

## Farnesyltransferase-Inhibitoren hemmen das Wachstum von Malaria-Erregern in vitro und in vivo\*\*

Jochen Wiesner, Katja Kettler, Jacek Sakowski,  
Regina Ortmann, Alejandro M. Katzin,  
Emília A. Kimura, Katrin Silber, Gerhard Klebe,  
Hassan Jomaa und Martin Schlitzer\*

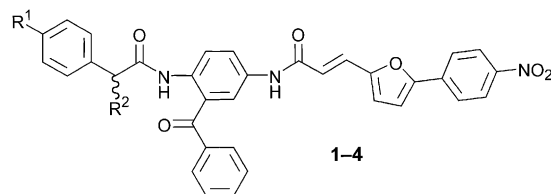
Die Farnesyltransferase katalysiert die posttranslationale Modifikation zahlreicher an der intrazellulären Signaltransduktion beteiligter Proteine. Dabei wird der Farnesylrest des Farnesylpyrophosphats auf eine Cysteinseitenkette des Substrats übertragen. Der modifizierte Cysteinrest ist Bestandteil einer charakteristischen carboxyterminalen Konsensussequenz, der CAAX-Box (C: Cystein, A: Aminosäure mit aliphatischer Seitenkette, X: Serin oder Methionin).<sup>[1–3]</sup> Mehrere Hemmstoffe der Farnesyltransferase wurden als potenzielle Tumortheraeutika entwickelt. Die Substanzen mehrerer Pharmaunternehmen befinden sich mittlerweile in fortgeschrittenen Stadien der klinischen Prüfung.<sup>[4,5]</sup>

Farnesyltransferasen wurden außer beim Menschen auch in weiteren eukaryotischen Organismen, darunter humanpathogenen Protozoen der Gattungen *Plasmodium*,<sup>[6,7]</sup> *Trypanosoma*,<sup>[8–10]</sup> *Leishmania*<sup>[10]</sup> und *Toxoplasma*,<sup>[11]</sup> gefunden. Die Hemmung der Farnesyltransferase wurde daher auch als neues Therapieprinzip zur Behandlung von Protozoeninfektionen vorgeschlagen.<sup>[4]</sup> Von besonderer Bedeutung ist hier die Therapie der Malaria tropica, die durch die Infektion mit *P. falciparum* hervorgerufen wird. Etwa 40 % der Weltbevölkerung leben in Malariaegebieten; 2–3 Millionen Menschen sterben jährlich an dieser Infektion. Durch die bedrohliche Ausbreitung von Malariaerregern, die gegen Chloroquin und andere herkömmliche Antimalaria-Wirkstoffe resistent

geworden sind, besteht ein dringender Bedarf an neuen Therapeutika.<sup>[12,13]</sup>

Die Entwicklung von Farnesyltransferase-Inhibitoren als Malariatherapeutika wird dadurch erschwert, dass die heterologe Expression der Farnesyltransferase von *P. falciparum* bisher nicht gelungen ist und damit kein rekombinantes Protein für das Routine-Screening zur Verfügung steht. Es konnte lediglich das native Protein aus In-vitro-Kulturen des Erregers partiell gereinigt und die Hemmung der Aktivität durch mehrere bekannte Farnesyltransferase-Inhibitoren demonstriert werden.<sup>[7]</sup> Allerdings scheinen für die Entwicklung neuer Chemotherapeutika Aktivitäten aussagekräftiger, die an Kulturen der Blutstadien von *P. falciparum* bestimmt wurden. Gelb et al. haben eine Reihe von Farnesyltransferase-Inhibitoren, die aus der Gruppe von Sebti und Hamilton stammen, an solchen Blutkulturen getestet und dabei Aktivitäten im mikromolaren Bereich gefunden.<sup>[14]</sup>

