. a) Schematischer Bindungsmodus von 4,5,6,7-Tetrabrombenzotriazol (**54**) an Phospho-CDK2-Cyclin A. b) Kokristallstruktur von CDK2 mit Inhibitor **54** (2.22 Å Auflösung, PDB ID: 1P5E).^[200b] c) Schematischer Bindungsmodus von 5,6-Dichlorbenzimidazol-1-β-D-ribofuranosid (**55**) zu der „Hinge“-Region von d) CDK9 (2.80 Å Auflösung, PDB ID: 3MY1) und e) CDK1 (2.10 Å Auflösung, PDB ID: 5MY1).^[201] XB-Winkel und -Distanzen (in Å) sind rot dargestellt. Seitenketten der Aminosäuren sind in (a) und (c) zur Klarheit verdeckt. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, S gelb, N blau, Br braun, Cl grün, C_{Ligand} grün (in b) oder pink (in d und e).

Entwicklung von selektiven CDK9-Inhibitoren. Im Vergleich zum symmetrischen CDK2-Inhibitor **54** wurde das Gerüst des CDK9-Inhibitors **55** ($IC_{50} = 0.24 \mu M$) von einer Tetra- zu einer Dihalogenierung geändert und enthält einen zusätzlichen Ribose-Rest am zentralen Benzimidazolring (Abbildung 23c). Auch hier machen XB zu den konvergenten C=O-Gruppen des „Hinge“ der ATP-Bindungsstelle den molekularen Erkennungsprozess aus, und zusätzlich behält die C=O-Gruppe des Asp104 ihre Solvation durch ein fast senkrechtes (104°) Wassermolekül bei, wie schon vorher diskutiert wurde (Abbildung 23d). Teil des Inhibitionsmechanismus ist die durch den Inhibitor induzierte Konformationsänderung der Glycin-reichen P-Schleife und der $\beta 3$ - αC -Schleife. Dies bietet eine bessere Abschirmung des Inhibitors vom Lösungsmittel, was höchstwahrscheinlich zur Stabilisierung des CDK9-Inhibitor-Komplexes beiträgt. Im Vergleich dazu ist die Inhibition der CDK1-Kinase ($IC_{50} = 65 \mu M$) 270-fach schwächer. Ein anderer Bindungsmodus des Inhibitors **55** findet in der engeren ATP-Bindungs tasche statt, und signifikante ligandeninduzierte Konformationsänderungen werden nicht beobachtet.

Das Zusammenspiel von XB und metallchelatisierenden Wechselwirkungen in der allosterischen Tasche von IspD^[42] (siehe Abschnitte 2.3 und 3.2 sowie Abbildung 7) wurde in

einer Kooperationsstudie eines Konsortiums von Wissenschaftlern aus der BASF und der Akademia erstmals aufgedeckt.^[203] Die Inhibition der Enzyme des Mevalonat-unabhängigen Weges der Isoprenoid-Biosynthese ist für die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen Infektionskrankheiten (Abschnitt 3.2)^[77] und neuer Herbizide von großem Interesse.^[204] Um die Entwicklungen in den beiden Bereichen voranzutreiben, wurden Leitverbindungen der agrochemischen Forschung gegen infektiöse Bakterien getestet.^[205] Ein Screening von Verbindungsbibliotheken bei BASF (über 100 000 Verbindungen) ergab **56c** und **56d** als Treffer gegen AtIspD. Diese Leitstrukturen gehören zur Klasse der Pseudilin-Alkaloide, die erstmals in den 1960er Jahren aus dem marinen Bakterium *Pseudomonas bromoutilis* isoliert wurden (Tabelle 3).^[206] Diese hoch-

Tabelle 3: Inhibitoren aus der Pseudilin-Familie von IspD aus *Arabidopsis thaliana* (AtIspD). Verbesserte Hemmwirkung (IC_{50}) wird durch Bromsubstitution an der R¹- und R²-Position gewonnen. CdSO₄ wurde über den Assaypuffer zugesetzt, was eine neunfache Erhöhung der Hemmwirkung erbrachte.^[203]

Verbindung	R ¹	R ²	IC_{50} [μM] (AtIspD)	
			ohne Metall	40 μM Cd ²⁺
56a	H	Br	52 \pm 6	19 \pm 2
56b	F	F	79 \pm 6	13 \pm 2
56c	Cl	Cl	12 \pm 1	2.2 \pm 0.2
56d	Br	Br	13 \pm 2	1.4 \pm 0.2

halogenierten marinen Naturstoffe und andere Derivate, wie **56a,b**, zeigten eine Inhibition von AtIspD mit IC_{50} -Werten um 50 μM (Tabelle 3). Durch Zugabe von zweiwertigen Metallkationen (Ca²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺ oder Zn²⁺) als Assay-Pufferadditive verbesserten sich die Affinitäten zu IC_{50} -Werten in den unteren mikromolaren Bereich. IC_{50} -Werte um 50 μM wurden ebenso gegen *Plasmodium vivax* (Pv) IspD erreicht, jedoch wurden diese nicht durch Metallionen beeinflusst. In zellbasierten Assays gegen PfNF54-Stämme konnten sogar EC_{50} -Werte bis 1 μM gemessen werden.

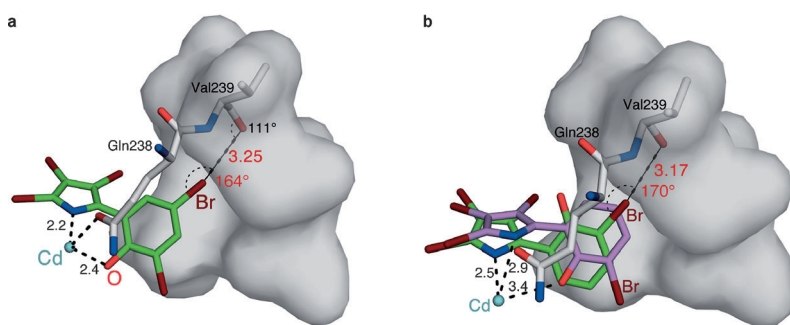


Abbildung 24. a) Cokristallstruktur von AtIspD mit Inhibitor **56d** (1.80 Å Auflösung, PDB ID: 4NAK).^[203] Ein Br von **56d** ist in eine XB mit der C=O-Gruppe von Val239 eingebunden. b) Cokristallstruktur von AtIspD mit Inhibitor **56a** (1.80 Å Auflösung, PDB ID: 4NAN). Ligand **56a** zeigt zwei (gedrehte) Konformationen in der Röntgenkristallstruktur: 70% *syn*-Konformation (pink) mit Koordination der phenolischen Gruppe an das Cd²⁺-Ion (cyanblau) und keine XB des Br-Atoms; 30% *anti*-Konformation (grüner Ligand), mit Präferenz für eine XB mit dem Br-Atom *ortho* zu dem phenolischen OH statt der Metallkoordination. XB-Winkel und -Distanzen (in Å) sind rot dargestellt. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, N blau, Br braun, Cd türkis, C_{Ligand} grün (*syn*, koordinierend) oder pink (*anti*, XB).

Cokristallstrukturen, die durch Kristallisation aus Puffern mit Cd²⁺-Ionen gewonnen wurden, deckten den Bindungsmodus der Pseudiline zu AtIspD auf (Abbildung 24). Die Liganden komplexierten zwar in der neu entdeckten allosterischen Tasche des IspD-Enzyms,^[42] jedoch in einem anderen Bindungsmodus im Vergleich zu den vorherigen Liganden **1–3** (Abschnitt 2.3, Abbildung 2). Die Phenol- und Pyrrolringe des gebundenen **56d** liegen in der *syn*-Konformation vor und komplexieren ein Cd²⁺-Ion, welches auch an die Seitenkette des Gln238 von IspD und an ein Wassermolekül koordiniert. Neben dieser Chelatisierung trägt auch XB zur Bindungsaffinität bei: Der Komplex von **56d** weist einen kurzen Br...O-Kontakt von 3.25 Å mit einem C-Br...O-Winkel von 164° zu dem Rückgrat-Carbonylsauerstoffatom von Val239 auf (Abbildung 24a). Eine ähnliche XB-Geometrie wurde kristallographisch für den Cl-substituierten Inhibitor **56c** bestätigt (1.8 Å Auflösung, PDB ID: 4NAL).

Der Ligand **56a** besitzt jedoch keinen Br-Substituenten *para* zur phenolischen OH-Gruppe. Daher wird zunächst keine XB erwartet, da die Metallkoordination die Bindungsstärke der XB überbietet und den Liganden in der Cd²⁺-koordinierten *syn*-Konformation stabilisieren sollte. Tatsächlich aber nimmt **56a** zwei unterschiedliche Konformationen in der allosterischen Tasche ein. Gerade mal 70 % von **56a** sind in der erwarteten *syn*-Konformation, wohingegen 30 % als *anti*-Konformer vorliegen. Diese Konformationsänderung des Phenolrings richtet das Br-Atom *ortho* zum phenolischen OH in Richtung der Rückgrat-Carbonylgruppe von Val239 aus, um eine starke XB-Wechselwirkung einzugehen ($d(\text{Br}\cdots\text{O}) = 3.17 \text{ Å}$, C-Br...O-Winkel = 170°, Abbildung 24b). Die energetischen Gewinne der Metallkoordination und der XB in den Pseudilin-Komplexen stehen eindeutig in etwa gleichem Verhältnis zueinander.

Halogenbrücken der höheren Halogenverbindungen liefern ein leistungstarkes neues Werkzeug zum bisherigen Repertoire der intermolekularen Wechselwirkungen für Anwendungen in der supramolekularen Chemie, der Katalyse, dem Kristall-Engineering, fortschrittlichen Materialien und,

wie in diesem Abschnitt hervorgehoben, zur strukturbasierten Generierung von Treffermolekülen und Leitstruktur-Entwicklung. Die Kriterien für effiziente XB-Wechselwirkungen sind gegenwärtig gut ausgearbeitet und identisch für synthetische sowie biologische Systeme. Die Ausbildung einer Halogenbrücke kann Protein-Ligand-Wechselwirkungen um einen Faktor von bis zu 74 verbessern, was einem Gewinn an freier Enthalpie von $\Delta\Delta G = -2.6 \text{ kcal mol}^{-1}$ entspricht.^[25a] XB-Wechselwirkungen können gut sowohl in polarer als auch unpolare biologischer Umgebung gebildet werden, wobei Rückgrat-Amid-(C=O)-Gruppen weiterhin durch Wasser solvatisiert bleiben können, obwohl sie gleichzeitig eine Halogenbrücke eingehen. Neue Möglichkeiten für das Design von innovativen, aktiven und selektiven ATP-kompetitiven Kinase-Inhibitoren können so entstehen, wie beispielhaft für CDK9 und CDK2 gezeigt wurde.^[201] Eine Perfluorierung

der XB-Donoren der Liganden ist nicht notwendig, um die Gibbs-Energie von Protein-Ligand-Wechselwirkungen abzurufen, was das Liganden-Design vereinfacht und Kosten spart. Enthalpisch schwächere Halogenbrücken, so wie etwa die zwischen Arylhalogeniden (Cl, Br, I) und peptidischen C=O-Akzeptoren, sind ausreichend, da die entropische Einbuße der Protein-Ligand-Bindung hauptsächlich durch die Komplexierung des restlichen Ligandengerüsts aufgefangen wird. Dadurch können die zusätzlichen Enthalpiegewinne der Halogenbrücken voll ausgenutzt werden, ohne dass dafür viel Entropie aufgebracht wird.^[192]

4.3. Amid... π -Stapelung

Die dipolare Wechselwirkung flacher Amid-Gruppen mit aromatischen π -Systemen steht in enger Verwandtschaft zu den gut verstandenen π -Stapelungen zwischen aromatischen Ringen, welche von großer Bedeutung im Bereich der chemischen und biomolekularen Erkennung sind.^[14e,18b,c] In unserem Forschungsprogramm zur Inhibition von Faktor Xa (siehe Abschnitt 3.2.4) konnten wir einen großen Unterschied in den Affinitäten zwischen Liganden mit konstitutionell isomeren Oxazolringen feststellen, welche auf die flache Peptidbindung von Cys191–Gly192 entlang der S1-Tasche stapeln.^[119] Die Röntgenstrukturanalysen der Cokristallstrukturen von zwei Liganden, (\pm)-**34** ($K_i = 1620 \text{ nM}$) und (\pm)-**35** ($K_i = 146 \text{ nM}$, Abbildung 25 a), zeigten nahezu identische Bindungsmodi, jedoch einen 11-fachen Unterschied in ihrer Bindungsaffinität. Neben unterschiedlichen Winkeln zwischen den zwei Austrittvektoren am Oxazolring (siehe Abbildung 11 in Abschnitt 3.2.4) fassten wir die unterschiedliche Ausrichtung der Dipolmomente der zwei Oxazolringe als einen möglichen Hauptgrund für die gemessenen Affinitätsunterschiede ins Auge. Im Komplex des besseren Liganden (\pm)-**35** sind die Vektoren der lokalen Dipolmomente von Heterocyclus und Peptid-Amidbindung in einer antiparallelen Anordnung, wohingegen sie im schwächeren

