

Peptidmimetica für Rezeptorliganden – Entdeckung, Entwicklung und medizinische Perspektiven

Von Athanassios Giannis* und Thomas Kolter

Als Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Hormone beeinflussen Peptide über rezeptorvermittelte Signaltransduktion eine Vielzahl physiologischer Prozesse. Auch ihre Rolle bei der Entstehung und/oder Unterhaltung von Krankheiten konnte in den letzten zwanzig Jahren eindeutig nachgewiesen werden. Wirkstoffe, die die biologischen Effekte der bioaktiven Peptide imitieren oder blockieren können (Agonisten bzw. Antagonisten), kommen somit als Hilfsmittel zur Untersuchung peptiderger Systeme und als therapeutische Agentien in Betracht. Nach anfänglichen pharmakologischen Studien wurde in der Vergangenheit die Eignung bioaktiver Peptide als therapeutische Hilfsmittel untersucht. Dabei zeigte sich, daß sie aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften, beispielsweise durch ihren Abbau durch Peptidases oder durch ihre schlechte Bioverfügbarkeit, nur in den wenigsten Fällen als Medikamente eingesetzt werden können. Zur Lösung dieser Probleme wurden Peptidmimetica, d.h. Verbindungen, die Peptide in ihrer Interaktion mit Rezeptoren ersetzen können, synthetisiert. Im Vergleich zu den nativen Peptiden zeigen sie erhöhte metabolische Stabilität, bessere Bioverfügbarkeit und größere Wirkungsdauer. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden auch Peptidmimetica mit antagonistischen Eigenschaften entwickelt. Dadurch wurden neue Behandlungs- und Therapieformen für eine Reihe von Erkrankungen möglich. Der Zugang zu Peptidmimetica erfolgt zwar noch weitgehend empirisch (Modifikation der nativen Peptide, Optimierung von Leitstrukturen), doch auch Methoden für ein rationales Design, die unter anderem auf Strukturuntersuchungen der Peptid-Peptidrezeptor-Komplexe oder Konformationsenergiestudien basieren, etablieren sich allmählich.

1. Einleitung

Zahlreiche biologisch aktive Peptide wurden in den letzten 30 Jahren entdeckt und charakterisiert^[1–3]. Viele von ihnen wurden sowohl in neuronalen als auch in nicht-neuronalen Geweben nachgewiesen. Repräsentative Beispiele dafür sind Somatostatin, Substanz P, Cholecystokinin, Endorphine, Enkephaline, Angiotensin II und Endothelin. Als Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Hormone beeinflussen sie nach Bindung an ihre membranständigen Rezeptoren die Zell-Zell-Kommunikation und kontrollieren eine Reihe vitaler Funktionen wie Stoffwechsel, Immunabwehr, Verdauung, Atmung, Schmerzempfindung, Reproduktion, Verhalten, Elektrolythaushalt usw.; deshalb sind sie von enormem medizinischen Interesse. Die Zahl von nativen und modifizierten Peptiden, die als Medikamente eingesetzt werden, nimmt ständig zu, und diese Tendenz dürfte in den nächsten Jahren anhalten^[4].

Aufgrund großer Fortschritte in der Organischen Chemie und der Molekularbiologie^[5] konnten die meisten bioaktiven Peptide in größeren Mengen hergestellt und für pharmakologische und klinische Untersuchungen zur Verfügung gestellt werden. Dadurch wurden in den letzten Jahren nicht nur neue Möglichkeiten zu Behandlung und Therapie einer Reihe von Erkrankungen etabliert, sondern auch Hoffnungen in bezug auf die Therapierbarkeit anderer Krankheiten geweckt, bei denen Peptide eine Rolle spielen. Der Einsatz von Peptiden als Medikamente wird jedoch durch folgende Faktoren eingeschränkt: a) die geringe metabolische Stabi-

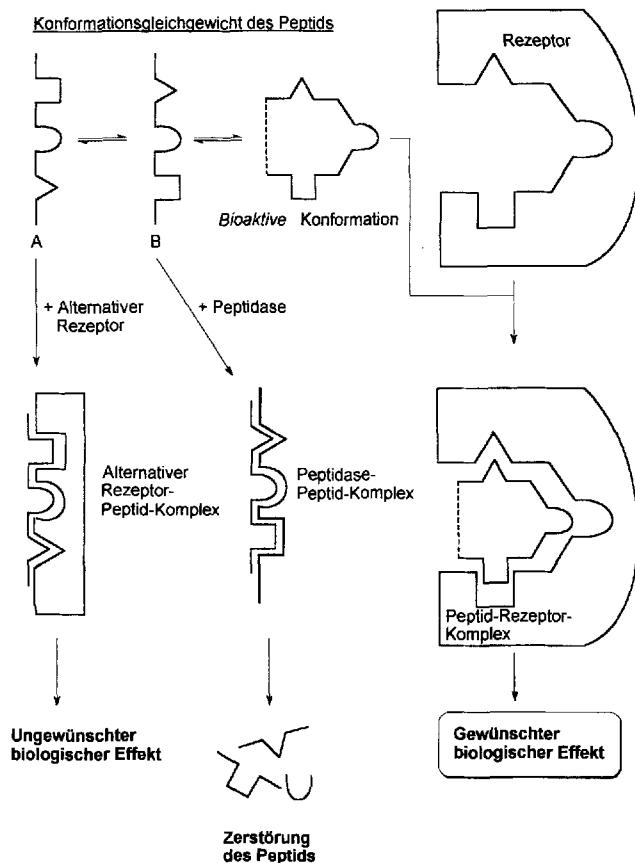


Abb. 1. Peptide liegen in Lösung ungeordnet in einer Vielzahl von Konformationen vor, die sich in einem dynamischen Gleichgewicht befinden. Durch Einführung einer Konformationseinschränkung (gestrichelte Linie) in der bioaktiven Konformation des Peptids können die Formen A und B nicht auftreten, wodurch die Wechselwirkung mit alternativen Rezeptoren und Peptidasen unterdrückt oder vermieden wird. Auf diese Weise kann ein gewünschter biologischer Effekt erzielt werden. Modifiziert nach Lit. [6].

[*] Priv.-Doz. Dr. A. Giannis, Dr. T. Kolter
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Georg-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn
Telefax: Int. + 228/73-5683

tät durch Proteolyse im Magen-Darm-Trakt und im Serum, b) die schlechte Resorption nach oraler Einnahme, vor allem aufgrund der relativ hohen Peptidmolekülmasse und/oder des Fehlens von Transportsystemen, c) die schnelle Ausscheidung durch Leber und Nieren und d) die unerwünschten Wirkungen durch Wechselwirkung der konformativ flexiblen Peptide mit unterschiedlichen Rezeptoren (Abb. 1). Darüberhinaus kann ein bioaktives Peptid seine Wirkung in mehreren Zellarten und Organsystemen entfalten, zumal Peptidrezeptoren und/oder -isorezeptoren in einem Organismus weit verbreitet sein können.

Aus pharmakologischer und medizinischer Sicht ist es häufig erwünscht, nicht nur die Wirkung der Peptide auf Rezeptorebene zu imitieren (Agonismus), sondern auch bei Bedarf den Rezeptor zu blockieren (Antagonismus). Für peptidische Antagonisten gelten dieselben pharmakologischen Überlegungen, wobei hinzukommt, daß ihre Entwicklung in Ermangelung von Leitstrukturen schwieriger ist; bis heute ist nicht eindeutig geklärt, welche Faktoren für die agonistische und welche für die antagonistische Wirkung ausschlaggebend sind^[12].

In den vergangenen Jahren wurde verstärkt versucht, Peptidmimetica^[6–14] zu entwickeln, die günstigere pharmakologische Eigenschaften haben als ihre Vorbilder. Unter einem *Peptidmimeticum* versteht man einen Stoff, der als Ligand eines Rezeptors den biologischen Effekt eines Peptids auf Rezeptorebene imitieren oder blockieren kann^[8, 15]. Als Ligand eines Enzyms kann das Mimeticum als Substrat oder als Inhibitor dienen. Liganden als Enzyminhibitoren werden hier nur in gesonderten Fällen angesprochen. Wir beschränken uns auf Peptidmimetica als Rezeptorliganden, zu denen sowohl Peptid- als auch Nichtpeptidliganden gehören.

2. Entdeckung und Entwicklung von Peptidmimetica

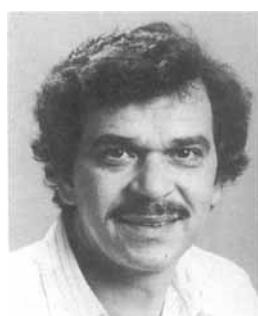
An die pharmakologischen Eigenschaften eines Peptidmimeticums werden primär folgende Erwartungen geknüpft:

a) metabolische Stabilität, b) gute Bioverfügbarkeit, c) hohe Rezeptoraffinität und Rezeptorselektivität sowie d) geringe Nebenwirkungen. Ein Hauptproblem bei der Entwicklung solcher Wirkstoffe ist die Entdeckung einer Leitstruktur, die dann beispielsweise unter Verwendung von Molecular-Modeling-Programmen optimiert werden kann. Außerordentlich hilfreich sind ebenfalls Kenntnisse über die dreidimensionale Struktur des Peptid-Rezeptor-Komplexes, die nachfolgende Signaltransduktion, deren Koordination und Wechselwirkung mit anderen Signaltransduktionssystemen und die Integration im Organismus sowie Kenntnisse über Biosynthese, Transport, Freisetzung und Inaktivierung des Peptids.

Ungeachtet der Art ihrer Wirkung (Neurotransmitter, Neuromodulator, Hormon) haben biologisch aktive Peptide einige Gemeinsamkeiten^[16]: sie werden in den Ribosomen als höhernukleare Formen (Präpro-Formen) synthetisiert. Nach Abspaltung eines N-terminalen Signalpeptids durch Peptidasen entstehen die Pro-Formen. Während des anschließenden vesikulären Transports zum Golgi-Apparat werden sie weiter zu ihren aktiven Formen prozessiert und schließlich zu den intrazellulären Speicherpools transportiert. Aus diesen Pools werden sie nach Stimulation freigesetzt (Exocytose). Die Inaktivierung dieser Peptide erfolgt hauptsächlich durch die Einwirkung von proteolytischen Enzymen (Endo- und Exopeptidasen).

Bei der Charakterisierung der Rezeptoren und bei der Erforschung des Mechanismus der Signaltransduktion sind beachtliche Fortschritte erzielt worden. Dagegen bereiten die Stukturuntersuchungen der Peptid-Rezeptor-Komplexe Schwierigkeiten, wobei der Einsatz neuerer NMR-Techniken hier vielversprechend erscheint^[17b].

Als Leitstruktur für die Entwicklung von *peptidischen* Mimetica dient im Regelfall das native Peptid selbst, dessen pharmakologische Eigenschaften optimiert werden sollen. Mit wenigen Ausnahmen liegen Peptide kleiner bis mittlerer Größe (weniger als 30 bis 50 Aminosäuren) in verdünnter wäßriger Lösung ungeordnet in einer Vielzahl von Konformationen vor, die in einem dynamischen Gleichgewicht sind (siehe Abb. 1). Hat ein Rezeptorligand per se die biologisch



Athanassios Giannis wurde 1954 in Drama, Griechenland, geboren. Von 1972–1980 studierte er Chemie und von 1978–1988 Medizin an der Universität Bonn. Nach einer Diplomarbeit bei Prof. Reetz promovierte er über die Synthese von Glycosiden bei Prof. Sandhoff und habilitierte sich 1992 mit einer Arbeit zur Synthese von chiralen Bausteinen aus D-Glucosaminhydrochlorid und von Inhibitoren des Glycosphingolipid-Stoffwechsels. Zu seinen Forschungsinteressen zählen Aminozucker, -alkohole und -aldehyde sowie biochemische Aspekte der Glykokonjugate, Peptid-aldehyde und -mimetica.



