

# Die Medizinische Chemie im Goldenen Zeitalter der Biologie: Lehren aus der Steroid- und Peptidforschung \*\*

Von Ralph Hirschmann \*

*In memoriam Max Tishler (1906–1989)*

Die Zusammenarbeit zwischen Biologen und Chemikern hat Medikamente hervorgebracht, die für die Gesellschaft von enormem Nutzen waren und sind. Durch diese Wechselwirkung werden zwei Vorteile synergetisch kombiniert: die Exaktheit der chemischen Konzepte und die Fähigkeit der Biologen, Ergebnisse aus mehreren Forschungsgebieten in übergreifenden Theorien zu vereinigen. Die resultierenden Beiträge für die medizinische Praxis haben die Häufigkeit von Erkrankungen und die Sterblichkeitsrate erniedrigt und die Lebensqualität erhöht. Auf der Grundlage der Arbeiten von Chemikern wie *Robinson*, *Prelog*, *Woodward* und *Pauling* hat die Medizinische Chemie die rationale Entwicklung von Medikamenten, besonders von Enzym-Inhibitoren, in einem Maße vorangetrieben, das noch vor zwanzig Jahren undenkbar schien. Einige der wichtigsten Beiträge der Medizinischen Chemie zur Gesundheit von Menschen und Tieren sind unmittelbar auf die innovative Anwendung struktureller und elektronischer Konzepte, auf die Weiterentwicklung instrumenteller Methoden und auf spektakuläre Fortschritte in der Biologie zurückzuführen. Jedoch nutzen medizinisch orientierte Chemiker bisher erst einen Bruchteil der Möglichkeiten, welche die „Doppelhelix-Revolution“ der fünfziger Jahre eröffnet hat. Die Abschnitte 4, 5 und 6 dieses Aufsatzes demonstrieren die Art des Wechselspiels zwischen Molekularbiologie und Chemie besonders deutlich.

*The most fundamental and lasting objective of synthesis  
is not production of new compounds,  
but production of properties.*

George S. Hammond  
Norris Award Lecture 1968

## 1. Einleitung

Dieser Veröffentlichung liegt die Annahme zugrunde, daß die fruchtbare Zusammenarbeit zwischen Biologen und Chemikern die Entdeckung und Entwicklung von Medikamenten vorantreibt. Um diese Zusammenarbeit zu optimieren, sollten Chemiker erkennen können, welche biologischen Probleme sich effektiv und von Grund auf durch die Chemie lösen lassen –, die, als Wissenschaft von den Molekülen, eine zentrale Rolle für das Verständnis des biologischen Geschehens auf molekularer Ebene spielt. Hier möge der Hinweis genügen, daß mehr als vierzig biologische Zeitschriften das Wort „molekular“ im Namen enthalten. Mit dem Ausdruck „Medizinische Chemie“ werde ich das Interessengebiet all jener namhaften Chemiker an Hochschulen, an Forschungsinstituten und in der Industrie bezeichnen, die zu den biomedizinischen Wissenschaften und/oder zur Entdeckung von Medikamenten beigetragen haben. Nach meiner Ansicht waren die Chemiker durch die Entwicklungen in der Molekularbiologie, die auf die Entdeckung der Doppelhelix zurückgehen, zwar tief beeindruckt, doch haben sie nie den Stolz und die Selbstachtung empfunden, die ihnen aufgrund ihrer beachtlichen Beiträge zur Medizin und ihrer entscheidenden Rolle bei der „Helix-Revolution“ in der Biologie zustehen würden.

Diese Veröffentlichung soll einen Überblick über die außergewöhnlichen Errungenschaften der letzten vierzig Jahre in der Biomedizinischen Chemie geben. Die behandelten Beispiele haben mich besonders interessiert, wurden also nach subjektiven Gesichtspunkten ausgewählt, überwiegend aus den Gebieten der entzündungshemmenden Steroide (Glucocorticoide) und der großen und kleinen Peptide.

Drei maßgebende Entwicklungen Ende der vierziger und Anfang der fünfziger Jahre lassen die letzten vierzig Jahre als einen geeigneten Zeitrahmen für diese Übersicht erscheinen. Erstens wurde *Sir Robert Robinsons elektronische Interpretation der Organischen Chemie in die Medizinische Chemie eingeführt*; diese Interpretation bildete bereits die Basis für die mechanistische Betrachtungsweise der Organiker. Zweitens etablierte sich in den fünfziger Jahren die *Strukturchemie*, die auf die entscheidenden Arbeiten von *Pauling*, *Prelog* und *Woodward* zurückgeht, als ein weiterer Stützpfeiler der Medizinischen Chemie. Hätte ich diese letzten vierzig Jahre hingegen von einem anderen Standpunkt aus betrachtet (z. B.  $\beta$ -Lactam-Antibiotika anstelle von Glucocorticoiden), dann wären zwar immer noch dieselben Prinzipien und Strategien – elektronische und strukturelle – relevant; ich würde dann aber auch die Entdeckungen von *Fleming*, *Florey*, *Chain*, *Abraham* und die Synthesen von *Woodward*, *Sheehan*, *Christensen*, *Morin* und vielen anderen diskutieren.

Drittens waren in den letzten vierzig Jahren beispiellose Entwicklungen physikalischer Methoden zur Charakterisierung von chemischen Verbindungen zu verzeichnen. So hat die Medizinische Chemie z. B. in der Steroidforschung enorm von der zunehmenden Anwendung der UV-Spektroskopie (*Dannenberg*, *Dorfman*, *Gillam*, *Woodward*), der Mol-

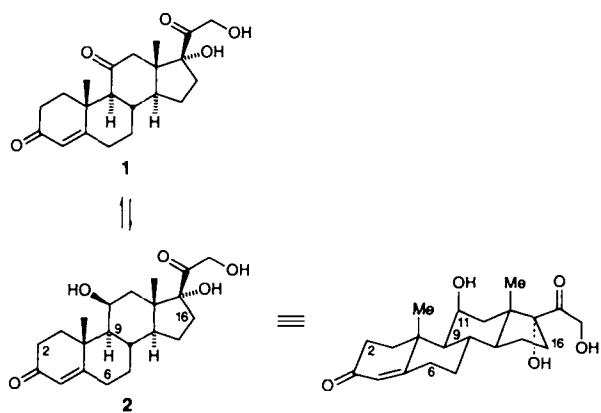
[\*] Prof. Dr. R. Hirschmann  
Department of Chemistry, University of Pennsylvania  
Philadelphia, PA 19104-6323 (USA)

[\*\*] Dieser Aufsatz basiert zum Teil auf zwei Vorträgen: der Medicinal Chemistry Award Lecture (1986) und der Nichols Award Lecture (New York Section of the American Chemical Society, 1988).

rotationsdifferenzen (Barton, Braude, Djerassi, Wallis, Young) und der Massenspektrometrie (Djerassi) sowie der Rotationsdispersion (Djerassi), der IR-Spektroskopie (Cookson, R. N. Jones, Dobriner, E. R. Katzenellenbogen) und schließlich der NMR-Spektroskopie (Shoolery) profitiert.

## 2. Die Cortison-Ära

Die Entdeckung von Hench et al.<sup>[11]</sup>, daß Cortison 1 eine enorme Wirkung bei Patienten mit rheumatoider Arthritis hat, eröffnete die Cortison-Ära der fünfziger Jahre. Neben seiner großen medizinischen und physiologischen Bedeutung hatte Cortison einen großen Einfluß auf die Chemie im allgemeinen und speziell die Medizinische Chemie. Isolierung und

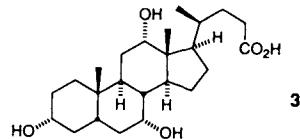


Charakterisierung dieses Glucocorticoid-Steroidhormons – mit den Namen Wintersteiner, Reichstein und Kendall verbunden – waren herausragende Leistungen. Später stellte man fest, daß Cortison 1 und Cortisol 2 in vivo ineinander umwandelbar sind, und daß Cortisol die biologisch aktive Verbindung ist.

### 2.1. Die Synthese als Herausforderung

Cortison wurde erstmals von Sarett synthetisiert<sup>[2]</sup>. Um die 37-Stufen-Synthese von Cortison aus Cholsäure 3 in kommerziellem Maßstab zu ermöglichen, führte Tishler bei Merck die prozeßorientierte Forschung als hochentwickelte

Form der Organischen Chemie ein. Damit konnte er beweisen, daß esoterische Reaktionen, die in Universitätslaboratorien entdeckt worden waren, sich sehr effektiv im Technikumsmaßstab oder sogar im industriellen Maßstab reproduzieren ließen, so daß man medizinisch und damit auch sozial wertvolle Verbindungen herstellen konnte. Tishler schuf damit enorme Möglichkeiten für die pharmazeutische Industrie.



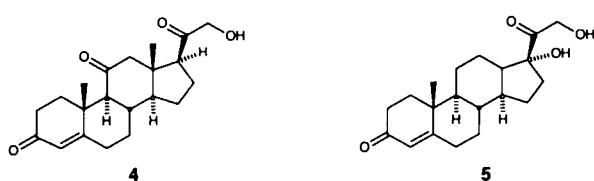
Die Partialsynthese von 1 nutzte Erkenntnisse aus den Arbeitskreisen vieler namhafter Organiker, die auf dem Gebiet der Steroid-Synthese arbeiteten. Dazu zählten Bergmann, Djerassi, Fieser, Gallagher, Julian, van de Kamp, Kendall, Marker, Mattox, Meystre, Miescher, Reichstein, Riegel, Robinson, Rosenkranz, Ružička, Sarett, Schwenk, Turner, Wallis, Wettstein, Woodward und all ihre Mitarbeiter. Wie Fieser und Fieser<sup>[3]</sup> 1959 in ihrer bekannten Steroid-Monographie berichteten, förderten die Tagungen, die vom National Research Council unterstützt wurden, die Zusammenarbeit vieler erfolgreicher Arbeitsgruppen. Zunächst wurde kein Cortison 1 synthetisiert, sondern Kendalls Verbindung A 4. Im Februar 1944 begannen Tishler und drei Mitarbeiter mit der Produktion von 4. Bis zum Sommer 1945 hatten sie 100 g der Verbindung hergestellt. In Zusammenarbeit mit Kendall wurde im März 1946 mit der Herstellung von Cortison im Labormaßstab begonnen.

Hieran waren drei Chemiker und ein Laborant beteiligt; Vorstufen für die Synthese lieferte die Technikumsanlage. Insgesamt wurden 576 kg Cholsäure 3 umgesetzt. Das Hormon Cortison stand etwa zwei Jahre später (im April 1948) zur Verfügung, und noch im selben Monat begann Hench<sup>[11]</sup> an der Mayo-Klinik mit seiner klassischen klinischen Studie. Ursprünglich war eine Testreihe mit 25 g Cortison vorgesehen, um die Möglichkeiten der Verbindung abschätzen zu können. Durch die großen Erfolge der prozeßorientierten Forschung, welche die Ausbeuten um mehr als zwei Zehnerpotenzen erhöhen konnte, waren glücklicherweise mehr als 25 g zugänglich. Dies stellte sich als entscheidend heraus, denn – wie Tishler berichtete – benötigte man ca. 100 g des



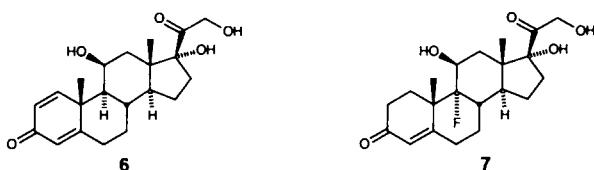
Ralph Hirschmann ist Research Professor für Chemie an der University of Pennsylvania in Philadelphia. Gleichzeitig ist er an der Medical University of South Carolina in Charleston als Universitätsprofessor für Biomedizinische Forschung tätig. Er wurde 1922 in Deutschland geboren, kam 1937 in die USA, wo er 1943 einen A. B. vom Oberlin College erhielt, und nahm, nach dreijährigem Militärdienst in der US-Armee während des 2. Weltkriegs, sein Hauptstudium an der University of Wisconsin in Madison auf. Dort promovierte er 1950 unter William S. Johnson. Noch im gleichen Jahr nahm er eine Stellung bei Merck & Co. an, wo er es bis zum Senior Vice President brachte; 1987 trat er in den „Ruhestand“ (siehe oben).

Hormons, um seine nützliche Wirkung nachweisen zu können. Insgesamt wurden 938 g Cortison hergestellt! Die Produktion der ersten 1000 kg Cortison aus Gallensäuren konnte in der Technikumsanlage in ca. 30 Monaten durchgeführt werden. Abgesehen von den außergewöhnlichen chemischen und technischen Leistungen scheint es im Rückblick bemerkenswert, daß – ungeachtet des Interesses der Air Force an Nebennierensteroiden – Merck die Produktion bereits aufnahm, bevor sich der erste klinische Erfolg an Arthritispatienten einstellte; und dies, obwohl weder Kendalls Verbindung A 4 noch Reichsteins Substanz S 5 eine nennenswerte biologische Aktivität hatten. Tatsächlich waren alle am Forschungsprogramm Beteiligten tief enttäuscht, als sich 4 als biologisch inaktiv erwies.



Die Kompliziertheit der Cortisonsynthese regte viele führende Industrie- und Hochschulchemiker dazu an, nach anderen Edukten, nach einfacheren Synthesewegen und später auch nach analogen Verbindungen mit geringeren Nebenwirkungen zu suchen. Dieses Interesse führte in vielen Arbeitskreisen zu neuartigen Entwicklungen in der Chemie, vor allem in der Schweiz, in Großbritannien, in den Vereinigten Staaten und in Mexiko. In der ersten Hälfte der fünfziger Jahre wurden auf den „Gordon Research Conferences on the Chemistry of Steroids“ (jetzt „Conference on Natural Products“) auch die Untersuchungen zahlreicher weiterer Organiker diskutiert. Dazu zählten *Bernstein, Bowers, Chemerda, Fried, Henbest, Hershberg, Heusser, Herzog, H. Hirschmann, Hogg, Johnson, Laubach, Oliveto, Ringold, Schneider, Sondheimer, Stork, Taub* und *Wendler*. Es war eine ungewöhnlich aufregende Zeit, in der man gespannt auf die neuesten Ergebnisse der anderen Arbeitsgruppen wartete.

Daß die Umwandlung der Gallensäuren in Cortison so kompliziert ist, erwies sich am Rande jedoch als sehr nützlich. Bei der Suche nach alternativen Edukten und kürzeren Synthesewegen konnten Mikrobiologen nämlich zeigen – vor allem bei Upjohn, Squibb und Pfizer –, daß mikrobielle



Transformationen das Repertoire des Chemikers unschätzbar erweitern können. Zwei der wichtigen Analoga aus der Anfangszeit, Prednisolon **6** und  $9\alpha$ -Fluorcortisol **7**, waren das Ergebnis zufällig beobachteter mikrobieller Transformationen.

## 2.2. Elektronische und strukturelle Aspekte

Aufbauend auf Hassels Untersuchungen<sup>[4]</sup> über die Stereochemie von Cyclohexan mit seinen sich ineinander umwandelnden Wannen- und Sesselformen leistete Sir Derek Barton<sup>[5]</sup> in den fünfziger Jahren einen einzigartigen Beitrag zum Verständnis des chemischen Verhaltens von Steroiden. Er zeigte, daß dieses Verhalten von der Geometrie des Moleküls beeinflußt wird, d. h. davon, ob die Substituenten axial, äquatorial und/oder pseudoäquatorial angeordnet sind. Mit ihren starren Gerüsten wurden Steroide ein Testgebiet für die Konformationsanalyse. Schon früher hatte Reichstein beobachtet, daß es zwei Arten von  $\alpha$ - und von  $\beta$ -Substituenten gibt. Sozusagen über Nacht konnte durch Bartons Erkenntnisse die große Zahl von scheinbar nicht zusammenhängenden Beobachtungen systematisiert werden, beispielsweise der Befund, daß ein  $3\beta$ -Hydroxy-Substituent der Allopregnan-Reihe (A/B *trans*) sich chemisch ebenso verhält wie ein  $3\alpha$ -Hydroxy-Substituent in der Pregnan-Reihe (A/B *cis*). Beide sind äquatoriale Substituenten (Abb. 1). Mit Bartons

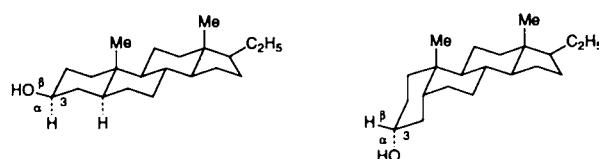


Abb. 1. Die  $3\beta$ -Hydroxygruppe in der Allopregnан-Reihe (links) und die  $3\alpha$ -Hydroxygruppe in der Pregnан-Reihe (rechts) sind äquatorial angeordnet.

Konzeptionen konnten Hirschmann et al.<sup>[6]</sup> erklären, warum die Solvolyse des 12 $\beta$ -Mesylats von Rockogenin über eine zum damaligen Zeitpunkt beispiellose Umlagerung zu einem C-Nor-D-homo-Ringsystem führt und warum es nicht zu einer Methylwanderung oder einer Dehydratisierung ohne Umlagerung kommt (Abb. 2). Dies war eine der ersten, wenn nicht die erste Umlagerung überhaupt, bei der stereoelektronische Kontrolle nachgewiesen wurde<sup>[6a]</sup>. Dadurch konnten wir auch einen möglichen Weg für die Biosynthese des Alkaloids Jervin **8** vorschlagen.

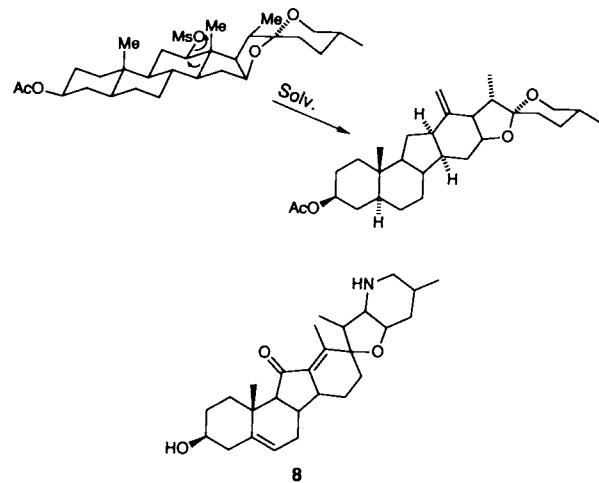


Abb. 2. Die solvolytische Umlagerung des  $12\beta$ -Mesylats von Rockogenin verläuft unter stereoelektronischer Kontrolle [6a] und ermöglicht Rückschlüsse auf die Biosynthese von Jervin 8.

Die Erkenntnisse von *Barton* und *Robinson* zusammen mit den Effekten der sterischen Hinderung, die vor allem von *M. Newman* und *H. C. Brown* untersucht wurden, ermöglichte es den Chemikern, die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SARs) bei Steroiden zu erklären. Man konnte nun verstehen, warum die äquatorialen  $2\alpha$ -,  $6\alpha$ - und auch die  $16\alpha$ -Methylsubstituenten die biologische Aktivität von Cortisol steigerten, wohingegen die axialen  $2\beta$ - und  $6\beta$ -Substituenten diese Aktivität verminderten (Numerierung siehe 2). Die Aktivitätssteigerung durch die  $2\alpha$ - und  $6\alpha$ -Substituenten wurde auf eine verringerte Metabolisierung des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 3-Ketons zurückgeführt. Die axialen  $2\beta$ - und  $6\beta$ -Methylgruppen beeinträchtigten dagegen die Bindung der  $11\beta$ -Hydroxygruppe an den Glucocorticoid-Rezeptor. *Fried* bei Squibb erklärte die SARs einer  $9\alpha$ -Halogen-Substitution auf der Basis elektronischer Effekte<sup>[7]</sup>; auch sterische Effekte könnten bei großen  $9\alpha$ -Substituenten eine Rolle spielen.  $9\alpha$ -Fluorcortisol 7 ist zehnmal wirksamer als Cortisol 2; dies wurde der größeren Acidität der wichtigen  $11\beta$ -Hydroxygruppe zugeschrieben<sup>[7]</sup>. Mit abnehmender Elektronegativität und zunehmender Größe des Halogens nimmt die Wirksamkeit ab:  $9\alpha$ -Chlor 4.7;  $9\alpha$ -Brom 0.28;  $9\alpha$ -Iod 0.1 (Cortisol = 1). Daß eine Methylgruppe sowohl in  $16\alpha$ - als auch in  $16\beta$ -Stellung die Wirksamkeit steigert, überrascht nicht, wenn man bedenkt, daß im fünfgliedrigen Ring D beide Substituenten quasiäquatoriale Positionen einnehmen. Die C-17-Seitenkette wird dadurch vor einer Metabolisierung geschützt, ohne daß die Bindung der  $11\beta$ -Hydroxygruppe an den Rezeptor beeinflußt wird. Interessanterweise konnten *Weeks* et al.<sup>[8]</sup> durch kristallographische Untersuchungen an 7 zeigen, daß der  $9\alpha$ -Fluor-Substituent auch Ring A strukturell beeinflußt.

Durch die kreative Anwendung elektronischer und sterischer Konzepte war es Chemikern in der pharmazeutischen Industrie möglich, die Anzahl der Verbindungen, die synthetisiert und getestet werden mußten, um von einer „Leitstruktur“ zu einem Kandidaten für klinische Versuche zu gelangen, zu verringern. *Sarett* nannte dies den „minimal systematischen Ansatz“ zur Entdeckung von Medikamenten.

### 2.3. Biologische Aspekte

Schon bald stellte man fest, daß Cortison zahlreiche Nebenwirkungen hatte, beispielsweise Calciumverlust, eine negative Stickstoffbilanz, Salz- und Wasserretention in den Nieren und gelegentlich unerwünschte psychische Effekte. Anfangs überraschte dies, da in den vierziger Jahren mehrere Vitaminmangel-Krankheiten ohne Nebenwirkungen geheilt werden konnten, indem man pharmakologische Dosen des fehlenden Vitamins verabreichte. Zu Anfang hofften Biologen und Chemiker, daß man durch Synthese wirksamerer Derivate den therapeutischen Index (T. I.) von Cortisol verbessern könnte. Erhöhte Wirksamkeit bedeutet kleinere Dosen und läßt weniger Nebenwirkungen erwarten. Unglücklicherweise erwies sich diese Vorstellung als illusorisch. Synthetische Analoga aus der Anfangszeit wie  $2\alpha$ -Methyl- und  $9\alpha$ -Fluorcortisol 7 wirken zwar stärker entzündungshemmend als Cortisol, haben aber keinen höheren T. I. Im Gegenteil: Die unerwünschte Salzretention stieg sogar stärker als die erwünschte entzündungshemmende Wirkung.

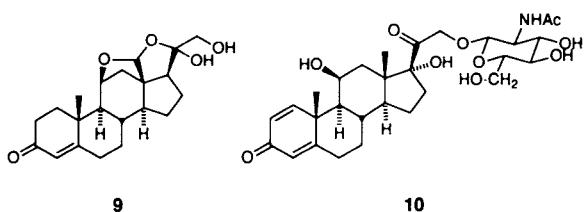
Prednisolon 6, 1955 von *Hershberg*, *Herzog* und ihren Mitarbeitern bei Schering entdeckt<sup>[9]</sup>, ist ein Gegenbeispiel. 6 ist das erste Glucocorticoid von klinischer Bedeutung, das eine verstärkte entzündungshemmende Wirkung und einen höheren T. I. als Cortison/Cortisol aufweist, denn die Salzretention ist geringer.

Diese Ergebnisse waren in zweierlei Hinsicht für Medizin-Chemiker und für Biologen eine Lehre: Erstens, daß bei der Behandlung eines Patienten mit einer pharmakologischen Dosis eines Hormons dann mit Nebenwirkungen zu rechnen ist, wenn die Krankheit nicht auf einem Mangel dieses Hormons beruht. Zweitens, daß durch die Synthese von Analoga eines Naturstoffs wie Cortisol oder eines beliebigen anderen potentiellen Medikaments der therapeutische Index nur dann verbessert werden kann, wenn erwünschte Wirkung und Nebenwirkungen durch unterschiedliche Rezeptoren ausgelöst werden<sup>[10]</sup>. Der Befund, daß der  $2\alpha$ -Methyl- und der  $9\alpha$ -Fluor-Substituent sowie die 1,2-Doppelbindung in 6 die entzündungshemmende Wirkung anders beeinflußten als die Salzretention, ließ darauf schließen, daß diese spezielle Nebenwirkung durch einen anderen Rezeptor hervorgerufen werden könnte. Diese wichtige Entdeckung konnte den Biologen deshalb gelingen, weil die Chemiker ihnen Verbindungen mit neuartigen Eigenschaften herstellten. Eine weitere Stütze dieser Idee bot die etwa zur selben Zeit von *Reichstein* et al.<sup>[11]</sup> durchgeführte Isolierung und Charakterisierung von Aldosteron 9, dem Steroidhormon, das den Salzhaushalt reguliert.

Der Begriff Rezeptor<sup>[12a]</sup> war für das Gebiet der Pharmakologie von *Langley*<sup>[12b]</sup> definiert worden. Auf molekularer Ebene war „Rezeptor“ jedoch eine „black box“. Sobald ein gewisses molekulares Verständnis vorhanden war, verwendete man die chemischen Namen wie etwa Trypsin, statt Umschreibungen wie „der Rezeptor für Lysin enthaltende Peptide“.

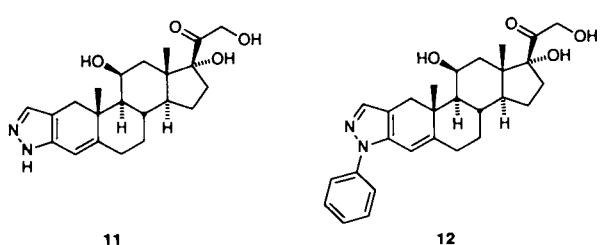
Eine große Zahl hochwirksamer Analoga wurde in der Industrie synthetisiert und viele davon wurden klinisch wichtige Produkte. Daß man die verbleibenden Nebenwirkungen von Cortison nicht ausschalten konnte, legte nahe, daß diese durch denselben Rezeptor hervorgerufen wurden wie die erwünschte entzündungshemmende Wirkung. Diese Interpretation wurde jedoch meines Wissens damals nicht explizit formuliert. *Hirschmann* und *Sarett* et al. versuchten daher in den fünfziger Jahren das Problem, ein sichereres Glucocorticoid zu finden, von einer anderen Seite her zu lösen. „Rational“ gesehen sollte es möglich sein, *latente Medikamente* zu verabreichen<sup>[13]</sup>. Wir wollten ein biologisch inaktives Steroid (die Vorstufe eines Medikamentes) entwerfen und synthetisieren, das dann am Entzündungsherd *selektiv* oder zumindest *vorzugsweise* in das aktive Steroid umgewandelt werden würde. Das 21-(*N*-Acetylglucosamid) 10 von Prednisolon wurde unter der Annahme, daß es biologisch inaktiv sei, synthetisiert. Weiterhin vermutete man, daß es *vorzugsweise* in entzündeten Gelenken durch *N*-Acetylglucosaminidase in die aktive Verbindung 6 umgewandelt werden würde. Diese Erwartungen waren dadurch begründet, daß die 21-Ether der Glucocorticoids inaktiv sind, und daß der *N*-Acetylglucosaminidase-Spiegel in den Flüssigkeiten entzündeter Gelenke höher ist als in denen normaler Gelenke oder im Plasma. Unsere Erwartungen erfüllten sich zumindest teilweise. Das Glycosid 10 wies bei Tieren einen höheren T. I. auf als Prednisolon 6. Mangels oraler Bioverfügbarkeit waren klini-

sche Versuchsreihen an Menschen mit dieser Verbindung jedoch nicht gerechtfertigt. Trotzdem wurde das Konzept der „latenten Medikamente“ – d. h. *selektive* Umwandlung einer inaktiven Vorstufe in das aktive Medikament am Zielort – seitdem immer wieder angewendet.