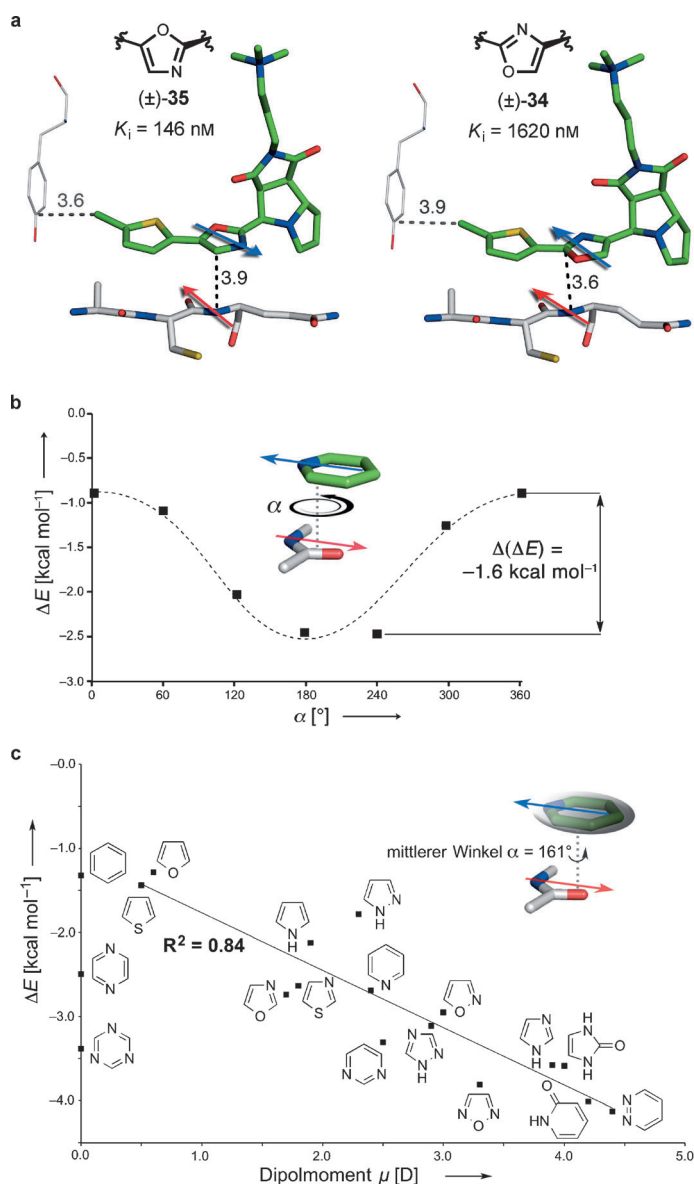


Abbildung 25. a) Dipolare Amid- π -Stapelung zwischen Inhibitoren (±)-34 und (±)-35 und Faktor Xa (1.29 Å Auflösung, PDB ID: 2Y5G, und 1.33 Å Auflösung, PDB ID: 2Y5H).^[119] Ligand (±)-35 ($K_i = 146$ nM) zeigt eine begünstigte antiparallele dipolare Stapelung auf dem Amid-Rückgrat, welches einen Affinitätsgewinn von Faktor 11 im Vergleich zu Ligand (±)-34 mit parallel angeordnetem Dipolmomentvektor ($K_i = 1620$ nM) ergibt. Farbgebung: C_{Enzym} grau, O rot, S gelb, N blau, Cl grün, C_{Ligand} grün. b) Berechnetes Energieprofil für den Rotationsscan des parallel versetzten NMAC-Pyridin-Dimers bei optimierter Stapelungsanordnung der zwei Fragmente. Die antiparallele Anordnung ($\alpha = 179^\circ$) der Dipolvektoren ist um 1.56 kcal mol⁻¹ gegenüber der parallelen Anordnung ($\alpha = 2^\circ$) bevorzugt.^[128] Theorieniveau: SCS-MP2/aug-cc-pVDZ//LMP2/cc-pVDZ.^[207] c) Korrelation zwischen berechneten Wechselwirkungsenergien ΔE von verschiedenen NMAC-Heteroaren-Dimeren bei optimierter Geometrie und den Dipolmomenten μ der Heterocyclen; Theorieniveau wie in (c). R^2 : Korrelationskoeffizient; mittlerer Winkel zwischen den Dipolmomentvektoren $\alpha = 161^\circ$.^[128]

Komplex von (±)-34 parallel angeordnet sind. Die beobachteten Unterschiede in der Bindungsaffinität in Abhängigkeit der relativen Anordnung dieser zwei Dipolmoment-Vektoren (entweder parallel oder antiparallel) brachte die generelle

Frage über den Einfluss der dipolaren Wechselwirkungen auf die Stapelung von Amid- π -Systemen mit aromatischen Resten mit ausgeprägten Dipolmomenten auf.

Der Einfluss von Dipolvektor-Ausrichtungen auf die Energetik der Amid-Heteroaren- π -Stapelung wurde nachfolgend in einer computergestützten Studie in Kooperation mit B. Kuhn (F. Hoffmann-la Roche)^[128] auf dem Theorieniveau SCS-MP2 (Spinkomponenten-skalierte Methode von Møller-Plesset 2) untersucht.^[207] Wenn ein Rotations-Scan mit Pyridin ($\mu_{\text{expt}} = 2.2$ D), parallel-versetzt gestapelt auf das Amidfragment *N*-Methylacetamid (NMAC, $\mu_{\text{expt}} = 3.7$ D) als Modellsystem für das Amidrückgrat-Fragment, durchgeführt wurde, konnte eine klare Präferenz für eine antiparallele Anordnung der Dipolmoment-Vektoren festgestellt werden ($\alpha = 179^\circ$, $\Delta E = -2.5$ kcal mol⁻¹), im Vergleich zur parallelen Anordnung ($\alpha = 2^\circ$, $\Delta E = -0.9$ kcal mol⁻¹, Abbildung 25b).^[128]

Wir untersuchten weiterhin mit theoretischen Methoden die parallel-versetzte Stapelung einer Bibliothek häufig verwendeter aromatischer Heterocyclen mit signifikant unterschiedlichen Dipolmomenten auf einem flachen NMAC-Amidfragment. In den optimierten Strukturen lag der mittlere Winkel zwischen den Dipolmoment-Vektoren nahe bei 161° , was sehr nahe an der idealen antiparallelen Anordnung liegt. Ein linearer Trend von zunehmender Wechselwirkungsenergie $-\Delta E$ mit zunehmender Dipolmomentstärke, mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0.84$, wurde für 17 aromatische Heterocyclen erhalten (Abbildung 25c).^[128]

Drei hauptsächliche Schlussfolgerungen können aus dieser theoretischen Untersuchung für das strukturbasierte Wirkstoffdesign gezogen werden: 1) π -Stapelung auf peptidische Amidbindungen wird mit abnehmender π -Elektronendichte des aromatischen Rings energetisch günstiger (siehe Benzol, Pyrazin, Triazin in Abbildung 25c), 2) die Stärke der Wechselwirkung verbessert sich mit zunehmendem Dipolmoment der aromatischen Heterocyclen, und 3) eine antiparallele Anordnung der Dipolmoment-Vektoren des Amids und des Heterocyclus ist stark bevorzugt. Wir arbeiten derzeit daran, diese theoretischen Vorhersagen für Amid- π -Stapelungen in Modellsystemen und in Proteinumgebungen experimentell zu validieren.

5. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Die in diesem Aufsatz beschriebenen Fallstudien über Komplexierungsprozesse mit synthetischen Rezeptoren, Modellsystemen wie auch biologischen Rezeptoren unterstreichen die Herausforderungen und Möglichkeiten für strukturbasiertes Liganden-Design und -Optimierung in der medizinischen Chemie und im Pflanzenschutz. In den letzten Jahrzehnten hat sich deutlich gezeigt, dass umfangreiche Studien zu individuellen Wechselwirkungen, isoliert von anderen Einflüssen, mit biologischen Rezeptoren schwierig sind, da die Proteinumgebung eine hohe Komplexität aufweist. Es ist eine wahre „Tour de Force“, die Rolle

des Wassers in der biologischen Komplexierung durch einen multidimensionalen Ansatz mit ITC, Kryo-Röntgenstrukturanalyse, theoretischen Studien und molekularen Simulationen auf hohem Niveau, Mutationsstudien und weiteren Methoden zu bestimmen, da verschiedene Regionen in den Protein-Bindungsstellen durch verschiedene thermodynamische Profile charakterisiert sind. Eine Komplexierung setzt Wassermoleküle frei, die vorher die freien Bindungspartner solvatisiert haben, wobei dieser Prozess entweder entropisch-getrieben (z.B. bei Ionenpaarbildung oder bei Ionen-Dipol-Komplexierungen) oder enthalpisch-getrieben (z.B. die Verdrängung von hochenergetischem Wasser aus unpolaren Bindungstaschen) ablaufen kann. Hier kommen die Vorteile von kleineren, strukturell besser definierten synthetischen Modellsystemen und Rezeptoren ins Spiel. Der nichtklassische enthalpisch-getriebene hydrophobe Effekt wurde in Wirt-Gast-Komplexierungsstudien mit Cyclophan-Rezeptoren mit engen unpolaren Bindungsstellen gefunden und konnte jetzt in eleganten Untersuchungen von Cucurbituril-Komplexierungen voll validiert werden. Die Quantifizierung von individuellen intermolekularen Wechselwirkungen, wie die orthogonal-dipolaren Wechselwirkungen und Halogenbrücken, wäre ohne Modellsysteme, außerhalb der komplexen Proteinumgebung, nicht möglich gewesen. Es ist daher nicht verwunderlich, dass die synthetische Wirt-Gast-Chemie momentan eine Renaissance erlebt, speziell mit den Arbeiten über Cucurbituril-Rezeptoren.

Um den Fortschritt im niedermolekularen Liganden-Design mit dem Ziel, neue Wirkstoffe und Pflanzenschutzmittel zu finden, jedoch weiter zu entwickeln, ist die detaillierte Erforschung von biologischen Komplexierungsprozessen mit dem heutzutage zur Verfügung stehenden raffinierten Methodenrepertoire – experimentelle Analytik und Strukturaufklärung sowie computergestützte Untersuchungen auf hohem Niveau – geradezu noch mehr gefragt. So wäre es unmöglich gewesen, die Rolle der Wassercluster in den aktiven Zentren der Proteine mit synthetischen Modellsystemen zu untersuchen. Erfreulicherweise wurden insbesondere die computergestützten Werkzeuge für die Identifizierung der individuellen Wassermoleküle in einem Wassercluster, die mit einem energetischen Gewinn durch Teile der Liganden ersetzt werden können, stark verbessert. Es ist auch vorhersehbar, dass die verschiedenen thermodynamischen Profile der unterschiedlichen Typen der Wassermoleküle in aktiven Zentren zukünftig viel besser verstanden werden, und dass dadurch die Erfolgsquote im strukturbasierten Design erhöht werden kann, für welches Wasser eine große Herausforderung darstellt.

Hochaufgelöste Proteinröntgenstrukturanalysen stellen die Grundlage für strukturbasiertes Liganden-Design dar. Dies ist in den verschiedenen Fallstudien dieses Aufsatzes illustriert, welche die Vielfalt von biologischen Rezeptorbindungsstellen unterschiedlicher Größe, Form, Konformationsdynamik und Polarität adressieren. Aktive Taschen mit geringer Konformationsdynamik und tiefen Taschen von reduzierter Polarität, wie in Faktor Xa, sind die lohnenswertesten Targets, und biologische Aktivitäten im unteren nanomolaren Bereich (IC_{50} -Werte) können normalerweise in einem angemessenen Zeitraum erreicht werden. Dies steht im

Gegensatz zu den Schwierigkeiten bei der Entwicklung potenter Inhibitoren für sehr große Taschen (wie bei der Trypanothion-Reduktase), hoch polare Taschen (wie bei IspE und IspF) oder konformationsflexible Taschen (IspF). Strukturbasiertes Design ist ein hervorragender Ansatz, um Leitstrukturen zu generieren und zu optimieren, aber es wird in der nahen Zukunft nicht das Hochdurchsatz-Screening (HTS, high-throughput screening) oder das immer häufiger angewendete virtuelle Screening von großen Verbindungsbibliotheken zum Auffinden von Trefferstrukturen („hits“) ersetzen. Ohne HTS wären die potenten Treffer für IspD nicht gefunden worden, da die allosterische Tasche, welche die Treffer- und Leitstrukturen bindet, nicht auf der Proteinoberfläche erkannt wurde.