Thomas Kolter wurde 1963 in Bonn geboren und studierte dort Chemie von 1984 bis 1989. In seiner Diplomarbeit bei Prof. K. Sandhoff befaßte er sich mit der chemischen Synthese von Inhibitoren des Sphingolipidstoffwechsels. Anfang 1993 promovierte er bei A. Giannis mit einer Arbeit über chirale Aminoaldehyde und die Synthese von Peptidmimetica. Gegenwärtig arbeitet er im Rahmen des Sonderforschungsbereiches „Glykokonjugate und Kontaktstrukturen der Zelloberfläche“ an der Totalsynthese modifizierter Ganglioside.

aktive, d. h. die rezeptorgebundene Konformation, so ist eine erhöhte Affinität des Liganden zum Rezeptor zu erwarten, da die Entropieabnahme bei der Bindung kleiner ist als bei der Bindung eines flexiblen Liganden. Die biologisch aktive Konformation kann in Lösung, in Abwesenheit des Rezeptors, gering populiert sein und unterscheidet sich häufig von der beispielsweise im festen Zustand durch Röntgenstrukturanalyse ermittelten Konformation^[17].

Eine allgemein anwendbare und bisher erfolgreiche Methode zur Entwicklung von Peptidmimetica besteht darin, konformativ fixierte Analoga herzustellen, die die rezeptorgebundene Peptidkonformation des endogenen Liganden möglichst genau imitieren^[6, 14, 18, 19]. Die unmittelbare Folge des Einsatzes solcher Konformations-Analoga ist zum einen eine erhöhte Proteaseresistenz, d. h. die metabolische Stabilität erhöht sich, zum anderen eine erhöhte Selektivität und damit geringere Nebenwirkungen^[6]. Als günstig für diesen methodischen Zugang erweist sich der Umstand, daß an der Erkennung des Liganden durch den Rezeptor oft nur eine geringe Zahl von etwa vier bis acht Aminosäureseitenketten des Peptids beteiligt sind^[9, 17a]. In solchen Fällen dient das restliche Molekülgerüst dazu, die pharmakophoren Gruppen in einer bestimmten räumlichen Anordnung zu fixieren. Darüber hinaus kann in diesem Teil des Peptids, der an der Wechselwirkung zwischen dem Liganden und dem Rezeptor nicht direkt beteiligt ist, zusätzliche Bindungsaffinität zu anderen Rezeptortypen (eine „Adresse“) oder zu einer Phasengrenzfläche (der Plasmamembran) lokalisiert sein. Auch die Halbwertzeit des Liganden kann durch das Vorliegen von Spaltstellen für Proteasen in diesem Molekülbereich kontrolliert sein. Wird die Struktur des Liganden durch das Entfernen oder Modifizieren dieses Molekülteils vereinfacht, resultiert daraus gleichzeitig eine erhöhte Proteaseresistenz durch den Wegfall von Spaltstellen. Die Resistenz gegenüber Amino- und Carboxypeptidasen kann unabhängig davon erhöht werden, indem man den N-Terminus acyliert und den C-Terminus amidiert.

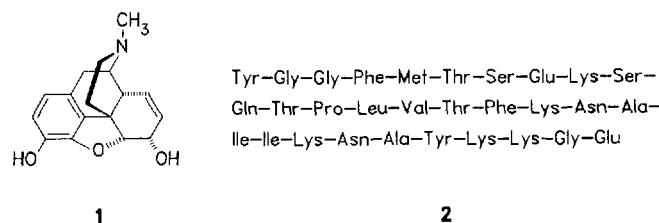
Ein wichtiger Schritt bei der Entwicklung von konformativ eingeschränkten Peptidliganden besteht darin, die für die Rezeptorerkennung erforderlichen Aminosäureseitenketten zu identifizieren. Dazu wird durch die Synthese verkürzter Analoga die für die biologische Aktivität erforderliche Minimalsequenz und durch systematische Veränderung der einzelnen Aminosäuren die Bedeutung von Parametern wie Stereochemie, Ladung, Hydrophilie usw. ermittelt. Dann werden starre Konformationen erzeugt und durch Studien der Konformations-Aktivitäts-Beziehungen die aktivsten Strukturen gesucht. Diese mehr oder weniger empirische Vorgehensweise ist zeitraubend und unwirtschaftlich. Neue Techniken, die die kontrollierte Synthese einer großen Vielfalt von Peptiden (Peptidbibliotheken = Peptid Libraries) und die sorgfältige Prüfung der Rezeptorbinding ermöglichen, sind vielversprechend^[20, 21]. Die Hoffnung, auf diese Weise sowohl neue Leitstrukturen zu entdecken als auch diese bezüglich ihrer pharmakologischen Eigenschaften zu optimieren, scheint gerechtfertigt.

Die unbefriedigende Bioverfügbarkeit peptidischer Wirkstoffe kann ihren therapeutischen Einsatz erschweren oder verhindern. Ein allgemein anwendbares Konzept zur Überwindung dieser Schwierigkeit steht noch aus. Ungeachtet der Fortschritte auf diesem Gebiet^[22], „it is ironic that, with exception of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibi-

tors and cholecystokinin antagonists (CCK), medicinal chemists have been unable to harness the profound pharmacologic effects of peptides by the discovery of bioavailable analogues“^[8]. Berücksichtigt man zusätzlich, daß die Applikation peptidischer Wirkstoffe immunologische Reaktionen hervorrufen kann^[23], so erscheint die Entwicklung niedermolekularer Nichtpeptidliganden als zwingend notwendig.

Das Design von *Nichtpeptidliganden* steht noch am Anfang: die Entdeckung von Leitstrukturen in umfangreichen Screenings ist hierbei essentiell. Dazu werden Substanzsammlungen (compound libraries) und einzelne Verbindungen, meist aus dem Naturstoffbereich, auf ihre biologische Aktivität untersucht. Häufig sind diese Substanzen bereits konformativ eingeschränkte Analoga von Peptiden, die die für die Rezeptorerkennung erforderliche Merkmale aufweisen. Anschließend wird die Struktur hinsichtlich Rezeptoraffinität, Selektivität und anderer pharmakologischer Eigenschaften optimiert. Als Beispiel für eine Leitstruktur, die durch umfangreiches Screening im Rahmen eines Programms zur Entwicklung von Cholecystokininantagonisten entdeckt und dann optimiert wurde, sei hier der Pilzmetabolit Asperlicin erwähnt (siehe Abschnitt 4.5).

Das klassische Beispiel für Nichtpeptidliganden sind Opioidalkaloide, die sich als Mimetica endogener Peptide erwiesen. So imitiert beispielsweise Morphin **1** den Effekt des aus 31 Aminosäure bestehenden β -Endorphins **2** (eines endogenen Opioids) an einer für beide Verbindungen gleichen



Erkennungsstelle am Rezeptor. Gerade dieses Beispiel zeigt eindeutig, daß es möglich ist, ein relativ großes Peptid durch eine niedermolekulare Verbindung zu ersetzen. Neben Morphin gibt es eine Reihe weiterer Wirkstoffe, deren peptidmimetischer Charakter erst im nachhinein nachgewiesen wurde (siehe Abschnitte 4 und 5).

Im folgenden Abschnitt werden etablierte Methoden besprochen, die für das Design von Peptidmimetica zur Verfügung stehen. Ausgewählte Beispiele für Peptidmimetica (sowohl peptidischer als auch nichtpeptidischer Natur) einschließlich der Möglichkeiten ihres therapeutischen Einsatzes sowie biologische und biochemische Aspekte der endogenen Peptide sind Gegenstand des vierten Abschnitts.

3. Strategien zur Synthese von Peptidmimetica

3.1. Modifikation von Aminosäuren

Zahlreiche Möglichkeiten zur Synthese von konformativ eingeschränkten und/oder metabolisch stabilen Peptidmimetica bestehen auf der Ebene der Aminosäuren. So ist der systematische Austausch einzelner Aminosäuren durch α -C-alkylierte, α -N-alkylierte und durch D-Aminosäuren üblich. Darüber hinaus können auch α, β -ungesättigte, cyclische und

β -Aminosäuren sowie Aminosäuren mit sterisch anspruchsvollen Seitenketten eingeführt werden. Die Effekte solcher Substitutionen auf die konformativen Parameter Φ , Ψ , χ und ω (zur Definition siehe^[24] und Abb. 2) sowie auf die biologi-

zeptor bei vernachlässigbarer Freisetzung von Histamin (Verbindung 125). Eine neue enantioselektive Synthese von (*S*)-4 sowie weiterer α -Aminosäuren von allgemeiner Anwendbarkeit wurde jüngst von Corey et al. beschrieben^[27]. Verbindung 4 sowie andere Phe-Analoga sind auch durch Alkylierung chiraler Imidazolidinone in optisch reiner Form erhältlich^[28].

Tetrahydroisochinolinicarbonsäure 6 (Tic) ist ein Phenylalanin-Analogon, bei dem die Diederwinkel χ nur einen eng begrenzten Bereich an Werten annehmen können. Die Vorezungskonformation und damit die Topologie der Seitenkette hängt davon ab, ob Tic N-terminal ($\chi = +60^\circ$ für *D*-Tic) oder N-acyliert ($\chi = -60^\circ$ für *D*-Tic) in einem Peptid vorliegt^[29]. *D*-Tic ist Bestandteil verschiedener Opoidantagonisten mit hoher Selektivität gegenüber dem μ -Rezeptor^[30]. Tic sowie andere Phe-Analoga wurden in ein cyclisches Opoid-Peptid-Analogon eingebaut und die jeweiligen Effekte auf Konformation und Selektivität des Rezeptors untersucht^[31].

Auch eine asymmetrische Synthese der vier stereoisomeren α,β -Dimethyllderivate von Phe und Tic^[32] auf der Basis der Imidazolidinon-Methode von Seebach et al.^[33] ist verfügbar. Das in 3-Position substituierte Prolin 7 wurde in racemischer Form synthetisiert und die *trans*-Derivate enantiomerenrein nach Racematspaltung erhalten^[34]. Das entsprechende 3-Propylderivat wurde als Norleucin-Analogon in ein C-terminales Tetrapeptid von Cholecystokinin (CCK) inkorporiert, das höhere Affinität zum zentralen CCK-Rezeptor zeigte als Boc-CCK selbst^[35]. Das Lactam 8 ist auch ein Phe-Analogon^[36], das Lactam 9 ein C-terminales Phenylalaninamid-Analogon^[37].

Das 4-Methyl-substituierte Prolinderivat 10 und Verbindung 11 sind konformativ eingeschränkte Analoga von Leucin^[38] bzw. Tryptophan (die Struktur der Aminosäuren ist hervorgehoben, die Stereochemie von 10 und 11 ist nicht dargestellt). Ein neuer Zugang zu C-alkylierten Peptiden

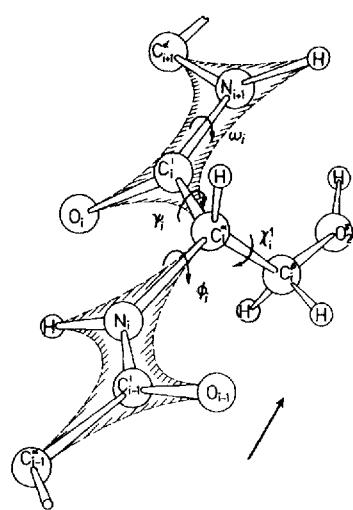
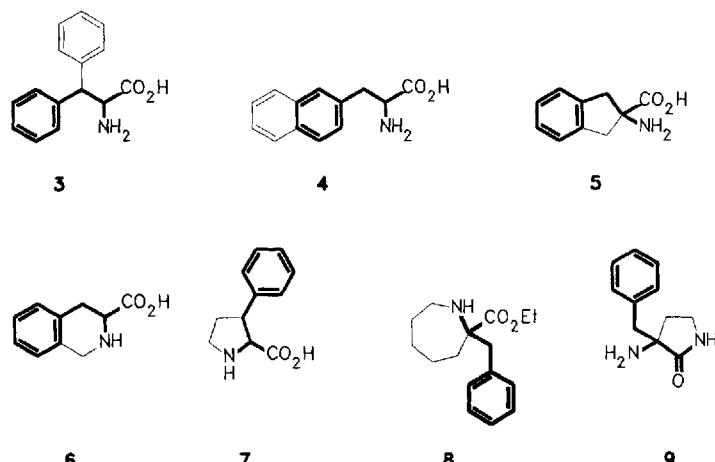


Abb. 2. Definition der Diederwinkel ϕ , ψ , χ , ω eines Peptids [24 b].