*Chemerda, Poos, Hirschmann et al.*<sup>[14]</sup> berichteten über die erfolgreiche Synthese des für die Medizin wichtigen, wasserlöslichen 21-Phosphatesters von Cortisol, der sowohl intravenös verabreicht werden konnte als auch zur Anwendung am Auge geeignet war. Die Synthese erwies sich als nicht-trivial, da die in potentiellen Vorstufen vorhandene  $17\alpha$ -Hydroxygruppe zur Bildung des unerwünschten  $17\alpha,21$ -Epoxids neigte<sup>[15]</sup>.

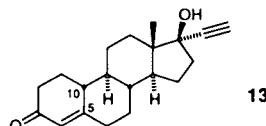
1963 stand fest, daß ein Sauerstoffatom an C-3 für eine anabolisch-androgene oder progestative Wirksamkeit von Steroiden nicht erforderlich ist. Dagegen schien ein umfangreiches Datenmaterial die Vermutung zu stützen, daß eine Oxo-Gruppe an C-3 die Bedingung für eine entzündungshemmende Wirkung sei. Dennoch synthetisierten *Hirschmann, Steinberg, Tishler et al.*<sup>[16]</sup> Pregnadienderivate wie **11** und **12** mit anellierte Pyrazolring, die sich als hochwirksam herausstellten. In der Tat erwiesen sich die Phenylpyrazole



vom Typ 12 als die bis jetzt am stärksten wirksamkeitssteigernden „Pharmacophore“ bei den entzündungshemmenden Steroiden. Da eines dieser Phenylpyrazole in Frankreich als Medikament zugelassen wurde, könnte man die Entdeckung dieser Verbindungsklasse als „irrationale und dennoch erfolgreiche Entdeckung eines Medikaments“ betrachten, oder aber als Mahnung dafür nehmen, daß es manchmal sinnvoll ist, allgemein anerkannte, aber unbewiesene Dogmen zu hinterfragen. Anfangs führten wir<sup>[17]</sup> die hohe Wirksamkeit der Pyrazole auf die Elektronenverteilung um die 3-Position zurück. Später jedoch schien es uns wahrscheinlicher, daß es sich hier um ein frühes Beispiel für andere oder zusätzliche Bindungsstellen handelte, ein Thema, das während der vergangenen zwanzig Jahre in der Medizinischen Chemie immer wiederkehrte, jedoch meines Wissens hauptsächlich im Zusammenhang mit Antagonisten diskutiert wurde. Nach diesem Konzept wird eine funktionelle Gruppe, der man die biologische Wirksamkeit zuschreibt (wie etwa der 3-Oxofunktion eines Glucocorticoids), dann überhaupt

nicht benötigt, wenn ein anderer Substituent, z. B. ein aromatischer Ring, der irgendwo im Molekül eingeführt wird, komplementär zum Rezeptor ist. Im allgemeinen haben diese neuartigen Strukturen neue Einblicke in die Wechselwirkung von Steroiden mit Rezeptoren gewährt.

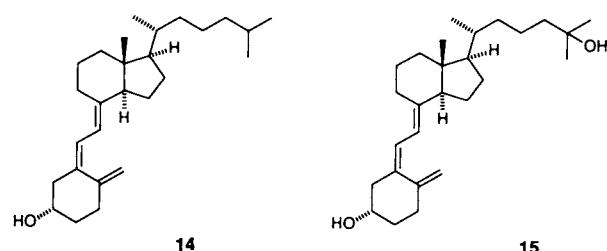
Mitte der fünfziger Jahre sollten die bei Syntex unter *Djerassi* und *Rosenkranz*<sup>[18]</sup> und die bei Searle unter *Colton* und *Riegel*<sup>[19]</sup> durchgeföhrten Untersuchungen über die Progestine 17 $\alpha$ -Ethinyl-19-nortestosteron 13 und dessen Isomeren mit 5(10)-Doppelbindung groÙe Bedeutung erlangen, da diese Verbindungen als oral wirksame Ovulationshemmer eingesetzt werden können. In den USA verwendete pharma-



zentische Präparate enthalten ein Progestin und ein Östrogen. Diese Arbeiten erinnern uns – falls dies nötig sein sollte – nachhaltig daran, daß medizinisch orientierte Chemiker imstande sind, Verbindungen mit Eigenschaften zu synthetisieren, die nicht nur tiefgreifenden Einfluß auf die Medizin, sondern auch auf die Gesellschaft haben.

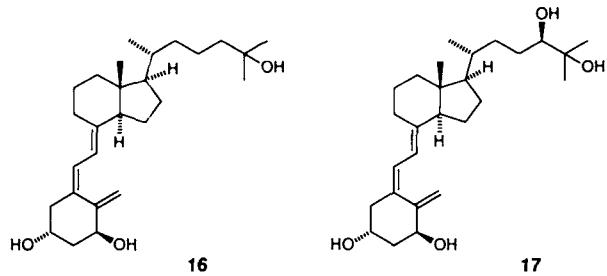
## 2.4. Neuere Entwicklungen

Anfang der sechziger Jahre schienen die chemischen Möglichkeiten der entzündungshemmenden Steroide weitgehend ausgeschöpft zu sein. Im klinischen Bereich waren Steroide damals nicht mehr die Mittel der Wahl für die Behandlung der meisten entzündlichen Krankheiten. Andere Aspekte der Steroidchemie und der Medizinischen Chemie entwickelten sich jedoch weiterhin hervorragend. Die aufsehenerregenden biomimetischen Cyclisierungen von *W. S. Johnson* et al. gelten inzwischen als klassische Beispiele<sup>[20]</sup>. Bemerkenswert sind auch Arbeiten im Zusammenhang mit Vitamin D, die in den siebziger Jahren großes Interesse fanden. Untersuchungen in zahlreichen Arbeitskreisen, darunter denen von *Haussler*<sup>[21]</sup>, *Kodicek* und *Lawson*<sup>[22]</sup>, *DeLuca*<sup>[23]</sup> und *Norman*<sup>[24]</sup> erreichten ihren Höhepunkt in der Entdeckung, daß Vitamin D<sub>3</sub> **14** nach der Resorption aus dem Darm von einem Enzym der Leber in Position 25 zu **15** und anschließend

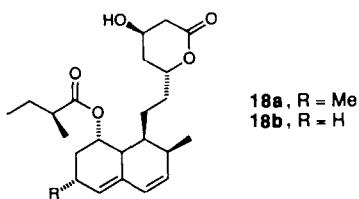


von einem Enzym der Niere in  $1\alpha$ -Position zu **16** hydroxyliert wird. Dieser dihydroxylierte Vitamin-D<sub>3</sub>-Metabolit initiiert die Calcium-Absorption. Nach diesen biochemischen Errungenschaften, die in der Charakterisierung von

16 gipfelten, leisteten Organiker entscheidende Beiträge zur Lösung der sich ergebenden Syntheseprobleme. Unter anderem sind hier Arbeiten in den Laboratorien von *Hesse*<sup>[25]</sup>, *DeClerq*<sup>[26]</sup>, *Dauben*<sup>[27]</sup>, *Mazur*<sup>[28]</sup> und *Uskovic*<sup>[29]</sup> zu erwähnen. Diese Forscher sowie *Seki*<sup>[30]</sup> und viele andere haben auch dazu beigetragen, die Rolle von  $1\alpha,24(R),25\text{-Trihydroxyvitamin D}_3$ , 17 zu klären.

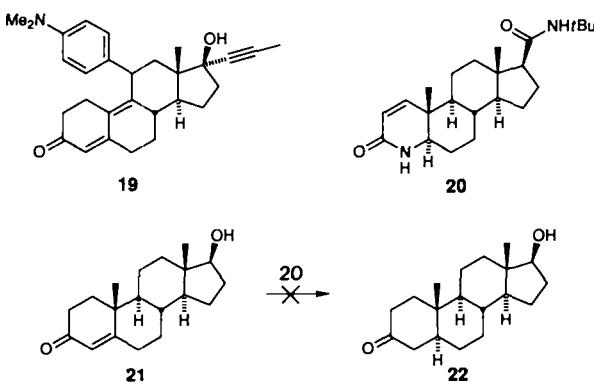


Steroidhormon-Antagonisten und Enzym-Inhibitoren, die mit Steroiden in Beziehung stehen, finden weiterhin unvermindertes Interesse. Darüber hinaus hat die Aufklärung der Cholesterin-Biosynthese aus Acetat kürzlich zu einem der wichtigsten Medikamente geführt, das in den achtziger Jahren zugelassen wurde: Lovastatin **18a**, das die Cholesterin-Biosynthese inhibiert. Seine Einführung auf dem Markt wurde 1987<sup>[31]</sup> als ein signifikanter Fortschritt für die Behandlung von Hypercholesterinämie gefeiert (vgl. Abschnitt 5; dort wird auch **18b** besprochen).



Mifepriston 19<sup>[32]</sup> ist ein Progesteron-Antagonist, der von Rousell-Uclaf entwickelt wurde. Die Verabreichung dieses Steroids, kombiniert mit einer kleinen Dosis Prostaglandin, stellte sich als sichere und effektive Methode des Schwangerschaftsabbruchs heraus. Das Medikament wurde in Frankreich unter strenger Indikationsstellung verschreibungspflichtig zugelassen.

Proscar 20, ein Inhibitor der 5 $\alpha$ -Reduktase der menschlichen Prostata, zählt zu den vielversprechenden Medikamen-



ten, die sich gegenwärtig in einem fortgeschrittenen klinischen Versuchsstadium befinden. Diese Verbindung wurde von Rasmussen et al.<sup>[13,3]</sup> entworfen und synthetisiert, um die Umwandlung von Testosteron **21** zu Dihydrotestosteron **22** zu verhindern. Im Gegensatz zu **21** stimuliert **22** Prostata-Hyperplasie, hat aber beim erwachsenen Mann keinerlei wünschenswerte Wirkungen. Dieser ausgesprochen „rationale“ Ansatz, ein Medikament zur Verkleinerung einer vergrößerten Prostata zu finden, wurde zuerst in den fünfziger Jahren von *Glen Arth* bei Merck vorgeschlagen.

Andere interessante Steroide sind Inhibitoren der Placenta-Aromatase des Menschen, Antiöstrogene ohne agonistische Wirkung und Verbindungen (21-Aminosteroide), die vor einem Trauma des zentralen Nervensystems schützen können.

Abschließend sei bemerkt, daß die Molekularbiologie für die Steroidforschung und deren Umfeld richtungsweisend geworden ist: Man versucht, auf molekularer Ebene zu verstehen, warum intrazelluläre Steroid-Rezeptorproteine und ihre Hormon-Liganden die Effizienz der Transkription von ganzen Netzwerken spezifischer Gene verändern können<sup>[34]</sup>. Es wird interessant sein, in welchem Ausmaß diese Untersuchungen zu unserem Verständnis der SARs von Steroidhormonen und ihren Antagonisten beitragen können, besonders wenn kristalline Rezeptoren zur Verfügung stehen werden. Interessant, obgleich nicht überraschend, ist der Befund, daß die cDNAs verschiedenartiger Steroid-Rezeptoren drei in hohem Maße konservierte Regionen aufweisen<sup>[35a]</sup>. Über die Einheitlichkeit der Struktur von Hormon-Rezeptoren des Zellkerns wurde kürzlich zusammenfassend berichtet<sup>[35b]</sup>.

### 3. Große und kleine Peptide: Proteine und Hormone

Sowohl Steroide als auch Peptide sind in Physiologie und Medizin von größter Bedeutung. Die Peptidforschung begann vor etwa 90 Jahren, als *Franz Hofmeister* und *Emil Fischer* (der damals den Nobel-Preis für seine Arbeiten über Zucker und Purine erhalten sollte) 1902 in Karlsbad unabhängig voneinander berichteten, daß Proteine aus Aminosäuren aufgebaut sind, die über „Peptidbindungen“ (Bezeichnung nach *Fischer*) miteinander verknüpft sind. *Fruton* hat sich mit den beiden Wissenschaftlern und mit dieser Tagung befaßt<sup>[36]</sup>. Trotz *Fischers* hohen Ansehens fand dieses Forschungsgebiet jahrzehntelang nur wenig Anklang; viele Vollblut-Chemiker aus der Organischen und der Medizinischen Chemie begegneten der Peptidforschung sogar bis weit in die fünfziger Jahre mit Geringschätzung. In den letzten Jahren ist die Peptidforschung nun aber explosionsartig expandiert. Warum also entwickelte sie sich zu Beginn so langsam? Ich meine, daß mehrere Faktoren dazu beigetragen haben:

Zum einen hielten Organiker die Peptidchemie, vor allem weil sich das Muster des Amidgerüstes ständig wiederholt, für langweilig. Zum anderen kommt bei den meisten Organikern ein Gefühl des Unbehagens auf, wenn sie es mit wasserlöslichen organischen Verbindungen zu tun haben, denn normalerweise ist die wäßrige Phase diejenige, die verworfen wird. Auch die pharmazeutische Industrie verhielt sich reser-

viert, zum einen mangels ausreichender oraler Bioverfügbarkeit der Peptide, zum anderen, weil die biologische Halbwertszeit der Peptide meistens unakzeptabel kurz ist. Der Verdacht, daß Peptidhormone ein *Gemisch* chemisch verwandter Substanzen sind, wirkte zusätzlich abschreckend. Als daher Sanger et al. 1955 die Sequenz von Rinder-Insulin<sup>[37]</sup> aufklären konnten, war dies ein Durchbruch – zum Teil auch deswegen, weil nun bewiesen war, daß Rinder-Insulin ein ebenso wohldefinierter Stoff wie Benzoesäure und Cholesterin ist.

Trotz des Zögerns der Organiker, die Peptidchemiker als „ordentliche Mitglieder“ ihrer Disziplin zu betrachten, belegt die frühe Geschichte der Peptidforschung die außerordentliche Kreativität und das enorme Geschick ihrer Pioniere, zu denen Fischer, Bergmann, Zervas und Curtius gehören. Tatsächlich weist die Geschichte der Peptidforschung zahllose hervorragende Beiträge zur Organischen Chemie auf; die Namen ihrer Urheber können aber hier aus Platzgründen nicht alle genannt werden<sup>[\*]</sup>.

### 3.1. Strukturbestimmung und Synthese von Peptidhormonen

1953 gelang du Vigneaud die Isolierung, Charakterisierung und Synthese der Peptidhormone Oxytocin **23**<sup>[38]</sup> und Vasopressin (gezeigt ist Arginin-Vasopressin **24**)<sup>[39]</sup>, wofür ihm der Nobel-Preis verliehen wurde. Die Charakterisierung dieser beiden Hormone war eine herausragende Leistung, wenn wir bedenken, daß es sich bei den Verbindungen um cyclische Peptide handelt und daß die Strukturen ohne Hilfe des Edman-Abbaus<sup>[40]</sup> bestimmt werden mußten. Die Synthese dieser Hormone in reiner Form war eine gleichermaßen beachtliche Leistung, da Wielands Methode der gemischten Anhydride, die Verwendung aktiver Ester, die auf die Pionierarbeiten von Wieland, Schwwyzer, Bodanszky, G. Anderson und anderen zurückgeht, sowie die Carbodiimid-Methode von Sheehan sich erst Jahre später allgemein durchgesetzt hatten.



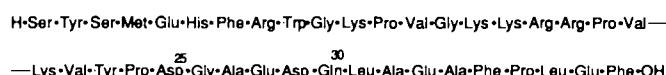
**23**, X = Ile, Y = Leu

**24**, X = Phe, Y = Arg

Du Vigneaud und Mitarbeiter gaben der Peptidforschung durch ihre Ergebnisse mit Oxytocin und Vasopressin einen enormen Auftrieb (für medizinisch-chemische Studien an Oxytocin und Vasopressin siehe Abschnitt 3.3). 1963 waren die Methoden für die Darstellung von Peptiden weit genug entwickelt, um Schwwyzer und Sieber<sup>[41]</sup> die Totalsynthese eines chemisch homogenen Peptids mit der Sequenz, die für Schweine-ACTH **25** vorgeschlagen<sup>[42]</sup> worden war (ein Hormon aus 39 Aminosäuren), zu ermöglichen. Die Synthese wurde schrittweise vom C- zum N-Terminus durchgeführt (keine Fragment-Kondensationen), mit Reinigungsoperationen nach jedem Syntheseschritt. Jede Aminosäure wurde

[\*] Einen guten Überblick gibt ein gerade erschienenes Buch: T. Wieland, M. Bodanszky: *The World of Peptides. A Brief History of Peptide Chemistry*, Springer, Heidelberg 1991. Siehe aber auch [36] und [151].

durch Benzyloxycarbonyl geschützt, das durch katalytische Hydrierung entfernt werden konnte, da ACTH nur eine schwefelhaltige Aminosäure, ein Methionin, in der Nähe des N-Terminus enthält. Die Synthese des reinen Peptids aus 39 Aminosäuren ist ein Meilenstein.



25

Später stellte man fest<sup>[43]</sup>, daß das synthetische Peptid mit der C-terminalen Aminosäuresequenz von **25** unter schwach alkalischen Bedingungen nicht desamidiert wird; natürliches Schweine-ACTH wird dagegen vollständig desamidiert. Darüber hinaus konnte die sehr schnell verlaufende Desamidierung anhand der Struktur **25** nicht hinreichend erklärt werden. Deshalb wurde die für Schweine-ACTH ursprünglich vorgeschlagene Struktur<sup>[42]</sup> revidiert<sup>[43]</sup>, wobei Asp in Position 25 durch Asn und Gln in Position 30 durch Glu ersetzt wurde. Die abgeänderte Struktur erklärt, warum Ammoniak unter milden Bedingungen abgespalten wird: Es ist bekannt<sup>[44]</sup>, daß Asn-Gly-Bindungen Succinimid bilden (Abb. 3).

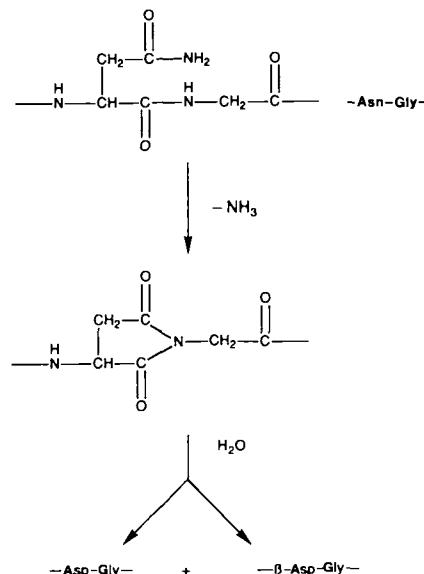
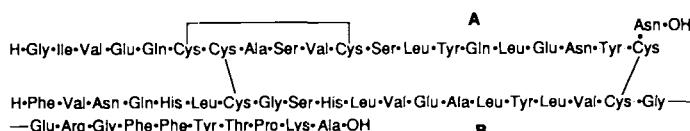


Abb. 3. Die Instabilität der Asn-Gly-Bindung, ein Fallstrick in der Peptidchemie. Die Dipeptideinheit kommt beispielsweise in ACTH, Ribonuclease A und in Sekretin vor.

ACTH wurde im klinischen Bereich zur Behandlung von Entzündungen und für diagnostische Zwecke eingesetzt. Es stellte sich heraus, daß das Tetracosapeptidamid, dem die Aminosäuresequenz 25 – 39 fehlt, noch ca. 75 % der steroidogenen Wirksamkeit des natürlichen Hormons hat. Dies verdeutlicht, daß eine drastische Verkürzung der Aminosäuresequenz manchmal möglich ist, ohne dabei die biologische Aktivität teilweise oder völlig einzubüßen.

Ungeachtet Schwwyzers Leistungen bei der Synthese galt es, Mitte der sechziger Jahre noch viele wichtige und schwierige Probleme zu lösen. Insulin **26** war weiterhin eine Herausforderung. 1955 gelang Sanger et al.<sup>[37]</sup> die Strukturaufklärung

von Rinder-Insulin. Hierfür mußte die Aminosäuresequenz der beiden Polypeptidketten (A und B) aus überlappenden Fragmenten bestimmt werden, die man durch partielle Säurehydrolyse und partielle Enzymverdauung erhielt. Darüber hinaus mußten Asn von Asp und Gln von Glu unterschieden werden und die eine Disulfidbrücke innerhalb der A-Kette sowie die beiden Brücken zwischen den Ketten lokalisiert werden.



26

Die Totalsynthese von Insulin auf chemischem Weg wurde 1963 von *Zahn* et al.<sup>[45]</sup> in Deutschland, 1964 von *Katsoyanis* et al.<sup>[46]</sup> in den USA und 1965 von *Wang, Du* et al.<sup>[47]</sup> in China mitgeteilt. Die Ausbeuten waren jedoch gering. Dies wurde der Tatsache zugeschrieben, daß im letzten Syntheseschritt „unkontrolliert“ drei Disulfidbrücken zwischen der A- und B-Kette gebildet werden mußten, was zu unerwünschten Nebenprodukten und Polymeren führt. Interessanterweise konnten *Katsoyanis* et al.<sup>[48]</sup> schließlich Ausbeuten von 60–80% für die simultane Bildung der drei Cystin-Brücken erzielen, wenn sie die A-Kette im Überschuß einsetzten. Hohe Ausbeuten für die Kombination der A- und B-Kette wurden später auch von Wissenschaftlern bei Eli Lilly<sup>[49]</sup> und Genentech<sup>[50]</sup> erhalten, welche die Peptidketten biotechnologisch hergestellt hatten. 1974 gelang *Sieber, Kamber* et al.<sup>[51]</sup> bei Ciba ein weiterer Durchbruch: die Herstellung von kristallinem Human-Insulin durch Totalsynthese, bei der die Disulfidbrücken gezielt gebildet wurden. Dies wurde durch Techniken möglich, die *Zervas* und *Photaki*<sup>[52]</sup> in Griechenland, *Hirschmann, Veber* et al.<sup>[53]</sup> bei Merck und besonders *Hiskey* et al. in Chapel Hill<sup>[54]</sup> entwickelt hatten.

Die anfangs geringe Ausbeute (weniger als 4%) an Insulin, die bei der „unkontrollierten“ Oxidation der reduzierten A- und B-Kette erhalten wurde, sollte sich als Glück im Unglück herausstellen. Die geringen Ausbeuten widersprechen nämlich *Anfinsens* Prinzip der Selbstorganisation (vgl. Abschnitt 3.2), nach welchem die korrekte Faltung in der Peptidsequenz codiert ist. *Steiner* et al.<sup>[55]</sup> zogen daher in Betracht, daß die Biosynthese des Insulins über eine *einkettige* Hexahydrovorstufe, ein Prohormon, verläuft. Tatsächlich konnte *Steiner* 1967 ein Proinsulin mit einer Polypeptid-Einzelkette isolieren und zeigen, daß A- und B-Kette darin durch ein Fragment aus 29–35 Aminosäuren (je nach Spezies) verknüpft sind. Weiterhin wies er nach, daß vollständig reduziertes Proinsulin sich in hoher Ausbeute zu Proinsulin oxidieren läßt, und daß Proinsulin in vitro in Insulin umgewandelt werden kann. Die erfolgreiche Suche nach einem Prohormon verdeutlicht noch einmal den Einfluß chemischer Experimente (in diesem Fall geringe Ausbeuten bei der Kombination der beiden Ketten) auf das Verstehen biologischer Vorgänge (die Entdeckung der Prohormone). *Steiners* Entdeckung des Proinsulins gab der Peptidforschung neue Impulse in Richtung Prohormone und später in Richtung Präprohormone, die von Molekularbiologen gern als die „Genprodukte“ bezeichnet werden. Wissenschaftler bei Eli

Lilly und Genentech synthetisierten Insulin aus biotechnologisch erhaltenem Proinsulin. Untersuchungen von *Brandenburg* et al.<sup>[230]</sup> und von *Markussen*<sup>[231]</sup> an „Miniproinsulinen“ legten nahe, daß das verbindende Peptid in Proinsulin bei der Biosynthese lediglich dafür sorgt, daß sich die erste Disulfidbrücke zwischen den Ketten in einer monomolekularen Reaktion bildet. Ein entscheidender Beitrag der Molekularbiologie waren die Isolierung, das Klonen und die Expression des Insulinrezeptors sowie die Erkenntnis, daß dieser Kinase-Aktivität aufweist.

Insulin nimmt in den Annalen der Peptidforschung eine Sonderstellung ein. Es war das erste komplizierte Peptid von außerordentlicher Bedeutung für die Medizin (für den Typ-I-Diabetiker lebensrettend), dessen Sequenz man aufklären konnte<sup>[56]</sup>. Insulin spielte auch bei zahlreichen anderen wissenschaftlichen Entdeckungen eine zentrale Rolle. Es ermöglichte den Nachweis, daß Peptidhormone chemische Reinstoffe sind, und daß ein Peptid auch ohne prosthetische Gruppe eine biologische Aktivität aufweisen kann<sup>[57]</sup>. Insulin war auch das erste Peptidhormon, das kristallisiert werden konnte (Abel, 1926)<sup>[58]</sup>. Die Röntgenstrukturanalyse wurde 1969 von *D. C. Hodgkin* et al.<sup>[59]</sup> beschrieben. *Blundell, Hodgkin* et al.<sup>[59b]</sup> konnten anhand röntgenstrukturanalytischer Untersuchungen zeigen, daß der Austausch des B10-Histidins sich deutlich auf die Tertiärstruktur des Hormons auswirkt; dies erklärte auch die geringe Wirksamkeit von Meerschweinchen-Insulin in Nagetieren oder in deren Geweben. Human-Insulin, aus Schweine-Insulin erhalten, war das erste natürliche Protein, das halbsynthetisch hergestellt wurde (Markussen<sup>[232]</sup>). Insulin wurde als erstes klinisch wichtiges Produkt durch DNA-Rekombinations-Technik<sup>[50]</sup> erzeugt.