Röntgenstrukturbestimmungen überfluten uns heutzutage fast schon mit strukturellen Informationen, die für neue Liganden-Designprozesse angewendet werden können. Eine Voraussetzung zum Erfolg ist jedoch die intelligente Verwendung der riesigen Informationsflut in der PDB und in firmeninternen Datenbanken. Insbesondere muss dieses Wissen ohne die Notwendigkeit für anspruchsvolles Computing für Wissenschaftler zugänglich gemacht werden. Es ist wichtig, bereits existierendes Wissen abzurufen und zu analysieren und nicht einfach nur die um ein aktives Wirkstoffprojekt reichlich gesammelten strukturellen Informationen zu „konsumieren“. Hundert Cokristallstrukturen und mehr sind heute keine Seltenheit mehr. Als eine einfache zugängliche Datenbank wurde die CSD ein essentielles Werkzeug für die Vermeidung von Konformationsfehlern beim Liganden-Design. Weiterhin bieten die Netzwerke niedermolekularer Verbindungen im Kristall eine unschätzbare Quelle, um neue intermolekulare Wechselwirkungen zu identifizieren. Beispiele hierzu schließen orthogonal-dipolare $C=O \cdots C=O$ -Wechselwirkungen und Halogenbrücken ein, welche strukturell zuerst in Kristallstrukturen entdeckt wurden. Es ist sicherlich lohnenswert, die CSD auch weiterhin zu erkunden, um kurze intermolekulare Kontakte, die statistisch relevant sind, zu identifizieren und um zu verstehen, was deren Ursprung ist.

Themen, welche nicht in diesem Aufsatz besprochen wurden, sind die physikochemischen und ADME/pharmakokinetischen (pK) Eigenschaften. Da viele der physikochemischen Eigenschaften wie Löslichkeit, metabolische Stabilität, Sicherheitsdaten, pK_a , $\log D$, $\log P$ oder Membranpermeabilität jetzt schon am Computer bestimmt werden können, ist es wünschenswert, dass diese Daten unverzüglich während des strukturbasierten Designs zugänglich sind. Diese Informationen können die Wissenschaftler auf Projekten in der multidimensionalen Optimierung lenken, welche für die Erstellung der vielversprechendsten Leitstrukturen für die spätere Weiterentwicklung notwendig sind. Eine benutzerfreundliche computergestützte Organisation und Analyse der riesigen Datensätze („big data“) hat das höchste Potential, um die zukünftige Wirkstoffforschung maßgeblich zu beschleunigen. Computergestützte Ansätze werden die vielversprechendsten Treffer aus „In-silico“-Bibliotheken finden, verbesserte automatisierte strukturbasierte Design-Software liefern und die richtigen Proteintaschen für die Ligandenbindung identifizieren. Diese Ansätze werden auch Kon-

formationspräferenzen der Liganden, basierend auf der reichen Informationsquelle der CSD definieren, potentielle Kreuzreaktivitäten basierend auf Proteindatenbank-Vergleichen erkennen, und Werkzeuge, die leichten Zugang zu den bereits existierenden strukturellen, physikochemischen und ADME-Informationen ermöglichen, eingebaut haben. Intelligente benutzerfreundliche Computerprogramme werden zukünftig einen echten multidimensionalen Ansatz zur Leitstrukturoptimierung durch strukturbasiertes Design ermöglichen.

Aber hier schließt sich wiederum der Kreis: bis vor kurzem „wussten“ die Kraftfelder der Wirkstoffdesign-Programme nichts von Aromaten-Aromaten-Wechselwirkungen und deren Substituenteneffekte, orthogonal-dipolaren Wechselwirkungen, Halogenbrücken, Amid- π -Stapelung oder von den Energieverhältnissen der Verdrängung von Wassermolekülen. Das gleiche gilt auf der Konformations-Seite, wo bis vor kurzem bestimmte geometrische Präferenzen von Sulfonamiden und Arylsulfonen in der Modellierungssoftware nicht parametrisiert waren. Die experimentelle Entdeckung und Quantifizierung dieser Prozesse waren Voraussetzung für das Implementieren ihrer Parameter in die Computerprogramme. Molekulare Erkennungsstudien mit synthetischen und biologischen Rezeptoren erweitern daher nicht nur unser fundamentales Verständnis von Leben und Materie, sondern werden weiterhin wichtige Beiträge zur Beschleunigen der erfolgreichen Generierung und Optimierung von Leitverbindungen mit Weiterentwicklungspotential leisten.

Danksagung

Die Forschung der Diederich-Gruppe im Bereich der molekularen Erkennung wurde durch die ETH-Forschungskommission und F. Hoffmann-La Roche, Basel, mit zusätzlicher Unterstützung durch Chugai und Genentech, kontinuierlich gefördert. Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für Kekulé-Stipendien für Michael Harder, Veronika Ehmke und Oliver Dumele. Diese Arbeit der vergangenen Jahrzehnte hätte unmöglich in der Umgebung der ETH-Chemie allein entstehen können, und unsere Gruppe war in hohem Maße auf zahlreiche anregende und ebenso effiziente, interdisziplinäre und auswärtige Kooperationen – akademische und industrielle – angewiesen. Die Kooperationspartner haben uns die untersuchten Proteine zugänglich gemacht, stellten uns die meisten Biostrukturen und Bioassaydaten bereit und beteiligten sich in fruchtbarer Weise an Projektbesprechungen und Projektreviews. So wurden zuletzt ganze Kooperationsnetzwerke entwickelt, mit bis zu fünf partizipierenden Gruppen im IspD-Projekt, um die benötigten biologischen Daten, die hier zum Teil wiedergegeben sind, zu erheben. Der Korrespondenzautor ist den Wissenschaftlern bei Roche Basel zutiefst dankbar; es ist schwierig einzelne Personen hervorzuheben, aber er dankt insbesondere Prof. Hans-Joachim Böhm, Prof. Klaus Müller, Dr. Martin Stahl, Dr. David W. Banner, Dr. Bernd Kuhn, Dr. Wolfgang Haap und Dr. Markus Rudolph für zahlreiche inspirierende Diskussionen und helfende Unterstützung. Er möchte zudem Dr. Matthias Witschel, Dr. Wolfgang Höffken

und Thomas Mietzner (BASF), Dr. Jeff Blaney (Genentech), Dr. Daniel Bur (Actelion), ebenso wie den Wissenschaftlern bei Chugai für ihr beständiges, großes Interesse an Phänomenen der molekularen Erkennung danken. Seit den frühen 2000er Jahren unterhalten wir fruchtbare akademische Kooperationen mit Prof. Gerhard Klebe (Univ. Marburg), Prof. Adelbert Bacher (TU München), Prof. Markus Fischer (Univ. Hamburg) und Prof. Luise Krauth-Siegel (Univ. Heidelberg) und haben diese in den letzten Jahren mit Prof. Tanja Schirmeister (Univ. Mainz), Prof. Michael Groll (TU München) und Prof. Emil Pai (Univ. Toronto) ausgeweitet. Die Namen ihrer Mitarbeiter auf den einzelnen Projekte sind in den entsprechenden Literaturziten enthalten. An der ETH sind wir sehr dankbar für Diskussionen über molekulare Erkennung mit Prof. Donald Hilvert und Prof. Jack D. Dunitz und über theoretische Entwicklungen mit Prof. Gisbert Schneider. Alle zellbasierten Assays und Toxikologiestudien in den Projekten zu den Tropenkrankheiten wurden von Prof. Reto Brun, Dr. Marcel Kaiser und Dr. Matthias Rottmann am Schweizer Tropen- und Public Health-Institut (STPH) in Basel durchgeführt. Schließlich möchte der Korrespondenzautor all seinen Mitarbeitern der letzten drei Jahrzehnte danken, die diese Arbeit während ihrer Dissertation oder postdoktoralen Forschung im Labor vorangebracht haben; die Namen finden sich wiederum in den entsprechenden Literaturziten. Wir danken Dr. Michael Harder und Dr. Tristan Reekie (beide ETH) für das Korrekturlesen des Manuskriptes.

Eingegangen am 10. September 2014

Online veröffentlicht am 12. Februar 2015

- [1] <http://www.rcsb.org/pdb/statistics/holdings.do> (April 15, 2014).
- [2] <http://www.ccdc.cam.ac.uk/Solutions/CSDSystem/Pages/CSD.aspx> (April 22, 2014).
- [3] K. A. Brameld, B. Kuhn, D. C. Reuter, M. Stahl, *J. Chem. Inf. Model.* **2008**, 48, 1–24.
- [4] C. Bissantz, B. Kuhn, M. Stahl, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5061–5084.
- [5] a) G. Klebe, *Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneimitteln*, 2. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **2009**; b) G. Klebe, *Drug Design*, Springer, Berlin, **2013**; c) *Structure-Based Drug Discovery* (Hrsg.: L. W. Tari), Humana, Springer, New York, **2012**; d) *De Novo Molecular Design* (Hrsg.: G. Schneider), Wiley-VCH, Weinheim, New York, **2014**; e) A. K. Ghosh, S. Gemma, *Structure-Based Design of Drugs and Other Bioactive Molecules*, Wiley-VCH, Weinheim, **2014**.
- [6] Für frühe Beispiele, siehe: a) P. Y. S. Lam, P. K. Jahdavi, C. J. Eyermann, C. N. Hodge, Y. Ru, L. T. Bachelier, J. L. Meek, M. J. Otto, M. M. Rayner, Y. N. Wong, C.-H. Chang, P. C. Weber, D. A. Jackson, T. R. Sharpe, S. Erickson-Viitanen, *Science* **1994**, 263, 380–384; b) U. Obst, V. Gramlich, F. Diederich, L. Weber, D. W. Banner, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1739–1742; *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1874–1877.
- [7] Für neuere Aufsätze, siehe: a) A. M. Davis, S. A. St-Gallay, G. J. Kleywegt, *Drug Discovery Today* **2008**, 13, 831–841; b) M. Congreve, C. J. Langmead, J. S. Mason, F. H. Marshall, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 4283–4311; c) D. J. Huggins, W. Sherman, B. Tidor, *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 1424–1444; d) A. A. Alex, D. S. Millan in *Drug Design Strategies: Quantitative Approaches*, RSC Drug Discovery Series No. 13 (Hrsg.: D. J. Livingstone, A. M. Davis), Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2012**.