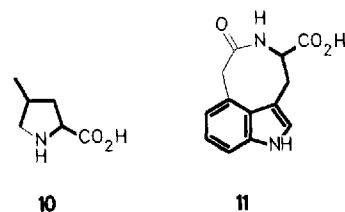
sche Aktivität der resultierenden Peptide wurden in Übersichten zusammengefaßt^[7a, 10], so daß an dieser Stelle nur exemplarisch auf Struktur und Synthesemöglichkeiten einzelner Verbindungen eingegangen wird.

Schema 1 zeigt die Struktur einiger Analoga der Aminosäure Phenylalanin (Phe). Die Zahl der möglichen Konfor-



Schema 1. Sterisch anspruchsvolle und konformativ fixierte Analoga der Aminosäure Phenylalanin, deren Struktur in den Formeln hervorgehoben ist. Die Stereochemie der chiralen Verbindungen ist nicht dargestellt.

mationen wird durch Einführung sterisch anspruchsvoller Gruppen (3 und 4) oder rigider Überbrückungen eingeschränkt. 3 und 5 sind Bestandteil potenter Liganden des Angiotensin-II-Rezeptors mit agonistischer bzw. antagonistischer Aktivität^[25]. Ein einfacher präparativer Zugang zu Indanaminocarbonsäure 5 und zu verwandten Verbindungen gelingt durch Alkylierung des Benzylidenderivats von Glycinethylester mit geeigneten Elektrophilen^[26]. Gonadotropin-Releasing-Hormon(GnRH)-Antagonisten, die neben anderen nicht natürlich vorkommenden Aminosäuren 2-Naphthylalanin 4 enthalten, zeigen hohe Affinität zum Re-

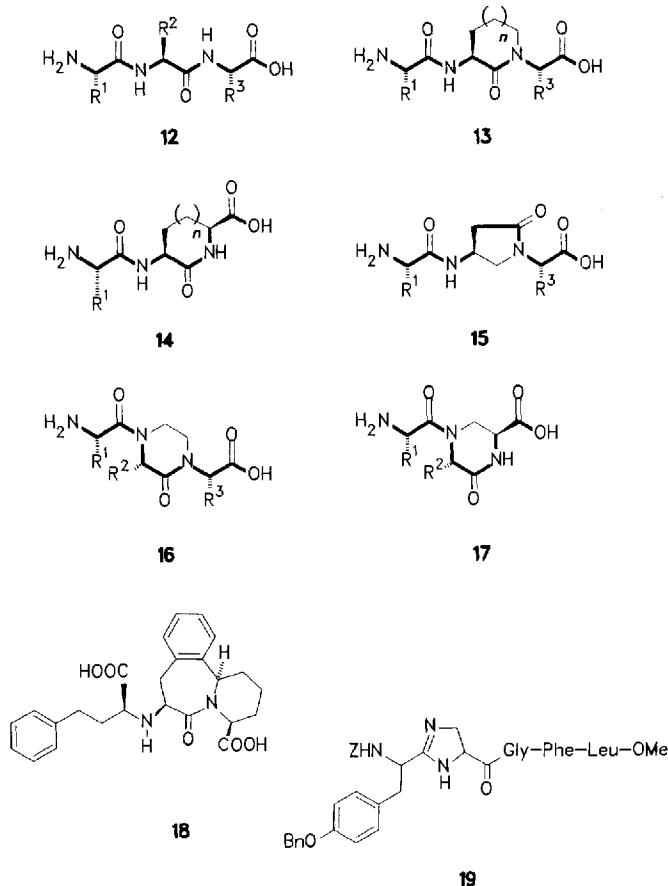


wurde von Seebach et al. beschrieben^[40]: die Alkylierung von polydeprotonierten *N*-Boc-geschützten Oligopeptiden gelingt regio- und stereoselektiv an Glycin- und Sarksosinresten ohne Racemisierung.

3.2. Dipeptid-Analoga

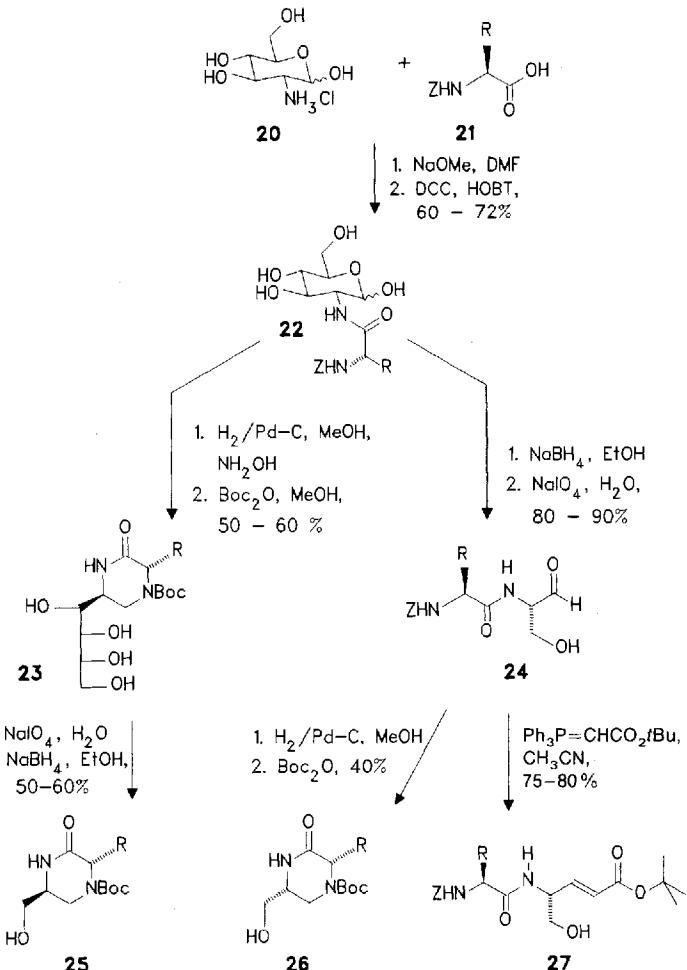
Durch Verbrückung zweier benachbarter Aminosäuren eines Peptids entsteht ein Dipeptidmimeticum, dessen konformative Flexibilität im Vergleich zu regulären Dipeptiden eingeschränkt ist. Einige Möglichkeiten einer solchen Verbrückung werden mit den Strukturmodifikationen an Peptid 12 – Einbau von Lactamen (\rightarrow 13–15) und von Piperazinen (\rightarrow 16, 17) – gezeigt. γ - und δ -Lactame^[41] vom Typ 13

wurden teilweise als „Turnmimetica“ konzipiert; in mehreren Fällen führte der Einbau solcher Strukturen in Peptide zu biologisch aktiven Verbindungen. Auch Synthesen, in denen Seitenketten eingebaut werden können, wurden beschrieben. Durch Verkleinerung oder Vergrößerung des Lac-



tamrings, Einbau von Heteroatomen^[42] oder durch Benzokondensation konnte die strukturelle Vielfalt der Verbindungen vom Typ 13 erweitert werden. Auch Verbindung 18^[43], der derzeit potenteste Inhibitor des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE), gehört zu dieser Kategorie (Typ 13, $n = 2$). Zu den Dipeptidmimetica gehören auch Lactame vom Typ 14 ($n = 1$)^[44] sowie die Verbindungen 29 und 30, bei denen in einem acht- bzw. siebengliedrigen Ring zwei benachbarte Methylenegruppen formal durch Schwefelatome bzw. durch benzokondensierte Methingruppen ersetzt wurden. Ein Lactamderivat 15 wurde ausgehend von der Beobachtung konzipiert^[45], daß ein entsprechendes Aspartimid, das als Artefakt bei einer Peptidsynthese auftrat, zu einem Octapeptidderivat des menschlichen Wachstumshormons (human growth hormone, hGH) mit biologischer Aktivität führt^[46]. Der Einbau des Lactams vom Typ 15, das als Racemat anfiel, führte zu einem biologisch aktiven hGH-Analogen.

Unterschiedlich substituierte 2-Oxopiperazine wie 16 und 17 sind Bestandteil von Leu-Enkephalin-Analoga^[47]. Eines der Piperazinone 16 ist Bestandteil der Struktur von Verbindung 91, einem selektiven Antagonisten des Neurokinin(NK)-2-Rezeptors. Eine Synthese geeigneter substituierter 2-Oxopiperazine als Vorläufer von Verbindungen des Typs 17 ist in Schema 2 dargestellt^[48]. Die Konfiguration der Chiralitätszentren wird durch die Edukte und die Reaktionsfüh-



Schema 2. Synthese chiraler 2-Oxopiperazine vom Typ 17. Die Stereochemie der Produkte 25 und 26 wird durch die Edukte und die Reaktionsführung eingestellt. 27 ist ein Dipeptid-Analogon mit C-terminaler vinyloger Aminosäure; R = Benzyl, Isopropyl, Methyl. DMF = Dimethylformamid, DCC = Dicyclohexylcarbodiimid, HOBT = Hydroxybenztriazol, Boc = *tert*-Butoxycarbonyl, Z = Benzyloxycarbonyl.

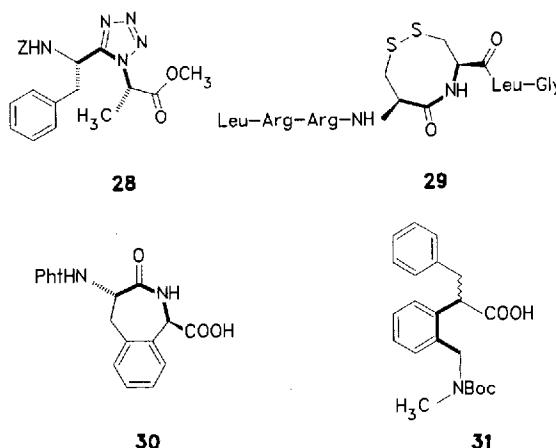
rung eingestellt. Weitere Synthesen chiraler Piperazinone sind in Lit.^[49] zusammengestellt.

Eine andere Möglichkeit, zwei benachbarte Aminosäuren zu verbrücken, zeigt beispielsweise das Imidazolin 19^[50] (Überbrückung entlang des ursprünglichen Amidsauerstoffatoms).

3.2.1. Analoga für Dipeptide mit *cis*-Konfiguration an der Amidbindung

Der partielle Doppelbindungscharakter der Amidbindung führt zu *E/Z*-Isomeren, wobei in Peptiden üblicherweise nur die um etwa 8 kJ mol^{-1} stabilere *trans*-Konfiguration gefunden wird. Eine Ausnahme bilden Peptide mit Peptidylprolin- und Peptidyl-N-alkylaminosäure-Einheiten, bei denen auch die *cis*-Konfiguration an der C-N-Bindung nennenswert populiert sein kann^[51]. Amidbindungen mit *cis*-Konfiguration, an denen keine Iminosäuren beteiligt sind, wurden z.B. in cyclischen Peptiden^[52] und in der durch Bindung an eine Modellmembran induzierten Konformation eines linearen Peptids^[53] gefunden. Auch β -Turns können Amidbindungen mit *cis*-Anordnung enthalten^[54]. Um „*cis*-Amidbindungen“ zu simulieren, die möglicherweise in der biologisch aktiven Konformation eines Peptids enthalten sein können, wurden entsprechende Dipeptidanaloga synthetisiert. Bei-

spiele dafür sind die Verbindungen **28**^[55], **29**^[56], **30**^[57] und **31**^[58], wobei **31** nach Einbau in ein cyclisches Hexapeptid-Analogon von Somatostatin zu einer biologisch aktiven Verbindung führte. Ob sich das Konzept der *cis*-Amid-Mimetica in der Praxis bewährt, bleibt abzuwarten.

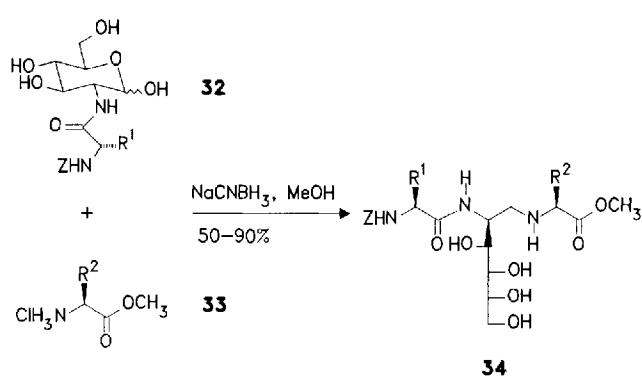


3.3. Modifikationen des Peptidrückgrats

Durch Modifikationen des Peptidrückgrats wird in erster Linie die biologische Halbwertszeit gegenüber den Stammverbindungen erhöht und erst in zweiter Linie, wenn überhaupt, Konformationseinschränkung erreicht.