### 3.2. Chemische Synthese von Enzymen

Die erste Totalsynthese eines Enzyms (Ribonuclease) gelang *Merrifield* und *Gutte*<sup>[60]</sup> und unserer Arbeitsgruppe bei Merck<sup>[61]</sup> gleichzeitig, aber unabhängig voneinander. *Merrifield* und *Gutte* benutzten die neue Festphasentechnik<sup>[62]</sup>, während wir die Fragmentkondensationsmethode<sup>[63–67]</sup> verwendeten und *N*-Carboxyanhydride<sup>[68]</sup> in großem Umfang als Bausteine einsetzten. Die Entscheidung, Ribonuclease zu synthetisieren, statt die Insulinsynthese zu verbessern, war von beiden Arbeitsgruppen wohlüberlegt getroffen worden. Insulin war zwar das kleinere und daher vermutlich weniger problematische Molekül, weshalb es naheliegend schien, an dieser Stelle fortzufahren: Ausschlaggebend war jedoch, daß der Reiz einer Enzmysynthese den einer Hormonsynthese übertraf.

Die chemische de-novo-Synthese von Enzymen<sup>[60, 61]</sup> mit zufriedenstellender spezifischer Aktivität aus den Aminosäuren war in zweierlei Hinsicht sehr zufriedenstellend (in einer dritten jedoch nicht). Erstens glaubten viele Wissenschaftler Mitte der sechziger Jahre immer noch, daß die Totalsynthese eines Enzyms auf chemischem Wege nicht durchführbar war, wenn nicht irgendeine Form eines Templatzes vorhanden sei. Dieser Glauben erhielt sich aufrecht, obwohl *Anfinsen* und *Haber* auf brillante Art und Weise gezeigt hatten, daß die Primärstruktur eines Proteins auch die Information über seine Tertiärstruktur<sup>[69]</sup> enthält. Die Oxidation eines linearen Peptids mit acht Cystein-Resten

führt theoretisch zu 105 Isomeren mit jeweils vier Cystin-Brücken. Daß in beiden Totalsynthesen das richtige Isomer gebildet wurde, war eine enorme Bestätigung des Anfinsen/Haber-Prinzips der Selbstorganisation.

Zweitens war es höchst befriedigend, daß es 1969 durch die gemeinsamen Bemühungen innerhalb der internationalen Peptidchemiker-„Community“ gelungen war, ein Enzym zu synthetisieren - ein in der präparativen Organischen Chemie seit langem angestrebtes Ziel. Zwölf Jahre später berichtete *Yajima*<sup>[70]</sup> über die Totalsynthese von kristalliner Ribonuclease A mit konventionellen chemischen Methoden, wobei Trifluormethansulfonsäure erstmals zur Entfernung von Schutzgruppen eingesetzt wurde.

Den Erwartungen wurde in der Hinsicht nicht entsprochen, daß die chemische Totalsynthese von Enzymen weiterhin ein mühsames Unterfangen blieb. Mit Ausnahme der Synthese von kristalliner Ribonuclease A durch *Yajima*<sup>[70]</sup> im Jahr 1981 war in der Zeit zwischen 1969 und 1988 trotz immenser Bemühungen keine weitere Enzmysynthese erfolgreich. Sowohl unsere Arbeitsgruppe als auch die von *Merrifield* hatte gehofft, daß der Synthese der Ribonuclease die Synthese von Enzym-Analoga folgen würde, die in der Natur nicht vorkommen, und daß dies zum besseren Verständnis von Struktur und Funktion der Proteine beitragen würde. Ungleicherweise ist die Synthese eines Protein-Analogons unter Umständen eine größere Herausforderung als die des natürlich vorkommenden Produkts, da es keine Referenzverbindung gibt, um physikalische, chemische und biologische Eigenschaften des synthetischen Produkts vergleichen zu können. Reinheitskriterien sind deshalb noch schwieriger zu erstellen<sup>[71]</sup>. Darüber hinaus sind Reinigungsverfahren, die für die natürlich vorkommende Substanz entwickelt wurden - affinitätschromatographische Verfahren sind in diesem Zusammenhang besonders wichtig - eventuell nicht auf das Analogon übertragbar. Es blieb der Biotechnologie vorbehalten, die ortsspezifische Mutagenese zu der Methode zu machen, deren enormes Potential für die Synthese von Protein-Analoga heute allgemein anerkannt ist. Beispielsweise zeigen Berichte von *Benkovic*<sup>[72]</sup>, *Fersht*<sup>[73]</sup>, *Knowles*<sup>[74]</sup> und *J. A. Wells*<sup>[75]</sup> und ihren Mitarbeitern, daß die Synthese von Enzym-Analoga tatsächlich zu einem besseren Verständnis enzymatischer Mechanismen und der Proteinfaltung beiträgt. Rückblickend erwies sich die Pionierarbeit von *Anfinsen* für die Biotechnologie als genauso wichtig wie sie es in den sechziger Jahren für die chemische Synthese von Enzymen gewesen war<sup>[75, 233]</sup>.

1988 beschrieben *Nutt* und *Veber* et al.<sup>[76a]</sup> die chemische Totalsynthese eines Enzyms mit 99 Aminosäure-Resten, dessen Peptid-Sequenz von *Ratner* et al. am NIH für die mit AIDS zusammenhängende HIV-Protease vorgeschlagen worden war. Gleichzeitig berichteten *Schneider* und *Kent*<sup>[76b]</sup> über die Synthese eines Analogons dieses Enzyms, in welchem L- $\alpha$ -Aminobuttersäure die beiden Cystein-Reste ersetzte.

Als *Merrifield* und *Gutte* sowie unsere Arbeitsgruppe bei Merck Schutzgruppen für die geplanten Enzmysynthesen auswählten, war die allgemein anwendbare Methode des „orthogonalen Schutzes“ noch nicht entwickelt. Entgegen den damals veröffentlichten Arbeiten gelang es insbesondere nicht, die wichtige säureempfindliche *tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-Schutzgruppe<sup>[77-79]</sup> von einer  $\alpha$ -Aminogruppe abzuspalten, ohne dabei teilweise auch die Benzyloxycarbo-

nyl(Cbz)-Gruppe an der  $\epsilon$ -Position von Lysin zu entfernen. Selbst ein nur teilweiser Verlust der Cbz-Schutzgruppen an irgendeiner der zahlreichen Lysin-Seitenketten der Ribonuclease kann im folgenden Kupplungsschritt zu unerwünschten Verzweigungen führen. Einen allgemein anwendbaren „orthogonalen Schutz“ ermöglichten später die gemeinsamen Bemühungen von Chemikern wie *Carpino*, der die säurestabile und durch Piperidin abspaltbare 9-Fluorenylmethoxycarbonyl(Fmoc)-Schutzgruppe einführte<sup>[80]</sup>; von *Sieber* und *Iselin*, die die Biphenylisopropylloxycarbonyl(Bpoc)-Schutzgruppe fanden<sup>[81]</sup>; von *Hiskey*, dem die selektive Cystin-Brückenbildung gelang<sup>[82]</sup>, und von *Barany*<sup>[83]</sup>.

### 3.3. Neuere chemische und biologische Entwicklungen

Der bedeutendste Fortschritt in der Peptidsynthese seit der Einführung der Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe durch *Bergmann* und *Zervas* und der Azid-Kupplung durch *Curtius* war die von *Merrifield* entwickelte Festphasensynthese<sup>[62]</sup> von Peptiden. Verbesserungen dieser neuen Technik durch *Merrifield* und zahllose Wissenschaftler in aller Welt sowie Verbesserungen der Fragmentkondensationsmethode<sup>[61, 67]</sup> in Kombination mit der Einführung der HF-Reaktion durch *Sakakibara* et al.<sup>[84]</sup> und der Anwendung der HPLC, vorwiegend durch *Rivier*, in der Peptidsynthese folgten nach. Ende der achtziger Jahre schließlich standen den Peptidchemikern Techniken zur Verfügung, die es ermöglichen, komplexe Peptide/Proteine mit etwa 100 Aminosäuren in relativ kurzer Zeit zu synthetisieren. Beispielsweise stellten *Sakakibara* et al. das Human-Parathyroid-Hormon [hPTH(1-84)]<sup>[84b]</sup> sowie das 123 Aminosäuren enthaltende Angiogenin<sup>[84c]</sup> nach der Fragmentkondensationsmethode her. Die bereits erwähnte HIV-Protease konnte durch chemische Totalsynthese in ausreichender Menge für das dringend benötigte „Inhibitor-Screening“ hergestellt werden<sup>[76]</sup>, und zwar zu einem Zeitpunkt, zu dem das Virus-Enzym durch biotechnologische Methoden noch nicht zur Verfügung stand. Ähnlich gelang *Garsky* et al.<sup>[85]</sup> die chemische Synthese von Echistatin, einem sehr effektiven Inhibitor der Thrombocyten-Aggregation, der aus 49 Aminosäuren besteht und vier Cystin-Brücken enthält. Darüber hinaus konnten die Autoren entscheidende Schlußfolgerungen über die SARs von neuartigen Analoga dieses Peptids ziehen. Diese Fortschritte resultierten aus jahrelangen Forschungsarbeiten von Physiko-Organikern wie *Kemp*<sup>[86]</sup>, *Benoitou*<sup>[87]</sup> und *Tam*<sup>[88]</sup>; sie ermöglichen die Entwicklung vieler heute gängiger Verfahren, mit denen sich in hohen Ausbeuten sowohl Kupplungsreaktionen ohne Racemisierung als auch die Abspaltung von Schutzgruppen mit einem Minimum an Nebenreaktionen durchführen lassen. Die Weiterentwicklung der chemischen Synthese von Peptiden und Proteinen nimmt unvermindert einen hohen Stellenwert ein, unter anderem weil die Biotechnologie sich bisher auf den Einsatz der zwanzig codierten Aminosäuren beschränken mußte, obwohl neuere Arbeiten, insbesondere von *Schultz*, vermuten lassen, daß diese Hindernisse überwunden werden können.

In den sechziger Jahren wirkten sich die Elektronentheorie und strukturchemische Konzepte stark auf die Peptidchemie aus. Die Konformationsanalyse hatte auf die Peptidsforschung einen ebenso großen Einfluß wie ehemals auf die Steroidforschung. Erkenntnisse über die Konformation von

Peptiden wurden allerdings durch ihre größere Flexibilität und ihre größere strukturelle Vielfalt erschwert. Während also die Konformationsanalyse von Steroiden auf das relativ<sup>[189]</sup> starre Perhydrocyclopentaphenanthren-Gerüst beschränkt ist, liegen bei den Peptiden Helices, langkettige Strukturen, Turns und weitere Kettenfaltungen vor, die sich weniger leicht klassifizieren lassen. *Ramachandran*<sup>[190]</sup>, *Scheraga*<sup>[191]</sup> und *Blout*<sup>[192]</sup> schufen die Grundlage für die Konformationsanalyse von Peptiden. Ihre Arbeiten enthalten viele hochinteressante Ideen zur Lösung von Problemen der Peptidkonformation und der Proteinfaltung. *Goodman*<sup>[193]</sup> untersuchte Konformationsübergänge in Polypeptidsystemen und setzte dabei viele physikalische Methoden ein. *Schwyzer* wies darauf hin, daß cyclische Peptide eine konformationsbestimmende Sekundärstruktur haben könnten<sup>[194]</sup>. Dies eröffnete ein sehr ergiebiges Gebiet für Konformationsuntersuchungen an cyclischen Oligopeptiden, das intensiv durch *Blout*<sup>[195a]</sup>, *Koppke*<sup>[195b]</sup>, *Prelog*<sup>[195c]</sup>, *Ovchinnikov*<sup>[195d]</sup> und andere untersucht wurde. Die zunehmenden Möglichkeiten der NMR-Spektroskopie, Peptidkonformationen zu untersuchen, trugen entscheidend zu diesen Leistungen bei. Dies wird von *Kessler* in einer Übersicht zusammengefaßt<sup>[196]</sup>. *Marshall*<sup>[197]</sup> wies auf die Bedeutung konformationsfixierender Aminosäureseitengruppen zur Identifizierung biologisch wichtiger Peptidkonformationen hin. Eines der ersten Beispiele für die Anwendung der Konformationsanalyse cyclischer Peptide auf Probleme der Medizinischen Chemie war die Untersuchung der Oxytocin-Serie durch *Urry*, *Ohnishi* und *Walter*<sup>[198]</sup>. Neuere, sehr schöne Beispiele für Konformationsanalysen biologisch aktiver, cyclischer Peptide kommen aus den Arbeitskreisen von *Hruby*<sup>[199]</sup>, *Kessler*<sup>[100]</sup> sowie *Fesik* und *Rich*<sup>[101]</sup>. Die klassische Übersicht von *Rose*, *Gierasch* und *Smith*<sup>[102]</sup> analysiert die Konformation aus der Sicht von „Turns in Peptiden und Proteinen“. Diese Übersicht ist kürzlich aktualisiert worden<sup>[103]</sup>.

Wie bereits erwähnt (vgl. ACTH und Insulin), erwiesen sich Peptidhormone, wie auch ihre Steroid-Pendants, für die Biologie und Medizin als wichtig. Oxytocin wurde häufig zur Einleitung der Wehen eingesetzt. *Du Vigneaud* nahm nach der Synthese der Neurohypophysen-Hormone medizinisch-chemische Untersuchungen vor, die sich mit dem Einfluß der Seitenketten auf die biologische Aktivität beschäftigten. *Rudinger* und *Jost* in der CSFR zeigten in grundlegenden Studien<sup>[104]</sup>, daß ein Monocarba-(d. h. Methylen-)Analogon von Oxytocin biologisch aktiv ist. Damit bewiesen sie, daß weder eine Schwefel-Schwefel-Bindung per se, noch eine reduzierbare cyclische Struktur für die Aktivität benötigt werden. Diese empirischen Untersuchungen legten das Fundament für die anschließenden medizinisch-chemischen Forschungsarbeiten der Prager Gruppe<sup>[105]</sup>, von *Walter*<sup>[106]</sup>, von *Mannig*<sup>[107]</sup> und von *Hruby*<sup>[108]</sup>. Von klinischem Interesse ist das Vasopressin-Analogon [1-Desamino,D-Arg<sup>8</sup>]-Vasopressin (DDAVP) 27, das von *Huguenin* und *Boissonas*<sup>[109]</sup> und auch von *Zaoral* et al.<sup>[110]</sup> synthetisiert wurde. Es ist ein für den V<sub>2</sub>-Rezeptor (der Nieren) selektives Anti-

diureticum mit Langzeitwirkung, das sich für die Behandlung von Diabetes *insipidus* eignet. Bezuglich des molekularen Mechanismus der Hormonwirkung ist es interessant, daß *Mannings* Val<sup>4</sup>-Analogon 28<sup>[111]</sup>, ein wirksamer V<sub>2</sub>-Agonist, auch ein schwacher V<sub>1</sub>(Vasopressor-Rezeptor)-Antagonist ist. *Berde*, *Huguenin* und *Boissonas* bei Sandoz in Basel stellten Vasopressin-Analoga her, die entweder überwiegend vasopressorisch oder antidiuretisch wirken. Die Fähigkeit der Chemiker, neue Verbindungen zu synthetisieren, verbesserte wiederum das Verständnis der Biologen für Rezeptor-Unterklassen. Es muß betont werden, daß Chemiker durch die Synthese von Verbindungen mit höherer Selektivität und Wirksamkeit den Klinikern auch bessere Medikamente und den Biologen nützlichere chemische Sonden zur Verfügung gestellt haben.

1971 schlugen *Urry* und *Walter*<sup>[112]</sup> für Oxytocin eine dreidimensionale Struktur in Lösung vor und übertrugen damit strukturchemische Konzepte auf dieses Peptidhormon. Sie kamen zu zahlreichen Einsichten; so konstatierten sie, daß es keinerlei Beweis dafür gibt, daß das Amidgerüst eines Peptidhormons direkt an der Besetzung eines Rezeptors und dessen Aktivierung teilnimmt. Sie erkannten ferner, daß die Konformation der Hauptkette des Peptids die mögliche Konformation der Seitenketten beeinflußt. Aufbauend auf *Ramachandrans* theoretischen Berechnungen Anfang der sechziger Jahre<sup>[190]</sup> und den späteren Arbeiten von *Geddes* et al.<sup>[113]</sup> vermittelten *Walter* und *Urry* der Medizinischen Chemie ein Verständnis dafür, wie verschiedene Typen von Turns sich auf die Konformation (äquatorial, pseudoäquatorial, axial, etc.) der Substituenten an den  $\alpha$ -C-Atomen in den Positionen  $i + 1$  und  $i + 2$  solcher Turns auswirken (Abb. 4).

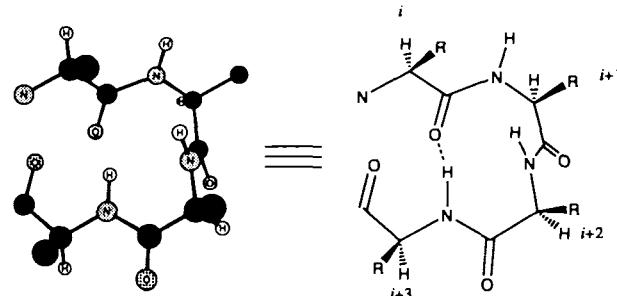
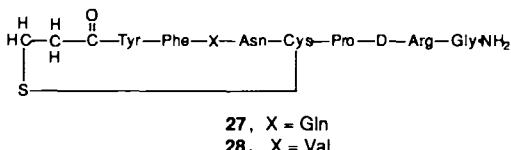


Abb. 4. Schematische Darstellung der Seitenkettenorientierung in einem  $\beta$ -Turn vom Typ I.

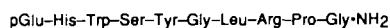
*Hruby*, *Manning*, *Walter* und andere machten auf die wichtige Tatsache aufmerksam, daß in den SARs von Hormon-Agonisten und -Antagonisten erhebliche Unterschiede auftreten können. Dies ist konsistent mit *Jencks* einsichtsvoller Analyse der „Bindungsenergie-Bilanzen“<sup>[114a]</sup>, die besagt, daß Agonisten eine feste Bindung mit dem Rezeptor in der aktivierte Konformation eingehen, während Antagonisten eine feste Bindung mit dem Rezeptor im Grundzustand bilden. *Franklin*<sup>[114b]</sup> benutzte und erweiterte diese Konzepte in seiner Arbeit über Bindungsenergien und die Aktivierung von Hormon-Rezeptoren.

Ungefähr zur selben Zeit, als *Urry* und *Walter* die Bedeutung von Wasserstoffbrücken zwischen dem Amidgerüst der Peptidhormone und ihren Rezeptoren in Frage stellten, machte *Rudinger*<sup>[105]</sup> auf den kristallographischen Nachweis

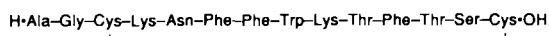


genau dieser Art der Wechselwirkung zwischen proteolytischen Enzymen und ihren Substraten/Inhibitoren aufmerksam. Dieser Unterschied wurde mir in einer Diskussion mit *D. Rich* erstmals deutlich bewußt.

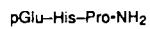
Die Forschungsarbeiten von *Guillemin* et al.<sup>[115, 116], *Rivier*<sup>[117]</sup> und *Schally* et al.<sup>[118, 119]</sup> in den sechziger und siebziger Jahren sind für den stets wachsenden Einfluß der Peptidforschung auf Physiologie und Medizin kennzeichnend. Ihre Untersuchungen gipfelten in der Isolierung, Charakterisierung und Synthese dreier Hypothalamus-Hormone: Gonadotropin (GnRH) **29**, Somatostatin (SRIF) **30** und Thyrotropin (TRH) **31** (pGlu bedeutet Pyroglutamyl). Für ihre Leistungen wurden *Guillemin* und *Schally* gemeinsam mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Gleichermaßen wichtig war die später von *Rivier*, *Spiess*, *Thorner* und *Vale*<sup>[120]</sup> sowie von *Guillemin* et al.<sup>[121]</sup> durchgeführte Isolierung, Charakterisierung und Synthese des Wachstumshormon-Releasing-Faktors (GHRF) **32** und die des seit langem gesuchten Corticotropin-Releasing-Hormons (CRF) **33** durch *Vale*, *Spiess*, *Rivier* und *Rivier*<sup>[122]</sup>.</sup>



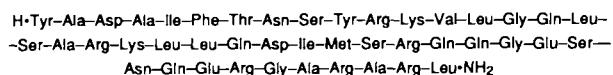
**29, GnRH**



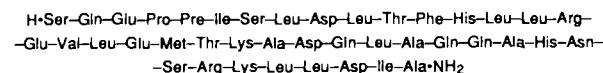
**30, SRIF**



**31, TRH**



**32, GHRF**

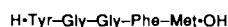


**33, CRF**

Klinische Untersuchungen haben gezeigt, daß GnRH sowohl für diagnostische Zwecke nützlich ist als sich auch therapeutisch gegen Unfruchtbarkeit anwenden läßt, weil es die Ausschüttung des luteinisierenden Hormons (LH) und des follicelstimulierenden Hormons (FSH) anregt. Wie sehr häufig, erwies sich die Entdeckung eines reinen Antagonisten, in diesem Fall eines GnRH-Antagonisten, als mindestens genauso bedeutend wie die Entdeckung neuartiger Agonisten. GnRH-Antagonisten werden als Kontrazeptiva klinisch getestet<sup>[123]</sup>. Von Biologen stammt die interessante Entdeckung, daß Superagonist-Analoga von GnRH sich anfänglich zwar erwartungsgemäß wie wirksame Agonisten verhalten, später jedoch zu einer Rezeptor-Ausdünnungs-

Regulation führen. Die langfristige Wirkung ist daher, daß die Ausschüttung von LH und FSH *verhindert* wird, eine Wirkung, die besonders bei der Behandlung von Prostatakrebs interessiert. Superagonisten wie beispielsweise Zoladex von ICI wurden in mehreren Ländern zugelassen.

Eine wesentliche Entwicklung der siebziger Jahre war die Isolierung zweier miteinander verwandter Pentapeptide, der heute wohlbekannten Enkephaline **34** (Met-Enkephalin) und **35** (Leu-Enkephalin), über die *Hughes*, *Kosterlitz* et al. 1975 berichteten<sup>[124]</sup>. Ihre Entdeckung erregte viel Auf-



**34**



**35**

merksamkeit, da Enkephaline die lange gesuchten endogenen Liganden für den „Morphin-Rezeptor“ sind. Die Anwesenheit eines Tyrosins in den Enkephalinen veranlaßte Peptidchemiker, das „einzig Logische“ zu tun, nämlich die phenolischen Hydroxygruppen des Morphins und der Enkephaline zum Vergleich zu überlagern. Leider, wie das so oft der Fall ist, fehlen den Rezeptoren die „Einsichten“ der Chemiker, d. h. die Überlagerung der beiden sauren Hydroxygruppen scheint nicht zu erklären, warum Morphin und die Enkephaline an denselben Rezeptor binden. Auf diese Frage gibt es noch immer keine Antwort.

Die Hoffnung, ein Analgeticum zu finden, das keine Abhängigkeit erzeugt, führte zu einer intensiven Suche nach Enkephalin-Analoga mit größerer Bioverfügbarkeit sowie höherer Selektivität und Biostabilität. Tatsächlich sind das bei Sandoz entwickelte FK 33-824<sup>[125]</sup> und das bei Lilly hergestellte Methkephamid<sup>[126]</sup> in vivo stabiler, wirken aber nicht selektiv und rufen Nebenwirkungen hervor. Um Rezeptorselektivität zu erreichen, nutzte die Forschung auf dem Enkephalin-Gebiet, vorwiegend durch *Schiller* et al.<sup>[127]</sup> und *Hruby* et al.<sup>[128]</sup>, das Prinzip der Konformationsfixierung. Untersuchungen mit klassischen Opiaten sowie mit synthetischen Enkephalin-Analoga haben gezeigt, daß es mehrere Unterklassen von Opiat-Rezeptoren gibt, deren physiologische Funktion jedoch noch nicht verstanden wird.

In der Einleitung habe ich bereits auf den thematisch subjektiven Rahmen dieses Aufsatzes hingewiesen. Daher sei hier lediglich erwähnt, daß *Meienhofers* exzellente Übersicht<sup>[129]</sup> von 1980 über Peptid- und Proteinhormone auch wertvolle Informationen über weitere Verbindungen enthält, z. B. über Endorphine, Melanostatin, Melanotropin, Substanz P, Neurotensin, Lipotropin, Melanotropin, Prolactin, das Wachstumshormon, Parathyrin, Calcitonin, Thymusfaktoren, Glucagon, Gastrin-inhibierende Polypeptide, vasoaktive intestinale Polypeptide, Motilin, Placentahormone, Relaxin, Angiotensin, die Kinine und Wachstumsfaktoren. Eine neuere Übersicht stammt von *Schmidt*<sup>[123]</sup>. Diese Aufsätze zitiere ich hier, um das Wachstum der Peptidforschung zu verdeutlichen.

Wie bereits von *Reichlin*<sup>[238]</sup> erwähnt, ist SRIF **30** ein wesentliches, regulatorisch wirkendes Peptid mit einem außerordentlich breiten Wirkungsspektrum. Eine mögliche klinische Anwendung war für Akromegalie denkbar. Wie sehr früh von *Luft* et al. am Karolinska-Institut beobachtet wurde, fördern Wachstumshormone (GH) unter Umständen die Entwicklung der Retinopathie bei Diabetes; dies legte eine weitere Anwendungsmöglichkeit nahe. Später wies *Unger*

darauf hin, daß ein zu hoher Glucagonspiegel zu den Spätfolgen von Diabetes beitragen kann<sup>[130b]</sup>. Da **30** die Freisetzung von Glucagon sowie von GH unterdrückt, versuchte ich ein SRIF-Analogon mit einer Halbwertszeit zu finden, die es erlaubte, diese Verbindung für die Behandlung des juvenilen Diabetes zu testen. Dies war mit der kurzlebigen Verbindung **30** nicht möglich.

*Veber et al.* gingen dieses Problem dadurch an, daß sie versuchten, Informationen über die Konformation von **30** an seinem Rezeptor zu erhalten. Ausgehend von der Beobachtung von *Rivier et al.*<sup>[131]</sup>, daß ein Somatostatin-Analogon mit D-Trp statt Trp<sup>8</sup> signifikant wirksamer als das Hormon ist, und von *Ramachandrans*<sup>[132]</sup> theoretischen Untersuchungen, die darauf schließen ließen, daß D-Aminosäuren in (*i* + 1)-Position  $\beta$ -Turns stabilisieren, schlugen *Veber et al.*<sup>[133]</sup> ein Modell mit Trp in einer (*i* + 1)-Position vor (**36**, Abb. 5). Dieses Modell ähnelt in vielerlei Hinsicht der Konformation von SRIF in Lösung, die *Holladay* und *Puett*<sup>[134]</sup> schon früher vorgeschlagen hatten, unterschied sich jedoch beispielsweise insofern, als das von Merck entwickelte Modell nahelegte, daß die Abstände zwischen den Seitenketten von Asn<sup>5</sup> und Thr<sup>12</sup> sowie von Phe<sup>6</sup> und Phe<sup>11</sup> im Bereich der Bindungslängen liegen. Dies wird durch die gestrichelten Linien in Abbildung 5 angedeutet. Die Relevanz dieser Abstände wurde systematisch untersucht, indem entsprechende bicyclische Verbindungen entworfen, synthetisiert und biologisch getestet wurden, in denen Asn<sup>5</sup>/Thr<sup>12</sup> oder Phe<sup>6</sup>/Phe<sup>11</sup> durch eine Cystin-Brücke ersetzt waren. Eine noch stärkere Fixierung der Konformation konnte in **37**, einer dritten bicyclischen Verbindung, erreicht werden.