- S. 108–163; e) J. Michel, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 4465–4477.
- [8] a) J. E. Ladbury, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 973–980; b) R. Ludwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1808–1827; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1856–1876; c) S. W. Homans, *Drug Discovery Today* **2007**, *12*, 534–539; d) P. Ball, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 74–108.
- [9] a) J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89–112; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 91–116; b) D. J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1009–1020; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1041–1052; c) C. J. Pedersen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1021–1027; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1053–1059; d) für einen historischen Überblick über die supramolekulare Chemie aus der Perspektive dieser Zeitschrift, siehe: F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 2714–2742; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 2778–2807.
- [10] a) F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 362–386; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 372–396; b) F. Diederich, *Cyclophanes*, Royal Society of Chemistry, London, **1991**; c) F. Diederich in *Modern Cyclophane Chemistry* (Hrsg.: H. Hopf, R. Gleiter), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, S. 519–546.
- [11] a) D. A. Dougherty, D. A. Stauffer, *Science* **1990**, *250*, 1558–1560; b) H.-J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1417–1436; *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1419–1439; c) *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, (Molecular Recognition), Bd. 3 (Hrsg.: P. A. Gale, J. W. Steed), Wiley, Chichester, **2012**; d) D. A. Dougherty, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 885–893.
- [12] F. P. Schmidtchen in *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, (Techniques), Bd. 2 (Hrsg.: P. A. Gale, J. W. Steed), Wiley, Chichester, **2012**, S. 275–296.
- [13] a) W. Kauzmann, *Adv. Prot. Chem.* **1959**, *14*, 1–63; b) C. Tanford, *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, 2. Aufl., Wiley, New York, **1980**; c) W. Blokzijl, J. B. F. N. Engberts, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1545–1579; *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1610–1650.
- [14] a) S. B. Ferguson, E. M. Seward, F. Diederich, E. M. Sanford, A. Chou, P. Inocencio-Szweda, C. B. Knobler, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5593–5595. Die Kristallstruktur dieses ersten Cyclophanwirts, für den enthalpisch kontrollierte Komplexierung durch ITC aufgezeigt wurde, enthält zwei ungeordnete, energiereiche Wassermoleküle in der Kavität; b) D. B. Smithrud, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 339–343; c) D. B. Smithrud, T. B. Wyman, F. Diederich, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5420–5426; d) F. Diederich, D. B. Smithrud, E. M. Sanford, T. B. Wyman, S. B. Ferguson, D. R. Carcanague, I. Chao, K. N. Houk, *Acta Chem. Scand.* **1992**, *46*, 205–215; e) für eine weitergehende Diskussion, siehe: E. A. Meyer, R. K. Castellano, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1210–1250; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1244–1287.
- [15] Für Enthalpie-Entropie-Kompensation, siehe: a) Y. Inoue, Y. Liu, L.-H. Tong, B.-J. Shen, D.-S. Jin, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10637–10644; b) J. D. Dunitz, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 709–712; c) L. Liu, Q.-X. Guo, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 673–695; d) V. M. Krishnamurthy, B. R. Bohall, V. Semetey, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5802–5812; e) K. K. Frederick, M. S. Marlow, K. G. Valentine, A. J. Wand, *Nature* **2007**, *448*, 325–330; f) für Enthalpie-Entropie-Kompensation in der Medikamentenentwicklung, siehe: E. Freire, *Drug. Discovery Today* **2008**, *13*, 869–874; g) J. D. Chodera, D. L. Mobley, *Annu. Rev. Biophys.* **2013**, *42*, 121–142; h) J. M. Myslinski, J. H. Clements, J. E. DeLorbe, S. F. Martin, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 1048–1053; i) für ein Beispiel der Enthalpie-Entropie-Kompensation bei der Bindung von mehreren Substraten in einer großen, hydrophoben Kapsel, siehe: A. Grego, A. Müller, I. A. Weinstock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8358–8362; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 8516–8520.
- [16] U. Obst, D. W. Banner, L. Weber, F. Diederich, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 287–295.
- [17] Für neue Aufsätze und Monographien über Protein-Ligand-Wechselwirkungen, siehe: a) V. Harmat, G. Náray-Szabó, *Croat. Chem. Acta* **2009**, *82*, 277–282; b) R. Baron, J. A. McCammon, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **2013**, *64*, 151–175; c) *Protein-Ligand Interactions, Methods and Applications*, 2. Aufl. (Hrsg.: M. A. Williams, T. Daviter), Humana, Springer, New York, **2013**.
- [18] Wechselwirkungen von aromatischen Ringen in chemischen und biologischen Systemen wurden umfassend beschrieben: a) Lit. [14e]; b) L. M. Salonen, M. Ellermann, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4808–4842; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4908–4944; c) eine ganze Ausgabe in *Acc. Chem. Res.* wurde diesem Thema gewidmet: *Aromatic Interactions in Chem. Biol. Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 873–1050.
- [19] D. J. Cram, J. M. Cram, *Container Molecules and Their Guests*, Royal Society of Chemistry, Cambridge **1997**.
- [20] a) J. Rebek, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2068–2078; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2104–2115; b) S. M. Biro, J. Rebek, Jr., *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 93–104; c) J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 1660–1668; d) D. Ajami, J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 990–999.
- [21] Für ausgewählte Aufsätze über die Forschung an Containern, siehe: a) R. Warmuth, J. Yoon, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 95–105; b) M. D. Pluth, K. N. Raymond, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 161–171; c) M. Yoshizawa, J. K. Klosterman, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3418–3438; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3470–3490; d) T. R. Cook, V. Vajpayee, M. H. Lee, P. J. Stang, K. W. Chi, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2464–2474; e) M. M. J. Smulders, I. A. Riddell, C. Browne, J. R. Nitschke, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1728–1754.
- [22] a) J. A. Olsen, D. W. Banner, P. Seiler, U. O. Sander, A. D'Arcy, M. Stihle, K. Müller, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2507–2511; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2611–2615; b) J. A. Olsen, D. W. Banner, P. Seiler, B. Wagner, T. Tschopp, U. Obst-Sander, M. Kansy, K. Müller, F. Diederich, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 666–675.
- [23] R. Paulini, K. Müller, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1788–1805; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1820–1839.
- [24] A. Choudhary, D. Gandla, G. R. Krow, R. T. Raines, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7244–7246.
- [25] a) L. A. Hardegger, B. Kuhn, B. Spinnler, L. Anselm, R. Ecaert, M. Stihle, B. Gsell, R. Thoma, J. Diez, J. Benz, J.-M. Plancher, G. Hartmann, D. W. Banner, W. Haap, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 314–318; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 329–334; b) L. A. Hardegger, B. Kuhn, B. Spinnler, L. Anselm, R. Ecaert, M. Stihle, B. Gsell, R. Thoma, J. Diez, J. Benz, J.-M. Plancher, G. Hartmann, Y. Isshiki, K. Morikami, N. Shimma, W. Haap, D. W. Banner, F. Diederich, *ChemMedChem* **2011**, *6*, 2048–2054.
- [26] W. P. Jencks, *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, McGraw Hill, New York, **1989**.
- [27] E. L. Piatnitski, R. A. Flowers II, K. Deshayes, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 999–1006.
- [28] F. Biedermann, W. M. Nau, H.-J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11158–11171; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 11338–11352.
- [29] H.-J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3924–3977; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3982–4036.
- [30] a) R. L. VanEtten, J. F. Sebastian, G. A. Clowes, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 3242–3253; b) W. Saenger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 344–362; *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 343–361; c) T. D. Kühne, R. Z. Khaliullin, *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1450.
- [31] a) C. Carey, Y.-K. Cheng, P. J. Rossky, *Chem. Phys.* **2000**, *258*, 415–425; b) N. T. Southall, K. A. Dill, *J. Phys. Chem. B* **2000**,

- 104, 1326–1331; c) T. Young, L. Hua, X. Huang, R. Abel, R. Friesner, B. J. Berne, *Proteins* **2010**, *78*, 1856–1869; d) P. Setny, R. Baron, J. A. McCammon, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 2866–2871.
- [32] a) J. Lagona, P. Mukhopadhyay, S. Chakrabarti, L. Isaacs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4844–4870; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4922–4949; b) E. Masson, X. Ling, R. Joseph, L. Kyeremeh-Mensah, X. Lu, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 1213–1247.
- [33] S. Moghaddam, C. Yang, M. Rekharsky, Y. H. Ko, K. Kim, Y. Inoue, M. K. Gilson, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3570–3581.
- [34] L. Isaacs, S.-K. Park, S. Liu, Y. H. Ko, N. Selvapalam, Y. Kim, H. Kim, P. Y. Zavalij, G.-H. Kim, H.-S. Lee, K. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18000–18001.
- [35] a) C. Marquez, W. M. Nau, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4387–4390; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4515–4518; b) W. M. Nau, M. Florea, K. I. Assaf, *Isr. J. Chem.* **2011**, *51*, 559–577; c) F. Biedermann, V. D. Uzunova, O. A. Scherman, W. M. Nau, A. De Simone, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15318–15323; d) F. Biedermann, M. Vendruscolo, O. A. Scherman, A. De Simone, W. M. Nau, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14879–14888.
- [36] Für eine neuere experimentelle Studie, die zeigt, wie wichtig der Gewinn von kohäsiven Wechselwirkungen zwischen Lösungsmittelmolekülen in molekularen Erkennungsprozessen ist, siehe: L. Yang, C. Adam, G. S. Nichol, S. L. Cockroft, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 1006–1010.
- [37] Für eine ITC-Studie über die Bindung von Ammoniumionen in Kapseln in Wasser mit einer starken entropischen Triebkraft aufgrund der Desolvatation der Ionen, siehe: C. Sgarlata, J. S. Mugridge, M. D. Pluth, B. E. F. Tiedemann, V. Zito, G. Arena, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1005–1009.
- [38] L. Cao, M. Šekutor, P. Y. Zavalij, K. Mlinarić-Majerski, R. Glaser, L. Isaacs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 988–993; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 1006–1011.
- [39] M. Nakasako, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2004**, *359*, 1191–1206.
- [40] J. D. Dunitz, *Science* **1994**, *264*, 670.
- [41] a) A. T. García-Sosa, R. L. Mancera, P. M. Dean, *J. Mol. Model.* **2003**, *9*, 172–182; b) 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; c) N. Huang, B. K. Shoichet, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4862–4865; d) J. Michel, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15403–15411; e) S. B. A. de Beer, N. P. E. Vermeulen, C. Oostenbrink, *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 55–66; f) R. Baron, P. Setny, J. A. McCammon, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12091–12097; g) Lit. [31c]; h) L. Wang, B. J. Berne, R. A. Friesner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 1326–1330; i) S. Riniker, L. J. Barandun, F. Diederich, O. Krämer, A. Steffen, W. F. van Gunsteren, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2012**, *26*, 1293–1309; j) R. A. Pearlstein, W. Sherman, R. Abel, *Proteins* **2013**, *81*, 1509–1526; k) A. T. García-Sosa, *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 1388–1405; l) S. Barelier, S. E. Boyce, I. Fish, M. Fischer, D. B. Goodin, B. K. Shoichet, *PLoS One* **2013**, *8*, e69153; m) K. Haider, D. J. Huggins, *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 2571–2586; n) P. W. Snyder, M. R. Lockett, D. T. Moustakas, G. M. Whitesides, *Eur. Phys. J. Spec. Top.* **2014**, *223*, 853–891.
- [42] M. C. Witschel, H. W. Höffken, M. Seet, L. Parra, T. Mietzner, F. Thater, R. Niggeweg, F. Röhl, B. Illarionov, F. Rohdich, J. Kaiser, M. Fischer, A. Bacher, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7931–7935; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 8077–8081.
- [43] a) B. Masjost, P. Ballmer, E. Borroni, G. Zürcher, F. K. Winkler, R. Jakob-Roetne, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 971–982; b) C. Lerner, A. Ruf, V. Gramlich, B. Masjost, G. Zürcher, R. Jakob-Roetne, E. Borroni, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4040–4042; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4164–4166; c) C. Lerner, B. Masjost, A. Ruf, V. Gramlich, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 42–49.
- [44] a) J. Borgulya, H. Bruderer, K. Bernauer, G. Zürcher, M. Da Prada, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 952–968; b) J. Vidgren, L. A. Svensson, A. Liljas, *Nature* **1994**, *368*, 354–358; c) P. T. Männistö, S. Kaakkola, *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51*, 593–628; d) G. M. Keating, K. A. Lyseng-Williamson, *CNS Drugs* **2005**, *19*, 165–184.
- [45] a) M. Ellermann, R. Jakob-Roetne, C. Lerner, E. Borroni, D. Schlatter, D. Roth, A. Ehler, M. G. Rudolph, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9092–9096; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9256–9260; b) M. Ellermann, R. Paulini, R. Jakob-Roetne, C. Lerner, E. Borroni, D. Roth, A. Ehler, W. B. Schweizer, D. Schlatter, M. G. Rudolph, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6369–6381; c) M. Ellermann, C. Lerner, G. Burgy, A. Ehler, C. Bissantz, R. Jakob-Roetne, R. Paulini, O. Allemann, H. Tissot, D. Grünstein, M. Stihle, F. Diederich, M. G. Rudolph, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2012**, *68*, 253–260; d) für eine aktuelle Untersuchung von Kristallstrukturen der apo-COMT, siehe: A. Ehler, J. Benz, D. Schlatter, M. G. Rudolph, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2014**, *70*, 2163–2174.
- [46] a) S. R. Hörtnner, T. Ritschel, B. Stengl, C. Kramer, W. B. Schweizer, B. Wagner, M. Kansy, G. Klebe, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8266–8269; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8414–8417; b) P. C. Kohler, T. Ritschel, W. B. Schweizer, G. Klebe, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10809–10817; c) T. Ritschel, S. Hoertner, A. Heine, F. Diederich, G. Klebe, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 716–727.
- [47] U. Grädler, H.-D. Gerber, D. M. Goodenough-Lashua, G. A. Garcia, R. Ficner, K. Reuter, M. T. Stubbs, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2001**, *306*, 455–467.
- [48] Q.-Q. Wang, V. W. Day, K. Bowman-James, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2119–2123; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2161–2165.
- [49] T. Ritschel, P. C. Kohler, G. Neudert, A. Heine, F. Diederich, G. Klebe, *ChemMedChem* **2009**, *4*, 2012–2023.
- [50] a) F. Immekus, L. J. Barandun, M. Betz, F. Debaene, S. Petiot, S. Sanglier-Cianferani, K. Reuter, F. Diederich, G. Klebe, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1163–1178; b) L. J. Barandun, F. Immekus, P. C. Kohler, T. Ritschel, A. Heine, P. Orlando, G. Klebe, F. Diederich, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2013**, *69*, 1798–1807.
- [51] L. J. Barandun, F. Immekus, P. C. Kohler, S. Tonazzi, B. Wagner, S. Wendelspiess, T. Ritschel, A. Heine, M. Kansy, G. Klebe, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 9246–9257.
- [52] R. Brenk, M. T. Stubbs, A. Heine, K. Reuter, G. Klebe, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 1066–1077.
- [53] a) K. L. Whalen, M. A. Spies, *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 2349–2359; b) M. A. Spies, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 895–897.
- [54] a) S. Grüner, M. Neeb, L. J. Barandun, F. Sielaff, C. Hohn, S. Kojima, T. Steinmetzer, F. Diederich, G. Klebe, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2014**, *1840*, 2843–2850; b) M. Neeb, P. Czodrowski, A. Heine, L. J. Barandun, C. Hohn, F. Diederich, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5554–5565; c) M. Neeb, M. Betz, A. Heine, L. J. Barandun, C. Hohn, F. Diederich, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5566–5578.
- [55] a) V. M. Krishnamurthy, G. K. Kaufman, A. R. Urbach, I. Gitlin, K. L. Gudiksen, D. B. Weibel, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 946–1051; b) P. W. Snyder, J. Mecinović, D. T. Moustakas, S. W. Thomas III, M. Harder, E. T. Mack, M. R. Lockett, A. Héroux, W. Sherman, G. M. Whitesides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 17889–17894; c) B. Breiten, M. R. Lockett, W. Sherman, S. Fujita, M. Al-Sayah, H. Lange, C. M. Bowers, A. Héroux, G. Krilov, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 15579–15584; d) M. R. Lockett, H. Lange, B. Breiten, A. Héroux, W. Sherman, D. Rappoport, P. O. Yau, P. W. Snyder, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7714–7717; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7868–7871.