3.3.1. Isosterer Austausch der Amidbindung

Der Austausch einer Amidbindung durch ein geeignetes Mimeticum^[59] war insbesondere für die Entwicklung von Enzyminhibitoren von Bedeutung. Auf dem Gebiet der Rezeptorliganden war dieses Konzept bisher weniger erfolgreich. Beispiel dafür, daß ein Ligand auch nach Austausch einer Amidbindung durch eine isostere Gruppe biologisch aktiv sein kann, sind das [Tyr¹-(E)-CH=CH-Gly²]-Leu-Enkephalin^[60] und das [Phe⁸-(E)-CF=CH-Gly⁹]-Substanz-P-Analogen^[61]. Die Tatsache, daß ein Austausch durch (CH₂NH) zur Entwicklung eines Gastrin-^[62] und Bombesinantagonisten^[63] geführt hat, könnte einen Weg zur Entwicklung von Antagonisten weisen. Das CH₂NH-Isoster unterscheidet sich vor allem in seinen elektronischen Eigenschaften von der Verbindung mit Amidbindung und läßt sich aus dieser Reduktion mit LiBH₄/(CH₃)₃SiCl^[64, 67] gewinnen. Eine weitere Möglichkeit der Herstellung ist die reduktive Aminierung geeigneter geschützter α -Aminoaldehyde mit Aminosäurederivaten^[65], wobei die Aldehydkomponente racemisieren kann. Schema 3 zeigt ein Beispiel für die racemisierungsfreie Synthese eines solchen Derivats^[66]. In einer kürzlich erschienenen Arbeit^[67] wurden Amidsurrogate in einen CCK-B-Rezeptorliganden eingebaut und der Einfluß der unterschiedlichen Strukturen systematisch analysiert und quantifiziert. Eine exakte Imitation der Amidbindung hinsichtlich Lipophilie, Geometrie und Wasserstoffbrückendonor- oder -acceptoreigenschaften korreliert nicht mit der gemessenen Rezeptoraffinität. Offenbar sind andere als die untersuchten Parameter, möglicherweise konformative Ef-

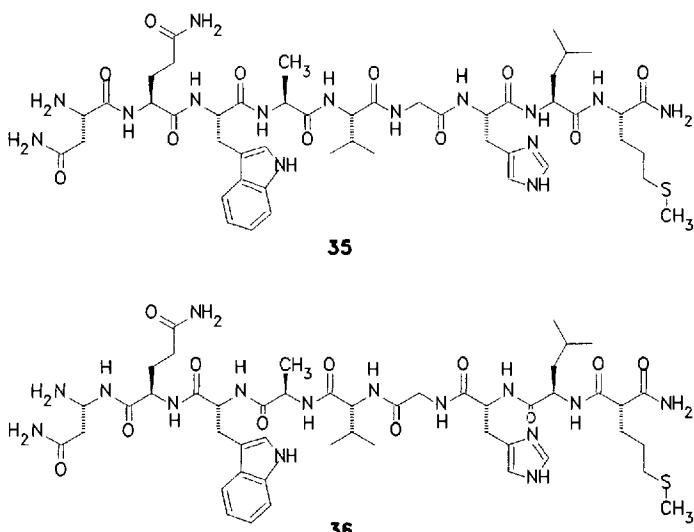


Schema 3. Racemisierungsfreie Synthese eines aminomethylenisosteren Peptiderivats; R¹ = Benzyl, *para*-Hydroxybenzyl, R² = Methyl.

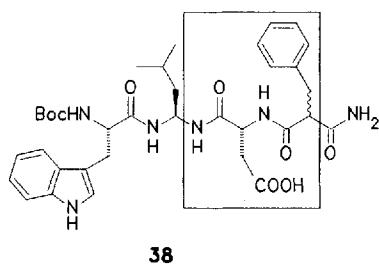
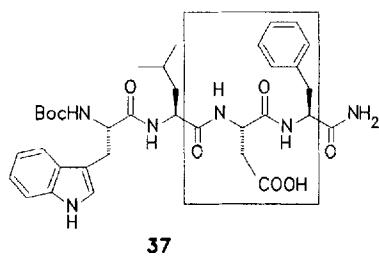
fekte, dafür verantwortlich, daß eine überzeugende Imitation der Amidbindung im Grundzustand noch nicht gelungen ist.

3.3.2. Retro-inverso-Isomere

Eine weitere Möglichkeit, das Peptidrückgrat zu verändern, besteht in der Verwendung von Retro-inverso-Modifikationen^[68]. Darin sind die üblicherweise vorliegenden L-Aminosäuren eines Peptids durch D-Aminosäuren ausgetauscht und gleichzeitig die Richtung des Peptids umgekehrt worden. Zum einen wird dabei mit der Ausnahme von Prolinresten die Topologie der Seitenketten weitgehend beibehalten, zum anderen sind solche Strukturen keine Substrate mehr für Proteasen. Die Retro-inverso-Modifikation selbst beinhaltet noch keine konformative Restriktion gegenüber dem nativen Peptid. Ein Problem besteht darin, daß bei nichtcyclischen Peptiden die Endgruppen und damit auch deren Ladung nicht komplementär zu denen des nativen Peptids sind und entweder durch Einführung „falscher“ Enden ersetzt werden müssen oder aber die Retro-inverso-Struktur in ein größeres Peptid inkorporiert werden muß. Beispiele dafür zeigen die Schemata 4^[71] und 5^[69]. Ein neu-



Schema 4. Das C-terminale Nonapeptid **35** mit voller Agonistaktivität von Bombesin (vgl. **102**) und das endgruppenmodifizierte Retro-inverso-Isomer **36** ohne Affinität zum Rezeptor.

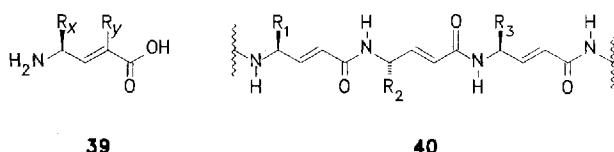


Schema 5. Das C-terminale *N*-Boc-Tetrapeptid von Gastrin **37** und das partielle Retro-inverso-Isomer **38**, das ein Antagonist des Gastrinrezeptors ist.

eres Beispiel zur Synthese einer solchen Verbindung enthält Lit.^[70]. Die geringe Zahl der Retro-inverso-Derivate^[71], die tatsächlich eine vergleichbare Aktivität wie die Stammverbindung zeigen, deutet darauf hin, daß auch das Peptidrückgrat für die Rezeptorerkennung von Bedeutung ist oder daß doch Unterschiede in der Topologie^[72] beider Verbindungs klassen bestehen.

3.3.3. Weitere Modifikationen des Peptidrückgrats

In einer kürzlich erschienenen Arbeit^[73] konnte gezeigt werden, daß Peptide, die anstelle von „normalen“ Aminosäuren vinyloge Aminosäuren **39** enthalten, reich an Sekundärstrukturmerkmale sind. Peptide wie **40**, sind konzeptionell

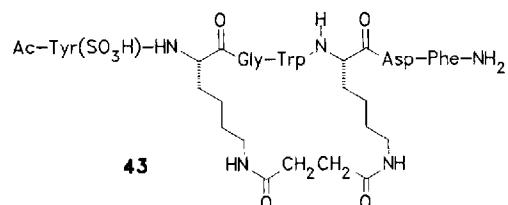
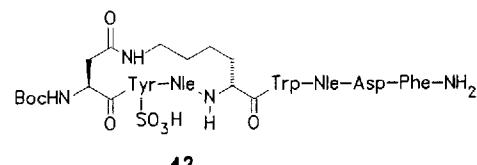
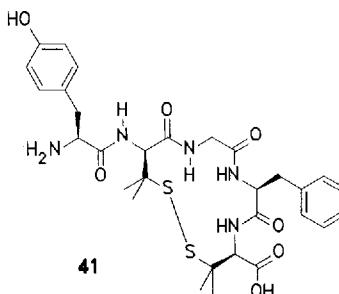


mit Hexose-DNA verwandt und können die Entwicklung peptidähnlicher Substanzen mit modifiziertem Rückgrat initiieren. Ein neuer Zugang zu vinylogen Peptiden vom Typ **27** über die chemisch und konfigurativ stabilen Dipeptidaldehyde **24** ist in Schema 2 enthalten^[48b].

3.4. Globale Einschränkungen der Konformation

Globale^[10] Einschränkungen der Konformation eines Peptids können dadurch erreicht werden, daß die Flexibilität des Peptidfadens durch Cyclisierung eingeschränkt wird. Dazu werden Aminosäureseitenketten, die an der Rezeptor erkennung nicht beteiligt sind, miteinander oder mit dem Peptidgerüst verknüpft. Drei repräsentative Beispiele dafür sind die Verbindungen **41–43**: durch eine Disulfidbrücke zwischen zwei Penicillaminresten, einer Amidbindung zwischen einem Lysin- und einem Asparaginsäurerest oder

durch die Überbrückung zweier Lysinreste durch eine Succinateinheit werden Teilstrukturen der jeweiligen Peptide zu Ringen geschlossen.



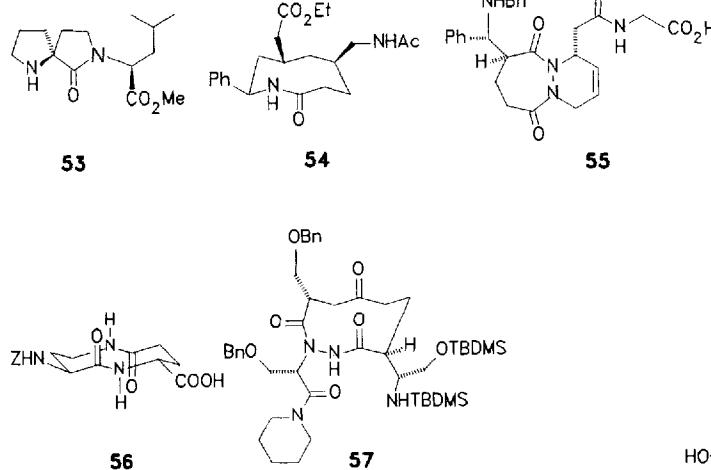
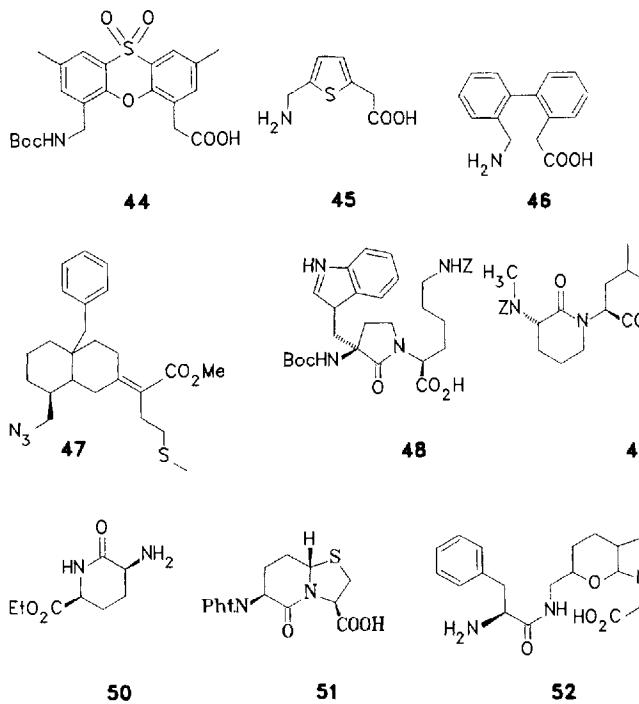
Verbindung **41** ist ein cyclisches Enkephalin-Analogon mit Selektivität für den δ -Opiatrezzeptor^[74]; BC 197 **42**^[75] und JMV 30 **43**^[76] ($IC_{50}^{[*]} = 1.3 \text{ nm}$, 10 000fach selektiv gegenüber dem Cholecystokinin-A-Rezeptor) sind Agonisten des vorwiegend im Gehirn vorkommenden Cholecystokinin-B-Rezeptors.