Wir haben in den letzten Jahren eine neue Klasse von Farnesyltransferase-Inhibitoren entwickelt, die auf dem Benzophenon-Grundgerüst basieren.<sup>[15]</sup> Verbindungen dieses Typs hemmen in vitro das Wachstum des multiresistenten *P. falciparum*-Stammes Dd2 mit IC<sub>50</sub>-Werten im nanomolaren Bereich<sup>[16–19]</sup> und sind damit ein bis zwei Größenordnungen aktiver als die bis dahin beschriebenen Farnesyltransferase-Inhibitoren. Zu unserer Enttäuschung erwiesen sich diese in vitro potenten Substanzen, z. B. die Verbindungen **1** und **3**, bei der In-vivo-Testung in einem murinen Malaria-modell als unwirksam, vermutlich wegen ihrer unzureichenden Wasserlöslichkeit. Wir haben nun versucht, die zwingend erforderliche In-vivo-Aktivität durch die Einführung eines Methylpiperazinylrests in die  $\alpha$ -Position des Phenylacetylrestes an der 2-Aminogruppe des Benzophenon-Grundgerüsts zu erreichen. Durch diese Modifikation wurde eine wesentlich bessere Wasserlöslichkeit erreicht (Tabelle 1).



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>1</b>	H	H
<b>2</b>	H	
<b>3</b>	Cl	H
<b>4</b>	Cl	

Zur Herstellung dieser Verbindungen (Schema 1) wurde 2-Amino-5-nitrobenzophenon mit käuflichem  $\alpha$ -Chlorphenylelessigsäurechlorid oder  $\alpha$ -Brom-*p*-chlorphenylelessigsäurechlorid (synthetisiert nach Lit. [20]) umgesetzt. Anschließend wurde der  $\alpha$ -Halogensubstituent gegen den Heterocycylus ausgetauscht. Nach Reduktion der Nitrogruppe lieferte

[\*] K. Kettler, Dr. J. Sakowski, Dr. R. Ortmann, Prof. Dr. M. Schlitzer  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Department Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung  
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)  
Fax: (+49) 89-2180-79992  
E-mail: Martin.Schlitzer@cup.uni-muenchen.de

Dr. J. Wiesner, Dr. H. Jomaa  
Biochemisches Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Friedrichstraße 24, 35392 Gießen (Deutschland)

Prof. Dr. A. M. Katzin, Dr. E. A. Kimura  
Departamento de Parasitologia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo  
Av. Professor Lineu Prestes, 1374, CEP 05508-900  
São Paulo (Brasilien)

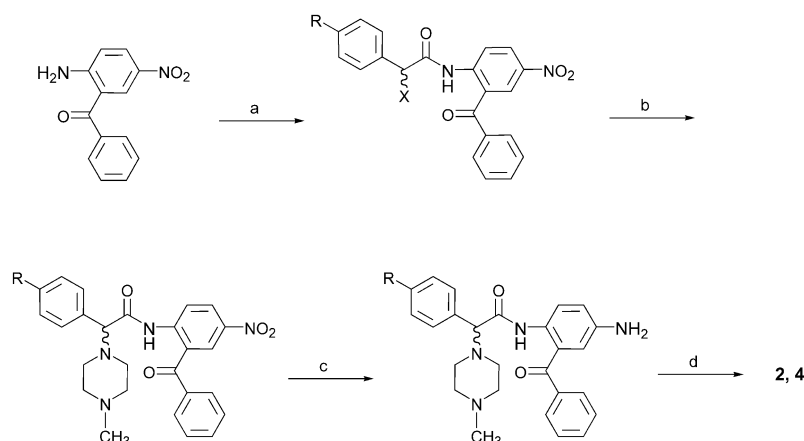
K. Silber, Prof. Dr. G. Klebe  
Institut für Pharmazeutische Chemie  
Philipps-Universität Marburg  
Marbacher Weg 6, 35032 Marburg (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch das INCO-Dev-Programm im fünften Rahmenprogramm der Europäischen Kommission gefördert (Vertrags-Nr. ICA4-CT-2001-10078). Wir danken Dajana Henschker für hervorragende technische Assistenz.