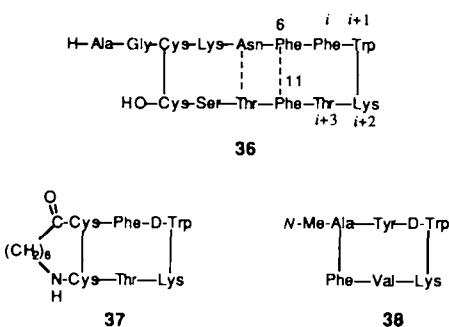
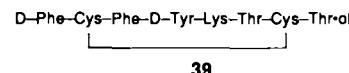


Abb. 5. Die für **30** vorgeschlagene Konformation<sup>[133]</sup> an seinem Rezeptor weist den in **36** dargestellten  $\beta$ -Turn auf. Für das Vorhandensein eines  $\beta$ -Turns spricht der Befund, daß Asn<sup>5</sup>/Thr<sup>12</sup> oder Phe<sup>6</sup>/Phe<sup>11</sup> durch eine Cystin-Brücke ersetzt werden können, was durch die gestrichelten Linien angedeutet ist. Das bicyclische Analogon mit der am stärksten fixierten Konformation ist **37**. Die Korrektheit des obigen Modells wird außerdem überzeugend durch die hohe Aktivität des cyclischen Hexapeptids **38** gestützt.

Daß die hohe Aktivität in allen drei bicyclischen Strukturen erhalten blieb, war eine starke Stütze des obigen Modells. Dies veranlaßte schließlich *Freidinger, Veber, Nutt* und *Hirschmann et al.*<sup>[135]</sup>, das cyclische Hexapeptid **38** zu entwerfen und zu synthetisieren. **38** enthält zwar nur zwei der in **30** vorhandenen 14 Aminosäuren, ist aber 50- bis 100mal wirksamer als das Hormon **30**. Es ist interessant, daß der Ersatz von Phe<sup>6</sup> und Phe<sup>11</sup> in **30** durch eine Cystin-Brücke ein Analogon ergibt, das wirksamer ist als SRIF selbst: *Rivier* und *Vale* hatten nämlich gezeigt, daß der Austausch von Phe<sup>6</sup> oder von Phe<sup>11</sup> einen Aktivitätsverlust von 97–99 % bedingt. Dieses Paradoxon ließ vermuten, daß die beiden

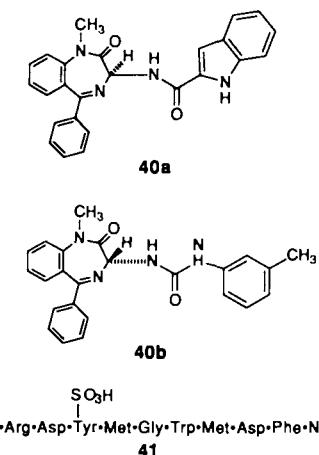
Phenylalaninreste den  $\beta$ -Turn durch eine „fischgrätenartige“ Stapelung der Phenylringe stabilisieren können. Vermutlich wird der  $\beta$ -Turn, der in SRIF durch Phe<sup>6</sup> und Phe<sup>11</sup> stabilisiert ist, in **37** durch die Cystin-Brücke stabilisiert. Klinische Untersuchungen mit **38** wurden abgebrochen, da bei Testpersonen bereits nach kurzzeitiger Einnahme der Verbindung Steatorrhöe (Funktionsstörung bei der Resorption von Fetten) beobachtet wurde. Darüber hinaus sank, wenn das Medikament zur Schlafenszeit verabreicht wurde, der Insulinbedarf am folgenden Morgen nicht im erhofften Ausmaß. Dies erinnert uns daran, daß es bei der Entdeckung von Medikamenten sehr oft einfacher ist, wissenschaftlich erfolgreich zu sein – positive Ergebnisse in Tierversuchen inbegrißen – als in der Klinik zu bestehen. *Bauer et al.*<sup>[136a, b]</sup> bei Sandoz synthetisierten Ocretid **39**<sup>[136c]</sup>, ein cyclisches Octapeptid, bei dem die anfängliche Steatorrhöe nach längerer Verabreichung wieder verschwand. Ocretid wurde durch die FDA als Wirkstoff gegen Akromegalie und zur Behandlung von Patienten mit metastatisierenden carcinoiden und vasoaktiven Tumoren zugelassen, die intestinales Peptid ausscheiden.



peptid, bei dem die anfängliche Steatorrhöe nach längerer Verabreichung wieder verschwand. Ocretid wurde durch die FDA als Wirkstoff gegen Akromegalie und zur Behandlung von Patienten mit metastatisierenden carcinoiden und vasoaktiven Tumoren zugelassen, die intestinales Peptid ausscheiden.

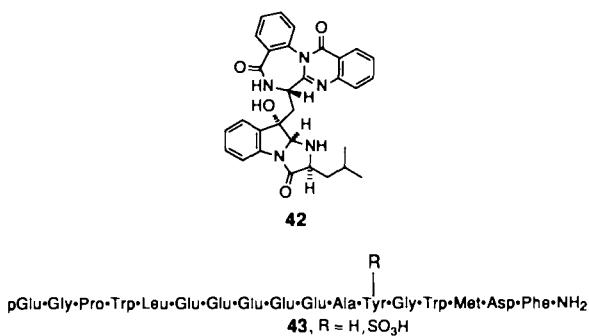
### 3.4. Peptidmimetica

Eine hervorragende Leistung in der Medizinischen Chemie waren die Arbeiten von *Evans, Anderson, Bock, Freidinger, Veber et al.*<sup>[137a]</sup>, die zum Design und zur Synthese von **40a** führten. **40a** ist ein selektiver, wirksamer, oral verabreicherbarer, peptidmimetischer Antagonist des Peptidhormons Cholecystokinin (CCK, als hochaktives Decapeptid **41** gezeichnet).



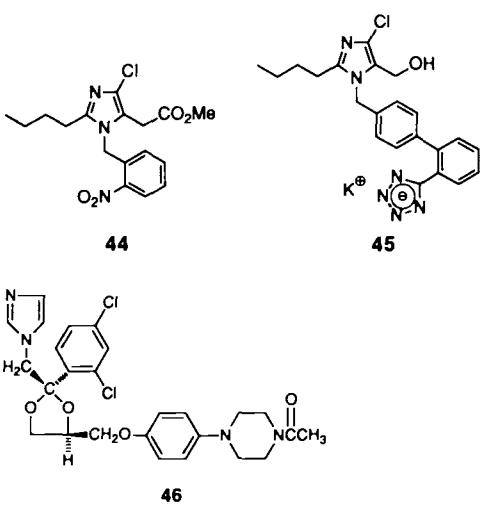
Die Wissenschaftler gingen dabei von einer scharfsinnigen Strukturanalyse<sup>[137b]</sup> des Cholecystokinin-Antagonisten Asperlicin **42**<sup>[137c]</sup> aus, einer Leitstruktur die beim Screening von Pilzmetaboliten gefunden worden war. Sie folgerten, daß eine Verbindung, in der die Strukturelemente von Diazepam und D-Tryptophan kombiniert sind, an den CCK-

Rezeptor binden könnte. Der Erfolg mit **40a** gab ihnen recht. Die strukturellen Ähnlichkeiten zwischen CCK **41** und Gastrin **43** ermöglichen es ihnen erfreulicherweise, daraufhin auch selektive Gastrin-Antagonisten<sup>[138]</sup> vom Typ **40b** zu entwerfen und zu synthetisieren. Es scheint ein wichtiges und allgemein gültiges Konzept zu sein, daß zwei Hormone oder Neurotransmitter mit ähnlicher Struktur wahrscheinlich auch ähnliche Rezeptoren haben (vgl. dazu auch Abschnitt 2.3).



Die Entdeckung von Asperlicin **42** fällt in den Bereich eines der gegenwärtig aktivsten Forschungsgebiete der Peptidchemie, der Peptidmimetica. Treibende Kraft dieser Forschungsrichtung ist der Wunsch nach nicht-peptidischen Verbindungen, die an Peptid-Rezeptoren binden, jedoch eine bessere Bioverfügbarkeit und Biostabilität und möglicherweise eine höhere Selektivität als endogene oder synthetische Peptidliganden aufweisen.

Peptidmimetica können entweder durch umfangreiches Screening von chemischen Verbindungen aus Probesammlungen von Bakterienkulturen oder von Pilz-Metaboliten etc. entdeckt oder durch Design entwickelt werden. Zu den peptidmimetischen Verbindungen, die durch Screening entdeckt wurden, gehören das bereits erwähnte Pilzprodukt Asperlicin **42** und Verbindungen aus Probesammlungen, z. B. 1-Benzylimidazole wie S-8308 **44**, das nach Furukawa et al.<sup>[139]</sup> ein Angiotensin-II-Antagonist ist. Chiu, Duncia, Timmermans et al.<sup>[140]</sup> bei du Pont untersuchten diese typische peptidmimetische Testverbindung in einer Reihe bedeutender medizinisch-chemischer Studien und konnten eine verbesserte Wirksamkeit ( $IC_{50}$  im nm-Bereich) ohne Spezifitäts-

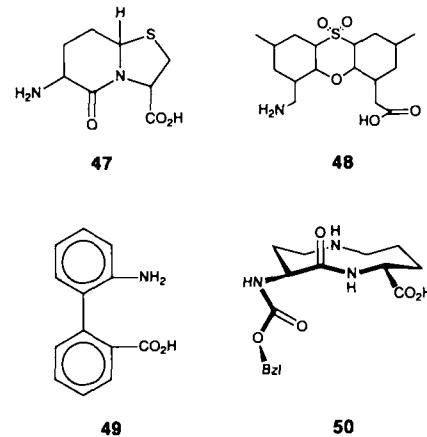


verlust erzielen. ( $IC_{50}$  ist die Konzentration eines Antagonisten, bei der die maximale Wirkung des Agonisten um 50% herabgesetzt wird.) DuP 753 **45**, derzeit im klinischen Versuchsstadium, ist oral wirksam und hat keinerlei agonistische Aktivität. Es wird interessant sein, etwas über die klinische Wirkung von Renin-Inhibitoren und von Angiotensin-II-Antagonisten zu erfahren (vgl. Abb. 6, Abschnitt 4.2) und diese mit der Wirkung der etablierten Inhibitoren des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE) zu vergleichen.

Ein weiteres Beispiel einer typischen durch Screening gefundenen Leitstruktur ist das fungizide Medikament Ketoconazol **46**, das nach Biswanath et al.<sup>[141]</sup> ein GnRH-Antagonist ist. **44** und **45** enthalten keine Amidbindung, **46** nur eine. Alle Verbindungen sind oral bioverfügbar. Die Anzahl solcher nicht-peptidischer Antagonisten von Peptidhormonen/Neurotransmittern wächst stetig.

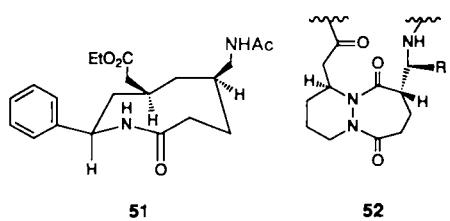
Beim Design von Peptidmimetica haben viele Arbeitskreise den Austausch jeweils einer Amidgruppe durch amidähnliche Gruppierungen wie die Carbonylmethylen-Isostere, Amine, Vinylenderivate, Carboylidifluormethylene und Cyclopropan-Isostere untersucht. Eine Stabilisierung der bioaktiven Konformation durch Cyclisierung<sup>[97, 142]</sup> kann ebenfalls zur Kategorie der Modifizierung einer Amidbindung gehören. Durch die „isostere Methode“ gelang es in der Tat, Verbindungen mit signifikant höherer Biostabilität herzustellen. Hervorragende Beiträge hierzu leisteten Barany, Bradbury, Coy, Goodman, Hoover, Martin, Morgan, Nagel, Rich, Rodriguez, Rosen, Sato, Spatola, Szelke, Thorsett, Wyvatt und andere. Eine Übersicht stammt von Spatola<sup>[143]</sup>. Die Methode des Austausches isosterer Gruppen läßt im allgemeinen bei einem neuen Peptid keine Vorhersage zu, welche spezielle Peptidbindung durch welche mimetische Gruppe ersetzt werden kann. Nur wenige aktive Verbindungen, in denen mehr als zwei Amidgruppen ersetzt wurden, sind bekannt.

Ein komplementärer Ansatz ist das Design neuer Gerüststrukturen. So beschrieben Nagai und Sato<sup>[144a]</sup> die Synthese eines bicyclischen Dipeptidderivats **47**, das die *i*- und (*i* + 1)-Position eines  $\beta$ -Turns modelliert, ohne daß an diesen Positionen Seitenketten eingebaut sind. Die Verbindungen **47**–**52** enthalten jedoch die funktionellen Gruppen, um sie

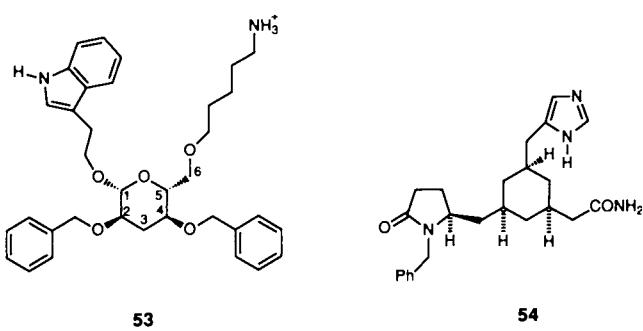


als  $\beta$ -Turn-Mimetica in antiparallele  $\beta$ -Faltblätter einzubauen. Feigel<sup>[144b]</sup> verwendete den starren Tricyclus **48** sowie das Biphenylderivat **49**, um einen  $\beta$ -Turn zu simulieren,

dies wiederum ohne Einbau von Seitenketten. Entsprechend synthetisierten *Kemp* et al.<sup>[145]</sup> die mimetische Verbindung **50**, *Olson* et al.<sup>[146]</sup> **51** und *Kahn* et al.<sup>[147]</sup> **52**. Sowohl **51** als auch **52** enthalten einen Phenylrest als Seitenkette.



*Hirschmann, Nicolaou* et al.<sup>[148]</sup> berichteten über das *Design* der peptidmimetischen Verbindung **53**, in der ein  $\beta$ -Turn durch ein  $\beta$ -D-Glucosegerüst ersetzt wurde, das die drei kritischen Seitenketten (*i*, *i* + 1 und *i* + 2) des  $\beta$ -Turns eines hochaktiven cyclischen Hexapeptid-Analogons **38** von SRIF enthält. *Reisine* und *Raynor*<sup>[148]</sup> stellten fest, daß **53** an einen endokrinen (Hypophyse-)SRIF-Rezeptor mit einem  $IC_{50}$  von  $1 \mu\text{M}$  gebunden wird. **53** enthält jedoch keine Gruppierung für den Einbau des  $\beta$ -Turn-Mimeticums in ein Faltblatt. In den Grundzügen ähnelt das Design von **53** dem von **54**, das *Olson* et al.<sup>[149a]</sup> bei Hoffmann-LaRoche (Nutley) etwa zur selben Zeit beschrieben. Sie verknüpften die Seitenketten des tripeptidischen Thyrotropin-Releasing-Hormons (TRH) mit einem Cyclohexanring. Die Roche-Verbindung hat keinerlei endokrine Aktivität, wirkt jedoch, oral verabreicht, bei Tierversuchen gegen eine cognitive Dysfunktion. In Einklang damit bindet **54** an die schwach affinen TRH-Rezeptoren im ZNS, jedoch nicht an die hochaffinen *endokrinen* Rezeptoren im hypophysären Bereich des Stammhirns<sup>[149b]</sup>.



Es muß nicht extra erwähnt werden, daß Biologen sowie Organiker während der letzten vierzig Jahre durch die Fortschritte auf ihren jeweiligen Forschungsgebieten Beiträge zu den biomedizinischen Wissenschaften geleistet haben. Hier möge der Hinweis genügen, daß Strukturbestimmung und Totalsynthese von Steroid- und Peptidhormonen ohne vorherige Isolierung dieser Moleküle nicht möglich gewesen wären, und daß die Isolierung häufig von *biologischen* Tests geleitet wurde. Biologen haben also den Grundstein für einige der großen Errungenschaften in der Naturstoffsynthese durch Chemiker wie *Corey*, *Danzig*, *du Vigneaud*, *Eschenmoser*, *W. S. Johnson*, *Kishi*, *Masamune*, *Stork* und *Woodward* gelegt. Diese Chemiker wiederum haben durch ihren starken Einfluß auf Synthesemethoden und strukturel-

le Konzepte dazu beigetragen, die Voraussetzungen für viele der in diesem Aufsatz erwähnten Leistungen in der Medizinischen Chemie zu schaffen. Durch die Verleihung des Nobel-Preises 1990 an *Corey*<sup>[150]</sup> wurde auch die Bedeutung chemischer Methodik und Synthese für die biomedizinischen Wissenschaften gewürdigt.

Die spektakulären und Technologie-intensiven Errungenschaften der jüngsten Vergangenheit sollten uns nicht die weiter zurückliegenden, außerordentlichen Leistungen von Wissenschaftlern vergessen lassen, die sehr komplizierte Probleme ohne moderne Techniken lösen konnten. Viele Beispiele hierfür finden sich in *Frutons* Aufsätzen, aus denen das Zusammenspiel zwischen Biologie und Chemie in der Zeit von 1800 bis 1950 hervorgeht<sup>[151]</sup>. Man betrachte beispielsweise die Aufklärung der molekularen Grundlage der Sichelzellenanämie. Schon 1910 hatte *James B. Herrick*<sup>[152]</sup> irgendeinen Zusammenhang zwischen der Krankheit und einer eigenartigen, verlängerten Form der roten Blutkörperchen vermutet. 1949 beobachtete *Linus Pauling*<sup>[153]</sup> einen Unterschied in der elektrophoretischen Beweglichkeit zwischen normalem und Sichelzellen-Hämoglobin und führte dies auf Unterschiede in den ionisierbaren Gruppen zurück. 1957 schließlich fand *V. M. Ingram*<sup>[154]</sup> eine Erklärung auf molekularer Ebene, indem er die Trypsin-Verdauung von normalem und anomalem Hämoglobin verglich: Von nahezu 300 Aminosäuren ist eine einzige Glutaminsäure durch Valin ersetzt – eine Entdeckung, die ihrer Zeit weit voraus war.

#### 4. Die Entdeckung von Medikamenten im Goldenen Zeitalter der Biologie

Es ist wünschenswert, den Begriff „Medikament“ im hier verwendeten Sinne zu definieren. Aktivität in relevanten *in-vitro*- und *in-vivo*-Tests bedeutet nicht, daß eine Verbindung ein Medikament ist. Ein Medikament ist eine Substanz, die durch eine staatliche Stelle in einem Land mit einem hohen medizinischen Standard zugelassen wird. Manch eine vielversprechende Verbindung hat in Sicherheitsstudien oder in der Klinik wegen zu geringer Bioverfügbarkeit, zu schneller Metabolisierung oder wegen je nach Spezies unterschiedlicher Wirkung etc. versagt. Eine aktive Verbindung zu entdecken, ist relativ einfach, ein wichtiges neues Medikament zu entdecken, bleibt weiterhin unglaublich schwierig.

Die hochinteressanten neueren Entwicklungen in der Rezeptor-Forschung, die nachfolgend erörtert werden sollen, wurden durch zwei bedeutende Entdeckungen ermöglicht, die 1953 die neue Ära der Biologie einleiteten. Es war das Jahr, in dem *James D. Watson* und *Francis Crick* die Doppelhelix-Struktur der DNA postulierten und ferner die Theorie aufstellten, daß die Sequenz der Nucleotideinheiten in der DNA eine codierte genetische Information trägt. Es war auch das Jahr, in dem *Frederick Sanger* die Struktur des Insulins aufklärte. Diese beiden Entdeckungen legten nahe<sup>[155]</sup>, daß ein Zusammenhang zwischen Nucleotid- und Peptidsequenz besteht. Innerhalb eines Jahrzehnts führte dies dazu, daß man die genetischen Code-Wörter verstehen konnte, welche die Aminosäuresequenz von Proteinen bestimmen. Somit erwies sich die Entdeckung der DNA-Doppelhelix-Struktur als revolutionäres Ereignis in der Biologie.

das die gesamte biomedizinische Forschung entscheidend belebte.

Die Bedeutung der Doppelhelix für die biomedizinischen Wissenschaften kann gar nicht genügend hervorgehoben werden. Die Entdeckung der Doppelhelix war vor allem ein Werk der physikalisch-chemisch orientierten Naturwissenschaften. Welche Rolle die Röntgenstrukturanalyse, die chemische Analyse (die Informationen über das Verhältnis der DNA-Bestandteile lieferte) und das chemische Konzept der Komplementarität dabei spielten, ist bekannt. Eine weitere Rolle kam den Biochemikern zu, bevor die Biotechnologie zum Zuge kommen konnte. Sie entdeckten viele der Enzyme, die heute für die Praxis der Gentechnologie selbstverständlich sind, wie Restriktions-Endonukleasen, Ligasen, Polymerasen, Transkriptasen und Reverse Transkriptasen. Entsprechend lieferten Chemiker die Methoden zur Mikrosequenzanalyse von Peptiden und Proteinen und zur Synthese von Nucleinsäuren. Diese Verfahren werden heute alle als selbstverständlich hingenommen. Ich zögere aber nicht zu sagen, daß die Molekularbiologen auf dem besten Wege sind, für die von biologisch orientierten Chemikern entwickelten Methoden Gegenleistungen zu erbringen: Molekularbiologen haben Möglichkeiten geschaffen, die die medizinisch orientierten Chemiker gerade erst zu nutzen beginnen. Als Illustration sei genannt, daß die Biotechnologie die Entdeckung und die Synthese von Proteinen, z. B. Rezeptoren und deren Unterklassen, erleichtert.

#### 4.1. Komplementarität und rationales Design von Medikamenten

Der Begriff *Komplementarität*, der gleichbedeutend ist mit molekularer Erkennung, wurde hier bereits zweimal verwendet. Wie *Arnett, Harvey* und *Rose*<sup>[156]</sup> kürzlich betonten „...molecular recognition has become one of the most evocative buzz terms in the chemistry of the late 1980s, with enzymes as the model of perfection for catalytic efficiency and specificity“. Die Autoren führen als nächstes Enzymmimetica als Beispiele des Designs von künstlichen Rezeptoren an, wie *Pedersens* und *Cram's Kronenether*, *Lehns* Cryptanden, *Breslows* Cyclodextrine und *Rebecks* Hohlraummoleküle. Stark vereinfacht ist molekulare Erkennung das, worum sich Biochemie und Bioorganische Chemie im wesentlichen drehen. Deshalb erscheinen mir die Fälle besonders bemerkenswert, bei denen molekulare Erkennung keine Rolle spielt. Es besteht sogar Grund zur Annahme, daß das Konzept der Komplementarität uns in nicht allzu ferner Zukunft vorhersagen läßt, daß ein bestimmtes Gen durch ein ganz bestimmtes Protein reguliert werden kann; dies sollte durch die Analyse der Daten gelingen, welche die Polymerase-Kettenreaktion liefert.

Ein weiteres beliebtes und möglicherweise überstrapazierte Schlagwort ist *rationales Design von Medikamenten*. Von *Patchett* stammt eine sehr nützliche Unterscheidung zwischen rationaler Entdeckung und rationalem Design von Medikamenten. Wie in diesem Aufsatz wiederholt gezeigt wird, spielt das Suchtestverfahren, häufig als Antithese einer rationalen Vorgehensweise betrachtet, für die *Entdeckung* von Medikamenten weiterhin eine wesentliche Rolle. Auf der anderen Seite ist die Identifizierung der Zielmoleküle wie Enzyme, Rezeptoren, Transportproteine etc. für solche

Screenings jetzt wesentlich mechanismusorientierter, technisch ausgereifter und damit „rationaler“. Zusätzlich hat die Einführung von Rezeptor-Verdrängungstests die Möglichkeiten der Suchtestverfahren enorm erweitert. Mischungen von Mikroben- und Pilzprodukten können heute genauso schnell auf ZNS-Aktivität oder Entzündungshemmung getestet werden, wie dies vor vierzig Jahren für den alleinigen Zweck, neue Antibiotica zu entdecken, möglich war. Eine andere neue, sehr wertvolle Entwicklung beruht auf der Fähigkeit von Chemikern und Molekularbiologen, in kurzer Zeit umfangreiche Polypeptid- und Polynukleotid-Bibliotheken zusammenzustellen. Für den schnellen Zugriff gibt es ausgereifte Methoden. Es bleibt die Aufgabe der Medizinischen Chemie, aus Suchtestverfahren erhaltene Leitstrukturen derart zu modifizieren, daß Kandidaten für klinische Untersuchungen erhalten werden. Hierfür sind computergestützte Molecular-Modeling-Techniken von enormem Nutzen.

Ein typisches Beispiel der rationalen *Entdeckung* von Medikamenten ist die Beobachtung von *D. Wood* (1940), daß die durch Sulfonamide bewirkte Hemmung des Bakterienwachstums durch *p*-Aminobenzoësäure kompetitiv aufgehoben werden kann. Diese Beobachtung bewies, daß *p*-Aminobenzoësäure ein Wachstumsfaktor ist und führte zur Synthese vieler strukturell verwandter Antimetaboliten. Das 1947 von *Seeger, Smith* und *Hultquist* synthetisierte Aminopterin (4-Aminopteroylglutaminsäure), ein Antimetabolit der Folsäure, deren Struktur gerade erst aufgeklärt worden war, sei als weiteres Beispiel der rationalen Entdeckung von Medikamenten genannt. Später fand man, daß Aminopterin das Wachstum bestimmter Tumoren inhibieren kann. Die Synthese von Methyl-dopa, einem der am häufigsten verschriebenen Antihypertensiva der letzten vierzig Jahre illustriert sowohl die gut begründete Auswahl einer Verbindung als Syntheseziel durch *Pfister* und *Stein* als auch den bewußten Einsatz von Testreihen durch *Udenfriend* und *Sjoerdsma* am NIH. Viele der hier zitierten Analoga von Steroid- und Peptidhormonen dienen als weitere Beispiele.

Das rationale *Design* von Medikamenten impliziert dagegen, daß das Zielobjekt Enzym oder Rezeptor in struktureller und mechanistischer Hinsicht ausreichend detailliert charakterisiert worden ist. Ein Chemiker muß diese Informationen verwenden können, um eine Leitstruktur für Suchtests zu perfektionieren, oder um Moleküle de novo zu entwerfen, die ausschließlich an das Zielprotein binden und dieses inhibieren (oder aktivieren). Ein derartiges Design, welches sich lediglich auf strukturelle Informationen über das Makromolekül stützt, ist bisher nicht realisiert worden, sondern noch ein zukünftiges Ziel. Forschungsleiter der pharmazeutischen Industrie, die dafür zu sorgen haben, daß ständig ein ausreichendes Reservoir an Produkt-Kandidaten vorhanden ist, investieren daher nur wenig in das de-novo-Design von Verbindungen.