- [56] a) A. Biela, F. Sielaff, F. Terwesten, A. Heine, T. Steinmetzer, G. Klebe, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6094–6110; b) A. Biela, M. Khayat, H. Tan, J. Kong, A. Heine, D. Hangauer, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2012**, *418*, 350–366.
- [57] a) L. Englert, A. Biela, M. Zayed, A. Heine, D. Hangauer, G. Klebe, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2010**, *1800*, 1192–1202; b) A. Biela, N. N. Nasief, M. Betz, A. Heine, D. Hangauer, G. Klebe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1822–1828; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 1868–1876; c) S. G. Krimmer, M. Betz, A. Heine, G. Klebe, *ChemMedChem* **2014**, *9*, 833–846.
- [58] a) A. Biela, M. Betz, A. Heine, G. Klebe, *ChemMedChem* **2012**, *7*, 1423–1434; b) N. N. Nasief, H. Tan, J. Kong, D. Hangauer, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 8283–8302; c) N. N. Nasief, D. Hangauer, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2315–2333.
- [59] M. Zürcher, F. Diederich, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4345–4361.
- [60] E. Fischer, *Chem. Ber.* **1894**, *27*, 2985–2993.
- [61] A. Nicholls, G. B. McGaughey, R. P. Sheridan, A. C. Good, G. Warren, M. Mathieu, S. W. Muchmore, S. P. Brown, J. A. Grant, J. A. Haigh, N. Nevins, A. N. Jain, B. Kelley, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3862–3886.
- [62] a) M. Weisel, E. Proschak, G. Schneider, *Chem. Cent. J.* **2007**, *1*, 7; b) S. Henrich, O. M. H. Salo-Ahen, B. Huang, F. Rippmann, G. Cruciani, R. C. Wade, *J. Mol. Recognit.* **2010**, *23*, 209–219; c) X. Zheng, L. Gan, E. Wang, *AAPS J.* **2013**, *15*, 228–241; d) *Focus on Structural Biology*, Bd. 8 (Hrsg.: I. Roterman-Konieczna), Springer, Dordrecht, **2013**; e) D. Rognan in *Chemical Genomics and Proteomics* (Hrsg.: F. Darvas, A. Guttman, G. Dormán), CRC, Boca Raton, **2013**, S. 173–204.
- [63] S. Mecozzi, J. Rebek, Jr., *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1016–1022.
- [64] a) J. R. Moran, S. Karbach, D. J. Cram, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5826–5828; b) D. J. Cram, *Science* **1983**, *219*, 1177–1183.
- [65] a) L. Trembleau, J. Rebek, Jr., *Science* **2003**, *301*, 1219–1220; b) A. Scarso, L. Trembleau, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5499–5502; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5657–5660; c) B. W. Purse, J. Rebek, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 2530–2534.
- [66] a) N. O. B. Lüttschwager, T. N. Wassermann, R. A. Mata, M. A. Suhm, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 463–466; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 482–485; b) J. N. Byrd, R. J. Bartlett, J. A. Montgomery, Jr., *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 1706–1712.
- [67] J. P. Lowe, *Prog. Phys. Org. Chem.* **1968**, *6*, 1–80.
- [68] K.-D. Zhang, D. Ajami, J. V. Gavette, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 5264–5266.
- [69] Für Aufsätze über die verschiedenen Schaltprozesse, siehe: a) V. A. Azov, A. Beeby, M. Cacciarini, A. G. Cheetham, F. Diederich, M. Frei, J. K. Gimzewski, V. Gramlich, B. Hecht, B. Jaun, T. Latychevskaia, A. Lieb, Y. Lill, F. Marotti, A. Schlegel, R. R. Schlittler, P. J. Skinner, P. Seiler, Y. Yamakoshi, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 147–156; b) I. Pochorovski, F. Diederich, *Isr. J. Chem.* **2012**, *52*, 20–29; c) I. Pochorovski, F. Diederich, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 2096–2105.
- [70] a) T. Gottschalk, B. Jaun, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 260–264; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 264–268; b) T. Gottschalk, P. D. Jarowski, F. Diederich, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8307–8317.
- [71] 1000 ps Simulationszeit mit 1.0 fs Zeitschritten, MMFF94s-Kraftfeld, 300 K, GB/SA-Modell für CHCl₃; MacroModel, Version 9.5; Schrödinger LLC, New York, NY, USA, **2007**.
- [72] J. Hornung, D. Fankhauser, L. D. Shirtcliff, A. Praetorius, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 12362–12371.
- [73] a) Lit. [18b]; b) S. Tsuzuki, K. Honda, T. Uchimaru, M. Mikami, A. Fujii, *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 10163–10168; c) K. Shibasaki, A. Fujii, N. Mikami, S. Tsuzuki, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 753–758; d) M. Nishio, Y. Umezawa, J. Fantini, M. S. Weiss, P. Chakrabarti, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 12648–12683.
- [74] D. Fankhauser, D. Kolarski, W. R. Grüning, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 3575–3583.
- [75] a) E. Dalcaneale, P. Soncini, G. Bacchilega, F. Ugozzoli, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 500–502; b) P. Soncini, S. Bonsignore, E. Dalcaneale, F. Ugozzoli, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4608–4612.
- [76] a) M. Rohmer, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 565–574; b) M. Rodríguez-Concepción, A. Boronat, *Plant Physiol.* **2002**, *130*, 1079–1089; c) W. Eisenreich, A. Bacher, D. Arigoni, F. Rohdich, *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61*, 1401–1426; d) T. Gräwert, M. Groll, F. Rohdich, A. Bacher, W. Eisenreich, *Cell. Mol. Life Sci.* **2011**, *68*, 3797–3814.
- [77] T. Masini, B. S. Kroezen, A. K. H. Hirsch, *Drug Discovery Today* **2013**, *18*, 1256–1262.
- [78] H. Joomaa, J. Wiesner, S. Sanderbrand, B. Altincicek, C. Weidemeyer, M. Hintz, J. Türbachova, M. Eberl, J. Zeidler, H. K. Lichtenthaler, D. Soldati, E. Beck, *Science* **1999**, *285*, 1573–1576.
- [79] A. K. H. Hirsch, F. R. Fischer, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 338–352; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 342–357.
- [80] a) L. Miallau, M. S. Alphey, L. E. Kemp, G. A. Leonard, S. M. McSweeney, S. Hecht, A. Bacher, W. Eisenreich, F. Rohdich, W. N. Hunter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 9173–9178 (PDB ID: 1OJ4); Für weitere Röntgenkristallstrukturen von IspE, siehe: b) T. Wada, T. Kuzuyama, S. Satoh, S. Kuramitsu, S. Yokoyama, S. Unzai, J. R. H. Tame, S.-Y. Park, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 30022–30027 (PDB ID: 1UEK); c) C. M. Crane, A. K. H. Hirsch, M. S. Alphey, T. Sgraja, S. Lauw, V. Illarionova, F. Rohdich, W. Eisenreich, W. N. Hunter, A. Bacher, F. Diederich, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 91–101 (PDB ID: 2V2Q, 2V2V); d) T. Sgraja, M. S. Alphey, S. Ghilagaber, R. Marquez, M. N. Robertson, J. L. Hemmings, S. Lauw, F. Rohdich, A. Bacher, W. Eisenreich, V. Illarionova, W. N. Hunter, *FEBS J.* **2008**, *275*, 2779–2794 (PDB ID: 2V8P, 2V34, 2V2Z); e) J. Kalinowska-Tłuścik, L. Miallau, M. Gabrielsen, G. A. Leonard, S. M. McSweeney, W. N. Hunter, *Acta Crystallogr. Sect. F* **2010**, *66*, 237–241 (PDB ID: 2WW4); f) S. Shan, X. Chen, T. Liu, H. Zhao, Z. Rao, Z. Lou, *FASEB J.* **2011**, *25*, 1577–1584 (PDB ID: 3PYD, 3PYE, 3PYF, 3PYG); g) noch zu veröffentlichen: PDB ID: 4DXL, 4ED4, 4EMD.
- [81] a) A. C. Dar, K. M. Shokat, *Annu. Rev. Biochem.* **2011**, *80*, 769–795; b) H. Patterson, R. Nibbs, I. McInnes, S. Siebert, *Clin. Exp. Immunol.* **2014**, *176*, 1–10.
- [82] a) L. M. Wilhelmsson, *Q. Rev. Biophys.* **2010**, *43*, 159–183; b) A. A. Tanpure, M. G. Pawar, S. G. Srivatsan, *Isr. J. Chem.* **2013**, *53*, 366–378; c) M. Suchý, R. H. E. Hudson, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 3336–3347; d) D. D. Haveliwal, N. R. Kamdar, P. T. Mistry, S. K. Patel, *Nucleosides Nucleotides* **2014**, *33*, 80–91.
- [83] a) P. A. Jones, D. Takai, *Science* **2001**, *293*, 1068–1070; b) S. Bareyt, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 181–184; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 187–190; c) R. Bonasio, S. Tu, D. Reinberg, *Science* **2010**, *330*, 612–616; d) S. Feng, S. E. Jacobsen, W. Reik, *Science* **2010**, *330*, 622–627; e) M. Münzel, D. Globisch, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6460–6468; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 6588–6596.
- [84] A. P. Schütz, S. Osawa, J. Mathis, A. K. H. Hirsch, B. Bernet, B. Illarionov, M. Fischer, A. Bacher, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 3278–3287.
- [85] Einige K_i-Werte wurden mithilfe der Cheng-Prusoff-Gleichung berechnet: Y.-C. Cheng, W. H. Prusoff, *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 3099–3108.
- [86] a) A. K. H. Hirsch, S. Lauw, P. Gersbach, W. B. Schweizer, F. Rohdich, W. Eisenreich, A. Bacher, F. Diederich, *ChemMedChem* **2007**, *2*, 806–810; b) A. K. H. Hirsch, M. S. Alphey, S. Lauw, M. Seet, L. Barandun, W. Eisenreich, F. Rohdich, W. N. Hunter, A. Bacher, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*,