3.5. Imitation von Sekundärstrukturen: β -Turns

Ein entscheidender Nachteil der bisher erwähnten Methoden besteht darin, daß die resultierende Konformation nicht vorhersagbar ist, so daß jedes hergestellte Derivat biophysikalisch bezüglich der Aufstellung von Konformations-Aktivitäts-Beziehungen untersucht werden muß. Aus diesem Grund ist es wünschenswert, über Methoden zu verfügen, mit denen gezielt eine bestimmte Konformation induzierbar ist. Zahlreiche Versuche zur Konzeption und Synthese von Sekundärstrukturmimetica wurden unternommen. Unter einem Sekundärstrukturmimeticum versteht man einen Baustein, der nach Einfügen in ein Peptid eine definierte Sekundärstruktur erzwingt. Die Anforderungen an ein derartiges Konformationsmimeticum sind folgende: die gewünschte Konformation soll möglichst genau imitiert werden, und die Synthesemethode soll die Einführung beliebiger Seitenketten ermöglichen. Darüber hinaus sind Gesichtspunkte wie die Stabilität unter den Bedingungen der Peptidsynthese und Schutzgruppenabspaltung zu berücksichtigen.

Unter einem β -Turn versteht man ein Segment aus vier Aminosäuren (i bis $i + 3$), das auftritt, wenn ein Peptid-

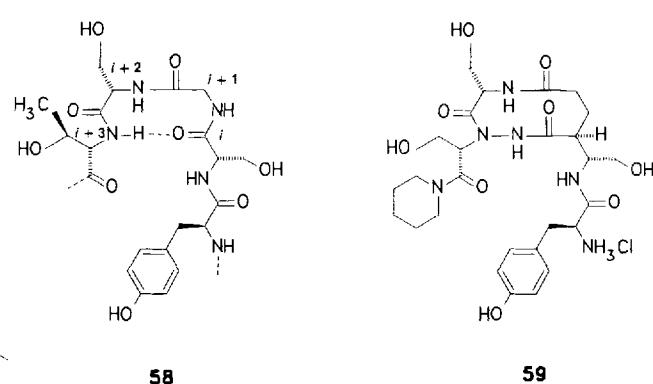
[*] IC_{50} ist die Konzentration eines Antagonisten, bei der die maximale Wirkung des Agonisten um 50 % herabgesetzt wird.



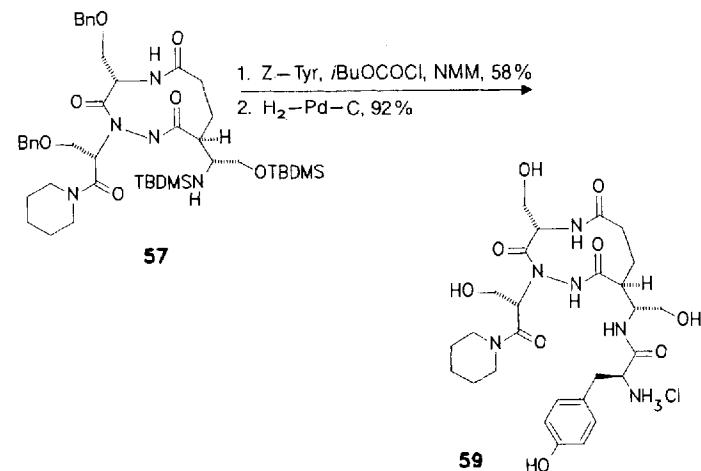
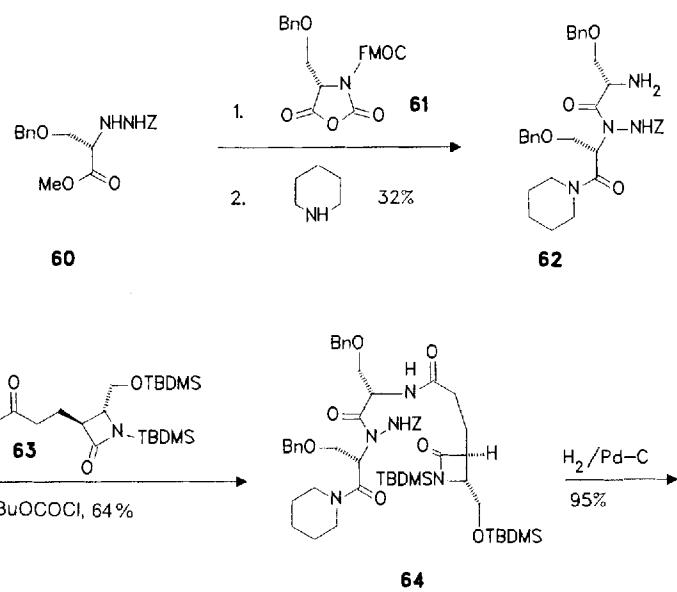
Schema 6. Auswahl von β -Turn-Mimetica: 44 [78], 45 [79], 46 [80], 47 [81], 48 [82], 49 [83], 50 [84], 51 [85], 52 [86], 53 [87], 54 [88], 55 [89], 56 [90] und 57 (vgl. Schema 7).

wenn auch in geringerem Umfang, in Peptiden gefunden und durch entsprechende Mimetica nachgeahmt^[77].

Schema 6 zeigt eine Auswahl an Verbindungen, die als β -Turn-Mimetica konzipiert und synthetisiert wurden^[11]. Die Mehrzahl dieser Verbindungen erwies sich nach dem Einbau in Modellpeptide als biologisch inaktiv. Verbindung 59 (Schema 7)^[91] imitiert einen β -Turn in der Sequenz Tyr-

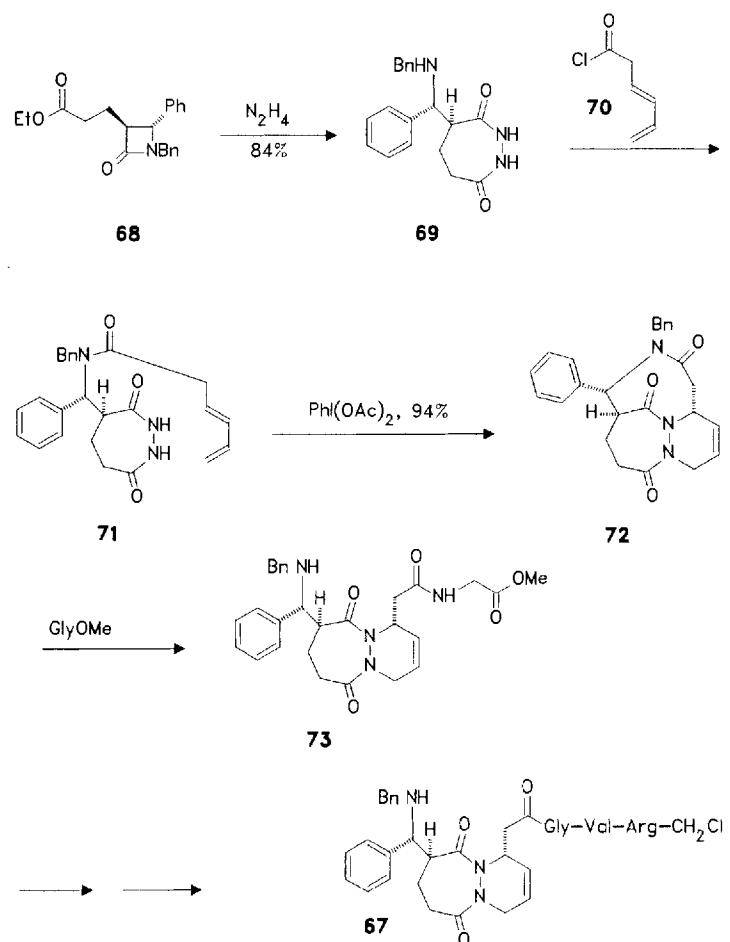
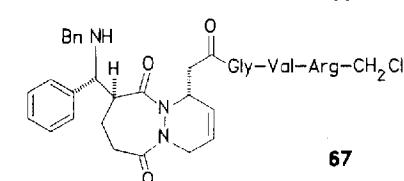
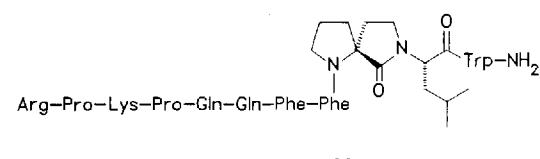
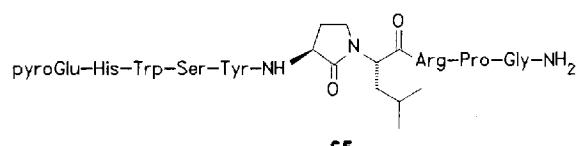


Schema 7. Ausschnitt 58 aus der hypervariablen Region eines monoklonalen Antikörpers gegen den Reovirus-Typ-3-Rezeptor (Reo 3 R). Dargestellt ist die Sequenz Tyr-Ser-Gly-Ser-Thr mit den an einem β -Turn partizipierenden Aminosäuren i bis $i + 3$. Verbindung 59 ist ein niedermolekulares Mimeticum dieses Antikörpers.



Schema 8. Synthese von Verbindung 59. FMOC = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl, NMM = *N*-Methylmorpholin.

Ser-Gly-Ser-Thr **58**, einem Bestandteil der hypervariablen Region eines monoklonalen Antikörpers gegen den Reovirus-Typ-3-Rezeptor^[92]. Bei Verbindung **59** handelt es sich um das erste Beispiel eines auf der Grundlage von Röntgenstrukturuntersuchungen des Antigen-Antikörper-Komplexes entwickelten niedermolekularen Immunglobulinmimeticums. Das Cyclopeptid **59** ist resistent gegenüber Proteasen und imitiert Bindung und funktionelle Eigenschaften des nativen Antikörpers. Seine Synthese ist in Schema 8 dargestellt. Drei weitere biologisch aktive Derivate von β -Turn-Mimetica sind **65–67**. Verbindung **65** ist ein GnRH-Derivat und



-Agonist, bei dem die Aminosäurereste Glycin und Leucin in den Positionen *i* + 1 und *i* + 2 eines postulierten β -Turns durch ein γ -Lactam ersetzt sind. Die Verbindung ist *in vivo* 2.4mal und *in vitro* 8.9mal so wirksam wie GnRH^[93]. Verbindung **66** enthält das Spirolactam **53** anstelle von Gly⁹ und Leu¹⁰ in [Trp¹¹]-Substanz-P. Sie ist eine der potentesten peptidischen Antagonisten des Neurokinin-1-Rezeptors^[94]. Verbindung **67** imitiert die Thrombin-gebundene Struktur des Fibrinpeptids A und ist ein Inhibitor dieser Protease. Einen Überblick über die Synthese von Verbindung **67** gibt Schema 9.

4. Beispiele für Peptidmimetica

4.1. Opioide (Endorphine, Enkephaline, Dynorphine)

Morphin – der Hauptbestandteil von Opium – wird seit über zweieinhalb Jahrtausenden wegen seiner schmerzstillenden und euphorisierenden Wirkung gebraucht und missbraucht. Auf der Suche nach dem Wirkungsmechanismus von Morphin und mit der Intention, ein Analgeticum zu entwickeln, das den Patienten nicht abhängig macht, wurden zahlreiche Morphinderivate hergestellt und untersucht. Mit deren Hilfe gelang die Entdeckung unterschiedlicher Opioidrezeptoren in tierischen Organismen. Der Nachweis solcher Rezeptoren^[95] legte die Existenz entsprechender endogener Liganden nahe: der Charakterisierung der Enkephaline Mitte der 70er Jahre^[96] folgte die Entdeckung der Endorphine^[97] und Dynorphine^[98]. Diese endogenen Opioide wer-

den durch Prozessierung^[99] der entsprechenden höhermolekularen Vorläufer Proopiomelanocortin, Proenkephalin A und Proenkephalin B sowohl in Neuronen (Nervenzellen) als auch in nichtneuronalen Zellen, z.B. in Zellen des Nebennierenmarks sowie in Leukocyten (weißer Blutkörperchen)^[100], biosynthetisiert. Für eine Überraschung sorgte die Tatsache, daß kürzlich Morphin und Codein im Gehirn von Tieren nachgewiesen wurden^[101]. Zur Klärung der Frage, ob diese Substanzen exogenen oder – wie zu Beginn dieses Jahrhunderts vermutet^[102] – endogenen Ursprungs sind, wurden Zellkulturexperimente durchgeführt, die zeigten, daß Leberzellen aus Mäusen die Enzymausstattung für die entscheidende Stufe der Umwandlung von exogen zugeführtem Reticulin in Salutaridin (mit Morphinangerüst) haben^[103]. Nebennieren- und Gehirnzellen sind jedoch nicht in der Lage, Salutaridin ausgehend von Reticulin zu biosynthetisieren. Aufgrund dieser Ergebnisse bleibt die Frage nach der Existenz eines kompletten Biosynthesewegs für Morphin in tierischen Organismen weiterhin offen.