#### 4.2. Enzym-Inhibitoren

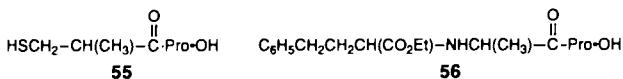
Enzym-Inhibitoren sind das Gebiet der Medizinischen Chemie, auf welchem die Entdeckung von Medikamenten auf dem Weg des rationalen Designs am weitesten fortgeschritten ist. Untersuchungen in Arbeitskreisen wie denen von *Abeles, Benkovic, Bloch, Bruice, Cleland, Fersht, Jencks*,

Knowles, Rose, Santi, Walsh und Westheimer haben unser Verständnis der Enzymmechanismen enorm erweitert. Eine zentrale Stellung nimmt das Konzept ein, daß ein Enzym reaktionsbeschleunigend wirken kann, indem es die Energie des Übergangszustandes der zu katalysierenden Reaktion senkt. Das Design von Enzym-Inhibitoren war erfolgreicher als das von Hormon-Antagonisten, weil man bei Enzym-Inhibitoren das Konzept des Übergangszustand-Analogons (TSA) nutzen kann. Pauling beschrieb die Anwendung des TSA-Konzepts auf das Design von Enzym-Inhibitoren vor mehr als vierzig Jahren<sup>[157]</sup>: „This picture of the nature of enzymes may well make us optimistic about the future of chemotherapeutics, for it predicts that for every enzyme... it would be possible to find an inhibiting molecule that is more closely complementary in structure to the enzyme than is the substrate itself, and which would accordingly be an effective inhibitor. The picture even presents us with ideas as to the nature of substances that would be effective inhibitors – they should resemble the activated complex.“

Wolfenden, der die Bedeutung von Paulings Thesen erkannte, hat ihre vielversprechenden Möglichkeiten erfolgreich erforscht. Byers und Wolfenden wiesen darauf hin<sup>[158]</sup>, daß „unusual potency is expected of inhibitors bearing a structural resemblance to chemically activated intermediates in catalysis or incorporating the binding characteristics of several reactants in a single inhibitor molecule.“

Wolfenden entwarf und synthetisierte (R)-2-Benzylbernsäure, die sich als wirksamer Inhibitor von Carboxypeptidase A erwies. Daraus schloß er, daß der Inhibitor der Gesamtheit der Substrate für die Rückreaktion gleicht, d. h. der Gesamtheit der Produkte. Das Konzept der Gesamtheit der Substrate und Produkte und das TSA-Konzept haben sich als außerordentlich nützlich für die Entdeckung wirksamer Enzym-Inhibitoren herausgestellt. Beispiele wirksamer TSA-Inhibitoren von Enzymen schließen das Fermentationsprodukt Pepstatin (siehe unten) und phosphorhaltige Inhibitoren ein, die von zahlreichen Arbeitskreisen beschrieben wurden, darunter denen von Bartlett, Patchett und Thorsett, Portoghesi sowie Petrillo und Walsh.

Das Design von Captopril **55** und Enalapril **56**, Inhibitoren des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE), ist der bisher beachtlichste Beitrag des Pauling-Wolfenden-Konzepts für die medizinische Praxis. Diese ACE-Hemmer haben die



Behandlung von Bluthochdruck und Herzinsuffizienz revolutioniert und weltweite Forschungsarbeiten stimuliert. Hierzu gehörten die Isolierung des biologisch inaktiven Decapeptids Angiotensin I (Abb. 6) in Cleveland und die des stark blutdrucksteigernden Octapeptids Angiotensin II. Das Enzym ACE kann in Säugetieren Angiotensin I in Angiotensin II umwandeln<sup>[159]</sup> (Abb. 6).

Mediziner an einer brasilianischen Universität entdeckten in Schlangengift eine Reihe von Peptiden, welche die hypertonische Fähigkeit des Plasma-Nonapeptids Bradykinin verstärken<sup>[1239]</sup>, indem sie Kininase I inhibieren. Zwischen diesen scheinbar unzusammenhängenden Untersuchungen in Cleveland und Südamerika wurde eine Beziehung herge-

stellt, als ACE von Biochemikern an der Tulane University und am Albert Einstein College of Medicine gereinigt und charakterisiert wurde, und als Untersuchungen an amerikanischen, brasilianischen und britischen Universitäten zeigten, daß ACE identisch mit Kininase II ist und sowohl das blutdrucksenkende Bradykinin als auch Angiotensin I spaltet, wobei das blutdrucksteigernde Angiotensin II entsteht (Abb. 6).

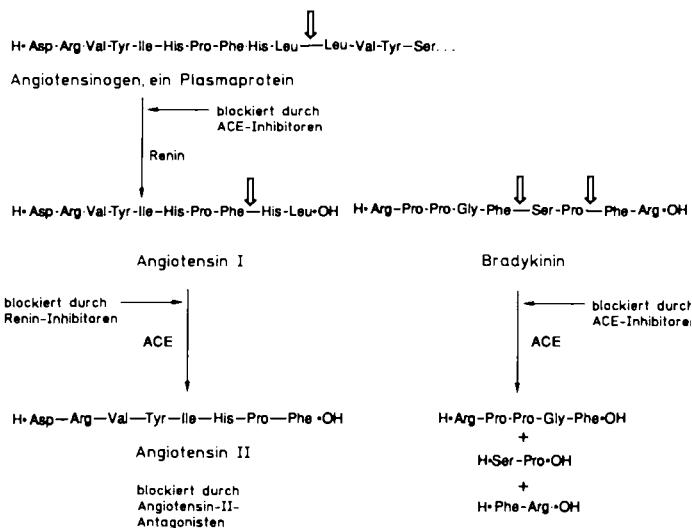


Abb. 6. ACE-Inhibitoren, zu denen auch die Peptide gehören, welche die Wirkksamkeit von Bradykinin steigern, hemmen die Bildung des blutdrucksteigernden Angiotensins II. Sie blockieren weiterhin die Metabolisierung von Bradykinin, einem hypertonisch wirkenden Peptid. Die Pfeile zeigen die Stellen an, an denen die enzymatische Spaltung stattfindet. Renin-Inhibitoren hemmen die Bildung von Angiotensin I und damit indirekt auch von Angiotensin II.

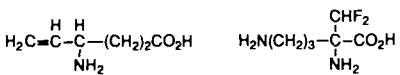
Frühe Studien durch Skeggs legten nahe, daß ACE eine Metalloprotease ist. Ferreira und Rocha Silva sowie Erdös und Whales hatten daher Thiole eingesetzt, um die Wirkung von Bradykinin zu steigern. Ein wesentlicher Fortschritt war es, als Lipscomb et al. die Gruppen der oben erwähnten Carboxypeptidase A genau identifizieren konnten, die direkt mit Zink(II) wechselwirken. Ondetti, Cushman et al.<sup>[160]</sup> bei Squibb, die die Relevanz des von Wolfenden synthetisierten Carboxypeptidase-A-Inhibitors für das Design eines Inhibitors der Carboxydiptidase ACE erkannten und von den Schlangengift-Inhibitoren mit ihren C-terminalen Prolingruppen wußten, entwarfen und synthetisierten daraufhin Captopril **55** und wiesen seine blutdrucksenkende Wirkung in Tieren nach. Für die Behandlung von Bluthochdruck war dies der Beginn einer neuen Ära. Die Nebenwirkungen, die bei wenigen Patienten nach Verabreichung von Captopril festgestellt wurden, z. B. Hautausschlag oder Geschmacksverlust, erinnerten an die Nebenwirkungen von Penicillamin, so daß es sinnvoll schien, sie den in **55** und in Penicillamin vorhandenen Mercaptogruppen zuzuschreiben. Weltweite Anstrengungen folgten, um ein Mercaptomimeticum zu finden, das Zink-Ionen genauso gut bindet wie die Mercapto-gruppe, ohne daß dabei die orale Bioverfügbarkeit leidet. Solch ein Mimeticum wurde zwar nicht gefunden, jedoch bekamen Patchett et al. dieses Problem mit viel Raffinesse in den Griff. Sie nahmen den teilweisen Verlust an Wirksamkeit hin (um drei Größenordnungen), der aus dem Austausch der Mercapto- durch eine Carboxygruppe resultierte, konnten

jedoch die Wirksamkeit wieder steigern (um drei Größenordnungen), indem sie eine Phenethylgruppe einbauten, die vermutlich die S<sub>1</sub>-Bindungsstelle erkennt. Bildung des Monoesters ergab die Vorstufe des Medikaments **56**, das eine gute Bioverfügbarkeit aufweist<sup>[161]</sup>.

Alles in allem veranschaulicht das ACE-Beispiel sehr schön die erfolgreiche internationale Interaktion zwischen Chemikern, Biochemikern, Röntgenkristallographen und Biologen an Hochschulen und in der Industrie. Es ist eines der zahllosen Beispiele dafür, daß zweierlei unbedingt notwendig ist: hochwertige, langfristige Grundlagenforschung durch einzelne Hochschul-Wissenschaftler und die Fähigkeit der Industrie, durch ihre gleichrangige Forschungsarbeit diese Grundlagenforschung in Produkte von sozialem Wert umzusetzen.

Instruktiv ist der völlig andere klinische Status von Renin-Inhibitoren. Renin ist eine in Säugetieren vorkommende Aspartat-Protease, die das Protein Angiotensinogen zu Angiotensin I spaltet (Abb. 6). Wie zu erwarten, wirken Renin-Inhibitoren blutdrucksenkend. An der Hochschule und in der Industrie war die Suche nach Renin-Inhibitoren von hervorragender Qualität. Von fundamentaler Bedeutung war dabei eine Erkenntnis, zu der die Arbeitskreise von *Marciniszyn*<sup>[162]</sup>, *Marshall*<sup>[163]</sup> und *Rich*<sup>[164]</sup> etwa gleichzeitig kamen, nämlich daß Statin [(3S,4S)-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure (Sta)] in Inhibitoren der Aspartat-Protease von Säugetieren, beispielsweise in Pepstatin, als ein Übergangszustands-Bioisoster fungiert. *Boger et al.*<sup>[165]</sup> erkannten, daß der Statinrest eine Dipeptidseinheit ersetzt. Medizinisch orientierten Chemikern zahlreicher Arbeitskreise gelangen daraufhin Design und Synthese einer Reihe wirksamer Inhibitoren des *Human-Renins*. Bis heute wurde jedoch kein Renin-Inhibitor zugelassen, da das Doppelproblem der oralen Bioverfügbarkeit und einer adäquaten biologischen Halbwertszeit bisher nicht gelöst wurde. Dies erinnert uns daran, daß die Bioverfügbarkeit selbst heute noch ein gewaltiges Hindernis für die Entdeckung von Medikamenten sein kann.

Das Design von „mechanism based“-Enzym-Inhibitoren<sup>[166]</sup> ist eine intellektuell hochbefriedigende Leistung und geht auf die Pionierarbeiten von *Bloch*, *Abeles*, *Rando* und *Walsh* zurück. Im allgemeinen, aber nicht notwendigerweise, werden diese Inhibitoren kovalent gebunden. Zwei solcher Inhibitoren gehören seit kurzem zu den Medikamenten, d.h. sie sind für die therapeutische Verwendung zugelassen. Der eine ist **Vigabatim 57**, ein selektiver, enzymaktivierter, irreversibler Inhibitor der GABA-Transaminase, der zur Behandlung von Epilepsie eingesetzt wird, der andere ist **Orniodyl 58**, der zur Behandlung der Schlafkrankheit verwendet wird.



57

58

wird. Er wirkt dadurch, daß er die Enzyme blockiert, die die Bildung der Peptide und damit die Vermehrung der Trypanosomen katalysieren, die durch die Tsetse-Fliege übertragen werden. Weiterhin wurde bei einigen Medikamenten nachträglich erkannt, daß sie zur Kategorie der Enzym-Inhibitoren gehören, die über den Reaktionsmechanismus wirken<sup>[166]</sup>.

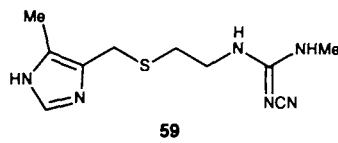
## 5. Welche Dienste hat uns die Chemie in neuerer Zeit erwiesen?

Ich werde mich darauf beschränken, die während der letzten zwanzig Jahre entdeckten Verbindungen der „ersten Generation“ zu nennen, die häufig als bahnbrechend für die Therapie betrachtet werden.

1) In Abschnitt 4.2 habe ich bereits die Entdeckung von Captopril **55** und den neuartigen biochemischen Mechanismus der Blutdrucksenkung erwähnt. Captopril ermöglicht eine effektive Therapie eines signifikant breiter gefächerten Patientenstammes als früher verwendete Antihypertensiva, was nahelegt, daß es nach einem grundlegenden pathophysiologischen Mechanismus wirkt. Wegen seiner relativ wenigen Nebenwirkungen und seiner Fähigkeit, die Häufigkeit von Schlaganfällen und Herzansfällen zu verringern, bedeutet seine Entdeckung einen enormen Fortschritt für die Medizin.

2) Gleichermassen bedeutend waren Isolierung sowie chemische und biochemische Charakterisierung des Pilzmetaboliten Lovastatin **18a** durch *Alberts, Patchett, Monaghan, Albers-Schönberg et al.*<sup>[31a]</sup>. Dieser Inhibitor der HMG-CoA-Reduktase hemmt die Bildung von Mevalonat, der ersten Zwischenstufe der Cholesterin-Biosynthese, aus 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A (HMG-CoA). Von Bedeutung ist, daß Lovastatin den Cholesterinspiegel im Plasma drastisch senkt. Mit dem Low-Density-Lipoprotein (LDL) assoziiertes Cholesterin ist der pathogene Hauptfaktor für Atherosklerose, die Hauptvoraussetzung der koronaren Herzerkrankung (CHD: coronary heart disease). Eine Abnahme des LDL-Cholesterinspiegels um 1% vermindert das CHD-Risiko um 2%. Lovastatin war der erste Enzym-Inhibitor dieser Art, der von einer staatlichen Stelle zugelassen wurde. Interessanterweise konnten *Brown* und *Goldstein et al.* zeigen, daß **18b** indirekt wirkt, indem es auf dem Transkriptionsniveau die Synthese der LDL-Cholesterin-Rezeptoren stimuliert<sup>[31b]</sup>. Das um ein Methylgruppe ärmere Mevastatin **18b** (Compactin) war schon früher von *Endo et al.*<sup>[167]</sup> bei Sankyo beschrieben worden, die vom gleichen biochemischen Prinzip ausgingen. Bei Mevastatin hatten sich jedoch Schwierigkeiten bei der Sicherheitsbeurteilung ergeben, was uns nochmals daran erinnert, daß der Weg von einer *in vitro* und *in vivo* aktiven Verbindung zu einem zugelassenen Medikament sehr unsicher und langwierig ist.

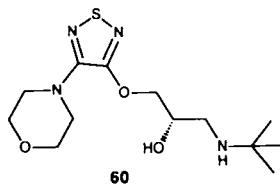
3) Die Entdeckung von Cimetidin **59** bei SKF (GB) zur sicheren Behandlung von Zwölffingerdarm- und Magenge-



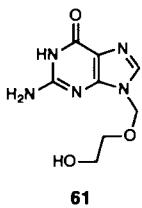
schwüren bildete den Höhepunkt der Suche nach Verbindungen, die den Histamin-Rezeptor vom Subtyp (H<sub>2</sub>) blockieren, der an der Magensäuresekretion beteiligt ist. Seine Entdeckung durch *Black*<sup>[168a]</sup> und *Ganellin*<sup>[168b]</sup>, einen Pharmakologen bzw. einen Chemiker, orientierte sich an den Prototypen Burimamid und Metiamid, die zuvor vom gleichen Team gefunden worden waren. Cimetidin verringert die Morbidität durch die Geschwüre, die Schmerzen und die

Notwendigkeit teurer Krankenhausaufenthalte erheblich. Somit sind Cimetidin und die Verbindungen der zweiten Generation sowohl für den Patienten als auch für die Gesellschaft von großem Nutzen. *Black* wurde für seinen Teil bei der Entdeckung von Cimetidin und für den bereits früher von ihm entdeckten  $\beta$ -adrenergenen Blocker Propranolol 1988 mit dem Nobel-Preis ausgezeichnet.

4) Synthetische  $\beta$ -Blocker werden seit langem als kardiovaskulär wirkende Medikamente eingesetzt. Die spätere Entdeckung, daß einer darunter, Timolol **60**<sup>[169]</sup>, der von *Was-som* et al. bei Merck (Kanada) synthetisiert wurde, ein sicheres und wirksames Mittel für die äußerliche Behandlung von Glaucomen ist, war ein weiterer Durchbruch in der Therapie. Die Verbindung hat die Erwartung, die Behandlung des Weitwinkelglaucoms zu revolutionieren, erfüllt: Sie verzögert das Fortschreiten der Krankheit.



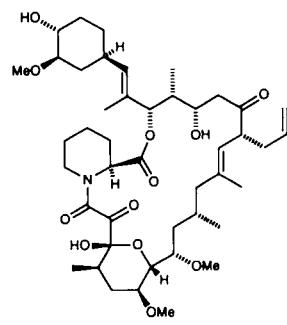
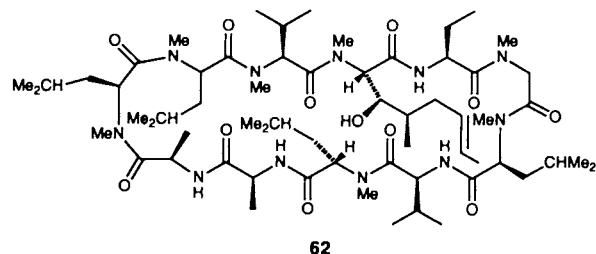
5) Die Entdeckung von Acyclovir **61**, eines gegen Herpes wirksamen Medikamentes, durch *Schaeffer, Elion* et al.<sup>[170a]</sup> an den Wellcome Research Laboratories (USA) stellte einen wirksamen Inhibitor der Replikation des Herpes-simplex-Virus bereit. Acyclovir ist die Vorstufe eines Medikamentes, die nur durch die *virale* Thymidin-Kinase, nicht jedoch durch die Human-Thymidin-Kinase, an der primären Hydroxygruppe phosphoryliert wird. Das Triphosphat, das aus diesem Monophosphat durch Enzyme der Wirtszelle gebildet wird, hemmt die virale DNA-Polymerase effektiver als die Polymerase der Wirtszelle. Diese doppelte Spezifität garantiert offensichtlich einen günstigen T. I. Die Entdeckung von Acyclovir baute auf den früheren Antimetabolit-Untersuchungen von *Elion* und *Hitchings* auf, die dafür 1988 mit dem Nobel-Preis ausgezeichnet wurden<sup>[170b-d]</sup>.



6) Der Pilzmetabolit Cyclosporin **62**<sup>[171, 172]</sup> hat die Überlebensquote nach Organ- und Knochenmarktransplantationen erheblich vergrößert, da er die Wahrscheinlichkeit einer durch T-Zellen ausgelösten, schnell eintretenden Abstoßung drastisch verringert. Dieses cyclische Peptid, das von *Rüegger* et al. bei Sandoz (Basel) isoliert und chemisch charakterisiert wurde, gilt an einer wachsenden Zahl von Behandlungszentren weltweit als immunsuppressive Mittel der Wahl.

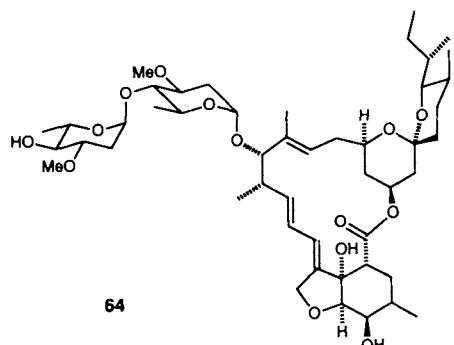
Später wurde ein weiteres wirksames Immunsuppressivum, Fujisawas FK-506 **63**, von *Tanaka* et al.<sup>[173]</sup> isoliert und charakterisiert. **63** ist ein 23-gliedriges Macrolidolacton,

das ebenfalls durch Suchtestverfahren an Pilzmetaboliten entdeckt wurde. Obwohl die Verbindung noch nicht für therapeutische Zwecke zugelassen wurde, soll sie hier diskutiert werden. Sowohl **62** als auch **63** inhibieren die durch T-Zell-Rezeptoren vermittelte T-Zell-Aktivierung und hemmen auf zellulärer Ebene bemerkenswert ähnliche Schritte der Signalübertragung. Mit beiden sollten sich eine Reihe von Krankheiten mit immunologischer Ätiologie erfolgreich behandeln lassen; deshalb wird intensiv versucht, sichere Analoga zu finden und biochemische Mechanismen zu identifizieren. Beide Immunsuppressiva wurden auch synthetisiert<sup>[174, 175]</sup>.



Cyclophilin wurde als ein Rezeptor für Cyclosporin nachgewiesen<sup>[176]</sup>. *Takahashi* et al.<sup>[177a]</sup> und *G. Fischer* et al.<sup>[177b]</sup> fanden, daß Cyclophilin eine Peptidyl-Prolyl-*cis/trans*-Isomerase ist. *Fischer* et al. konnten dieses Enzym als erste isolieren<sup>[177c]</sup>; es wird auch von *Harrison*<sup>[178]</sup>, *Schreiber*<sup>[179]</sup> und *Walsh* et al.<sup>[180]</sup> untersucht. Durch Synthese von Cyclosporin-Analoga versuchen die Arbeitskreise von *Rich*<sup>[181a]</sup> und *Sigal*<sup>[181b]</sup> zu klären, inwiefern dieser Rezeptor für die immununspressive Aktivität von Cyclosporin relevant ist. Interessanterweise handelt es sich bei FKBP, einem FK-506-bindenden Protein, das von *Siekerka* et al.<sup>[182]</sup>, *Schreiber* et al.<sup>[183]</sup> und *Tropschug* et al.<sup>[184]</sup> untersucht wird, ebenfalls um eine Prolin-Isomerase. Cyclosporin hemmt die Isomerase-Aktivität von Cyclophilin, FK-506 die von FKBP. Diese inhibitorische Aktivität scheint jedoch die immununspressive Wirkung<sup>[183a, c]</sup> dieser Verbindungen nicht völlig zu erklären. Vor kurzem untersuchten *Moore* et al.<sup>[183d]</sup> und *Michnick* et al.<sup>[183e]</sup> die Struktur von FKBP in Lösung. *Van Duyne* et al.<sup>[1240]</sup> gelang es, die Struktur des FKBP/FK-506-Komplexes röntgenstrukturanalytisch aufzuklären. Hierdurch wurde gezeigt, daß die Konformation von freiem FK-506 (die bereits bekannt war<sup>[173]</sup>), erheblich von der des gebundenen FK-506 abwich. Zusammen verdeutlichen diese Studien in besonderem Maße die Möglichkeiten der Chemie, sich mit Problemen auseinanderzusetzen, die für die Biologie und Medizin von größter Bedeutung sind.

7) Die Menschheit profitiert auch enorm von den bei Merck<sup>[185]</sup> entdeckten Avermectinen. Diese wurden aus einer Flüssigkeit isoliert, die von einer *Streptomyces*-Kultur gebildet wurde, welche von einer *Actinomyceten*-Kultur des Kitasato-Instituts abstammte. Die Avermectine bilden eine Verbindungsgruppe mit einem breiten Wirkungsspektrum gegen Parasiten. Chemisch sind sie mit den Milbemycinen verwandt, die bereits früher bei Sankyo entdeckt worden waren, als man nach Fermentationsprodukten mit Pestizidwirkung suchte. Die Forschung bei Merck umfaßte Fermentation und Isolierung von Verbindungen, Strukturbestimmung, Parasitologie und synthetische Organische Chemie. Unter der Leitung von *Chabala, M. H. Fischer* und *Mrozik* war ein weiterer Höhepunkt dieser Forschung die beachtliche Entdeckung, daß Wirksamkeit sowie T. I. durch die selektive Reduktion der einzigen disubstituierten, isolierten *cis*-Doppelbindung der Avermectine A/B verbessert werden konnten. Diese Reaktion ergibt semisynthetisches 22,23-Dihydroavermectin B **64** mit einem geringen Anteil Dihydroavermectin A. Eine Mischung davon mit vorgeschriebener Zusammensetzung ist unter dem Namen Ivermectin bekannt<sup>[185]</sup>. Die bei Merck durchgeführten Suchtests haben somit zu Verbindungen geführt, die nicht nur ein sicheres und wirksames Mittel gegen Endoparasiten wie Schlauchwürmer sind, sondern auch gegen Ektoparasiten wie Zecken, Läuse, Milben sowie gegen Insekten.



Am besten ist jedoch die Aussicht, daß diese Verbindungen – über ihre Bedeutung für die Veterinärmedizin hinaus – die Flußblindheit ausrotten könnten, eine der meistgefürchteten Krankheiten in bestimmten Dritte-Welt-Ländern. Allein dies sollte jeden medizinisch orientierten Chemiker auf seinen Beruf stolz machen, ebenso wie die Tatsache, daß Merck & Co., Inc. dieses Medikament der Dritten Welt kostenlos zur Verfügung stellt.

Chemiker haben in Zusammenarbeit mit Biologen und Ärzten eine entscheidende Rolle bei diesen Entdeckungen gespielt. Sie haben durch Isolierung, Design und Synthese von Verbindungen, durch Synthese von Analoga oder dadurch, daß sie am Entwurf von hochentwickelten und ausgeklügelten Suchtestverfahren mitgewirkt haben, diesen Entdeckungen zum Durchbruch verholfen. Diese Errungenschaften der letzten zwanzig Jahre folgten auf solch frühere wie die Entdeckung der Antibiotica, Antiasthmatica, Antidepressiva, Antiparkinson-Medikamente, der gegen Psychosen und gegen Tumore eingesetzten Medikamente, der Anxiolytika, Diuretica, Steroide, Peptide und der nicht-steroidalen entzündungshemmenden Mittel. Insgesamt do-

kumentieren diese Entdeckungen einen ununterbrochenen Dienst für die Praxis der Medizin sowie einen Dauerrekord an wissenschaftlichen Leistungen.