**Tabelle 1:** In-vitro- (bestimmt nach Lit. [21]) und In-vivo-Aktivität (in mg kg<sup>-1</sup> KG) sowie Löslichkeit der Verbindungen 1–4.

Verbindung	IC <sub>50</sub> [nM]	ED <sub>50</sub>	ED <sub>90</sub>	Löslichkeit [mM] [a] [b]
1	270 ± 30	–	–	< 0.04 < 0.06
2	270 ± 35	30	40	0.35 > 3.33
3	64 ± 11	–	–	< 0.04 < 0.06
4	210 ± 21	21 <sup>[c]</sup>	25 <sup>[c]</sup>	0.25 1.25

[a] In Phosphatpuffer pH 7.2. [b] In Wasser. [c] Bei einer Wiederholung der Bestimmung unter gleichen Bedingungen wurden für die Substanz 4 ein ED<sub>50</sub>-Wert von 22 und ein ED<sub>90</sub>-Wert von 28 mg pro kg Körpergewicht bestimmt.



**Schema 1.** Synthese der Verbindungen 2 und 4. a) R-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CHX-COCl, Toluol/Dioxan, 2 h, Rückfluss; b) N-Methylpiperazin, Acetonitril, 24 h, Rückfluss; c) SnCl<sub>2</sub>, Ethylacetat, 2 h, Rückfluss; d) NO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O-CH=CH-COCl, Toluol/Dioxan, 2 h, Rückfluss. X = Cl, Br, R = H, Cl.

die erneute Acylierung mit der Biarylacrylsäure die Zielverbindungen 2 und 4.

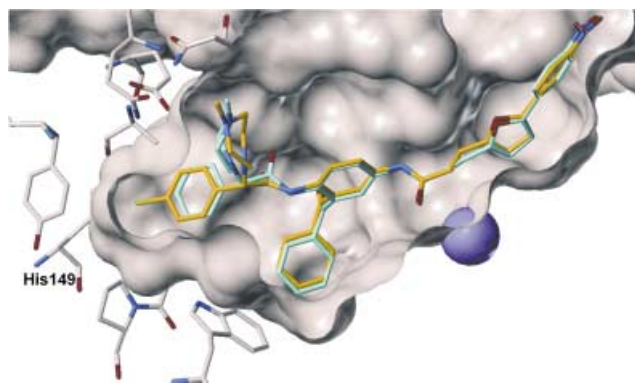
Die Einführung des Methylpiperazinylrestes hatte im Fall der am Phenylring unsubstituierten Verbindung keinen Einfluss auf die In-vitro-Aktivität (vgl. 1 und 2 in Tabelle 1). Bei den  $\alpha$ -unsubstituierten Verbindungen verbessert ein *para*-ständiger Chlorsubstituent im terminalen Phenylrest die Aktivität deutlich (vgl. 1 und 3). Dieser Effekt wurde schwächer ausgeprägt auch bei den  $\alpha$ -Piperazin-Derivaten beobachtet (vgl. 2 und 4). Diese Struktur-Wirkungs-Beziehungen lassen sich anhand von Docking-Studien erklären. Für diese Studien wurde die bekannte Struktur der Farnesyltransferase aus der Ratte (PDB-Code: 1QBQ) verwendet.<sup>[22]</sup> Zwar unterscheiden sich die Sequenzen der Farnesyltransferasen aus *P. falciparum* und aus der Ratte aufgrund zusätzlicher Schleifen im Enzym aus *P. falciparum* sehr deutlich, jedoch sind die Aminosäuren, die das aktive Zentrum bilden, bei beiden Spezies bis auf wenige Ausnahmen identisch. Eine Verwendung der Kristallstruktur des Rattenenzym zur qualitativen Abschätzung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen scheint somit berechtigt.