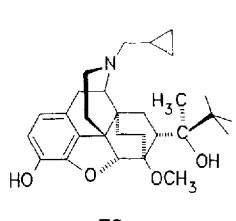
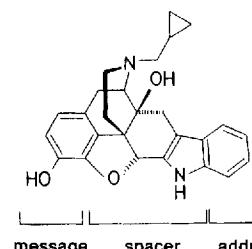
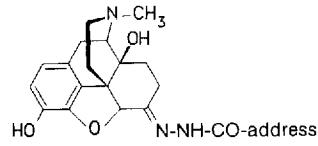
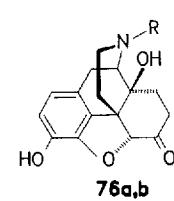
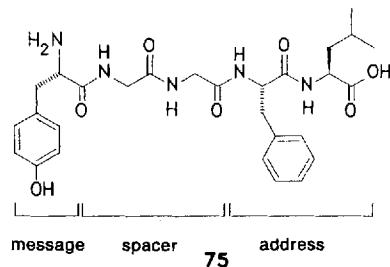
Endogene Opioide sind in pharmakologischer Sicht Morphin sehr ähnlich^[104]: sie haben analgetische Eigenschaften, führen zur körperlichen Abhängigkeit und Atemdepression, unterdrücken den Hustenreflex, stimulieren die Ausschüttung von Vasopressin und hemmen die Magensekretion und die motorische Aktivität des Darms. Darüber hinaus scheinen sie als Tumorsuppressoren und als Inhibitoren der Zellproliferation zu dienen^[105]. Die Wirkungen der Opioide werden über rezeptorinduzierte Modulation des intrazellulären c-AMP- (AMP = Adenosinmonophosphat) und Ca²⁺-

Spiegels vermittelt, anscheinend unter Beteiligung von G-Proteinen^[106].

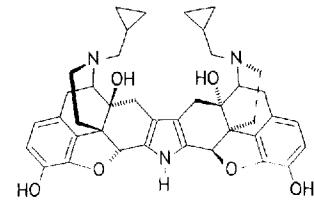
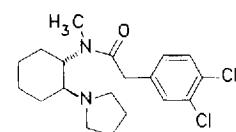
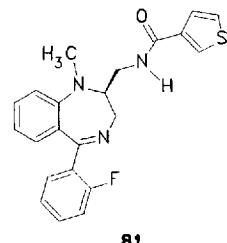
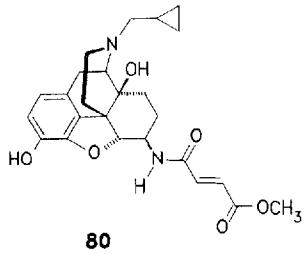
Rückblickend erwiesen sich Opiumalkaloide als Mimetica der endogenen Opioide. Aus unabhängigen Untersuchungen über die Wechselwirkung von Opiatrezeptoren mit entsprechenden Agonisten und Antagonisten ergab sich, daß es mindestens drei Typen von Opiatrezeptoren unterschiedlicher Spezifität, anatomischer Lokalisierung (sowohl zentral als auch peripher im Nervensystem; bei Neuronen prä- und postsynaptisch) und physiologischer Bedeutung gibt, die mit μ , α und δ bezeichnet werden. Kürzlich wurde der δ -Opioidrezeptor erstmals kloniert, in COS-Zellen exprimiert und pharmakologisch charakterisiert^[106c]. Man geht davon aus, daß Dynorphin 74 und Enkephalin 75 die endogenen Liganden der α - bzw. δ -Rezeptoren sind, während ein Peptid mit Selektivität für den μ -Rezeptor noch nicht gefunden wurde (Schema 10)^[107]. Der Vergleich der Aminosäuresequenz der endogenen Peptidliganden, unabhängig von ihrer Rezeptor-

Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys

74



zept^[108] als „Botschaft“ (message) bezeichnet. Eine für die jeweiligen Rezeptortypen unterschiedliche, benachbarte Sequenz, die als „Adresse“ bezeichnet wird, bewirkt die Selektivität. Nach einer modifizierten^[109] Interpretation dieses Modells, die auch auf Nichtpeptidliganden der Opioidrezeptoren ausgedehnt werden kann, ist die Botschaft im Tyr¹-Rest lokalisiert und durch zwei als Spacer fungierende Glycinreste von der Adresse-Sequenz getrennt, die mit Phe beginnt. Auf der Grundlage dieses Modells gelang es, aus dem μ -selektiven Opioidagonisten Oxymorphon 76a durch Anfügen der geeigneten Adresse-Sequenz Liganden vom Typ 77 zu entwickeln, die selektiv an den δ - und den α -Rezeptor binden. Entsprechend wurde Naltrindol 78 als erster Nichtpeptidantagonist mit Selektivität für den δ -Opioidrezeptor synthetisiert^[109]. Der Pyrrolring des Indolrests dient dabei als rigider Spacer, der den Phenylrest in der Konformation hält, die für ihn als Komponente der δ -Adresse relevant ist. Schließlich erscheint der Vergleich der Struktur von Oxymorphon 76a mit der von Naloxon 76b interessant: Der Ersatz der *N*-Methylgruppe von 76a durch eine *N*-Allylfunktion führt zum universellen Opioidantagonisten Naloxon 76b! Weitere Liganden für die verschiedenen Opioidrezeptoren sind der selektive und irreversible μ -Antagonist β -Funaltrexamin 80^[110a] sowie die α -selektiven Agonisten Tifluadom 81 und U-50488 82^[110b]. Die C_2 -symmetrische Verbindung Norbinaltorphimin (NorBNI) 83^[111] ist ein hochpotenter Opioidantagonist mit guter Selektivität für den α -Rezeptor.



Schema 10. Dynorphin 74, Leu-Enkephalin 75, Oxymorphon 76a (R = Methyl), Naloxon 76b (R = Allyl), ein universeller Opioidantagonist und synthetische Opioidderivate 77–79. Hybridstrukturen 77 aus Morphinangerüst (message) und Peptid (address) sind selektive Liganden des δ -Rezeptors (address = Phe-Leu-OH) oder des α -Rezeptors (address = Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-OMe). Naltrindol 78 ist der erste Nichtpeptidligand für den δ -Rezeptor. Buprenorphin 79 ist ein Opioid mit geringem Abhängigkeitspotential. Weitere Liganden mit Selektivität für die Opiodrezeptortypen sind die Verbindungen 80–83 sowie Morphin 1 (μ -Agonist) und DPDP 50 41 (δ -Agonist).

spezifität zeigt, daß ihnen N-terminal das Motiv Tyr-Gly-Gly-Phe gemeinsam ist. Diese Sequenz ist offenbar für die molekulare Erkennung durch die Opiatrezeptoren essentiell, für alle Rezeptortypen gleich und wird nach einem am adrenocorticotropen Hormon (ACTH) entwickelten Kon-

Eine Fülle anderer Opiodrezeptorliganden peptidischer und nichtpeptidischer Natur wurde synthetisiert und pharmakologisch untersucht^[109, 112, 113]. „While our knowledge of the opioid receptor system has increased tremendously, this new information has not yet led to the development of a major new therapeutic agent“^[113]. Insbesondere ist es trotz anfänglicher Hoffnungen bis heute nicht gelungen, ein Opiat mit starker analgetischer Potenz, frei von Abhängigkeitspotential und atemdepressiver Wirkung (häufige Todesursache bei Morphinüberdosierung) zu entwickeln. Doch sind einige Erfolge und interessante Neuentwicklungen auf dem Gebiet erzielt worden:

a) Buprenorphin 79 ist ein partieller Agonist des μ -Rezeptors, der nach sublingualer Applikation zu ca. 50 % resor-

bietet wird (zum Vergleich: nur 5% des oral applizierten Morphins gelangt in die Blutbahn). Nach erfolgter Resorption bindet es langsam an den Rezeptor und dissoziert ebenfalls langsam davon ab. Gerade diese Eigenschaft bedingt das außerordentlich niedrige Abhängigkeitspotential. Nach Abbruch der Medikation werden nur milde Abstinenzerscheinungen beobachtet. Dieses pharmakologische Profil verbunden mit dem Fehlen von atemdepressiven Wirkungen und psychotomimetischen Effekten haben zum klinischen Erfolg von Buprenorphin beigetragen^[114].

b) Basierend auf den Erkenntnissen, daß 1) Endigungen peripherer sensorischer Neuronen Opioidrezeptoren haben und 2) Leukocyten, die in entzündetes Gewebe einwandern, kraft ihrer Opioide zu einer Schmerzlinderung führen können^[115], wurde kürzlich über einen neuen Ansatz zur Erzeugung von Analgesie (Schmerzlosigkeit) berichtet. Bei arthroskopischen Knieoperationen wurde Morphin intraartikulär (im Kniegelenk) appliziert und dabei festgestellt, daß die postoperative Analgesie im Vergleich zu der, die durch intravenöse Morphinapplikation erreicht wurde, sowohl stärker als auch von längerer Dauer war. Die bekannten Nebenwirkungen von Morphin traten bei dieser Applikationsart nicht auf^[116]. Diese Befunde weisen darauf hin, daß zentrale Opioidrezeptoren nicht das ausschließliche Ziel von systemisch verabreichtem Morphin sind (Abb. 3) und bekräftigen die Notwendigkeit der Entwicklung oral wirksamer, potenter Opioidanalgetica, die aber gleichzeitig – zur Vermeidung der zentralbedingten gravierenden Nebenwirkungen – nicht imstande sind, die Blut-Hirn-Schanke zu passieren^[117].

c) Eine aufregende und interessante Möglichkeit zur Pharmakotherapie des Schmerzes bietet das Benzodiazepinderivat Tifluadom **81**, das ein α -Rezeptoragonist ist. Zwar fehlen

immer noch klinische Studien, doch Tierexperimente zeigen, daß **81** ein effektives Opioidanalgeticum, frei von unerwünschten Wirkungen wie Atemdepression und Abhängigkeitserzeugung, ist^[118].

Angesichts der Bedeutung von Substanz P (Abb. 3) und Cholecystokinin für die Schmerzempfindung und der Tatsache, daß potente Substanz-P- und Cholecystokininantagonisten (siehe Abschnitte 4.2 bzw. 4.5) nun zur Verfügung stehen, kann man die Zukunft der Schmerztherapie optimistisch betrachten.

4.2. Tachykinine (Substanz P, Neurokinin A und B)

Tachykinine sind Peptide von zehn oder elf Aminosäuren Länge, die als Neurotransmitter oder Neuromodulatoren in verschiedenen Regionen des zentralen und peripheren Nervensystems fungieren^[119]. Gemeinsam ist ihnen eine C-terminale Sequenz Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂. Das am längsten bekannte und am meisten untersuchte Tachykinin, Substanz P **84**, wurde 1931 von Euler und Gaddum entdeckt^[120]. 1971 wurde es sequenziert^[121] und durch Festphasensynthese synthetisiert^[122]. Peptide mit ähnlicher Struktur wie die Tachykinine wurden auch aus niederen Organismen isoliert.