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Es ist sehr verlockend, über zukünftige Entwicklungen zu spekulieren, obwohl häufig die unerwarteten Entdeckungen den größten Einfluß haben. Dennoch mögen gewisse neuere Entwicklungen Trends andeuten. Ich werde zwei Beispiele nennen, die das Potential der Molekularbiologie veranschaulichen, den medizinisch orientierten Chemikern neue Möglichkeiten für einen Eingriff auf der pathophysiologischen Ebene zu eröffnen. Bis vor kurzem wußten wir auf molekularer Ebene nichts über Krebs. Entdeckungen<sup>[186]</sup> in den Arbeitskreisen von *Weinberg* am MIT, von *Scolnick* am NIH und später von *Sigal, Gibbs* und *Scolnick* bei Merck haben einen neuen Zugang zur Krebstherapie ermöglicht. Diese Forscher bestimmten die Aminosäuresequenz von ras-Proteinen in Tumoren von Menschen und zeigten, wie sich solche Sequenzen von denen in normalen Proteinen unterscheiden. Sie fanden beispielsweise, daß eine Mutation, durch welche im p-21-Protein Gly<sup>12</sup> gegen Val<sup>12</sup> ausgetauscht wird, zu einer Mutante führt, die normale Dickdarmzellen in maligne transformieren kann. Da sowohl Gly als auch Pro die  $\alpha$ -Helix zerstören, wurde anhand der Konformationsanalyse vorausgesagt<sup>[187]</sup>, daß nur Pro Gly<sup>12</sup> ersetzen kann, ohne das normale ras-Gen in ein aktives Onkogen umzuwandeln. Die Ergebnisse befanden sich in guter Übereinstimmung mit diesen Voraussagen. Jedoch zeigte die Röntgenstrukturanalyse später, daß eine Zerstörung der Helix durch Gly<sup>12</sup> hier nicht involviert ist. Weiterhin wurde von Biochemikern gefunden, daß die p-21-Proteine monomere G-Proteine sind, Enzyme, die Guanin-Nucleotide binden und GTP zu GDP hydrolysieren<sup>[186]</sup>. In den onkogenen Mutanten ist das Verhältnis von gebundenem GTP/GDP größer als in normalen Proteinen. Dies resultiert entweder aus einer langsameren enzymatischen Hydrolyse von GTP durch das transformierte G-Protein oder aus dem häufigeren Austausch von GDP gegen GTP<sup>[188, 189]</sup>. Auf die eine oder andere Art bewirken diese defekten molekularen Schalter, daß die transformierten Zellen in einem unangemessenen Maß aktiviert werden. Bis jetzt war eine Anwendung dieser neuen Einsichten nicht möglich, jedoch können jetzt neue Wege ins Auge gefaßt werden. In diesem Zusammenhang ist besonders interessant, daß vor kurzem festgestellt wurde, daß das Processing der ras-Proteine mit der Addition einer Farnesyleinheit verbunden ist<sup>[190, 191a]</sup>. Diese posttranskriptionale Modifikation ist für die Membranassoziation generell sehr wichtig. Bei den monomeren ras-G-Proteinen scheint solch eine Farnesylierung für ihre transformierenden Eigenschaften erforderlich zu sein. *Reiss* et al.<sup>[191b]</sup> konnten vor kurzem die zur Erkennung einer Peptidsequenz notwendigen Merkmale durch die aus Rattenhirnen isolierte p-21-ras-Protein-Transferase bestimmen. Eine Inhibierung der Farnesylierungsreaktion bietet sich somit als weiteres potentielles Ziel eines Eingriffs an. Es wird sich noch herausstellen, ob dieser spezielle posttranskriptionale Prozeß selektiv inhibiert werden kann.

Auf der DNA/RNA-Ebene dürfen die Gegenstrang-Technologie (Anti-sense-Methode)<sup>[192, 193]</sup> und die damit

verwandte Tripelhelix-Methode<sup>[194a]</sup> ein großes Anwendungspotential haben<sup>[194b]</sup>. Beide sind eine große Herausforderung für Chemiker. Diese Methode zum Design von Medikamenten versucht die Expression unerwünschter Proteine zu verhindern, anstatt ihre Wirkung zu hemmen. Dies trifft auch auf die Strategien zu, bei welchen man versucht, oxidativ spaltende Reagentien selektiv an die unerwünschte DNA-Sequenz heranzubringen. Die Arbeiten von *Dervan et al.*<sup>[195]</sup> sind ein Beispiel hierfür. *Hurley*<sup>[196]</sup> hat vor kurzem über weitere Möglichkeiten berichtet, auf der DNA-Ebene einzutreten. Die Einsatzmöglichkeiten solcher Medikamente beschränken sich keinesfalls nur auf Krebs.

Ein gleichermaßen spektakuläres Beispiel für neue Einsichten auf molekularer Ebene, die durch die Biotechnologie ermöglicht wurden, sind die Arbeiten von *Lefkowitz et al.* und von *Dixon, Sigal, Strader et al.*, welche die adrenergen Rezeptoren vom Status einer „black box“ enthoben. Die Arbeiten mit  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren ( $\beta$ -ARs) an der Duke University und bei Merck bauten auf früheren Untersuchungen über die wesentlich leichter zugänglichen Sehpigmente und über Bakteriorhodopsin auf, das den lichtinduzierten Protonentransport über die Purpur-Membran von *Halobacterium halobium* bewirkt. Diese Studien erstreckten sich über einen Zeitraum von 100 Jahren, doch wurden wesentliche Fortschritte in der Strukturaufklärung dieser Proteine erst seit den siebziger Jahren erzielt. Damals konnten *Henderson* und *Unwin*<sup>[197]</sup> elektronenmikroskopisch nachweisen, daß das Protein in der Purpur-Membran aus sieben eng gepackten  $\alpha$ -helicalen Segmenten besteht, die sich etwa senkrecht zur Membranebene befinden, und daß die Lipiddoppelschicht den Raum um diese Proteinsegmente ausfüllt. Die Struktur dieses Membranproteins in atomaren Details wurde kürzlich von *Henderson et al.*<sup>[198]</sup> mitgeteilt. Untersuchungen von *Ovchinnikov*<sup>[199]</sup>, *Hargrave*<sup>[200]</sup>, *Khorana*<sup>[201]</sup>, *Crouch*<sup>[202]</sup>, *Nakanishi*<sup>[203]</sup> und anderen bewiesen, daß das Protein Opsin in der Retina von Wirbeltieren beim Anregungsprozeß durch Licht eine Rolle spielt. Opsin ist an Retinal über eine Schiff-Base gebunden (Rhodopsin), die aus einer Lysin-Seitenkette des Opsins und dem Aldehyd 11-cis-Retinal entstanden ist. Die Anwesenheit von sieben helicalen Segmenten in Rhodopsin wurde von *Hargrave et al.*<sup>[200c]</sup> durch „hydrophobic matching“ und physikalische Messungen nachgewiesen. Durch Absorption eines Photons wird *cis*- zu *trans*-Retinal photoisomerisiert; dies induziert in Rhodopsin eine Konformationsänderung. Diese Isomerisierung im Photorezeptor führt zur Bindung des heterotrimeren G-Proteins ( $G_t$ ,  $t$  = transduzierend) (vgl. Abb. 7), wodurch eine Reihe von Kaskaden initiiert wird, die schließlich die intrazelluläre Konzentration des sekundären Messengers c-AMP beeinflussen.

Das Klonen des Gens und der cDNA für einen  $\beta_2$ -AR von Säugetieren ermöglichte es *Dixon, Sigal, Strader et al.*<sup>[204]</sup> zu erkennen, daß die für den Rezeptor vorhergesagte Aminosäuresequenz eine signifikante Homologie zu Rinder-Rhodopsin aufwies. Sie schlugen daraufhin vor, daß der  $\beta_2$ -AR ähnlich wie Rhodopsin Bereiche enthält, in denen er die Membran vielfach durchspannt. Die Anwendung des Konzeptes der passenden hydrophoben Wechselwirkungen führte zu einem Strukturvorschlag für den  $\beta_2$ -AR. Wie Rhodopsin enthält die vorgeschlagene Struktur sieben  $\alpha$ -helical Transmembransegmente, die alle zu einer einzigen Peptidkette gehören. Die sieben hydrophoben Domänen sind wie-

derum durch kurze hydrophile Segmente miteinander verbunden, die außerhalb der Membran Loops bilden. Diese strukturellen Ähnlichkeiten legten nahe, daß auch funktionelle Ähnlichkeiten zwischen Rhodopsin und dem  $\beta_2$ -AR bestehen. Beispielsweise sind beide an entsprechende G-Proteine gebunden ( $G_t$  bzw.  $G_s$ ); für Rhodopsin dient ein Photon, für den  $\beta_2$ -AR dient Adrenalin als Agonist.

Eine sehr beeindruckende Leistung wurde anschließend durch eine ortsspezifische Mutagenese ermöglicht: Dadurch konnten *Dixon, Sigal, Strader et al.*<sup>[205]</sup> Aspartat<sup>[113]</sup> in der Transmembranhelix 3 als aminbindende Stelle für  $\beta$ -adrenerge Agonisten und Antagonisten identifizieren<sup>[205]</sup>. Später konnte gezeigt werden<sup>[206]</sup>, daß Wasserstoffbrücken zwischen der *m*-Hydroxygruppe von Adrenalin und Ser<sup>204</sup> des Rezeptors einerseits und zwischen der *p*-Hydroxygruppe von Adrenalin und Ser<sup>207</sup> in der Helix 5 andererseits für eine agonistische Wirkung erforderlich sind.

*Lefkowitz et al.*<sup>[207]</sup> haben die komplette Primärstruktur der  $\beta_1$ -ARs aus Säugetieren und der  $\alpha$ -ARs aufgeklärt. Es sei jedoch daran erinnert, daß medizinisch orientierte Chemiker, lange bevor die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Rezeptoren bekannt waren, selektive Liganden für ARs gefunden hatten. Die cardioselektiven ( $\beta_1$ ) adrenergen Blocker Atenolol und Metoprolol, die eine höhere Affinität zu den cardialen ( $\beta_1$ )-Rezeptoren als zu den bronchialen ( $\beta_2$ )-Rezeptoren aufweisen, sind wohlbekannte Beispiele hierfür. Obwohl diese neuen Erkenntnisse über Sequenz und wahrscheinliche Struktur dieser  $\beta$ -Rezeptoren durchaus zufriedenstellend sind, erlauben sie uns noch nicht, die Selektivität dieser adrenergen Blocker zu erklären, ganz zu schweigen vom *Design* beispielsweise eines neuen cardioselektiven  $\beta$ -Blockers oder eines für den  $\beta_2$ -Rezeptor selektiven Agonisten. Dies bleibt eine große Herausforderung. Die Arbeiten von *Strader et al.*<sup>[206]</sup> lassen jedoch darüber spekulieren, warum  $\beta$ -adrenerge Blocker wie Propranolol, Prenethol und Atenolol keine sogenannte „intrinsic sympathetic activity“ (ISA), d. h. keinen  $\beta$ -adrenergen Agonismus aufweisen, während  $\beta$ -Blocker wie Pindolol, Dichlorisoprenalin und Practolol eine ISA zeigen. Die letztgenannten Verbindungen enthalten Heteroatome, die eventuell eine der phenolischen Hydroxygruppen von Adrenalin nachahmen und daher Wasserstoffbrücken zur Hydroxygruppe eines Serin-Restes in der Helix 5 bilden könnten. Um zufriedenstellend zu erklären, warum Verbindungen wie Atenolol eine ISA aufweisen, müßte man allerdings auch andere Aspekte, z. B. allosterische Effekte, berücksichtigen.

Die  $\beta$ -ARs gehören zu den am besten charakterisierten Mitgliedern einer Familie von Rezeptoren, die über Signalübertragungswege wirken, an denen Guaninnucleotid-regulierende Proteine (G-Proteine) (Abb. 7) teilnehmen. In einer Reihe hervorragender Untersuchungen, die auf dem von *Rodbell* vorgeschlagenen Konzept der Signalübertragung aufbauten<sup>[208]</sup>, zeigten *A. G. Gilman*<sup>[209]</sup> sowie *Stryer und Bourne*<sup>[210]</sup>, daß Rezeptoren die Effektor-Enzyme oder die Ionenkanäle nicht direkt aktivieren, sondern daß G-Proteine als Informationsübermittler über die Membranen fungieren, indem sie Rezeptoren mit Effektoren im Zellinneren kuppeln. Diese Effektoren reagieren somit über die heterotrimeren G-Proteine auf die ursprüngliche Stimulation der Rezeptoren (R) durch Hormone, Neurotransmitter und andere Agonisten (H). Beispielsweise werden, nachdem Adrenalin an einen  $\beta$ -adrenergen Rezeptor

bindet, Konformationsänderungen induziert, die bewirken, daß der H · R-Komplex an den passenden G · GDP-Komplex bindet. Bei den  $\beta$ -Rezeptoren handelt es sich dabei um das sogenannte stimulierende G-Protein ( $G_s$ ). Die Wechselwirkung mit dem Rezeptor führt dazu, daß GTP das GDP aus dem H · R ·  $G_s$  · GDP-Komplex verdrängt, so daß H · R ·  $G_s$  · GTP entsteht. Dadurch werden zwei weitere Vorgänge ausgelöst: Das  $G_s$ -Protein verliert seine Affinität zum H · R-Komplex – dabei werden erstens das freie Hormon und der unbesetzte Rezeptor zurückgebildet – und zweitens dissoziieren die  $\beta$ , $\gamma$ -Untereinheiten vom  $G_s$  · GTP-Komplex ab und lassen den  $G_{s\alpha}$  · GTP-Komplex zurück.

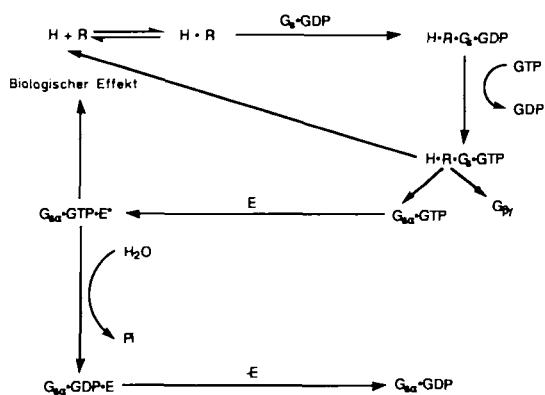


Abb. 7. Die Signalübertragung, bei der stimuliert Membranrezeptoren an intrazelluläre Rezeptoren über hetero-trimere G-Proteine gekuppelt werden. Diese Proteine bestehen aus  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheiten. Beim  $\beta$ -adrenergen Rezeptor ist das entsprechende G-Protein das stimulierende G-Protein  $G_s$ , und das Enzym (E) ist Adenylat-Cyclase. Beim Lichtrezeptor Rhodopsin ist das G-Protein Transducin ( $G_t$ ), und E ist Phosphodiesterase.  $E^*$  kennzeichnet ein aktiviertes Enzym. R einen Rezeptor und H ein Hormon, einen Neurotransmitter oder einen anderen Agonisten.

Dieser verbleibende Komplex bindet und aktiviert dann das relevante Enzym (E), im Falle der  $\beta$ -ARs die Adenylat-Cyclase, das Enzym, das den zweiten Messenger cAMP erzeugt. An dieser Stelle setzt eine weiterer Kontrollmechanismus ein. Das  $G_{s\alpha}$ -Protein ist nämlich auch ein Enzym, welches GTP irreversibel zu GDP hydrolysiert. Der resultierende  $G_{s\alpha}$  · GDP-Komplex hat keine Affinität mehr zum Enzym E, das folglich in den inaktiven Zustand zurückkehrt. Wie von Jencks betont<sup>[114a]</sup>, funktioniert dieses System deshalb, weil ein wirksamer Agonist zur aktiven Konformation des Rezeptors komplementär ist und somit die Reaktionskaskade auslöst. Analog dazu kann man diese Kaskade zum Stillstand bringen, weil das Enzym E zu  $G_{s\alpha}$  dann nicht komplementär ist, wenn  $G_{s\alpha}$  an GDP gebunden ist. Kürzlich wurde gezeigt<sup>[211]</sup>, daß eine Farnesylierung der  $\gamma$ -Untereinheiten der G-Proteine für eine Bindung von GTP erforderlich ist. Diese Farnesylierung und auch die Möglichkeit ihrer selektiven Inhibierung wurden hier bereits als ein Ziel medizinisch orientierter Chemiker erwähnt.

Bei den Sehpigmenten ist das G-Protein  $G_t$  (Transducin) und das Enzym, welches es aktiviert, eine Phosphodiesterase anstelle einer Adenylat-Cyclase. Wie Applebury und Hargrave feststellten, hat sich die Natur also einen in der Biochemie allgemein üblichen Mechanismus zunutze gemacht, um zweite Messenger im Cytoplasma von Zellen zu kontrollieren. Die Vielfalt der Liganden für geklonte, an das G-Protein gebundene Rezeptoren ist bemerkenswert.

Die Weiterentwicklung unseres molekularen Verständnisses von G-Protein-gebundenen Rezeptoren – der oben genannte  $\beta_2$ -adrenerge Rezeptor ist ein typisches Beispiel hierfür – sowie die Weiterentwicklung unseres Verständnisses von ras-Onkogenen wurden durch die Biotechnologie ermöglicht. In keinem dieser beiden Fälle haben medizinisch orientierte Chemiker diese Information bisher genutzt, um ein neues Medikament zu entwerfen, aber die Möglichkeiten sind durchaus gegeben. Die Spezifität kann sich dabei sehr wohl als entscheidendes Kriterium herausstellen.

Das rationale Design von Medikamenten (im Gegensatz zur rationalen Entdeckung von Medikamenten) wird dann voll zum Zuge kommen, wenn die strukturellen Informationen über Enzyme oder andere Rezeptoren die Entdeckung eines neuen Medikamentes erlauben, die ohne diese Informationen über das Makromolekül nicht möglich gewesen wäre. Röntgenstrukturanalysen werden zusammen mit anderen physikalischen Methoden, Molecular Modeling und chemischer Intuition bei diesen zukünftigen Entwicklungen eine Hauptrolle spielen. Die Biotechnologie erhöht die Wahrscheinlichkeit beträchtlich, daß den Kristallographen das relevante kristalline Protein zum richtigen Zeitpunkt zur Verfügung steht, und trägt somit dazu bei, eine Beziehung zwischen der Biochemie und der „Struktur“ eines Systems herzustellen. Bei den ersten Erfolgsmeldungen könnte es sich durchaus um Röntgenstrukturanalysen von Enzymen mit einem gebundenen Inhibitor handeln. In dieser Hinsicht vielversprechend sind die Inhibitoren des Enzyms Dihydrofolat-Reduktase<sup>[212]</sup>. Die Fähigkeit, korrekte Vorhersagen zu treffen, wird weiterhin das entscheidende Erfolgskriterium bleiben. Tatsächlich ist das Design von MK-927, eines neuartigen, lokal wirksamen Carboanhydrase-Hemmers, den Baldwin, Navia et al.<sup>[213]</sup> für die äußerliche Behandlung des Glaucoms entwickelten, ein wichtiger Schritt in diese Richtung.

Bei ihren Untersuchungen über substituierte Benzaldehyde, welche die Affinität von Sauerstoff zu Human-Hämaglobin erhöhen sollten, erkannten Beddell und Goodford et al.<sup>[214]</sup> folgendes Problem: „the structure of the receptor site is not rigid and it is often difficult to take account of the flexibility of both the designed ligands and the receptor site itself in predicting the properties of the ligand-receptor complex“. Das Problem resultiert unter anderem daraus, daß die Konformation des Liganden am Rezeptor nicht unbedingt einer Konformation minimaler Energie des Liganden in Lösung entsprechen muß. Dies fanden auch Baldwin und Navia et al.<sup>[213]</sup> bei ihrem wirksamsten Carboanhydrase-Hemmer und seinem Enantiomer. Die Konformation des Rezeptor-Ligand-Komplexes minimiert also die Energie des Komplexes, nicht aber notwendigerweise die der Einzelkomponenten. Diese Analyse legt nahe, daß es manchmal erstrebenswert sein kann, kleine Moleküle *nicht* in der in Lösung vorliegenden Konformation minimaler Energie zu fixieren. In einer kürzlich erschienenen Übersicht diskutiert Schiller<sup>[215]</sup> diese Problematik. Knowles<sup>[216]</sup> zog aus seinen Untersuchungen am Enzym Triosephosphat-Isomerase den Schluß, daß es „Elemente der Exaktheit“ gibt, die über das wohlbekannte Konzept<sup>[157, 217]</sup>, daß der Übergangszustand in das aktive Zentrum des Enzyms paßt, hinausgehen. Auch die Arbeiten von Strader et al.<sup>[218]</sup> über die Wechselwirkung von Hormonen mit Neurotransmittern legen solche „Elemente der Exaktheit“ nahe. Diese Autoren fanden, daß der Ersatz

von Asp<sup>113</sup> durch Glu in einem  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptor zu einem mutierten Rezeptor führt, der mehrere bekannte  $\beta$ -adrenerge Antagonisten ( $\beta$ -Blocker) als partielle Agonisten erkennt.

Eines der ersten Beispiele einer chemischen ortsspezifischen Mutagenese<sup>[219]</sup> beschrieben Polgar und Bender 1966. Sie setzten das Enzym Subtilisin zu Thiosubtilisin um, das als wesentliches Nucleophil des aktiven Zentrums eine Mercapto- anstelle einer Hydroxygruppe enthält. Das modifizierte Enzym hydrolysiert zwar immer noch Nitrophenylacetat, vermag jedoch mit keinem der klassischen Substrate<sup>[219, 220]</sup> von Subtilisin zu reagieren. Somit kann ein de-novo-Design höchst kreative Züge aufweisen und doch das Ziel verfeheln.

Trotz dieser Schwierigkeiten ist nicht daran zu zweifeln, daß die Röntgenstrukturanalyse Informationen über Rezeptor-Ligand-Komplexe geliefert hat, die für die Entdeckung von Medikamenten bereits überaus wertvoll waren. Dies trifft auch für die ortsspezifische Mutagenese zu. Man darf durchaus erwarten, daß sich eine Kombination dieser Techniken als synergetisch erweisen wird. In diesem Zusammenhang sind die Arbeiten von Cunningham, Wells et al.<sup>[221-223]</sup> bei Genentech über die Wechselwirkung von Human-GH mit seinem Rezeptor von großem Interesse, da die Struktur dieses GH-Rezeptorkomplexes im atomaren Detail seit kurzem bekannt ist<sup>[224]</sup>. Ein großes Ereignis wäre es beispielsweise, wenn die Kombination aus röntgenstrukturanalytisch und NMR-spektroskopisch erhaltenen Ergebnissen und ortsspezifischer Mutagenese das de-novo-Design eines allosterischen GH-Mimeticums, eines neuartigen FKBP-Inhibitors oder eines Erythropoietin(EPO)-Mimeticums ermöglichen würde. Derartige Leistungen wären dann tatsächlich ein rationales Design von Medikamenten.

Von den Entdeckungen in der biomedizinischen Chemie im letzten Jahrzehnt dieses Jahrhunderts oder während des 21. Jahrhunderts darf man enorm viel erwarten. Die Herausforderungen sind gewaltig und zu viele, um sie alle aufzuzählen; sie umfassen unter anderem die Autoimmunerkrankungen, mentale Beeinträchtigungen, Krebs, geriatrische Probleme, Diabetes und Virusinfektionen. Die momentane, sehr deutliche AIDS-Gefahr stellt jedoch alles andere in den Schatten. Unter massivem Aufwand hat man begonnen, dieses Problem von vielen Seiten anzugehen. 3'-Azido-3'-desoxythymidin (AZT)<sup>[170d, 225]</sup>, ein Inhibitor der Reversen Transkriptase, wird derzeit als ein erster Erfolg begrüßt.

Die große Zahl von Entdeckungen der Grundlagenforschung, die sich für eine Anwendung auf diese Probleme eignen könnten, ist beeindruckend. Zusätzlich zu den bereits erwähnten Beispielen für unsere Fortschritte im Verständnis der Signalübertragung in Zellen bieten die eleganten Untersuchungen des Phosphatidylinositol-Systems den Medizin-Chemikern neue Möglichkeiten. Hierzu haben vor allem die Arbeiten von Berridge et al.<sup>[226]</sup> und Irvine et al.<sup>[227]</sup> in Cambridge (GB) über IP<sub>3</sub> (die auf den Beobachtungen von Mitchell<sup>[228]</sup> basieren) und die Arbeiten von Nishizuka<sup>[229]</sup> in Japan über Protein-Kinase C beigetragen.

Kleine Moleküle werden unter den Medikamenten der Zukunft sicherlich weiterhin eine wichtige Rolle spielen. Die neue Klasse der therapeutisch relevanten kleinen Moleküle könnte beispielsweise Verbindungen umfassen, die für die Behandlung von Asthma nützlich sind, wie Inhibitoren von Enzymen, die an der Leukotriensynthese teilnehmen, und

Antagonisten der Leukotriene. Würde sich eine dieser Verbindungen erfolgreich durchsetzen, so wäre dies der Lohn für lange Jahre der Grundlagenforschung in Hochschule und Industrie. Vielversprechende Ergebnisse werden auch von Verbindungen zur Behandlung von Migräne und Osteoporose berichtet. Selektive Inhibitoren der reversen Transkription. Inhibitoren der Phospholipase A<sub>2</sub> und von Enzymen, welche die Lymphokinin-Biosynthese regulieren, sind weitere aussichtsreiche, aktiv betriebene Forschungsgebiete. Dies trifft auch auf Verbindungen zu, die Thrombosen günstig beeinflussen und Blutgerinnung auflösen.

Aber auch die Biotechnologie wird sicherlich weiterhin Makromoleküle zum Arsenal des Mediziners beisteuern. Mit Beginn des 21. Jahrhunderts können wir erwarten, daß eine wachsende Zahl von Proteinen in der Therapie verwendet werden wird, und wir können hoffen, daß auch die Gentherapie realisiert werden kann. Gegenwärtig halte ich es für wahrscheinlich, daß die Biotechnologie – die die Entdeckung kleiner Moleküle erleichtert – dadurch mindestens ebenso viel zur Therapie beitragen wird wie durch den therapeutischen Einsatz von Makromolekülen.

Die Versprechen für die Zukunft werden mit größter Wahrscheinlichkeit dann erfüllt, wenn weder Chemiker noch Biologen oder Molekularbiologen die anderen Disziplinen als bloße Handlanger betrachten. Wie die Geschichte zeigt, brauchen wir einander.