Das Docking wurde mit AutoDock 3.0<sup>[23,24]</sup> unter Verwendung des genetischen Algorithmus von Lamarck (Standardparameter) und 50 unabhängiger Läufe durchgeführt. Zur Proteinstrukturaufbereitung wurden polare Wasserstoff-

atome mit dem PROTONATE-Programm aus der AMBER-7-Suite<sup>[25]</sup> angefügt, Kraftfeldladungen mit dem AMBER-„united-atom“-Modell<sup>[26]</sup> berechnet und Solvationsparameter mit dem Programm ADDSOL aus AutoDock 3.0 zugewiesen. Für die Liganden wurden partielle Atomladungen nach Gasteiger und Marsili<sup>[27]</sup> berechnet, und alle Bindungen außer den Amidbindungen wurden als drehbar gesetzt. Während es sich bei den biologisch untersuchten Verbindungen um Racemate handelte, wurden im Dockingexperiment nur die *S*-Enantiomere untersucht.

Strukturell ähnliche Lösungen der Dockingläufe wurden zu Clustern zusammengefasst (mittlere quadratische Abweichung < 1 Å), wobei jeder Cluster durch die jeweils energetisch günstigste Ligandenkonfiguration repräsentiert wurde. Sowohl für Verbindung 2 als auch für Verbindung 4 befindet sich der größte Cluster auf Rang 3 (AutoDock-Bewertung). Dessen jeweilige repräsentative Lösung wurde für den Struktur-Aktivitäts-Vergleich ausgewählt und die relative Affinität mit der wissensbasierten Bewertungsfunktion DrugScore ermittelt.<sup>[28]</sup>

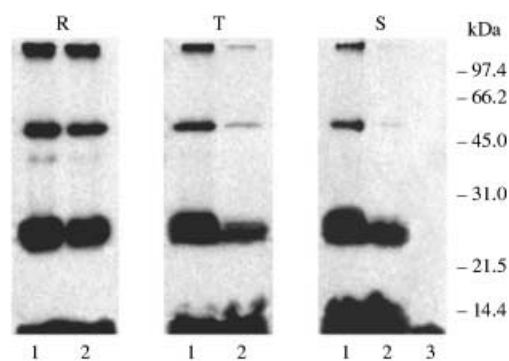
Die Dockingexperimente ergaben für beide Verbindungen einen ähnlichen Bindungsmodus (Abbildung 1). Der Chlorsubstituent des Inhibitors 4 ragt jedoch tiefer in die Bindetasche hinein, hat so die Möglichkeit zu einer N–H...Cl-Wechselwirkung zu His 149 und zeigt deshalb eine höhere Affinität als Verbindung 2. Dass die durch den Chlorsubstituenten verursachte Aktivitätssteigerung bei den Piperazin-substituierten Derivaten schwächer ausgeprägt ist als bei denen ohne Piperazinylrest, kann dadurch erklärt werden, dass der sterisch anspruchsvolle Piperazinylrest die Wechselwirkung des Chlorphenylrestes zu His149 behindert.



**Abbildung 1.** Überlagerung ausgewählter Dockinglösungen für die Inhibitoren 2 (türkis) und 4 (gelb) in der Bindetasche der Farnesyltransferase. Gezeigt sind nur Aminosäuren, welche die für den Affinitätsunterschied entscheidende Tasche bilden. Die blaue Kugel markiert das Zinkion. Die Bindungsmode beider Inhibitoren sind ähnlich. Die geringfügig bessere Affinität der Verbindung 4 erklärt sich durch die zusätzliche N–H...Cl-Wechselwirkung zu His149 (teilweise durch die Oberfläche verdeckt).