Die Biosynthese der Tachykinine erfolgt über zwei Präproteine, aus denen zum einen Substanz P **84** und Neurokinin A **85**, zum anderen Neurokinin B **86** durch Prozessieren freigesetzt werden. Die Rezeptoren für Substanz P und die beiden Neurokinine A und B werden mit NK 1–3 bezeichnet. Die vermuteten endogenen Liganden sind entsprechend der unterschiedlichen relativen Affinität Substanz P für NK 1, Neurokinin A für NK 2 und Neurokinin B für NK 3. NK 2 wird im Nervensystem überwiegend peripher und NK 3 zentral gefunden, während NK 1 sowohl zentral als auch peripher vorkommt. Die Rezeptoren, die aus Säugetieren sequenziert und exprimiert worden sind^[123], gehören zur G-Protein-gekoppelten Rezeptorsuperfamilie mit sieben α -helicalen Transmembransegmenten als gemeinsamem Strukturmotiv. Die Transmembransegmente V–VII sind verantwortlich für die Erkennung der gemeinsamen Tachykininsequenz (Botschaft-Sequenz), während die Segmente I–IV und der N-terminale (extrazelluläre) Teil der Rezeptoren den variablen Teil der Tachykinine (Adresse-Sequenz) binden^[124]. Untereinander sind die einzelnen Rezeptoren stark homolog und bewirken nach Bindung ihrer endogenen Liganden intrazellulär eine Freisetzung von 1,4,5-Inositoltriphosphat, Diacylglycerol und c-AMP als Second Messenger.

Die physiologische Bedeutung der Tachykinine ist bis heute wenig verstanden, nicht zuletzt aufgrund des Fehlens von selektiven Antagonisten. Am besten sind die Effekte von Substanz P untersucht. Sie wirkt kontrahierend auf die glatte Muskulatur der Atemwege, des gastrointestinalen- und Urogenital-Trakts, hat diuretische und natriuretische Eigenschaften und ist darüber hinaus ein potenter Stimulator der Speichel-, Pankreas- (Bauchspeicheldrüse) und Gallensekretion. Substanz P bewirkt in der Peripherie die für eine Entzündung charakteristischen Merkmale einschließlich Gefäßweiterung (Vasodilatation) und Austreten von Plasma aus den Gefäßen. Sie induziert die Freisetzung von Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumornekrose Faktor-a aus menschlichen Monocyten^[125]. Umgekehrt scheinen einige Cytokine die Biosyntheserate von Substanz P zu erhö-

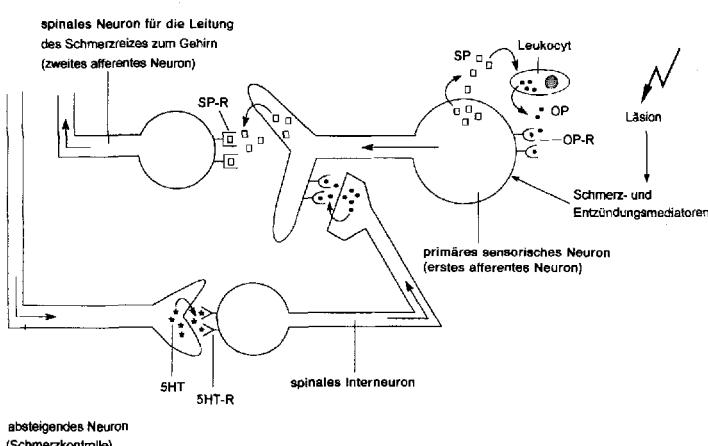
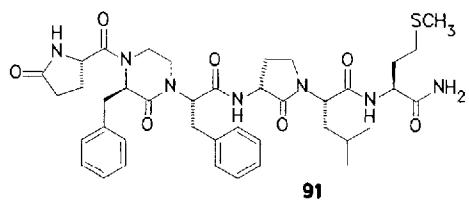
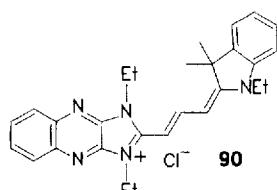
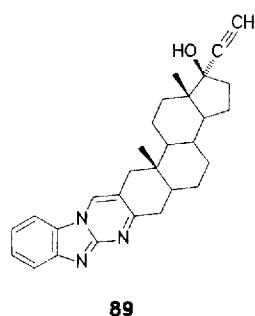
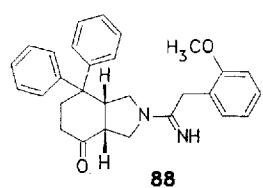
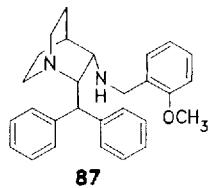


Abb. 3. Komponenten des Schmerzleitungssystems (OP = Opioid, OP-R = Opioidrezeptor, 5HT = Serotonin (5-Hydroxytryptamin), 5HT-R = Serotoninrezeptor, SP = Substanz P, SP-R = Substanz-P-Rezeptor). Bestimmte Interneuronen des Rückenmarks verwenden Opioid als Neurotransmitter. Die Interneuronen wirken direkt auf die zentralgerichteten Endigungen des primären sensorischen Neurons (erstes afferentes Neuron) und unterdrücken durch Freisetzung von Opoiden die Leitung des Schmerzreizes von der Peripherie zum Rückenmark. Ein wichtiger Neurotransmitter an schmerzvermittelnden Synapsen ist Substanz P. Über das zweite afferente Neuron wird der Schmerzreiz zum Gehirn weitergeleitet. Das vom Gehirn absteigende Neuron moduliert die Aktivität des spinalen Interneurons und verwendet dabei unter anderem Serotonin als Neurotransmitter. Die Aktivierung der peripheren Endigung sensorischer Neuronen, z.B. bei Entzündungen, führt auch zur Freisetzung von Substanz P im Gebiet der Läsion. Dies hat zur Folge, daß Leukocyten in dieses Gebiet einwandern. Endogene Opioide, die aus Leukocyten freigesetzt werden, führen nach Bindung an periphergelegenen Opioidrezeptoren des ersten afferenten Neurons zur Reduktion der Intensität des Schmerzreizes (modifiziert nach Lit. [258] unter Berücksichtigung von Lit. [115, 259]).

Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂
His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH₂
Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH₂

84
85
86

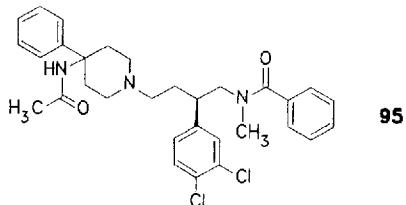


91

cyclo(Gln-Trp-Phe-Gly-Leu-Met) 92

Boc-Arg-Ala-D-Trp-Phe-D-Pro-NleNH₂ 93

PhCO-Ala-Ala-D-Trp-Phe-D-Pro-Pro-NleNH₂ 94



hen^[126]. Diese wechselseitige Beeinflussung von Substanz P und Cytokinen könnte bei der rheumatischen Arthritis^[127] von Bedeutung sein. Bei entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) gibt es auch Hinweise für eine Beteiligung von Substanz P am pathophysiologischen Geschehen^[128]: Im allgemeinen scheint es so zu sein, daß spezifische sensorische Neuronen der Hinterwurzelganglien Substanz P als Überträgersubstanz an schmerzvermittelnden Synapsen verwenden, während dieselben Neuronen durch Freisetzung von Substanz P in das von ihnen innervierte Areal ein entzündliches Geschehen wie die rheumatische Arthritis regulieren oder unterhalten können (siehe Abb. 3). Neurokinin A wirkt ähnlich wie Substanz P, während Neurokinin B durch Freisetzung von Liganden der Opiatrezeporen schmerzlindernd wirkt. Substanz P und Neurokinin A erleichtern die dopaminerge Erregungsleitung, und damit

könnte ein Agonist in der Therapie von Morbus Parkinson nützlich sein, bei dem ein Untergang dopaminerger Neuronen in der Substantia nigra beobachtet wird. Schließlich wirkt Substanz P neurotroph und ist in der Lage, die neurotoxischen Effekte des β -Amyloidproteins aufzuheben, die für die Pathogenese der Alzheimerschen Erkrankung als ursächlich angesehen werden^[129].

Bei der Entwicklung von Antagonisten stellte sich heraus, daß die für die biologische Funktion erforderliche Minimalsequenz die Reste 7–11 von Substanz P beinhaltet. Der Austausch von Phe⁷ oder Gly⁹ durch D-Trp oder andere aromatische D-Aminosäuren führt zu einer antagonistischen Wirkung der resultierenden Peptide^[119a]. Die auf dieser Basis entwickelten Verbindungen zeigten zunächst eine um mehrere Größenordnungen geringere Affinität zu den Rezeptoren als die endogenen Liganden und ermöglichen aufgrund überlappender Rezeptorspezifität nur eine unvollständige Charakterisierung der Rezeptoren.

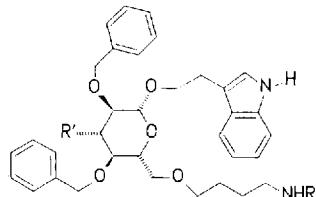
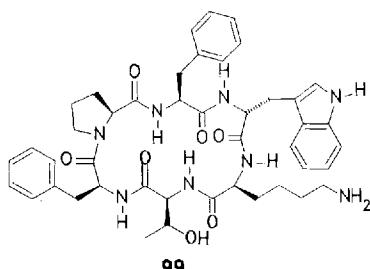
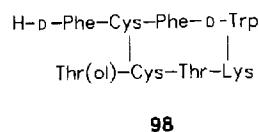
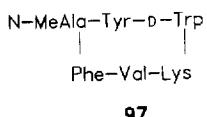
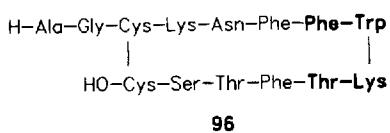
Der erste potente, kompetitive Nichtpeptidantagonist für den NK-1-Rezeptor ist CP-96 345 87^[130], der aus einem Screening-Verfahren hervorgegangen ist. Nur das (2S,3S)-Enantiomer 87 ist wirksam; es zeigt keinerlei agonistische Aktivität und hat eine vergleichbare Affinität zum NK-1-Rezeptor wie dessen endogener Ligand Substanz P. Weitere potente Antagonisten für den NK-1-Rezeptor auf Nichtpeptidbasis sind RP 67 580 88^[131] und das Steroidderivat 89^[132]. Auch Verbindung 90^[133] ist ein Nichtpeptid-NK-1-Antagonist, wenn auch aufgrund geringerer Affinität und hoher Toxizität nicht für weitere Tests geeignet.

Neuere Beispiele für NK-2-selektive Antagonisten auf Peptidbasis sind Verbindung 91^[134], das cyclische Hexapeptid 92^[135] sowie die Hexa- bzw. Heptapeptide 93 und 94^[136]. Kürzlich wurde SR 48 968 95 als potenter selektiver NK-2-Antagonist beschrieben^[137]. Die gegenwärtig potentesten NK-3-Antagonisten sind ein (4–10)-Fragment von Neurokinin A, in dem Val⁷ durch Trp und Gly⁸ durch β -Alanin ersetzt ist, sowie ein (4–10)-Fragment von Neurokinin B, das anstelle von Val⁷ MePhe und anstelle von Gly⁸ β -Alanin enthält^[138].

Von Tachykininantagonisten verspricht man sich insbesondere entzündungshemmende und schmerzlindernde Eigenschaften. Denkbar ist darüber hinaus ihr Einsatz in der Asthmatherapie und in der Behandlung einiger autokriner Tumoren.

4.3. Somatostatin (somatotropin release-inhibiting factor, SRIF)

Somatostatin 96^[139–141], ein cyclisches Tetradecapeptid, wird vom Hypothalamus gebildet und hemmt die Freisetzung des Wachstumshormons (growth hormone (GH)) durch die Hypophyse. In anderen Bereichen des Gehirns fungiert Somatostatin als Neurotransmitter und Neuromodulator; im peripheren Nervensystem wird eine Beteiligung von Somatostatin an der Schmerzleitung diskutiert. Außerhalb des Nervensystems wird es in sekretorischen Zellen des Darms, des Pankreas und in den Speicheldrüsen gefunden und dient in diesen Organen als autokriner und parakriner Regulator. Das von den δ -Zellen des Pankreas gebildete Somatostatin hemmt die Freisetzung von Insulin und Glucagon durch die β - bzw. α -Zellen des Pankreas. Im Verdauungs-



trakt wird durch Somatostatin die Motilität gehemmt und die Blutzufuhr gedrosselt. Auch die Sekretion von Magensäure und Gastrin wird herabgesetzt. Ein weiterer Effekt ist die Erniedrigung der Sekretion von Pankreasenzymen und der Absorption von Kohlenhydraten, Triglyceriden und Wasser.