*Der Autor ist den vielen Kollegen zu großem Dank verpflichtet, die entweder Abschnitte des Manuskripts oder das gesamte Manuskript gelesen haben. Ihre Vorschläge waren von unschätzbarem Wert. Es ist mir auch eine Freude, den Herren Paul Fries und Key Payton für ihre gekonnten Schreibarbeiten zu danken und für ihre unerschütterliche Geduld, mit der sie eine Verbesserung nach der anderen hinnahmen. Dr. Andreas Leuder danke ich besonders für seine sorgfältige Kontrolle der deutschen und englischen Druckfahnen.*

Eingegangen am 12. Februar 1991 [A 838]  
Übersetzt von Dipl.-Chem. Daniele Hoffmann, Erlangen

- [1] P. S. Hench, E. C. Kendall, C. H. Slocumb, H. F. Polley, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 24 (1949) 181.
- [2] L. H. Sarett, *J. Biol. Chem.* 162 (1946) 601.
- [3] L. F. Fieser, M. Fieser: *Steroids*, Reinhold Publishing Company, New York 1959, S. 634f; *Steroids*, Verlag Chemie, Weinheim 1961.
- [4] O. Hassel, *Q. Rev. Chem. Soc.* 7 (1953) 221.
- [5] a) D. H. R. Barton, *J. Chem. Soc.* 1953, 1027; b) *Angew. Chem.* 82 (1970) 827.
- [6] a) R. Hirschmann, C. S. Snoddy, Jr., N. L. Wendler, *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 2693; b) R. Hirschmann, C. S. Snoddy, Jr., C. F. Hiskey, N. L. Wendler, *ibid.* 76 (1954) 4013; c) C. F. Hiskey, R. Hirschmann, N. L. Wendler, *ibid.* 75 (1953) 5135.
- [7] a) J. Fried, *Cancer* 10 (1957) 752; b) J. Fried, A. Borman, *Vitam. Horm.* 16 (1958) 303.
- [8] C. M. Weeks, W. L. Duax, M. D. Wolff, *J. Am. Chem. Soc.* 95 (1973) 2865.
- [9] a) H. L. Herzog, A. Nobile, S. Tolksdorf, W. Charney, E. B. Hershberg, P. L. Perlman, *Science (Washington, D. C.)* 121 (1955) 176; b) A. Nobile, W. Charney, P. L. Perlman, H. L. Herzog, C. C. Payne, M. E. Tully, M. A. Jevnik, E. B. Hershberg, *J. Am. Chem. Soc.* 77 (1955) 4184.
- [10] Eine Ausnahme von dieser Verallgemeinerung wäre ein Analogon, das den Rezeptor nur in den gewünschten Zielgeweben erreicht, jedoch nicht dort, wo Nebenwirkungen hervorgerufen werden.
- [11] a) S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Nehr, J. von Euw, O. Sebindler, T. Reichstein, *Experientia* 10 (1954) 132; b) *Helv. Chim. Acta* 37 (1954) 1200.
- [12] a) Der Ausdruck „Rezeptor“ wird hier auch für Aczeptoren und Enzyme verwendet. b) J. N. Langley, *J. Physiol. (London)* 1 (1878) 339; 33 (1905) 374.
- [13] R. Hirschmann, R. G. Strachan, P. Buchschafer, L. H. Sarett, S. L. Steelman, R. Silber, *J. Am. Chem. Soc.* 86 (1964) 3903.

- [14] G. I. Poos, R. Hirschmann, G. A. Bailey, F. A. Cutter, Jr., L. H. Sarett, J. M. Chemerda, *Chem. Ind. (London)* 1958, 1260.
- [15] R. Hirschmann, G. A. Bailey, G. I. Poos, R. Walker, J. M. Chemerda, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (1956) 4814; B. G. Christensen, N. G. Steinberg, R. Hirschmann, *Chem. Ind. (London)* 1958, 1259.
- [16] a) R. Hirschmann, N. G. Steinberg, P. Buchschacher, J. H. Fried, G. J. Kent, M. Tishler, S. L. Steelman, *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963) 120; b) R. Hirschmann, P. Buchschacher, N. G. Steinberg, J. H. Fried, R. Ellis, G. J. Kent, M. Tishler, *ibid.* 86 (1964) 1520.
- [17] S. L. Steelman, R. Hirschmann in A. Eisenstein (Hrsg.): *The Adrenal Cortex*, Little, Brown & Co., Boston 1967.
- [18] C. Djerassi, L. Miramontes, G. Rosenkranz, F. Sondheimer, *J. Am. Chem. Soc.* 76 (1954) 4092.
- [19] F. B. Colton, L. N. Nysted, B. Riegel, A. L. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.* 79 (1957) 1123.
- [20] a) W. S. Johnson, *Bioorg. Chem.* 5 (1976) 51; b) W. S. Johnson, S. J. Telfer, S. Cheng, U. Schubert, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 2517; c) W. S. Johnson, S. D. Lindell, J. Steele, *ibid.* 109 (1987) 5852.
- [21] a) M. R. Haussler, J. F. Myrtle, A. W. Norman, *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 4055; b) M. R. Haussler, J. E. Verwekh, R. H. Hesse, E. Rizzardo, M. M. Pachet, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70 (1973) 2248.
- [22] a) D. E. M. Lawson, P. W. Wilson, E. Kodicek, *Nature (London)* 222 (1969) 171; b) *Biochem. J.* 115 (1969) 269; c) E. Kodicek, D. E. M. Lawson, P. W. Wilson, *Nature (London)* 228 (1970) 763; d) D. E. M. Lawson, D. R. Fraser, E. Kodicek, H. R. Morris, D. H. Williams, *ibid.* 230 (1971) 228.
- [23] a) G. Ponchon, H. F. DeLuca, *J. Clin. Invest.* 48 (1969) 2373; b) M. F. Holick, H. K. K. Schnoes, H. F. DeLuca, T. Suda, R. J. Cousins, *Biochemistry* 10 (1971) 2799.
- [24] a) J. F. Myrtle, A. W. Norman, *Science (Washington, D. C.)* 171 (1971) 79; b) A. W. Norman, J. F. Myrtle, R. J. Midgett, H. G. Nowicki, V. Williams, G. Popjak, *ibid.* 173 (1971) 51.
- [25] a) D. R. Andrews, D. H. R. Barton, K. P. Cheng, J. Finet, R. H. Hesse, G. Johnson, M. M. Pechet, *J. Org. Chem.* 51 (1986) 1635; b) D. H. R. Barton, R. H. Hesse, M. M. Pechet, E. Rizzardo, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1974, 203.
- [26] L. J. Vanmæle, P. J. DeClerq, M. Vanderwalle, S. J. Halkes, W. R. M. Overbeek, *Tetrahedron* 40 (1984) 1179.
- [27] W. G. Dauben, R. B. Phillips, P. Jeffries, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982) 5115.
- [28] M. Sheves, N. Friedman, Y. Mazur, *J. Org. Chem.* 42 (1977) 3597.
- [29] E. G. Baggolini, J. A. Jacobelli, B. M. Hennessy, A. D. Batcho, J. F. Soren, M. R. Uskovic, *J. Org. Chem.* 51 (1986) 3098.
- [30] M. Seki, N. Koizumi, M. Morisaki, N. Ikekawa, *Tetrahedron Lett.* 1975, 15.
- [31] a) A. W. Alberts, J. Chen, G. Kuron, V. Hunt, J. Huff, C. Hoffman, J. Rothrock, M. Lopez, H. Joshua, E. Harris, A. Patchett, R. Monaghan, S. Currie, E. Stapley, G. Albers-Schönberg, O. Hensens, J. Hirschfeld, K. Hoogsteen, J. Liesch, J. Springer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 3957; b) P. A. Dawson, J. E. Metherall, N. D. Ridgway, M. S. Brown, J. L. Goldstein, *J. Biol. Chem.* 266 (1991) 9128, und dort zit. Lit.
- [32] A. Bélanger, D. Philibert, G. Teutsch, *Steroids* 37 (1981) 361.
- [33] G. H. Rasmussen, G. F. Reynolds, N. G. Steinberg, E. Walton, G. F. Patel, T. Liang, M. A. Cascieri, A. H. Cheung, J. R. Brooks, C. Berman, *J. Med. Chem.* 29 (1986) 2298.
- [34] K. R. Yamamoto, *Annu. Rev. Genet.* 19 (1985) 209.
- [35] a) T. Ojasoo, J. Deletré, J. P. Mornon, C. Turpin-Van Dyke, J. P. Raynaud, *J. Steroid Biochem.* 11 (1979) 93; b) W. Wahli, E. Martinez, *FASEB J.* 5 (1991) 2243.
- [36] Siehr J. S. Fruton, *Proc. Am. Philos. Soc.* 129 (1985) 313.
- [37] a) F. Sanger, E. O. P. Thompson, R. Kitai, *Biochem. J.* 59 (1955) 509; b) A. P. Ryle, F. Sanger, L. F. Smith, R. Kitai, *ibid.* 60 (1955) 541, und dort zit. Lit.
- [38] V. du Vigneaud, C. Ressler, J. M. Swan, C. W. Roberts, P. G. Katsoyanis, S. Gordon, *J. Am. Chem. Soc.* 75 (1953) 4879.
- [39] a) V. du Vigneaud, H. C. Lawler, E. A. Popenone, *J. Am. Chem. Soc.* 75 (1953) 4880; b) V. du Vigneaud, D. T. Gish, P. G. Katsoyanis, *ibid.* 76 (1954) 4751.
- [40] P. Edman in S. B. Needleman (Hrsg.): *Protein Sequence Determination*, Springer, Berlin 1970, S. 211.
- [41] R. Schwyzer, P. Sieber, *Helv. Chim. Acta* 49 (1966) 134.
- [42] R. G. Shepherd, S. D. Wilson, K. S. Howard, P. H. Bell, D. S. Davies, S. B. Davies, E. A. Eigner, N. E. Shakespeare, *J. Am. Chem. Soc.* 78 (1956) 5067.
- [43] B. Riniker, P. Sieber, W. Rittel, *Nature New Biol.* 235 (1972) 114.
- [44] a) E. E. Haley, B. J. Corcoran, *Biochemistry* 6 (1967) 2668; b) K. Weber, W. Konigsberg, *J. Biol. Chem.* 242 (1967) 3563; c) M. A. Ondetti, A. Deer, J. T. Sheehan, J. Plušek, O. Kocý, *Biochemistry* 7 (1968) 4069; d) S. R. Jenkins, R. F. Nutt, R. S. Dewey, D. F. Veber, F. W. Holly, W. J. Paleveda, Jr., T. Lanza, Jr., R. G. Strachan, E. F. Schoenewaldt, H. Barkmeyer, M. J. Dickinson, J. Sondey, R. Hirschmann, E. Walton, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 505.
- [45] J. Meienhofer, E. Schnabel, H. Bremer, O. Brinkhoff, R. Zabel, W. Stroka, H. Klostermeyer, D. Brandenburg, T. Okuda, H. Zahn, *Z. Naturforsch. B* 18 (1963) 1120.
- [46] P. G. Katsoyanis, K. Fukuda, A. Tometsko, K. Suzuki, M. Tilak, *J. Am. Chem. Soc.* 86 (1964) 930.
- [47] Y. C. Du, R. Q. Jiang, C. L. Tsou, *Sci. Sinica (Peking)* 14 (1965) 229; Y. Kung, Y. Du, W. Huang, C. Chen, L. Ke, S. Hu, R. Jiang, S. Chu, C. Niu, J. Hsu, W. Chang, L. Chen, H. Li, Y. Wang, T. Loh, A. Chi, C. Li, P. Shi, Y. Yieh, K. Tang, C. Hsing, *ibid.* 15 (1966) 544.
- [48] P. G. Katsoyanis, A. C. Trakatellis, S. Johnson, C. Zalut, G. Schwartz, *Biochemistry* 6 (1967) 2642.
- [49] A. D. Riggs, K. Itakura, H. W. Boyer in A. P. Bollen (Hrsg.): *Recombinant DNA Products: Insulin, Interferon and Growth Hormone*, CRC Press, Boca Raton, FL 1984, S. 43.
- [50] R. E. Chance, J. A. Hoffmann, E. P. Krooff, M. G. Johnson, E. W. Schirmer, W. W. Bromer, M. J. Ross, R. Wetzel, *Pept. Synth., Struct., Funct., Proc. Am. Pept. Symp.* 7th, 1981, 721.
- [51] P. Sieber, B. Kamber, A. Hartmann, B. Jöhl, B. Riniker, W. Rittel, a) *Helv. Chim. Acta* 57 (1974) 2617; b) 60 (1977) 27.
- [52] a) L. Zervas, I. Photaki, *J. Am. Chem. Soc.* 84 (1962) 3887; b) I. Photaki in P. Katsoyanis (Hrsg.): *The Chemistry of Polypeptides*, Plenum, New York 1973, S. 59.
- [53] D. F. Veber, J. D. Milkowski, R. G. Denkewalter, R. Hirschmann, a) *Tetrahedron Lett.* 1968, 3057; b) *J. Am. Chem. Soc.* 94 (1972) 5456.
- [54] a) R. G. Hiskey, V. R. Rao, W. G. Rhodes in J. F. W. McOmie (Hrsg.): *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum, New York 1973, S. 235; b) R. G. Hiskey, A. Wittinghofer, A. N. Goud, R. R. Vunnum, *Pept. Chem., Struct. Biol. Proc. Am. Pept. Symp.* 4th 1975, 487.
- [55] D. F. Steiner, P. E. Oyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 57 (1967) 473; D. F. Steiner, D. Cunningham, L. Spigelman, B. Aten, *Science (Washington, D. C.)* 157 (1967) 697; C. Nolan, F. Margoliash, J. D. Peterson, D. F. Steiner, *J. Biol. Chem.* 246 (1971) 2780; D. F. Steiner in J. A. Parsons (Hrsg.): *Peptide Hormones*, University Park Press, Baltimore 1976, S. 49.
- [56] a) A. P. Ryle, F. Sanger, L. F. Smith, R. Kitai, *Biochem. J.* 60 (1955) 541; b) H. Brown, F. Sanger, E. O. P. Thompson, *ibid.* 60 (1955) 556.
- [57] a) O. Wintersteiner, V. du Vigneaud, H. Jensen, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 32 (1928) 367, 287, 297; b) K. Freudenberg, W. Dirscherl, H. Eyer, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 202 (1931) 128.
- [58] J. J. Abel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 12 (1926) 136.
- [59] a) M. J. Adam, T. L. Blundell, E. J. Dodson, G. G. Dodson, M. Vijayan, E. N. Baker, M. M. Harding, D. C. Hodgkin, B. Rimmer, S. Skeat, *Nature (London)* 224 (1969) 491; b) T. L. Blundell, G. G. Dodson, D. C. Hodgkin, D. A. Mercola, *Adv. Protein Chem.* 26 (1972) 279.
- [60] a) B. Gutte, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 501; b) *J. Biol. Chem.* 246 (1971) 1922.
- [61] a) R. G. Denkewalter, D. F. Veber, F. W. Holly, R. Hirschmann, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 502; b) R. G. Strachan, W. J. Paleveda, Jr., R. F. Nutt, R. A. Vitali, D. F. Veber, M. J. Dickinson, V. Garsky, J. E. Deak, E. Walton, S. R. Jenkins, F. W. Holly, R. Hirschmann, *ibid.* 91 (1969) 503; c) S. R. Jenkins, R. F. Nutt, R. S. Dewey, D. F. Veber, F. W. Holly, W. J. Paleveda, Jr., T. Lanza, Jr., R. G. Strachan, E. F. Schoenewaldt, H. Barkmeyer, M. J. Dickinson, J. Sondey, R. Hirschmann, E. Walton, *ibid.* 91 (1969) 505; d) D. F. Veber, S. L. Varga, J. D. Milkowski, H. Joshua, J. B. Conn, R. Hirschmann, R. G. Denkewalter, *J. Am. Chem. Soc.* 91 (1969) 506; e) R. Hirschmann, R. F. Nutt, D. F. Veber, R. A. Vitali, S. L. Varga, T. A. Jacob, F. W. Holly, R. G. Denkewalter, *ibid.* 91 (1969) 507; f) R. Hirschmann, *Intra-Sci. Chem. Rep.* 5 (1971) 203; g) R. Hirschmann, R. G. Denkewalter, *Naturwissenschaften* 57 (1970) 145; h) R. Hirschmann: *Peptides 1969*, North-Holland, Amsterdam 1971, S. 138.
- [62] a) R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963) 2149; b) *Adv. Enzymol.* 32 (1969) 221.
- [63] V. du Vigneaud, C. Ressler, J. M. Swan, C. W. Roberts, P. G. Katsoyanis, S. Gordon, *J. Am. Chem. Soc.* 75 (1953) 4879.
- [64] W. Rittel, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker, R. Schwyzer, *Helv. Chim. Acta* 40 (1957) 614.
- [65] H. Schwarz, F. M. Bumpas, I. H. Page, *J. Am. Chem. Soc.* 79 (1957) 5697.
- [66] S. Guttman, R. A. Boissonas, a) *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 42; b) 42 (1959) 1257.
- [67] H. Romovacek, S. R. Dowd, K. Kawasaki, N. Nishi, K. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 6081.
- [68] T. J. Blacklock, R. Hirschmann, D. F. Veber in S. Udenfriend, J. Meienhofer (Hrsg.): *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 9, Part C, Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, San Diego, CA 1987, S. 39.
- [69] E. Haber, C. B. Anfinsen, *J. Biol. Chem.* 236 (1961) 422.
- [70] H. Yajima, N. Fujii, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 5867; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1980, 115.
- [71] Die Diskussion über die Struktur von Schweine-ACTH (Abschnitt 3.1) verdeutlicht, daß der Strukturbeweis für große Peptide eine nicht-triviale Aufgabe sein kann.
- [72] S. J. Benkovic, C. A. Fienke, A. M. Naylor, *Science (Washington, D. C.)* 239 (1988) 1105.
- [73] Siehe beispielsweise, T. N. C. Wells, A. R. Fersht, *Biochemistry* 25 (1986) 1881; R. J. Leatherbarrow, A. R. Fersht, G. Winter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 7840; M. D. Jones, D. M. Lowe, T. Borgford, A. R. Fersht, *Biochemistry* 25 (1986) 1887.
- [74] J. D. Hermes, S. C. Blacklow, J. R. Knowles, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990) 696; siehe auch W. J. Alberty, J. R. Knowles, *Biochemistry* 15 (1976) 5631.

- [75] D. A. Estell, T. P. Graycar, J. A. Wells, *J. Biol. Chem.* **260** (1985) 6518; J. A. Wells, D. B. Powers, R. R. Bott, T. P. Graycar, D. A. Estell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84** (1987) 1219.
- [76] a) R. F. Nutt, S. F. Brady, P. L. Drake, T. M. Ciccarone, C. Dylon Colton, E. M. Nutt, J. A. Rodkey, C. D. Bennett, L. H. Waxman, I. S. Sigal, P. S. Anderson, D. F. Veber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85** (1988) 7129; b) J. Schneider, S. B. H. Kent, *Cell* **54** (1988) 363.
- [77] a) L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 98; b) **79** (1957) 4427.
- [78] F. C. McKay, N. F. Albertson, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 4686.
- [79] G. W. Anderson, A. C. McGregor, *J. Am. Chem. Soc.* **79** (1957) 6180.
- [80] a) L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **92** (1970) 5748; b) E. Atherton, R. C. Sheppard in [68], S. 1.
- [81] P. Sieber, B. Iselin, *Helv. Chim. Acta* **51** (1968) 614, 622.
- [82] R. G. Hiskey, A. M. Thomas, R. S. Smith, W. C. Jones, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **91** (1969) 7525.
- [83] D. G. Mullen, G. Barany, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 5240, und dort zit. Lit.
- [84] a) S. Sakakibara, Y. Shimonishi, *Bull. Chem. Soc. (Jpn.)* **38** (1965) 1412; b) T. Kimura, M. Takai, Y. Masui, T. Morikawa, S. Sakakibara, *Biopolymers* **20** (1981) 1823; c) T. Kimura, N. Chino, S.-I. Kumagaye, H. Kuroda, J. Emura, S. Sakakibara, *Biochem. Soc. Trans.* **18** (1990) 1297.
- [85] V. M. Garsky, P. K. Lumma, R. M. Freidinger, S. M. Pitzenberger, W. C. Randall, D. F. Veber, R. J. Gould, P. A. Friedman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86** (1989) 4022.
- [86] D. S. Keniry in E. Gross, J. Meienhofer (Hrsg.): *The Peptides*, Vol. 1, Academic Press, New York 1979, S. 315.
- [87] N. L. Benoiton in E. Gross, J. Meienhofer (Hrsg.): *The Peptides*, Vol. 5, Academic Press, New York 1983, S. 217.
- [88] a) J. P. Tam, R. B. Merrifield in [68], S. 185; b) J. P. Tam in D. H. Schleisinger (Hrsg.): *Macromolecular Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, Alan R. Liss, New York 1988, S. 153.
- [89] Es sollte jedoch erwähnt werden, daß Barton das Konzept der Konformationsübertragung (conformational transmission) eingeführt hatte; er zeigte, daß Substituenten am Ring D von Steroiden die Geschwindigkeit von Aldolkondensationen am C-2 von 3-Ketonen dieser Steroide beeinflussen (vgl. dazu [8]).
- [90] G. N. Ramachandran, V. Sasisekharan, *Adv. Protein Chem.* **23** (1968) 283.
- [91] H. A. Scheraga, *Chem. Rev.* **71** (1971) 195.
- [92] S. M. Bloom, G. D. Fasmna, C. DeLoze, E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **84** (1961) 458.
- [93] M. Goodinan, R. P. Saltman, *Biopolymers* **20** (1981) 1929.
- [94] R. Schwyzer, P. Sieber, B. Gorup, *Chimia* **12** (1958) 90.
- [95] a) C. M. Deber, V. Madison, E. R. Blout, *Acc. Chem. Res.* **9** (1976) 106; b) K. D. Kopple, M. Ohnishi, A. Go, *J. Am. Chem. Soc.* **91** (1969) 4264; c) H. Gerlach, J. A. Owschinnikow, V. Prelog, *Helv. Chim. Acta* **47** (1964) 2294; d) Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov in H. Neurath, R. L. Hill (Hrsg.): *The Cyclic Peptides: Structure, Conformation and Function*, Vol. V, Academic Press, New York 1982, S. 307; Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, *Tetrahedron* **31** (1975) 2209.
- [96] H. Kessler, *Angew. Chem.* **94** (1982) 509; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **21** (1982) 512.
- [97] G. R. Marshall, H. E. Bossard, *Circulation Res.* **30/31 Suppl. II** (1972) 143.
- [98] D. W. Urry, M. Ohnishi, R. Walter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **66** (1970) 111; D. W. Urry, R. Walter, *ibid.* **68** (1971) 956.
- [99] V. J. Hruby, „Conformationally Directed Drug Design“, *ACS Symp. Ser.* **251** (1984) 9–27.
- [100] H. Kessler, W. Bermel, A. Müller in S. Udenfriend, J. Meienhofer (Hrsg.): *The Peptides*, Vol. 7, Academic Press, New York 1985, S. 437.
- [101] S. W. Fesik, R. T. Gampe, Jr., T. F. Holzman, D. A. Egan, R. Edalji, J. R. Luly, R. Simmer, R. Helfrich, V. Kishore, D. H. Rich, *Science (Washington, D. C.)* **250** (1990) 1406.
- [102] G. D. Rose, L. M. Giersch, J. A. Smith, *Adv. Protein Chem.* **1** (1985) 1.
- [103] J. Rizo, M. Dhingra, L. M. Giersch in P. Balram, S. Ramaseshan (Hrsg.), im Druck.
- [104] J. Rudinger, K. Jost, *Experientia* **20** (1964) 570.
- [105] J. Rudinger in E. J. Ariens (Hrsg.): *Drug Design*, Vol. 2, Academic Press, New York 1971, S. 319.
- [106] R. Walter, *Fed. Proc.* **36** (1977) 1872.
- [107] M. Manning, J. Lowbridge, J. Haldar, W. H. Sawyer, *Fed. Proc.* **36** (1977) 1848; W. H. Sawyer, M. Manning, *Annu. Rev. Pharmacol.* **13** (1973) 5; *Atlas of Science*, 1988, S. 252.
- [108] V. J. Hruby in M. Margoulies, F. C. Greenwood (Hrsg.): *Structure-Activity Relationships of Proteins and Polypeptide Hormones*, Excerpta Medica, Amsterdam 1972, S. 458.
- [109] R. Huguenin, R. A. Boissonas, *Helv. Chim. Acta* **49** (1966) 695.
- [110] J. Vavra, A. Machova, V. Holecek, J. H. Cort, M. Zaoral, F. Sorm, *Lancet* **1** (1968) 948.
- [111] M. Manning, L. Balaspiri, M. Acosta, *J. Med. Chem.* **16** (1973) 975.
- [112] D. W. Urry, R. Walter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **68** (1971) 956.
- [113] A. J. Geddes, D. K. Parker, E. D. T. Atkins, E. Beighton, *J. Mol. Biol.* **32** (1968) 343.
- [114] a) W. P. Jencks in G. van Binst (Hrsg.): „Design and Synthesis of Organic Molecules Based on Molecular Recognition“, *Proc. Solvay Conf. Chem.* **18th**, Springer, Berlin 1986, S. 59; b) T. J. Franklin, *Biochem. Pharmacol.* **29** (1980) 853.
- [115] R. Burgus, T. F. Dunn, D. Desiderio, D. Ward, W. Vale, R. Guillemin, *Nature (London)* **26** (1970) 321.
- [116] P. Brazeau, W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. Rivier, R. Guillemin, *Science (Washington, D. C.)* **179** (1973) 77.
- [117] J. Rivier, *J. Am. Chem. Soc.* **96** (1974) 2986.
- [118] J. Boler, F. Enzmann, K. Folkers, C. Y. Bowers, A. V. Schally, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **37** (1969) 705.
- [119] A. W. Schally, A. Arimura, Y. Baba, R. M. G. Nair, H. Matsuo, T. W. Redding, L. Debeljuk, W. F. White, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **43** (1971) 393.
- [120] J. Rivier, J. Spiess, M. Thorner, W. Vale, *Nature (London)* **300** (1982) 276.
- [121] R. Guillemin, P. Brazeau, P. Böhnen, F. Esch, N. Ling, W. B. Wehrenberg, *Science (Washington, D. C.)* **218** (1982) 585.
- [122] W. Vale, J. Spiess, C. Rivier, J. Rivier, *Science (Washington, D. C.)* **213** (1981) 1394.
- [123] Siehe beispielsweise G. Schmidt, *Top. Curr. Chem.* **136** (1986) 109.
- [124] H. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, A. Fothergill, B. A. Morgan, H. R. Morris *Nature (London)* **258** (1975) 577.
- [125] J. Pless, W. Bauer, F. Cardinaux, A. Closse, D. Hauser, R. Huguenin, D. Roemer, H.-H. Buescher, R. C. Hill, *Helv. Chim. Acta* **62** (1979) 398.
- [126] R. C. A. Frederickson, E. L. Smithwick, R. Shuman, K. G. Bemis, *Science (Washington, D. C.)* **211** (1981) 603.
- [127] P. W. Schiller, J. Mimaio, *Nature (London)* **297** (1982) 74; P. W. Schiller, T. M.-D. Nguyen, L. Maziak, C. Lemieux, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127** (1985) 558, und dort zit. Lit.
- [128] H. J. Mosberg, R. Hurst, V. J. Hruby, K. Gec, H. I. Yamamura, J. J. Gallegan, T. F. Burks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80** (1983) 5871.
- [129] J. Meienhofer in M. E. Wolff (Hrsg.): *Burger: Medicinal Chemistry, Part II*, 4. Aufl., Wiley, New York 1979.
- [130] R. H. Unger, *Diabetes* **25** (1976) 36.
- [131] J. Rivier, M. Brown, W. Vale, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **65** (1975) 746.
- [132] R. Chamdrasekaren, A. V. Lakshminarayanan, U. V. Pandya, G. N. Ramachandran, *Biochim. Biophys. Acta* **303** (1973) 14.
- [133] a) D. F. Veber, F. W. Holly, W. J. Palveda, R. F. Nutt, S. J. Bergstrand, M. Torchiana, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75** (1978) 2636; b) D. F. Veber, R. G. Strachan, S. J. Bergstrand, F. W. Holly, C. F. Homnick, R. Hirschmann, *J. Am. Chem. Soc.* **98** (1976) 2367.
- [134] L. A. Holladay, D. Puett, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73** (1976) 1199.
- [135] D. F. Veber, R. Saperstein, R. F. Nutt, R. M. Freidinger, S. F. Brady, P. Curley, D. S. Perlow, W. J. Palveda, C. D. Colton, A. G. Zacchei, D. J. Tocco, D. R. Hoff, R. L. Vandlen, J. E. Gerich, L. Hall, L. Mandarino, E. H. Cordes, P. S. Anderson, R. Hirschmann, *Life Sci.* **34** (1984) 1371.
- [136] a) W. Bauer, U. Briner, W. Doeppner, R. Haller, R. Huguenin, P. Marbach, T. J. Petcher, J. Pless, *Life Sci.* **31** (1982) 1133; b) S. W. J. Lamberts, P. Uitterlinden, L. Verschoor, K. J. van Dongen, E. del Pozo, *N. Engl. J. Med.* **313** (1985) 1576. c) Thr-ol kennzeichnet ein Threonin, dessen Carboxygruppe zum primären Alkohol reduziert ist.
- [137] a) B. E. Evans, M. G. Bock, K. E. Rittle, R. M. DiPardo, W. L. Whitter, D. F. Veber, R. Saperstein, R. F. Nutt, R. M. Freidinger, S. F. Brady, P. Curley, D. S. Perlow, W. J. Palveda, C. D. Colton, A. G. Zacchei, D. J. Tocco, D. R. Hoff, R. L. Vandlen, J. E. Gerich, L. Hall, L. Mandarino, E. H. Cordes, P. S. Anderson, R. Hirschmann, *Life Sci.* **34** (1984) 1371.
- [138] a) B. E. Evans, M. G. Bock, R. M. DiPardo, B. E. Rittle, W. L. Whitter, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *J. Med. Chem.* **32** (1989) 13.
- [139] Y. Furukawa, S. Kishimoto, K. Nishikawa, US-Pat. 4 355 040 (1982).
- [140] J. V. Duncia, A. T. Chiu, D. J. Carini, G. B. Gregory, A. L. Johnson, W. A. Price, G. J. Wells, P. C. Wong, J. C. Calabrese, P. B. M. W. M. Timmermans, *J. Med. Chem.* **33** (1990) 1312.
- [141] D. Biswanath, J. J. Plattner, E. N. Bush, H. Jae, G. Diaz, E. S. Johnson, T. J. Perun, *J. Med. Chem.* **32** (1989) 2036.
- [142] Die ersten Beispiele für die Anwendung des Konzepts der Konformationsfixierung (conformational constraint) auf die Medizinische Chemie der Peptide sind wahrscheinlich die Synthesen von Carba-Analoga des Oxytocins [104] und, genauer, die Synthese des Bisarba-Analogs von SRIF [133b]. Auch für die Synthese der bicyclischen Analoga von SRIF [133a] wurde dieses Konzept als Hilfsmittel angewendet, um bioaktive Konformationen aufzuklären. Die grundlegenden Arbeiten von Freidinger und Veber [vgl. R. M. Freidinger, D. F. Veber, *Science (Washington, D. C.)* **210** (1980) 656] und später von Hrblys Arbeitsgruppe [vgl. T. K. Sawyer, W. L. Cody, J. J. Knittel, V. J. Hruby, M. E. Hadley, M. D. Hirsch, T. L. O'Donohue, *Pept. Struct. Funct. Proc. Am. Pept. Symp. 8th* (1984) 323 und von P. W. Schiller und J. DiMaio, *ibid.*, S. 269] sind ausgezeichnete Beispiele für einen anderen Ansatz zur Konformationsfixierung. Ein sehr frühes Beispiel für die Anwendung der Konformationsfixierung beim Design von Enzym-Inhibitoren ist die Arbeit von Thorsett und Patchett et al. [E. D. Thorsett, E. E. Harris, S. Aster, E. R. Peterson, D. Taub, A. A. Patchett, E. H. Ullm, T. C. Vassil, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **111** (1983) 166].