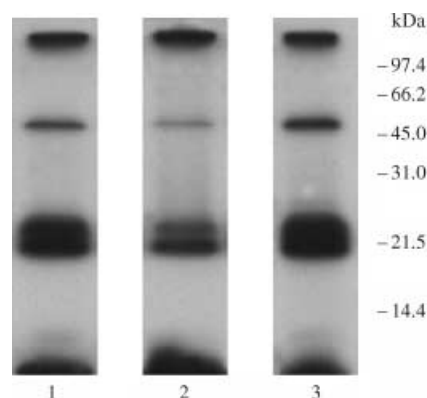
Entscheidend ist, dass beide Piperazin-Derivate eine deutliche In-vivo-Aktivität in mit *P. vinckei* infizierten Mäusen zeigten. Sie wurde nach einem modifizierten Standardprotokoll zur Bestimmung der Antimalaria-Aktivität in vivo ermittelt (Peters-Test<sup>[29]</sup>). Dazu wurden am Tag 0 Balb/c-Mäuse mit jeweils  $5 \times 10^7$  Parasiten aus dem Blut einer Donor-Maus infiziert. An den Tagen 1 bis 3 wurden die Mäuse durch intraperitoneale Injektion der Testsubstanzen behandelt, und zwar einmal täglich mit Dosen von 6, 13, 25, 50 oder 100 mg pro kg Körpergewicht ( $\text{mg kg}^{-1} \text{KG}$ ). Pro Gruppe wurden 3 (50 und 100  $\text{mg kg}^{-1} \text{KG}$ ) oder 4 (6, 13 und 25  $\text{mg kg}^{-1} \text{KG}$ ) Mäuse eingesetzt. Am Tag 4 wurde die Parasitämie (Anteil der infizierten Erythrozyten) an Giemsa-gefärbten Blutaussstrichen mikroskopisch ausgezählt. Die unbehandelten Kontrollmäuse entwickelten Parasitämien zwischen 50 und 90 %. Dagegen waren nach Applikation der Testsubstanzen dosisabhängig keine oder nur wenige Parasiten im Blut nachweisbar. Wie schon bei den In-vitro-Tests beobachtet, führt die Einführung eines Chlorsubstituenten in die *para*-Position des Phenylrestes auch im Mausmodell zu einer erhöhten Wirksamkeit: Der  $\text{ED}_{50}$ -Wert von **4** beträgt  $21 \text{ mg kg}^{-1} \text{KG}$  statt  $30 \text{ mg kg}^{-1} \text{KG}$  für die unsubstituierte Verbindung **2**. Die entsprechenden  $\text{ED}_{90}$ -Werte lagen bei 25 bzw.  $40 \text{ mg kg}^{-1} \text{KG}$ . Das kleine Verhältnis von  $\text{ED}_{90}$  zu  $\text{ED}_{50}$  sowie die Beobachtung, dass bereits durch eine Einzeldosis hohe Wirksamkeit erzielt werden konnte, scheinen besonders ermutigend für die weitere Entwicklung dieser Substanzklasse. Einschränkend ist festzustellen, dass die derzeit verfügbaren Substanzen keine Aktivität nach oraler Applikation zeigten. Toxische Effekte wurden erst bei Dosen über  $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{KG}$  beobachtet. Damit ist eine akzeptable therapeutische Breite für diese Leitstrukturen gewährleistet.

Zur Sicherung des Wirkmechanismus wurde ein Versuch durchgeführt, mit dem der Einfluss der Testsubstanz auf die Farnesylierung der Parasitenproteine in verschiedenen Entwicklungsstadien direkt beobachtet werden kann.<sup>[30]</sup> Dazu wurde eine *P. falciparum*-Kultur 48 h einer subtoxischen Konzentration der Verbindung **4** ausgesetzt, wobei nach 30 h Inkubationszeit Tritium-markiertes Farnesylpyrophosphat zugesetzt wurde. Parallel wurde ein Kontrollansatz ohne **4** kultiviert. Unter diesen Bedingungen war mikroskopisch kein Unterschied im Wachstumsverhalten der beiden Kulturen zu beobachten. Nur wenn die Inkubationszeit über 48 h verlängert wurde, sodass die Parasiten in einen zweiten Replikationszyklus treten konnten, war die Anzahl der Ringstadien unter dem Einfluss von **4** verringert. Die verschiedenen Parasitenstadien wurden durch Dichtegradienten-Zentrifugation getrennt. Anschließend wurden Proteinextrakte hergestellt und jeweils vergleichbare Proteinmengen der Versuchs- und Kontrollfraktionen gelelektrophoretisch aufgetrennt. Die farnesylierten Proteine wurden schließlich durch Autoradiographie detektiert. Im Kontrollansatz war bei allen Parasitenstadien ein charakteristisches Muster von farnesylierten Proteinen zu beobachten, wie es bereits früher von Chakrabarti et al.<sup>[7]</sup> und Katzin et al.<sup>[30]</sup> beschrieben worden war. Unter dem Einfluss der Verbindung **4** war die Intensität der Farnesylierung signifikant reduziert (Abbildung 2). Dieser Effekt war im Trophozoiten- und Schizonten-Stadium besonders ausgeprägt. In einem Kontrollexperiment wurde