- 2719–2730; c) P. Mombelli, C. Le Chapelain, N. Munzinger, E. Joliat, B. Illarionov, W. B. Schweizer, A. K. H. Hirsch, M. Fischer, A. Bacher, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 1068–1079.
- [87] Ein aktueller Bericht über 4-Chinazolinon-basierte Inhibitoren von *EcIspE* mit IC_{50} -Werten im niederen mikromolaren Bereich konnte in unserem robusten Assay nicht bestätigt werden. Wir nehmen an, dass diese Verbindungen an das Hilfsenzym im Assay, eine Luciferase, bindet anstelle von *EcIspE*; N. Tidten-Luksch, R. Grimaldi, L. S. Torrie, J. A. Frearson, W. N. Hunter, R. Brenk, *PLoS One* **2012**, 7, e35792.
- [88] P. R. Gerber, K. Müller, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1995**, 9, 251–268.
- [89] a) G. Wuitschik, M. Rogers-Evans, A. Buckl, M. Bernasconi, M. Märki, T. Godel, H. Fischer, B. Wagner, I. Parrilla, F. Schuler, J. Schneider, A. Alker, W. B. Schweizer, K. Müller, E. M. Carreira, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 4512–4515; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 4588–4591; b) G. Wuitschik, E. M. Carreira, B. Wagner, H. Fischer, I. Parrilla, F. Schuler, M. Rogers-Evans, K. Müller, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 3227–3246.
- [90] a) W. L. Jorgensen, J. Pranata, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 2008–2010; b) T. J. Murray, S. C. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 4010–4011; c) B. A. Blight, C. A. Hunter, D. A. Leigh, H. McNab, P. I. T. Thomson, *Nat. Chem.* **2011**, 3, 244–248.
- [91] C. S. Leung, S. S. F. Leung, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen, *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4489–4500.
- [92] A. P. Schütz, S. Locher, B. Bernet, B. Illarionov, M. Fischer, A. Bacher, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 880–887.
- [93] I. Hale, P. M. O'Neill, N. G. Berry, A. Odom, R. Sharma, *MedChemComm* **2012**, 3, 418–433.
- [94] a) L. E. Kemp, C. S. Bond, W. N. Hunter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 6591–6596; b) S. Steinbacher, J. Kaiser, J. Wungsintaweekul, S. Hecht, W. Eisenreich, S. Gerhardt, A. Bacher, F. Rohdich, *J. Mol. Biol.* **2002**, 316, 79–88.
- [95] Insgesamt 56 Röntgenkristallstrukturen des *IspF*-Enzyms wurden bis heute in der PDB eingetragen (Juli 2014). Eine Übersicht über die frühen Strukturen findet sich in: W. N. Hunter, *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 21573–21577.
- [96] C. M. Crane, J. Kaiser, N. L. Ramsden, S. Lauw, F. Rohdich, W. Eisenreich, W. N. Hunter, A. Bacher, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1069–1074; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1082–1087.
- [97] Die kleine Tasche I in *EcIspF* enthält die Seitenkette von Asp46'.
- [98] P. E. F. O'Rourke, K.-T. Justyna, P. K. Fyfe, A. Dawson, W. N. Hunter, *BMC Struct. Biol.* **2014**, 14, 1–12.
- [99] Kristallstrukturen stammen aus: a) Lit. [94] (PDB ID: 1GX1, 1JY8, 1U3L, 1U3P, 1U40, 1U43); b) Lit. [96] (PDB ID: 2GZL); c) S. B. Richard, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 8667–8672 (PDB ID: 1KNJ, 1KNK); d) T. Sgraja, L. E. Kemp, N. Ramsden, W. N. Hunter, *Acta Crystallogr. Sect. F* **2005**, 61, 625–629 (PDB ID: 1YQN).
- [100] a) C. Baumgartner, C. Eberle, F. Diederich, S. Lauw, F. Rohdich, W. Eisenreich, A. Bacher, *Helv. Chim. Acta* **2007**, 90, 1043–1068; b) J. Geist, ETH Dissertation No 19777, **2011**.
- [101] Es ist nicht immer möglich, eine Riboseeinheit zu ersetzen, die in engem Kontakt mit Asp- oder Glu-Seitenketten steht, siehe: R. Paulini, C. Trindler, C. Lerner, L. Brändli, W. B. Schweizer, R. Jakob-Roetne, G. Zürcher, E. Borroni, F. Diederich, *ChemMedChem* **2006**, 1, 340–357.
- [102] a) N. L. Ramsden, L. Buetow, A. Dawson, L. A. Kemp, V. Ulaganathan, R. Brenk, G. Klebe, W. N. Hunter, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2531–2542; b) D. W. Begley, R. C. Hartley, D. R. Davies, T. E. Edwards, J. T. Leonard, J. Abendroth, C. A. Burris, J. Bhandari, P. J. Myler, B. L. Staker, L. J. Stewart, J. Struct. Funct. Genomics **2011**, 12, 63–76; c) Z. Zhang, S. Jakaraju, J. Blain, K. Gogol, L. Zhao, R. C. Hartley, C. A. Karlsson, B. L. Staker, T. E. Edwards, L. J. Stewart, P. J. Myler, M. Clare, D. W. Begley, J. R. Horn, T. J. Hagen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 6860–6863.
- [103] J. G. Geist, S. Lauw, V. Illarionova, B. Illarionov, M. Fischer, T. Gräwert, F. Rohdich, W. Eisenreich, J. Kaiser, M. Groll, C. Scheurer, S. Wittlin, J. L. Alonso-Gómez, W. B. Schweizer, A. Bacher, F. Diederich, *ChemMedChem* **2010**, 5, 1092–1101.
- [104] A. H. Fairlamb, P. Blackburn, P. Ulrich, B. T. Chait, A. Cerami, *Science* **1985**, 227, 1485–1487.
- [105] M. A. Comini, L. Flohé, *Trypanosomatid Dis. Mol. Routes Drug Discovery* **2013**, 167–199.
- [106] Eine Suche in der PDB für Trypanothion-Reduktase fand 27 Strukturen (Juli 2014).
- [107] a) C. H. Faerman, S. N. Savvides, C. Strickland, M. A. Breidenbach, J. A. Ponasik, B. Ganem, D. Ripoll, R. L. Krauth-Siegel, P. A. Karplus, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 1247–1253; b) C. S. Bond, Y. Zhang, M. Berriman, M. L. Cunningham, A. H. Fairlamb, W. N. Hunter, *Structure* **1999**, 7, 81–89; c) B. Stump, C. Eberle, M. Kaiser, R. Brun, R. L. Krauth-Siegel, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 3935–3947.
- [108] a) S. Bonse, C. Santelli-Rouvier, J. Barbe, R. L. Krauth-Siegel, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 5448–5454; b) B. Chitkul, M. Bradley, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2367–2369; c) A. Saravanamuthu, T. J. Vickers, C. S. Bond, M. R. Peterson, W. N. Hunter, A. H. Fairlamb, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 29493–29500; d) C. Eberle, B. S. Lauber, D. Fankhauser, M. Kaiser, R. Brun, R. L. Krauth-Siegel, F. Diederich, *ChemMedChem* **2011**, 6, 292–301; e) M. H. Duyzend, C. T. Clark, S. L. Simmons, W. B. Johnson, A. M. Larson, A. M. Leconte, A. W. Wills, M. Ginder-Vogel, A. K. Wilhelm, J. A. Czechowicz, D. G. Alberg, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2012**, 27, 784–794; f) P. Baiocco, G. Poce, S. Alfonso, M. Coccozza, G. C. Porretta, G. Colotti, M. Biava, F. Moraca, M. Botta, V. Yardley, A. Fiorillo, A. Lantella, F. Malatesta, A. Ilari, *ChemMedChem* **2013**, 8, 1175–1183.
- [109] a) J. L. Richardson, I. R. E. Nett, D. C. Jones, M. H. Abdille, I. H. Gilbert, A. H. Fairlamb, *ChemMedChem* **2009**, 4, 1333–1340; b) S. Patterson, D. C. Jones, E. J. Shanks, J. A. Frearson, I. H. Gilbert, P. G. Wyatt, A. H. Fairlamb, *ChemMedChem* **2009**, 4, 1341–1353; c) E. Persch, S. Bryson, N. K. Todoroff, C. Eberle, J. Thelemann, N. Dirdjaja, M. Kaiser, M. Weber, H. Derbani, R. Brun, G. Schneider, E. F. Pai, R. L. Krauth-Siegel, F. Diederich, *ChemMedChem* **2014**, 9, 1880–1891.
- [110] E. M. Jacoby, I. Schlichting, C. B. Lantwin, W. Kabsch, R. L. Krauth-Siegel, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1996**, 24, 73–80.
- [111] a) H.-J. Schneider, *Chem. Soc. Rev.* **1994**, 23, 227–234; b) Y. Xu, Y. Nakajima, K. Ito, H. Zheng, H. Oyama, U. Heiser, T. Hoffmann, U.-T. Gärtner, H.-U. Demuth, T. Yoshimoto, *J. Mol. Biol.* **2008**, 375, 708–719.
- [112] S. Patterson, M. S. Alpey, D. C. Jones, E. J. Shanks, I. P. Street, J. A. Frearson, P. G. Wyatt, I. H. Gilbert, A. H. Fairlamb, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 6514–6530.
- [113] a) R. Fernandez-Gomez, M. Moutiez, M. Aumercier, G. Bethegnies, M. Luyckx, A. Ouassii, A. Tartar, C. Sergheraert, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1995**, 6, 111–118; b) S. Parveen, M. O. F. Khan, S. E. Austin, S. L. Croft, V. Yardley, P. Rock, K. T. Douglas, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 8087–8097; c) B. Stump, M. Kaiser, R. Brun, R. L. Krauth-Siegel, F. Diederich, *ChemMedChem* **2007**, 2, 1708–1712; d) C. Eberle, J. A. Burkhard, B. Stump, M. Kaiser, R. Brun, R. L. Krauth-Siegel, F. Diederich, *ChemMedChem* **2009**, 4, 2034–2044.
- [114] a) I. D. Kuntz, K. Chen, K. A. Sharp, P. A. Kollman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 9997–10002; b) A. L. Hopkins, C. R. Groom, A. Alex, *Drug Discovery Today* **2004**, 9, 430–431; c) C. H. Reynolds, B. A. Tounge, S. D. Bembenek, *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2432–2438.