- [143] A. F. Spatola in B. Weinstein (Hrsg.): *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins*, Marcel Dekker, New York 1983, 267; siehe auch D. B. Sherman, A. F. Spatola, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 433, und dort zit. Lit.
- [144] a) U. Nagai, K. Sato, *Pept. Struct. Funct. Proc. Am. Pept. Symp. 9th 1985*, 465; b) M. Feigl, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 181; c) *Angew. Chem. 101* (1989) 466; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 486.
- [145] D. S. Kemp, W. E. Stites, *Tetrahedron Lett.* 29 (1988) 5057.
- [146] G. L. Olson, M. E. Voss, D. E. Hill, M. Kahn, V. S. Madison, C. M. Cook, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 323.
- [147] M. Kahn, S. Wilke, B. Chen, K. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 1638; M. Kahn, S. Wilke, B. Chen, K. Fujita, Y. Lee, M. E. Johnson, *J. Mol. Recogn.* 1 (1988) 75; M. Kahn, S. Bertenshaw, *Tetrahedron Lett.* 30 (1989) 2317.
- [148] K. C. Nicolaou, J. M. Salvino, K. Raynor, S. Pietranico, T. Reisine, R. M. Freidinger, R. Hirschmann, *Pept. Chem. Struct. Biol. Proc. Am. Pept. Symp. 11th 1989* (1990) 881.
- [149] a) G. L. Olson, H.-C. Cheung, M. E. Voss, D. E. Hill, M. Kahn, V. S. Madison, C. M. Cook, J. Sepinwall, G. Vincent, *Proc. Biotechnol. (USA)*, Conference Management Corporation, Norwalk, CT 1989, S. 348; b) G. L. Olson, persönliche Mitteilung.
- [150] E. J. Corey, *Angew. Chem.* 103 (1991) 479; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30 (1991) 455.
- [151] J. S. Fruton: *Molecules of Life*, Wiley-Interscience, New York 1972.
- [152] J. B. Herrick, *Arch. Intern. Med.* 6 (1910) 517.
- [153] L. Pauling, H. A. Itano, S. J. Linger, J. C. Wells, *Science (Washington, D. C.)* 110 (1949) 543.
- [154] V. M. Ingram, *Nature (London)* 180 (1957) 326.
- [155] A. L. Lehninger: *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers, New York 1982, S. 129.
- [156] E. M. Arnett, N. G. Harvey, P. L. Rose, *Acc. Chem. Res.* 22 (1989) 131.
- [157] L. Pauling, *Am. Sci.* 36 (1948) 51; *Chem. Eng. News* 24 (1946) 1375.
- [158] L. D. Byers, R. Wolfenden, *Biochemistry* 12 (1973) 2070.
- [159] Y. S. Bakble, *Nature (London)* 220 (1968) 919.
- [160] M. A. Ondetti, B. Rubin, D. W. Cushman, *Science (Washington, D. C.)* 196 (1977) 441.
- [161] A. A. Patchett, E. Harris, E. W. Tristram, M. J. Wyvrott, M. T. Wu, D. Taub, E. R. Peterson, T. J. Ikeler, J. ten Broeke, L. G. Payne, D. L. Ondeyka, E. D. Thorsett, W. J. Greenlee, N. S. Lohr, R. D. Hoffsmoer, H. Joshua, W. V. Ruyle, J. W. Rothrock, S. D. Aster, A. L. Maycock, F. W. Robinson, R. Hirschmann, C. S. Sweet, E. H. Ulm, D. M. Gross, T. C. Vassil, C. A. Stone, *Nature (London)* 288 (1980) 280.
- [162] J. Marciniwzyn, J. A. Hartsuck, J. Tang, *J. Biol. Chem.* 251 (1976) 7088.
- [163] G. R. Marshall, *Fed. Proc.* 75 (1976) 2494.
- [164] a) D. H. Rich, E. T. Sun, J. Singh, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 74 (1977) 762; b) D. H. Rich, („Inhibitors of Aspartic Proteinases“) in Barrett, Salversen (Hrsg.): *Proteinase Inhibitors*, Elsevier, Amsterdam 1986, S. 179; c) D. H. Rich, („Peptidase Inhibitors“) in P. G. Sammes, J. B. Taylor (Hrsg.): *Comprehensive Medicinal Chemistry*, Vol. 2, Pergamon, New York 1990 S. 391.
- [165] J. Boger, N. S. Lohr, E. H. Ulm, M. Poe, E. H. Blaine, G. M. Fanelli, T.-Y. Lin, L. S. Payne, T. W. Schorn, B. I. LaMont, T. C. Vassil, I. I. Stabilio, D. F. Veber, D. H. Rich, A. S. Boparai, *Nature (London)* 303 (1983) 81.
- [166] R. B. Silverman, S. J. Hoffman, *Med. Res. Rev.* 4 (1984) 415.
- [167] A. Endo, M. Kuroda, Y. Tsujita, *J. Antibiot.* 29 (1976) 1346.
- [168] a) Sir J. W. Black, *Angew. Chem.* 101 (1989) 910; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 866; b) R. W. Brimblecombe, W. A. M. Duncan, G. J. Durant, J. C. Emmett, C. R. Ganellin, M. E. Parsons, M. E. Parsons, *J. Intern. Med. Res.* 3 (1975) 86.
- [169] B. K. Wasson, W. K. Gibson, R. S. Stuart, H. W. R. Williams, C. H. Yates, *J. Med. Chem.* 15 (1972) 651.
- [170] a) H. J. Schaeffer, L. Beauchamp, P. de Miranda, G. Elion, D. J. Bauer, P. Collins, *Nature (London)* 272 (1978) 583; b) G. B. Elion, *Angew. Chem. 101* (1989) 893; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 870; c) G. H. Hitchings, Jr., *ibid.* 101 (1989) 903 bzw. 28 (1989) 879. d) In diesem Zusammenhang sollte eine weitere Vorstufe eines Medikamentes genannt werden, 3'-Azido-3'-desoxythymidin (AZT), das zuerst von T. S. Lin und W. H. Prusoff an der Yale University synthetisiert wurde [J. Med. Chem. 21 (1978) 109]. AZT ist der erste Inhibitor der Reversen Transkriptase und das erste Medikament gegen AIDS, das durch die FDA zugelassen wurde. Seine Wirksamkeit gegen das AIDS-Virus wurde zuerst in einer Veröffentlichung des NCI, des Duke University Medical Center und der Wellcome Research Laboratories beschrieben [H. Mitsuya, K. J. Weinhold, P. A. Furman, M. H. St. Clair, S. Nusinoff Lehrmann, R. C. Gallo, D. Bolognesi, D. W. Barry, S. Broder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 7096].
- [171] A. Ruegger, M. Kuhn, H. Lichten, H. R. Loosli, R. Huguenin, C. Quique-rez, A. von Wortburg, *Helv. Chim. Acta* 59 (1976) 1075; T. J. Pechter, H.-P. Weber, A. Rüegger, *ibid.* 59 (1976) 1480.
- [172] R. M. Wenger, *Angew. Chem.* 97 (1985) 88; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 77.
- [173] A. Tanaka, A. Kuroda, H. Marusawa, H. Hatanaka, T. Kino, T. Goto, M. Hashimoto, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 5031.
- [174] R. M. Wenger, *Helv. Chim. Acta* 66 (1983) 2308, 2672.
- [175] T. K. Jones, S. G. Mills, R. A. Reamer, D. Askin, R. Desmond, R. P. Volante, J. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 1157.
- [176] R. E. Handschumacher, M. W. Harding, J. Rice, R. Drugge, D. Speicher, *Science (Washington, D. C.)* 226 (1984) 544.
- [177] a) N. Takahashi, T. Hayano, M. Suzuki, *Nature (London)* 337 (1989) 473; b) G. Fischer, B. Wittmann-Liebold, K. Lang, T. Kießhaber, F. X. Schmid, *ibid.* 337 (1989) 476; c) G. Fischer, H. Bang, C. Mech, *Biomed. Biochim. Acta* 43 (1984) 1101.
- [178] a) R. K. Harrison, R. L. Stein, *Biochemistry* 29 (1990) 684; b) R. K. Harrison, C. G. Caldwell, A. Rosegay, D. Melillo, R. L. Stein, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 7062.
- [179] M. K. Rosen, R. F. Standaert, A. Galat, M. Nakatsuka, S. L. Schreiber, *Science (Washington, D. C.)* 248 (1990) 863.
- [180] J. Liu, M. W. Albers, C. Chen, S. L. Schreiber, C. T. Walsh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990) 2304.
- [181] a) J. D. Aebi, D. T. Deyo, C. Q. Sun, D. Guillaume, B. Dunlap, D. H. Rich, *J. Med. Chem.* 33 (1990) 999; b) N. H. Sigal, F. Dumont, P. Durette, J. J. Sickierka, J. Peterson, D. H. Rich, B. E. Dunlap, M. J. Staruch, M. R. Melino, S. L. Koprak, D. Williams, B. Witzel, J. M. Pisano, *J. Exp. Med.* 173 (1991) 619.
- [182] J. J. Sickierka, S. H. Y. Hung, M. Poe, C. S. Lin, N. Sigal, *Nature (London)* 341 (1989) 755.
- [183] a) M. W. Harding, A. Galat, D. E. Uehling, S. L. Schreiber, *Nature (London)* 341 (1989) 758; b) M. K. Rosen, R. F. Standaert, A. Galat, M. Nakatsuka, S. L. Schreiber, *Science (Washington, D. C.)* 248 (1990) 863; c) S. L. Schreiber, *ibid.* 251 (1991) 283, und dort zit. Lit.; d) J. M. Moore, D. A. Peattie, M. J. Fitzgibbon, J. A. Thomson, *Nature (London)* 351 (1991) 248; e) S. W. Michnick, M. K. Rosen, T. J. Wandless, M. Karplus, S. L. Schreiber, *Science (Washington, D. C.)* 252 (1991) 836.
- [184] M. Tropschug, E. Wachter, S. Mayer, E. R. Schoenbrunner, F. X. Schmid, *Nature (London)* 346 (1990) 674.
- [185] a) J. C. Chabalia, H. Mrozik, R. L. Tolman, P. Eskola, A. Lusi, L. H. Peterson, W. C. Campbell, J. R. Egerton, D. A. Ostlind, *J. Med. Chem.* 23 (1980) 1134; b) M. H. Fischer, H. Mrozik in Ömura (Hrsg.): *Macrolide Antibiotics*, Academic Press, New York 1984, S. 553.
- [186] M. Barbacid, *Annu. Rev. Biochem.* 56 (1987) 779.
- [187] P. H. Seeburg, W. W. Colby, D. J. Capon, D. V. Goeddel, A. D. Levinson, *Nature (London)* 312 (1984) 71.
- [188] J. B. Gibbs, I. S. Sigal, M. Poe, E. M. Scolnick, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 (1984) 5704.
- [189] J. P. McGrath, D. J. Capon, D. V. Goeddel, A. D. Levinson, *Nature (London)* 310 (1984) 644.
- [190] J. F. Hancock, A. I. Magee, J. E. Childs, C. J. Marshall, *Cell* 57 (1989) 1167.
- [191] a) P. J. Casey, P. A. Solski, C. J. Der, J. E. Buss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 8323; b) Y. Reiss, S. J. Stradly, L. M. Giersch, M. S. Brown, L. J. Goldstein, *ibid.* 88 (1991) 732.
- [192] C. A. Stein, J. S. Cohen, *Cancer Res.* 48 (1988) 2659.
- [193] A. R. Van der Krol, J. N. M. Mol, A. R. Stuitje, *BioTechniques* 6 (1988) 958.
- [194] a) D. A. Horne, P. D. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 2435; b) M. L. Riordan, J. C. Martin, *Nature (London)* 350 (1991) 442.
- [195] a) P. B. Dervan, *Science (Washington, D. C.)* 232 (1986) 464; b) P. B. Dervan, R. Scott, J. Am. Chem. Soc. 109 (1987) 7564; c) M. G. Oakley, P. B. Dervan, *Science (Washington, D. C.)* 248 (1990) 847.
- [196] L. H. Hurley, *J. Med. Chem.* 32 (1989) 2027.
- [197] R. Henderson, P. N. T. Unwin, *Nature (London)* 257 (1975) 28.
- [198] R. Henderson, J. M. Baldwin, T. A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckman, K. H. Downing, *J. Mol. Biol.* 213 (1990) 899.
- [199] Y. A. Ovchinnikov, N. G. Abdulaev, M. Y. Feigina, I. D. Artamonov, A. S. Zolotarev, M. B. Kostina, A. S. Bogachuk, A. I. Miroshnikov, A. B. Kudelin, *Bioorg. Khim.* 8 (1982) 1011.
- [200] a) P. A. Hargrave, *J. Prog. Retinal Res.* 1 (1982) 1; b) P. A. Hargrave, J. H. McDowell, D. R. Curtis, J. K. Wang, E. Jszczak, S.-L. Fong, J. K. M. Rao, P. Argos, *Biophys. Struct. Mech.* 9 (1983) 235, zit. Lit.; c) P. A. Hargrave, *J. Prog. Retinal Res.* 1 (1982); M. L. Applebury, P. A. Hargrave, *Vision Res.* 26 (1987) 1881.
- [201] a) C. Altenbach, T. Marti, H. G. Khorana, W. L. Hubbell, *Science (Washington, D. C.)* 248 (1990) 1088; b) T. Marinetti, S. Subramaniam, T. Mogi, T. Marti, H. G. Khorana, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 529, 8309; c) T. A. Nakayama, H. G. Khorana, *J. Biol. Chem.* 265 (1990) 15762, und dort zit. Lit.
- [202] G. E. Renk, Y. S. Or, R. K. Crouch, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 6163, und dort zit. Lit.
- [203] V. Balogh-Nair, K. Nakanishi in C. Tamm (Hrsg.): *New Comprehensive Biochemistry*, Vol. 3, Elsevier Biomedical, Amsterdam 1982, S. 283-334.
- [204] R. A. F. Dixon, B. K. Kobilka, D. J. Strader, J. L. Benovic, H. G. Dohleman, T. Frielle, M. A. Bolanowski, C. D. Bennett, E. Rands, R. E. Diehl, R. A. Mumford, E. E. Slater, I. S. Sigal, M. G. Caron, R. J. Lefkowitz, C. D. Strader, *Nature (London)* 321 (1986) 75.
- [205] a) C. D. Strader, I. S. Sigal, R. B. Register, M. R. Candelore, E. Rands, R. A. F. Dixon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 4384; b) C. D. Strader, I. S. Sigal, M. R. Candelore, E. Rands, W. S. Hill, R. A. F. Dixon, *J. Biol. Chem.* 263 (1988) 10267.

- [206] C. D. Strader, M. R. Candelore, W. S. Hill, I. S. Sigal, R. A. F. Dixon, *J. Biol. Chem.* 264 (1989) 13572.
- [207] R. J. Lefkowitz, A. G. Caron, *J. Biol. Chem.* 263 (1988) 4993, und dort zit. Lit.
- [208] M. Rodbel, L. Brinbraumer, S. L. Pohl, H. M. J. Krans, *J. Biol. Chem.* 246 (1971) 1877.
- [209] a) A. G. Gilman, *Cell* 36 (1984) 577; b) *Annu. Rev. Biochem.* 56 (1987) 615; c) M. Freissmuth, P. J. Cassey, A. G. Gilman, *FASEB J.* 3 (1989) 2125.
- [210] a) L. Stryer, H. R. Bourne, *Annu. Rev. Cell. Biol.* 2 (1986) 391; b) H. R. Bourne, D. A. Sanders, F. McCormick, *Nature (London)* 349 (1991) 117.
- [211] Y. Fukada, T. Takao, H. Ohguro, T. Yoshizawa, T. Akino, Y. Shimonishi, *Nature (London)* 346 (1990) 658, und dort zit. Lit.
- [212] B. Roth, *Fed. Proc.* 45 (1986) 2765.
- [213] J. J. Baldwin, G. S. Ponticello, P. S. Anderson, M. E. Christy, M. A. Murcko, W. C. Randall, H. Schwam, M. F. Sugrue, J. P. Springer, P. Gautheron, J. Grove, P. Mallorga, M.-P. Viader, B. M. McKeever, M. A. Navia, *J. Med. Chem.* 32 (1989) 2510, 2548.
- [214] C. R. Beddell, P. J. Goodford, G. Kneen, R. D. White, S. Wilkinson, R. Wootton, *Br. J. Pharmacol.* 82 (1984) 397.
- [215] P. W. Schiller in C. G. Wermuth (Hrsg.): *Medicinal Chemistry for the 21st Century*, IUPAC, Blackwell Scientific Publications, Oxford, im Druck.
- [216] J. R. Knowles, *Nature (London)* 350 (1991) 121.
- [217] R. J. Leatherbarrow, A. R. Fersht, G. Winter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 7840.
- [218] C. D. Strader, M. R. Candelore, W. S. Hill, R. A. F. Dixon, *J. Biol. Chem.* 264 (1989) 16470.
- [219] L. Polgar, M. L. Bender, *J. Am. Chem. Soc.* 88 (1966) 3153; *Biochemistry* 6 (1967) 610.
- [220] K. E. Neet, A. Nanci, D. E. Koshland, *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 6392.
- [221] B. C. Cunningham, J. A. Wells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 3407, zit. Lit.
- [222] B. C. Cunningham, W. G. Mulkerrin, J. A. Wells, *Science (Washington, D. C.)* (1991), im Druck.
- [223] M. Ultsch, A. M. de Vos, M. G. Mulkerin, B. C. Cunningham, J. A. Wells, unveröffentlicht.
- [224] A. M. de Vos, M. Ultsch, A. A. Kossiakoff, unveröffentlicht.
- [225] J. P. Horowitz, J. Chua, M. Noel, *J. Org. Chem.* 29 (1964) 2076; R. P. Glinski, M. S. Kahn, R. L. Kalamas, *ibid.* 38 (1973) 4299; Editorial, *Lancet* 2 (1989) 483.
- [226] a) Siehe beispielsweise M. J. Berridge, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 317 (1987) 525; b) M. J. Berridge in N. A. Thorn, M. Treiman, O. H. Petersen (Hrsg.): *Molecular Mechanisms in Secretion, Alfred Benzon Symposium* 25, Munksgaard, Kopenhagen 1988, S. 117–119; c) M. J. Berridge, P. H. Cobbold, K. S. R. Cuthbertson, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 320 (1988) 325; d) M. J. Berridge, *J. Physiol. (London)* 403 (1988) 589; e) M. J. Berridge, R. F. Irvine, *Nature (London)* 341 (1989) 197.
- [227] a) L. Changya, D. V. Gallagher, R. F. Irvine, B. V. L. Potter, O. H. Peterson, *J. Membrane Biol.* 109 (1989) 85; b) L. Changya, D. V. Gallagher, R. F. Irvine, O. H. Peterson, *FEBS Lett.* 251 (1989) 43; c) R. F. Irvine, R. M. Moor, *Biochem. J.* 240 (1986) 917, und dort zit. Lit.
- [228] R. H. Mitchell, *Biochim. Biophys. Acta* 415 (1975) 81.
- [229] a) Y. Nishizuka, *Science (Washington, D. C.)* 203 (1986) 305; b) *Nature (London)* 334 (1988) 661; c) *Annu. Rev. Biochem.* 58 (1989) 31.
- [230] A. Wollmer, D. Brandenburg, H. P. Vogt, W. Schermutzki, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 355 (1974) 1471.
- [231] J. Markussen, *Int. J. Pept. Protein Res.* 25 (1985) 431.
- [232] J. Markussen: *Human Insulin by Tryptic Transpeptidation of Porcine Insulin and Biosynthetic Precursors*, MTP Press, Norwell, MA 1987.
- [233] Nach Habers und Anfinsens erfolgreichen Rückfaltungsexperimenten in vitro [69] (1961) hat sich das Interesse auf die Proteinfaltung in vivo verlagert [234–236]. Aus grundlegenden Studien von Kauzmann und von Richards leiteten Behe, Lattman und Rose [237] ab, daß bei globulären Proteinen die natürliche Faltung die Packung festlegt, daß aber die Packung nicht die natürliche Faltung bestimmt.
- [234] G. Fischer, F. X. Schmid, *Biochemistry* 29 (1990) 2205.
- [235] R. J. Ellis, *Semin. Cell Biol.* 1 (1990) 1.
- [236] S. J. Landry, L. M. Giersch, *Trends Biochem. Sci.* 16 (1991) 159.
- [237] M. J. Behc, E. E. Lattman, G. D. Rose, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 4195.
- [238] S. Reichlin, *N. Engl. J. Med.* 309 (1983) 1495, 1556.
- [239] S. H. Ferreira, *Brit. J. Pharmacol.* 24 (1965) 163.
- [240] G. D. van Duyn, R. F. Standart, P. A. Karplus, S. L. Schreiber, J. Clarke, *Science (Washington, D. C.)* 252 (1991) 839.

**VCH-Register-Bibliothek**

**VCH**  
**Biblio**

Die elektronische Version des Registers können Sie auf allen MS-DOS-fähigen PCs lesen. Sie wird mit dem Recherche-Modul der bewährten Literaturverwaltung VCH-Biblio vertrieben.

# ANGEWANDTE CHEMIE

Herausgegeben von der Gesellschaft Deutscher Chemiker

## 30-Jahre-Aufsatzzregister – gedruckt und auf Diskette –

Die Aufsätze der Angewandten Chemie gehören zu den meistzitierten Chemieveröffentlichungen eines Jahres, und viele sind Klassiker der Chemicliteratur geworden. Seit dreißig Jahren erscheinen sie zudem auf Deutsch und Englisch. Dieses Jubiläum und der Wunsch, den Zugriff auf diese wichtigen Dokumente der rasanten Entwicklung unseres Fachs zu erleichtern, waren der Auslöser für ein 30-Jahre-Aufsatzzregister. Dieses Register, das zugleich Wörter- und Geschichtsbuch ist, bietet Ihnen:

1. Ein Verzeichnis aller Autoren mit Kennzeichnung der Hauptautoren und Angabe des Aufsatztitels in Englisch.
2. Ein englisches Stichwortregister mit den Hauptautoren als Schlüsselinformation.
3. In beiden Teilregistern die vollständige Information über Erscheinungsjahr sowie erste und letzte Seitenzahl des Aufsatzzes in der deutschen und der englischen Ausgabe.

Die elektronische Version des Registers können Sie auf 5-1/4-Zoll- und 3-1/2-Zoll-Disketten erhalten.

Wenn Sie sofort bestellen, sparen Sie ca. 30%, denn bis zum Jahresende gilt der Subskriptionspreis von DM 68.– (plus Versandkosten). Bestellen Sie bitte telefonisch oder schriftlich bei der Redaktion oder bei VCH, Software und Datenbanken, Postfach 10 11 61, W-6940 Weinheim, Tel. 0 62 01/6 02-271, Telefax 0 62 01/6 02-3 28.