**Abbildung 2.** Inhibition der Protein-Farnesylierung durch Verbindung **4**. In-vitro-Kulturen von *P. falciparum* wurden mit dem Triammoniumsalz von  $[(1-n)^3\text{H}]$ Farnesylpyrophosphat metabolisch markiert und die Entwicklungsstadien der Parasiten (Ringstadien, R; Trophozoite, T; Schizonten, S) durch diskontinuierliche Percoll-Gradientenzentrifugation getrennt. Farnesylierte Proteine wurden nach Gelelektrophorese über ein 12.5-proz. Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel durch Autoradiographie detektiert. Spur 1: unbehandelte Kontrollparasiten; Spur 2: nach Inkubation mit 10 nM Verbindung **4**; Spur 3: Kontrolle mit nicht-infizierten Erythrozyten. Molekülmassen-Standards sind in kDa angegeben.

der Effekt der Verbindung **4** auf die Protein-Farnesylierung mit dem des bekannten Farnesyltransferase-Inhibitors FTI-277<sup>[7]</sup> verglichen (Abbildung 3). Die Protein-Farnesylierung wurde durch beide Substanzen prinzipiell ähnlich gehemmt, wobei der Effekt der Verbindung **4** bei einer Konzentration von 10 nM deutlicher ausgeprägt ist als der der Vergleichsverbindung FTI-277 bei einer Konzentration von  $5 \mu\text{M}$ . Insgesamt konnte somit gezeigt werden, dass die Antimalaria-Aktivität dieser Verbindungsklasse mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit auf der Inhibition der Farnesyltransferase der Parasiten beruht.



**Abbildung 3.** Vergleich der Inhibition der Protein-Farnesylierung durch die Verbindungen FTI-277 (Spur 1;  $5 \mu\text{M}$ ) und **4** (Spur 2; 10 nM). Spur 3: unbehandelte Kontrolle.

Zusammenfassend haben wir nachgewiesen, dass die Hemmung der Farnesyltransferase ein tragfähiges Konzept für die Entwicklung neuer Chemotherapeutika zur Behandlung der Malaria ist. Die Aktivitäten unserer auf dem

Benzophenon-Grundgerüst basierenden Farnesyltransferase-Inhibitoren sind denen anderer Substanzen überlegen. Darüber hinaus konnten wir unseres Wissens erstmalig eine In-vivo-Wirksamkeit von Farnesyltransferase-Inhibitoren gegen Plasmodieninfektionen belegen. Die zukünftige Forschung wird vor allem auf Derivate mit oraler Bioverfügbarkeit und noch höherer Wirksamkeit gerichtet sein.

Eingegangen am 13. Februar 2003,  
veränderte Fassung am 12. September 2003 [Z51169]