- [115] a) P. D. Leeson, B. Springthorpe, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 881–890; b) J. A. Arnott, S. L. Planey, *Expert Opin. Drug Discovery* **2012**, *7*, 863–875.
- [116] T. Ryckmans, M. P. Edwards, V. A. Horne, A. M. Correia, D. R. Owen, L. R. Thompson, I. Tran, M. F. Tutt, T. Young, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4406–4409.
- [117] a) A. Straub, S. Roehrig, A. Hillisch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4574–4590; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 4670–4686; b) T. A. DeWald, R. C. Becker, *J. Thromb. Thrombolysis* **2014**, *37*, 217–233.
- [118] a) K. Schärer, M. Morgenthaler, R. Paulini, U. Obst-Sander, D. W. Banner, D. Schlatter, J. Benz, M. Stihle, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4400–4404; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4474–4479; b) L. M. Salonen, C. Bucher, D. W. Banner, W. Haap, J.-L. Mary, J. Benz, O. Kuster, P. Seiler, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 811–814; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 825–828.
- [119] L. M. Salonen, M. C. Holland, P. S. J. Kaib, W. Haap, J. Benz, J.-L. Mary, O. Kuster, W. B. Schweizer, D. W. Banner, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 213–222.
- [120] a) C. D. Tatko, M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2028–2034; b) R. M. Hughes, M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6518–6519; c) R. M. Hughes, K. R. Wiggins, S. Khorasanizadeh, M. L. Waters, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 11184–11188.
- [121] a) L. Anselm, D. W. Banner, J. Benz, K. G. Zbinden, J. Himber, H. Hilpert, W. Huber, B. Kuhn, J.-L. Mary, M. B. Otteneder, N. Panday, F. Ricklin, M. Stahl, S. Thomi, W. Haap, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5313–5319; b) S. Roehrig, A. Straub, J. Pohlmann, T. Lampe, J. Pernerstorfer, K.-H. Schlemmer, P. Reinemer, E. Perzborn, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5900–5908; c) M. R. Wiley, L. C. Weir, S. Briggs, N. A. Bryan, J. Buben, C. Campbell, N. Y. Chirgadze, R. C. Conrad, T. J. Craft, J. V. Ficorilli, J. B. Franciskovich, L. L. Froelich, D. S. Gifford-Moore, T. Goodson, D. K. Herron, V. J. Klimkowski, K. D. Kurz, J. A. Kyle, J. J. Masters, A. M. Ratz, G. Milot, R. T. Shuman, T. Smith, G. F. Smith, A. L. Tebbe, J. M. Tinsley, R. D. Towner, A. Wilson, Y. K. Yee, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 883–899.
- [122] H. Matter, M. Nazaré, S. Güssregen, D. W. Will, H. Schreuder, A. Bauer, M. Urmann, K. Ritter, M. Wagner, V. Wehner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2911–2916; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2955–2960.
- [123] K. Padmanabhan, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, C. H. Park, W. Bode, R. Huber, D. T. Blankenship, A. D. Cardin, W. Kiesel, *J. Mol. Biol.* **1993**, *232*, 947–966.
- [124] B. Kuhn, J. E. Fuchs, M. Reutlinger, M. Stahl, N. R. Taylor, *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51*, 3180–3198.
- [125] S. N. Dorogovtsev, J. F. F. Mendes, *Evolution of Networks: From Biological Nets to the Internet and WWW*, Oxford University Press, Oxford, **2003**.
- [126] E. Perola, P. S. Charifson, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2499–2510.
- [127] J. Bunzen, J. Iwasa, P. Bonakdarzadeh, E. Numata, K. Rissanen, S. Sato, M. Fujita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3161–3163; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 3215–3217.
- [128] M. Harder, B. Kuhn, F. Diederich, *ChemMedChem* **2013**, *8*, 397–404.
- [129] A. J. Goodman, E. C. Breinlinger, C. M. McIntosh, L. N. Grimaldi, V. M. Rotello, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1531–1534.
- [130] *Aspartic Acid Proteases as Therapeutic Targets* (Hrsg.: G. Folkers, R. Mannhold, H. Kubinyi), Wiley-VCH, Weinheim, **2010**.
- [131] a) C. Jensen, P. Herold, H. R. Brunner, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, *7*, 399–410; b) R. L. Webb, N. Schiering, R. Sedrani, J. Maibaum, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7490–7520; c) J. Tamargo, J. López-Sendón, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 536–555.
- [132] a) A. M. J. Wensing, N. M. van Maarseveen, M. Nijhuis, *Antiviral Res.* **2010**, *85*, 59–74; b) H. C. Castro, P. A. Abreu, R. B. Geraldo, R. C. A. Martins, R. dos Santos, N. I. V. Loureiro, L. M. Cabral, C. R. Rodrigues, *J. Mol. Recognit.* **2011**, *24*, 165–181; c) A. Engelman, P. Cherepanov, *Nat. Rev. Microbiol.* **2012**, *10*, 279–290.
- [133] a) A. K. Ghosh, M. Brindisi, J. Tang, *J. Neurochem.* **2012**, *120*, 71–83; b) T. Silva, J. Reis, J. Teixeira, F. Borges, *Ageing Res. Rev.* **2014**, *15*, 116–145; c) R. Vassar, P.-H. Kuhn, C. Haass, M. E. Kennedy, L. Rajendran, P. C. Wong, S. F. Lichtenthaler, *J. Neurochem.* **2014**, *130*, 4–28.
- [134] a) K. Ersmark, B. Samuelsson, A. Hallberg, *Med. Res. Rev.* **2006**, *26*, 626–666; b) J. Sabotič, J. Kos, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *93*, 1351–1375.
- [135] P. Bhaumik, A. Gustchina, A. Wlodawer, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics* **2012**, *1824*, 207–223.
- [136] Eine Suche in der PDB für Plasmepsine lieferte 30 Strukturen (Juli 2014), wovon zwei zu PM I gehören, 19 zu PM II, fünf zur Histoaspartylprotease (HAP) und vier zu PM IV: a) siehe Lit. [135]; b) K. Jaudzems, K. Tars, G. Maurops, N. Ivdra, M. Otikovs, J. Leitans, I. Kanepe-Lapsa, I. Domracheva, I. Mutule, P. Trapencieris, M. J. Blackman, A. Jirgensons, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 373–377.
- [137] L. Prade, A. F. Jones, C. Boss, S. Richard-Bildstein, S. Meyer, C. Binkert, D. Bur, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 23837–23843.
- [138] a) N. K. Bernstein, M. M. Cherney, H. Loetscher, R. G. Ridley, M. N. G. James, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 32–37; b) D. A. Carcache, S. R. Hörtner, P. Seiler, F. Diederich, A. Dorn, H. P. Märki, C. Binkert, D. Bur, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2173–2191; c) D. A. Carcache, S. R. Hörtner, A. Bertogg, F. Diederich, A. Dorn, H. P. Märki, C. Binkert, D. Bur, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2192–2209; d) C. Boss, O. Corminboeuf, C. Grisostomi, S. Meyer, A. F. Jones, L. Prade, C. Binkert, W. Fischli, T. Weller, D. Bur, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 1341–1345; e) F. Hof, A. Schütz, C. Fäh, S. Meyer, D. Bur, J. Liu, D. E. Goldberg, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2138–2141; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2193–2196.
- [139] a) M. Zürcher, T. Gottschalk, S. Meyer, D. Bur, F. Diederich, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 237–240; b) M. Zürcher, F. Hof, L. Barandun, A. Schütz, W. B. Schweizer, S. Meyer, D. Bur, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1707–1719.
- [140] V. Aureggi, V. Ehmke, J. Wieland, W. B. Schweizer, B. Bernet, D. Bur, S. Meyer, M. Rottmann, C. Freymond, R. Brun, B. Breit, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 155–164.
- [141] A. P. Benfield, M. G. Teresk, H. R. Plake, J. E. DeLorbe, L. E. Millsbaugh, S. F. Martin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6830–6835; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6984–6989.
- [142] a) C. Fäh, L. A. Hardegger, L. Baitsch, W. B. Schweizer, S. Meyer, D. Bur, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3947–3957; b) C. Fäh, R. Mathys, L. A. Hardegger, S. Meyer, D. Bur, F. Diederich, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4617–4629.
- [143] a) C. R. Caffrey, D. Steverding, *Expert Opin. Drug Discovery* **2008**, *3*, 173–186; b) T. Schirmeister, A. Welker, *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, *38*, 564–574; c) A. Cavalli, M. L. Bolognesi, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7339–7359; d) C. Teixeira, J. R. B. Gomes, P. Gomes, *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1555–1572.
- [144] a) R. Ettari, L. Tamborini, I. C. Angelo, N. Micale, A. Pinto, C. De Micheli, P. Conti, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5637–5658; b) U. R. Mane, R. C. Gupta, S. S. Nadkarni, R. R. Giridhar, P. P. Naik, M. R. Yadav, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2013**, *23*, 165–187.
- [145] a) S. Scory, C. R. Caffrey, Y.-D. Stierhof, A. Ruppel, D. Steverding, *Exp. Parasitol.* **1999**, *91*, 327–333; b) B. R. Shenai, P. S. Sijwali, A. Singh, P. J. Rosenthal, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 29000–29010.
- [146] a) V. Ehmke, C. Heindl, M. Rottmann, C. Freymond, W. B. Schweizer, R. Brun, A. Stich, T. Schirmeister, F. Diederich, *ChemMedChem* **2011**, *6*, 273–278; b) V. Ehmke, F. Kilchmann, C. Heindl, K. Cui, J. Huang, T. Schirmeister, F. Diederich, *MedChemComm* **2011**, *2*, 800–804; c) V. Ehmke, J. E. Q.

- Quinsaat, P. Rivera-Fuentes, C. Heindl, C. Freymond, M. Rottmann, R. Brun, T. Schirmeister, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5764–5768; d) V. Ehmke, E. Winkler, D. W. Banner, W. Haap, W. B. Schweizer, M. Rottmann, M. Kaiser, C. Freymond, T. Schirmeister, F. Diederich, *ChemMedChem* **2013**, *8*, 967–975.
- [147] Bis heute sind zwei Kristallstrukturen von Rhodesain in der PDB eingetragen (Juli 2014): a) I. D. Kerr, J. H. Lee, C. J. Farady, R. Marion, M. Rickert, M. Sajid, K. C. Pandey, C. R. Caffrey, J. Legac, E. Hansell, J. H. McKerrow, C. S. Craik, P. J. Rosenthal, L. S. Brinen, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 25697–25703 (PDB ID: 2P7U); b) I. D. Kerr, P. Wu, R. Marion-Tsakumaki, Z. B. Mackey, L. S. Brinen, *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2010**, *4*, e701 (PDB ID: 2P86).
- [148] Bis heute sind fünf Kristallstrukturen von Falcipain-2 in der PDB eingetragen (Juli 2014): a) T. Hogg, K. Nagarajan, S. Herzberg, L. Chen, X. Shen, H. Jiang, M. Wecke, C. Blohmke, R. Hilgenfeld, C. L. Schmidt, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 25425–25437 (PDB ID: 2GHU); b) S. X. Wang, K. C. Pandey, J. R. Somoza, P. S. Sijwali, T. Kortemme, L. S. Brinen, R. J. Fletterick, P. J. Rosenthal, J. H. McKerrow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 11503–11508 (PDB ID: 1YVB); c) S. X. Wang, K. C. Pandey, J. Scharfstein, J. Whistock, R. K. Huang, J. Jacobelli, R. J. Fletterick, P. J. Rosenthal, M. Abrahamson, L. S. Brinen, A. Rossi, A. Sali, J. H. McKerrow, *Structure* **2007**, *15*, 535–543 (PDB ID: 2OUL); d) I. D. Kerr, J. H. Lee, K. C. Pandey, A. Harrison, M. Sajid, P. J. Rosenthal, L. S. Brinen, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 852–857 (PDB ID: 3BPF); e) G. Hansen, A. Heitmann, T. Witt, H. Li, H. Jiang, X. Shen, V. T. Heussler, A. Rennenberg, R. Hilgenfeld, *Structure* **2011**, *19*, 919–929 (PDB ID: 3PNR).
- [149] a) M. K. Ramjee, N. S. Flinn, T. P. Pemberton, M. Quibell, Y. Wang, J. P. Watts, *Biochem. J.* **2006**, *399*, 47–57.
- [150] K. Merz, V. Vasylyeva, *CrystEngComm* **2010**, *12*, 3989–4002.
- [151] a) H.-J. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1072–1073; *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1116–1117; b) M. Roman, C. Cannizzo, T. Pinault, B. Isare, B. Andrioletti, P. van der Schoot, L. Bouteiller, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 16818–16824; c) „Weak Intermolecular Interactions: A Supramolecular Approach“: M. Waller, S. Grimme in *Handbook of Computational Chemistry*, Bd. 2 (Hrsg.: J. Leszczynski), Springer, Dordrecht, **2012**, S. 443–466.
- [152] a) A. Gavezzotti, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4319–4325; b) F. H. Allen, C. A. Baalham, J. P. M. Lommerse, P. R. Raithby, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1998**, *54*, 320–329; c) F. H. Allen, W. D. S. Motherwell, *Acta Crystallogr. Sect. B* **2002**, *58*, 407–422.
- [153] a) W. Bolton, *Acta Crystallogr.* **1964**, *17*, 147–152; b) W. Bolton, *Acta Crystallogr.* **1965**, *18*, 5–10.
- [154] H. A. Bent, *Chem. Rev.* **1968**, *68*, 587–648.
- [155] K. J. Kamer, A. Choudhary, R. T. Raines, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 2099–2103.
- [156] H. B. Bürgi, J. D. Dunitz, *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 153–161.
- [157] a) A. Choudhary, R. T. Raines, *Protein Sci.* **2011**, *20*, 1077–1081; b) G. J. Bartlett, R. W. Newberry, B. VanVeller, R. T. Raines, D. N. Woolfson, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18682–18688; c) R. W. Newberry, G. J. Bartlett, B. VanVeller, D. N. Woolfson, R. T. Raines, *Protein Sci.* **2014**, *23*, 284–288.
- [158] a) H. Adams, F. J. Carver, C. A. Hunter, J. C. Morales, E. M. Seward, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1542–1544; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1628–1631; b) S. L. Cockroft, C. A. Hunter, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 172–188; c) P. J. Carter, G. Winter, A. J. Wilkinson, A. R. Fersht, *Cell* **1984**, *38*, 835–840.
- [159] a) S. Paliwal, S. Geib, C. S. Wilcox, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4497–4498; b) E.-i. Kim, S. Paliwal, C. S. Wilcox, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11192–11193; c) B. Bhayana, C. S. Wilcox, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6833–6836; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6957–6960.
- [160] F. R. Fischer, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8270–8273; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8418–8421.
- [161] F. Hof, D. M. Scofield, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5056–5059; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 5166–5169.
- [162] F. R. Fischer, P. A. Wood, F. H. Allen, F. Diederich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 17290–17294.
- [163] H. Gardarsson, W. B. Schweizer, N. Trapp, F. Diederich, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 4608–4616.
- [164] C. Fähr, L. A. Hardegger, M.-O. Ebert, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 67–69.
- [165] a) K. Müller, C. Faeh, F. Diederich, *Science* **2007**, *317*, 1881–1886; b) „Fluorine in Pharmaceutical and Medicinal Chemistry“: V. Gouverneur, K. Müller in *Molecular Medicine and Medicinal Chemistry*, Bd. 6 (Hrsg.: V. Gouverneur, K. Müller), Imperial College Press, London, **2012**.
- [166] B. Kuhn, P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3909–3916.
- [167] M. Di Nisio, S. Middeldorp, H. R. Büller, *N. Engl. J. Med.* **2005**, *353*, 1028–1040.
- [168] a) M. A. Fabian, W. H. Biggs, D. K. Treiber, C. E. Atteridge, M. D. Azimioara, M. G. Benedetti, T. A. Carter, P. Ciceri, P. T. Edeen, M. Floyd, J. M. Ford, M. Galvin, J. L. Gerlach, R. M. Grotzfeld, S. Herrgard, D. E. Insko, M. A. Insko, A. G. Lai, J.-M. Lelias, S. A. Mehta, Z. V. Milanov, A. M. Velasco, L. M. Wodicka, H. K. Patel, P. P. Zarrinkar, D. J. Lockhart, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 329–336; b) Y. Liu, N. S. Gray, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 358–364.
- [169] E. Jabbour, J. Cortes, H. Kantarjian, *J. Core Evid.* **2009**, *4*, 207–213.
- [170] E. Weisberg, P. W. Manley, W. Breitenstein, J. Brüggen, S. W. Cowan-Jacob, A. Ray, B. Huntly, D. Fabbro, G. Fendrich, E. Hall-Meyers, A. L. Kung, J. Mestan, G. Q. Daley, L. Callahan, L. Catley, C. Cavazza, A. Mohammed, D. Neuberg, R. D. Wright, D. G. Gilliland, J. D. Griffin, *Cancer Cell* **2005**, *7*, 129–141.
- [171] a) N. Ramasubbu, R. Parthasarathy, P. Murray-Rust, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4308–4314; b) J. P. M. Lommerse, A. J. Stone, R. Taylor, F. H. Allen, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3108–3116; c) P. Metrangolo, F. Meyer, T. Pilati, G. Resnati, G. Terraneo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6114–6127; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6206–6220.
- [172] G. R. Desiraju, P. S. Ho, L. Kloo, A. C. Legon, R. Marquardt, P. Metrangolo, P. Politzer, G. Resnati, K. Rissanen, *Pure Appl. Chem.* **2013**, *85*, 1711–1713.
- [173] T. Clark, M. Hennemann, J. S. Murray, P. Politzer, *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 291–296.
- [174] a) M. Palusiak, *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **2010**, *945*, 89–92; b) L. P. Wolters, M. Bickelhaupt, *ChemistryOpen* **2012**, *1*, 96–105.
- [175] a) J. W. Zou, Y. J. Jiang, M. Guo, G. X. Hu, B. Zhang, H. C. Liu, Q. S. Yu, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 740–751; b) Y.-X. Lu, J.-W. Zou, Y.-H. Wang, Y.-J. Jiang, Q.-S. Yu, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 10781–10788; c) K. E. Riley, K. M. Merz, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 1688–1694; d) K. E. Riley, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 232–242; e) O. A. Syzgantseva, V. Tognetti, L. Joubert, *J. Phys. Chem. A* **2013**, *117*, 8969–8980.
- [176] a) K. E. Riley, J. S. Murray, J. Fanfrlík, J. Rezáč, R. J. Solá, M. C. Concha, F. M. Ramos, P. Politzer, *J. Mol. Model.* **2011**, *17*, 3309–3318; b) A. Bauzá, D. Quiñonero, A. Frontera, P. M. Deyà, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 20371–20379; c) K. E. Riley, J. S. Murray, J. Fanfrlík, J. Rezáč, R. J. Solá, M. C. Concha, F. M. Ramos, P. Politzer, *J. Mol. Model.* **2013**, *19*, 4651–4659.
- [177] a) O. Hassel, J. Hvorslef, *Acta Chem. Scand.* **1954**, *8*, 873; b) O. Hassel, *Science* **1970**, *170*, 497–502.