**Stichwörter:** Enzym-Inhibitoren · Farnesyltransferase · Malaria · Medizinische Chemie · Wirkstoff-Design

- [1] H.-W. Fu, P. J. Casey, *Recent Prog. Horm. Res.* **1999**, *54*, 315–343.
- [2] A. Wittinghofer, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4360–4383; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4192–4214.
- [3] I. M. Bell, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2000**, *10*, 1813–1831.
- [4] A. D. Cox, C. J. Der, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2002**, *2*, 388–393.
- [5] W. T. Purcell, R. C. Donehower, *Curr. Oncol. Rep.* **2002**, *4*, 29–36.
- [6] D. Chakrabarti, T. Azam, C. DelVecchio, L. Qiu, Y. Park, C. M. Allen, *Mol. Biochem. Parasitol.* **1998**, *94*, 175–184.
- [7] D. Chakrabarti, T. Da Silva, J. Barger, S. Paquette, H. Patel, S. Patterson, C. M. Allen, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 42066–42073.
- [8] K. Yokoyama, P. Trobridge, F. S. Buckner, W. C. Van Voorhis, K. D. Stuart, M. H. Gelb, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 26497–26505.
- [9] F. S. Buckner, K. Yokoyama, L. Nguyen, A. Grewal, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, C. L. Strickland, L. Xiao, W. C. Van Voorhis, M. H. Gelb, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21870–21876.
- [10] F. S. Buckner, R. T. Eastman, J. L. Nepumuceno-Silva, E. C. Speelman, P. J. Myler, W. C. Van Voorhis, K. Yokoyama, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2002**, *122*, 181–188.
- [11] M. Ibrahim, N. Azzouz, P. Gerold, R. T. Schwarz, *Int. J. Parasitol.* **2001**, *31*, 1489–1497.
- [12] J. Sachs, P. Malaney, *Nature* **2002**, *415*, 680–685; R. G. Ridley, *Nature* **2002**, *415*, 686–693.
- [13] J. Wiesner, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5432–5451; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5274–5293.
- [14] J. Ohkanda, J. W. Lockman, K. Yokoyama, M. H. Gelb, S. L. Croft, H. Kendrick, M. I. Harrell, J. E. Feagin, M. A. Blaskovich, S. M. Sebti, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 761–764.
- [15] M. Schlitzer, *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 1713–1722.
- [16] J. Wiesner, A. Mitsch, P. Wißner, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 423–424.
- [17] J. Wiesner, K. Kettler, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 543–545.
- [18] J. Wiesner, A. Mitsch, P. Wißner, O. Krämer, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2681–2683.
- [19] J. Wiesner, K. Kettler, J. Sakowski, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 361–363.
- [20] L. A. Caprino, L. V. McAdams in *Organic Synthesis, Coll. Vol. VI* (Hrsg.: W. E. Noland), Wiley, New York, **1988**, S. 403–406.
- [21] W. Trager, J. B. Jensen, *Science* **1976**, *193*, 673–675.
- [22] C. L. Strickland, W. T. Windsor, R. Syto, L. Wang, R. Bond, Z. Wu, J. Schwartz, H. V. Le, L. S. Beese, P. C. Weber, *Biochemistry* **1998**, *37*, 16601–16611.
- [23] D. S. Goodsell, A. J. Olson, *Proteins* **1990**, *8*, 195–202.
- [24] G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. Huey, A. J. Olson, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1996**, *10*, 293–304.
- [25] D. A. Case, D. A. Pearlman, J. W. Caldwell, T. E. Cheatham III, J. Wang, W. S. Ross, C. L. Simmerling, T. A. Darden, K. M. Merz, R. V. Stanton, A. L. Cheng, J. J. Vincent, M. Crowley, V. Tsui, H. Gohlke, R. J. Radmer, Y. Duan, J. Pitera, I. Massova, G. L. Seibel, U. C. Singh, P. K. Weiner, P. A. Kollman, AMBER 7, University of California, San Francisco, **2002**.
- [26] S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, P. Weiner, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 765–784.
- [27] J. Gasteiger, M. Marsili, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 3219–3228.
- [28] H. Gohlke, M. Hendlich, G. Klebe, *J. Mol. Biol.* **2000**, *295*, 337–356.
- [29] W. Peters in *Malaria, Vol. 1* (Hrsg.: J. P. Kreier), Academic Press, New York, **1980**, S. 160–161.
- [30] I. C. Moura, G. Wunderlich, M. L. Uhrig, A. S. Couto, V. J. Peres, A. M. Katzin, E. A. Kimura, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 2553–2558.