- [178] 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) „Halogen Bonding in Crystal Engineering“: P. Metrangolo, G. Resnati, T. Pilati, S. Biella in *Halogen Bonding, Serie: Structure and Bonding*, Bd. 126 (Hrsg.: P. Metrangolo, G. Resnati), Springer, Berlin, **2008**, S. 105–136; d) P. Metrangolo, G. Resnati, *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 5835–5838.
- [179] G. R. Desiraju, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2311–2327; *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2541–2558.
- [180] a) N. S. Goroff, S. M. Curtis, J. A. Webb, F. W. Fowler, J. W. Lauher, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1891–1893; b) A. Sun, J. W. Lauher, N. S. Goroff, *Science* **2006**, *312*, 1030–1034.
- [181] a) A. Priimagi, M. Saccone, G. Cavallo, A. Shishido, T. Pilati, P. Metrangolo, G. Resnati, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, OP345–OP352; b) A. Priimagi, G. Cavallo, A. Forni, M. Gorynsztejn-Leben, M. Kaivola, P. Metrangolo, R. Milani, A. Shishido, T. Pilati, G. Resnati, G. Terraneo, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 2572–2579; c) A. Priimagi, G. Cavallo, P. Metrangolo, G. Resnati, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2686–2695.
- [182] a) P. Politzer, J. S. Murray, M. C. Concha, *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 643–650; b) K. E. Riley, J. S. Murray, P. Politzer, M. C. Concha, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 155–163; c) P. Politzer, J. S. Murray, T. Clark, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 7748–7757.
- [183] a) S. Güssregen, H. Matter, G. Hessler, M. Müller, F. Schmidt, T. Clark, *J. Chem. Inf. Model.* **2012**, *52*, 2441–2453; b) M. Kolář, P. Hobza, *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 1325–1333.
- [184] a) M. Erdélyi, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3547–3557; b) T. M. Beale, M. G. Chudzinski, M. G. Sarwar, M. S. Taylor, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 1667–1680.
- [185] P. L. Wash, M. Shihong, U. Obst, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7973–7974.
- [186] a) M. G. Sarwar, B. Dragisic, S. Sagoo, M. S. Taylor, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1674–1677; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1718–1721; b) A. V. Jentzsch, D. Emery, J. Mareda, P. Metrangolo, G. Resnati, S. Matile, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11675–11678; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11879–11882.
- [187] a) N. L. Kilah, M. D. Wise, C. J. Serpell, A. L. Thompson, N. G. White, K. E. Christensen, P. D. Beer, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11893–11895; b) L. C. Gilday, T. Lang, A. Caballero, P. J. Costa, V. Félix, P. D. Beer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4356–4360; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 4452–4456; c) S. Castro-Fernández, I. R. Lahoz, A. L. Llamas-Saiz, J. L. Alonso-Gómez, M.-M. Cid, A. Navarro-Vázquez, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1136–1139; d) B. R. Mullaney, A. L. Thompson, P. D. Beer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11458–11462; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 11642–11646.
- [188] a) S. M. Walter, F. Kniep, E. Herdtweck, S. M. Huber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7187–7191; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 7325–7329; b) F. Kniep, S. H. Jungbauer, Q. Zhang, S. M. Walter, S. Schindler, I. Schnapperelle, E. Herdtweck, S. M. Huber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7028–7032; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7166–7170; c) W. He, Y. C. Ge, C.-H. Tan, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 3244–3247.
- [189] a) D. W. Larsen, A. L. Allred, *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 2400–2401; b) C. Laurence, M. Queignec-Cabanetos, T. Dziembowska, R. Queignec, B. Wojtkowiak, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1982**, 1605–1610; c) C. Laurence, M. Queignec-Cabanetos, B. Wojtkowiak, *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 135–138; d) S. C. Blackstock, J. P. Lorand, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1451–1460.
- [190] a) P. Metrangolo, W. Panzeri, F. Recupero, G. Resnati, *J. Fluorine Chem.* **2002**, *114*, 27–33; b) S. V. Rosokha, I. S. Nereetin, T. Y. Rosokha, J. Hecht, J. K. Kochi, *Heteroat. Chem.* **2006**, *17*, 449–459; c) S. Libri, N. A. Jasim, R. N. Perutz, L. Brammer, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7842–7844.
- [191] a) R. Cabot, C. Hunter, *Chem. Commun.* **2009**, 2005–2007; b) M. G. Sarwar, B. Dragisic, L. J. Salsberg, C. Gouliaras, M. S. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1646–1653; c) D. A. Smith, L. Brammer, C. A. Hunter, R. N. Perutz, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 1288–1291.
- [192] O. Dumele, D. Wu, N. Trapp, N. Goroff, F. Diederich, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4722–4725.
- [193] P. Auffinger, F. A. Hays, E. Westhof, P. S. Ho, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 16789–16794.
- [194] a) F. H. Allen, O. Kennard, R. Taylor, *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 146–153; b) R. Taylor, O. Kennard, W. Versichel, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1984**, *40*, 280–288.
- [195] a) Y. Lu, T. Shi, Y. Wang, H. Yang, X. Yan, X. Luo, H. Jiang, W. Zhu, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2854–2862; b) Y. Lu, Y. Wang, W. Zhu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 4543–4551; c) R. Wilcken, M. O. Zimmermann, A. Lange, S. Zahn, F. M. Boeckler, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2012**, *26*, 935–945; d) R. Wilcken, M. O. Zimmermann, A. Lange, A. C. Joerger, F. M. Boeckler, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1363–1388.
- [196] A. R. Voth, P. Khoo, K. Oishi, P. S. Ho, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 74–79.
- [197] a) S. D. Barrett, C. M. Biwersi, M. D. Kaufman, H. Tecle, J. S. Warmus, (Warner-Lambert Company), US 2005176820(A1), **2005**; b) J. A. Spicer, G. W. Rewcastle, M. D. Kaufman, L. A. Black, M. S. Plummer, W. A. Denny, J. Quin III, A. B. Shahripour, S. D. Barrett, C. E. Whitehead, J. B. J. Milbank, J. F. Ohren, R. C. Gowan, C. Omer, H. S. Camp, N. Esmaeil, K. Moore, J. S. Sebolt-Leopold, S. Pryzbranowski, R. L. Merriam, D. F. Ortwine, J. S. Warmus, C. M. Flamme, A. G. Pavlovsky, H. Tecle, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5090–5102; c) H. Tecle, J. Shao, Y. Li, M. Kothe, S. Kazmirski, J. Penzotti, Y.-H. Ding, J. Ohren, D. Moshinsky, R. Coli, N. Jhavar, E. Bora, S. Jacques-O'Hagan, J. Wu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 226–229 (PDB ID: 3DY7); d) T. O. Fischmann, C. K. Smith, T. W. Mayhood, J. E. Myers, Jr., P. Reichert, A. Mannarino, D. Carr, H. Zhu, J. Wong, R.-S. Yang, H. V. Le, V. S. Madison, *Biochemistry* **2009**, *48*, 2661–2674 (PDB ID: 3EQC); e) Y. Isshiki, Y. Kohchi, H. Iikura, Y. Matsubara, K. Asoh, T. Murata, M. Kohchi, E. Mizuguchi, S. Tsujii, K. Hattori, T. Miura, Y. Yoshimura, S. Aida, M. Miwa, R. Saitoh, N. Murao, H. Okabe, C. Belunis, C. Janson, C. Lukacs, V. Schück, N. Shimma, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1795–1801 (PDB ID: 3ORN).
- [198] C. Frémin, S. Meloche, *J. Hematol. Oncol.* **2010**, *3*, 8–19.
- [199] <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01933932>, überprüft im Juli 2014, Clinical Trial ID: NCT01933932.
- [200] a) S. Sarno, H. Reddy, F. Meggio, M. Ruzzene, S. P. Davies, A. Donella-Deana, D. Shugar, L. A. Pinna, *FEBS Lett.* **2001**, *496*, 44–48; b) E. De Moliner, N. R. Brown, L. N. Johnson, *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 3174–3181.
- [201] S. Baumli, J. A. Endicott, L. N. Johnson, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 931–936.
- [202] L. J. Core, J. T. Lis, *Science* **2008**, *319*, 1791–1792.
- [203] A. Kunfermann, M. Witschel, B. Illarionov, R. Martin, M. Rottmann, H. W. Höffken, M. Seet, W. Eisenreich, H.-J. Knölker, M. Fischer, A. Bacher, M. Groll, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2235–2239; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 2267–2272.
- [204] M. Witschel, F. Röhl, R. Niggeweg, T. Newton, *Pest Manage. Sci.* **2013**, *69*, 559–563.
- [205] M. Witschel, M. Rottmann, M. Kaiser, R. Brun, *PLoS Neglected Trop. Dis.* **2012**, *6*, e1805.
- [206] P. R. Burkholder, R. M. Pfister, F. H. Leitz, *Appl. Microbiol.* **1966**, *14*, 649–653.
- [207] a) S. Grimme, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 9095–9102; b) M. O. Sinnokrot, C. D. Sherrill, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7690–7697; c) E. C. Lee, D. Kim, P. Jurečka, P. Tarakeshwar, P.

- Hobza, K. S. Kim, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 3446–3457; d) J. M. Sanders, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 9205–9211.
- [208] Seit Einreichen des Manuskripts sind einige neue Beiträge zum Thema des Aufsatzes erschienen: a) „New Insights into the Role of Water in Biological Function: Studying Solvated Biomolecules Using Terahertz Absorption Spectroscopy in Conjunction with Molecular Dynamics Simulations“: V. C. Nibali, M. Havenith, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12800–12807; b) „Medicinal Chemistry of Catechol *O*-Methyltransferase (COMT) Inhibitors and Their Therapeutic Utility“: L. E. Kiss, P. Soares-da-Silva, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8692–8717; c) a review on kinase inhibitors: „Exploring the Scaffold Universe of Kinase Inhibitors“: Y. Hu, J. Bajorath, *J. Med. Chem.* **2014**, DOI: 10.1021/jm501237k; d) „Iodide-Induced Shuttling of a Halogen- and Hydrogen-Bonding Two-Station Rotaxane“: A. Caballero, L. Swan, F. Zapata, P. D. Beer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11854–11858; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 12048–12052.
-