Somatostatin wird als Präproprotein von 8 kDa synthetisiert und durch alternatives Prozessieren zu dem reifen Hormon sowie zu einem ebenfalls aktiven SRIF-28 prozessiert. Rezeptoren für Somatostatin wurden aus unterschiedlichen Geweben isoliert und biochemisch charakterisiert^[139]. Der Somatostatinrezeptor aus Rattenhirn wurde kürzlich kloniert und in COS-1-Zellen exprimiert^[142]. Er gehört zu der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit sieben Transmembranregionen. Die Bindung von Somatostatin an seinen Rezeptor bewirkt eine G-Protein-vermittelte Hemmung der Adenylatcyclaseaktivität und reduziert die Permeabilität der Plasmamembran für Calcium-Ionen^[139].

Das Haupteinsatzgebiet von Somatostatin ist in erster Linie die Behandlung akuter gastrointestinaler Erkrankungen wie Magengeschwüre und insbesondere lebensgefährlicher Blutungen im Magen-Darm-Bereich. Es findet auch Anwendung in der Behandlung von Pankreatitis sowie nach chirurgischen Eingriffen am Pankreas. Somatostatin hat sich dagegen bei der Behandlung von Diabetes mellitus nicht durchgesetzt. Bei Patienten mit Diabetes Typ I (juvenile Form, absoluter Insulinmangel) wird nach einer Somatostatininfusion eine vorübergehende Erniedrigung des Blutglucosespiegels beobachtet. Der Zustand von Patienten mit Typ II Diabetes mellitus (Erwachsenendiabetes, relativer Insulinmangel) verschlechtert sich nach Somatostatinapplikation durch Hemmung der verbleibenden Insulinsekretion.

Viele Somatostatinagonisten auf Peptidbasis wurden insbesondere von der Gruppe von Veber hergestellt und pharmakologisch getestet. Eine kritische Diskussion darüber wurde kürzlich veröffentlicht^[143]. Seglitid (MK 678) **97**^[144]

ist um ein bis zwei Größenordnungen wirksamer als Somatostatin selbst; klinische Untersuchungen mit der Verbindung wurden jedoch wegen Nebenwirkungen (Steatorrhöe = Funktionsstörung bei der Resorption von Fetten) abgebrochen. Ein anderer Somatostatinagonist, Octreotid (SMS 201–995) **98**^[145], wird in der Therapie von Akromegalie (Vergrößerung der Enden von Körperteilen und innere Organe durch vermehrte Somatotropinausschüttung durch die Hypophyse) eingesetzt^[146]. Erfolgsversprechend scheint auch die Behandlung von Carzinoidtumoren^[147] und der sonst schwer zu behandelnden intestinalen Sclerodermie^[148] mit Octreotid. ¹²³I-markiertes Octreotid wurde auch erfolgreich als diagnostisches Mittel zur Detektion von Tumoren, die Somatostatinrezeptoren haben, eingesetzt^[149].

Die Verbindungen **97** und **98** sowie **99**^[150] simulieren einen β-Turn zwischen Phe⁷ und Thr¹⁰ von Somatostatin, ein Strukturmotiv, das nach umfangreichen Studien zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen postuliert wurde. In Einklang mit der Theorie, daß eine D-Aminosäure in *i*+1-Position einen β-Turn stabilisiert^[151], ist in diesen Verbindungen Trp⁸ durch D-Trp ersetzt.

Als erstes Somatostatinmimeticum auf Nichtpeptidbasis wurde **100a** beschrieben^[152]. 3-Desoxy-β-D-glucose dient als Gerüst zur Fixierung der ersten drei Seitenketten des postulierten β-Turns: Phe⁷, Trp⁸ und Lys⁹. Die Substanz bindet an einen Somatostatinrezeptor der Hypophyse mit einem IC₅₀-Wert von 1.3 μM. Auch eine Verbindung, die anstelle der zentralen Desoxyglucose eine 1,2,3,5-tetrasubstituierte D-Xylofuranose enthält, zeigt vergleichbare Aktivität^[153].

Neuere Untersuchungen mit Verbindung **100a** und dem strukturell ähnlichen Derivat **100b** lieferten folgende interessante Aspekte: Bei niedrigen Konzentrationen verhält sich das Derivat **100a** als ein Somatostatinagonist, während es bei höheren Konzentrationen antagonistische Eigenschaften zeigt und somit der erste Somatostatinantagonist überhaupt ist. Gegenüber dem G-Protein-gekoppelten β₂-adrenergen Rezeptor verhält es sich auch als Antagonist mit einem IC₅₀-Wert von 3 μM. Erstaunlicherweise weist **100a** eine viel höhere Affinität zum Substanz-P-Rezeptor (agonistische Wirkung, IC₅₀ = 0.18 μM) auf, während das Derivat **100b** ein potenter Antagonist (IC₅₀ = 60 nM) des Substanz-P-Rezeptors ist!

4.4. Gastrin-Releasing-Peptid (GRP, Bombesin-27)

Gastrin-Releasing-Peptid (GRP) **101**, ein Peptid aus 27 Aminosäuren, ist mit Bombesin **102**, einem aus Amphibien isolierten Tetradecapeptid, eng verwandt. Es wurde im zentralen- und im peripheren Nervensystem sowie auch im gastrointestinalen Trakt und in neuroendokrinen Zellen der Lunge nachgewiesen. Es bewirkt die Kontraktion der glatten Muskulatur des Gastrointestinaltrakts und des Uterus, stimuliert die Freisetzung von Gastrin, Glucagon, Pankreasamylase, Cholecystokinin und Somatostatin^[154].

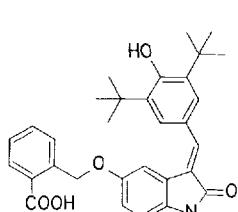
Der GRP-Rezeptor aus Swiss-3T3-Zellen wurde kürzlich kloniert, sequenziert und in Xenopus Oocytes (unreife Eizellen des afrikanischen Krallenfroschs) exprimiert^[155]. Er ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, der erstaunlicherweise auch eine Tyrosinkinase stimuliert^[156a]. Substrat dieser Kinase ist wiederum die focal Adhäsionskinase p125

Ala-Pro-Val-Ser-Val-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Ala-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂

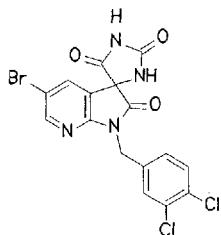
101

pyroGlu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂

102



103



104

(p125^{FAK}), die nach Phosphorylierung aktiviert wird und daraufhin auf das Zellwachstum und die Zelladhäsion Einfluß nimmt^[156b, 156c].

Das Interesse an GRP-Antagonisten resultiert aus der Tatsache, daß GRP als potenter autokriner/endokriner Wachstumsfaktor beim kleinzelligen Bronchialcarzinom (small cell lung cancer, SCLC) wirkt^[157]. GRP-Antagonisten sind in der Lage, in vitro das GRP-induzierte Wachstum dieser Bronchialcarzinome zu hemmen^[158]. Zu den gegenwärtig potentesten GRP-Antagonisten gehören [Leu¹⁴-ψ-CH₂NH-Leu¹³]Bombesin^[159] und das Nonapeptid pyroGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-ψ-[CH₂S]Leu-NH₂ mit einer Dissoziationskonstante K_d von 3 nm^[160]. Interessanterweise ist das Nonapeptid pyroGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Leu-NH₂ ein potenter GRP-Agonist ($K_d = 0.2$ nm)! Dieses Beispiel belegt gleichzeitig den Wert der CH₂S-Gruppe als ein Isoster der Amidbindung bei der Entwicklung von Peptidantagonisten.

Jüngst wurden Synthese und Eigenschaften zweier Nicht-peptidantagonisten von GRP beschrieben^[161]. Die Verbindungen **103** und **104** sind Antagonisten der Bindung von GRP an den entsprechenden Rezeptor in Rattenhirn ($IC_{50} = 1.5 \mu\text{M}$). Dieselben Verbindungen sind jedoch bis zu einer Konzentration von 30 μM bei der humanen SLCL-Zell-Linie N592 inaktiv. Anders als die endogenen Liganden unterscheiden diese Mimetica offenbar zwischen artspezifischen Rezeptortypen.

4.5. Cholecystokinin und Gastrin

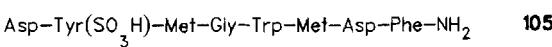
Das Peptidhormon Cholecystokinin^[162, 163] (CCK) existiert in multiplen biologisch aktiven Formen (CCK-58, CCK-39, CCK-33, CCK-8 **105**, CCK-4 = Tetragastrin) mit gemeinsamem C-Terminus. Es kommt im Nervensystem sowohl zentral (CCK-8 ist das häufigste Neuropeptid im Gehirn) als auch peripher vor. Ursprünglich wurde es als die Funktion des Verdauungstrakts regulierendes Hormon nachgewiesen. Strukturell ist es verwandt mit dem Darmhormon Gastrin **106**, mit dem es das C-terminale Pentapeptid gemeinsam hat. Ähnlichkeit besteht auch zu dem aus Fröschen isolierten Decepeptid Caerulein.

Im Verdauungstrakt stimuliert Cholecystokinin die Kontraktion der Gallenblase bei gleichzeitiger Relaxation des

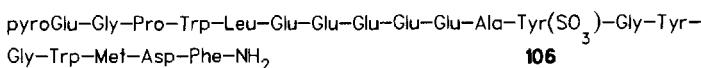
Sphinkter Oddi (spezielle Schließmuskel), verstärkt die Insulinausschüttung, fördert die Enzymsekretion aus dem Pankreas und hemmt die Gastrinsekretion und die Entleerung des Magens.

Im Zentralnervensystem fungiert es als Neuromodulator/Neurotransmitter, hat eine angstverzerrende (anxiogene) und appetithemmende Wirkung, während es auf spinaler Ebene die Opiatwirkung antagonisiert und somit antianalgetisch wirkt^[164].

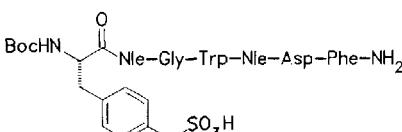
Zwei Rezeptorsubtypen konnten charakterisiert werden: der vorwiegend peripher vorkommende CCK-A-Rezeptor sowie der weitgehend zentral vorkommende CCK-B-Rezeptor. Auf molekularer Ebene bewirkt die Bindung eines Agonisten an den CCK-A-Rezeptor in Acinuszellen (Drüsenzellen) des Pankreas die G-Protein-vermittelte Freisetzung von Inositol-1,4,5-trisphosphat und Calcium-Ionen, die Aktivierung der Proteinkinase C und die Öffnung calciumabhängiger Chloridkanäle. Der CCK-A-Rezeptor aus Rattenpankreas ist kloniert, sequenziert und in Fremdzellen (Xenopus Oocyten) exprimiert worden^[165]. Die Sequenz zeigt Homologien zu anderen Vertretern der G-Protein-gekoppelten Rezeptorsuperfamilie. Der CCK-B-Rezeptor ist eng verwandt



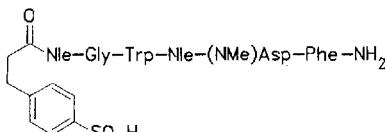
105



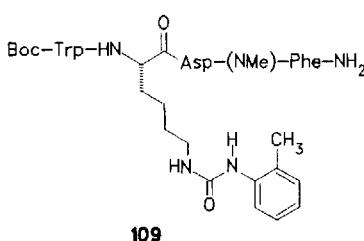
106



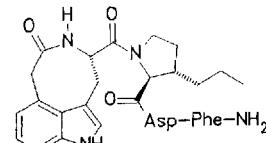
107



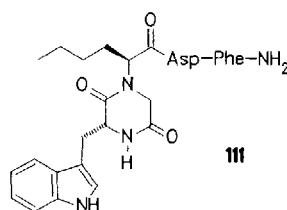
108



109



110



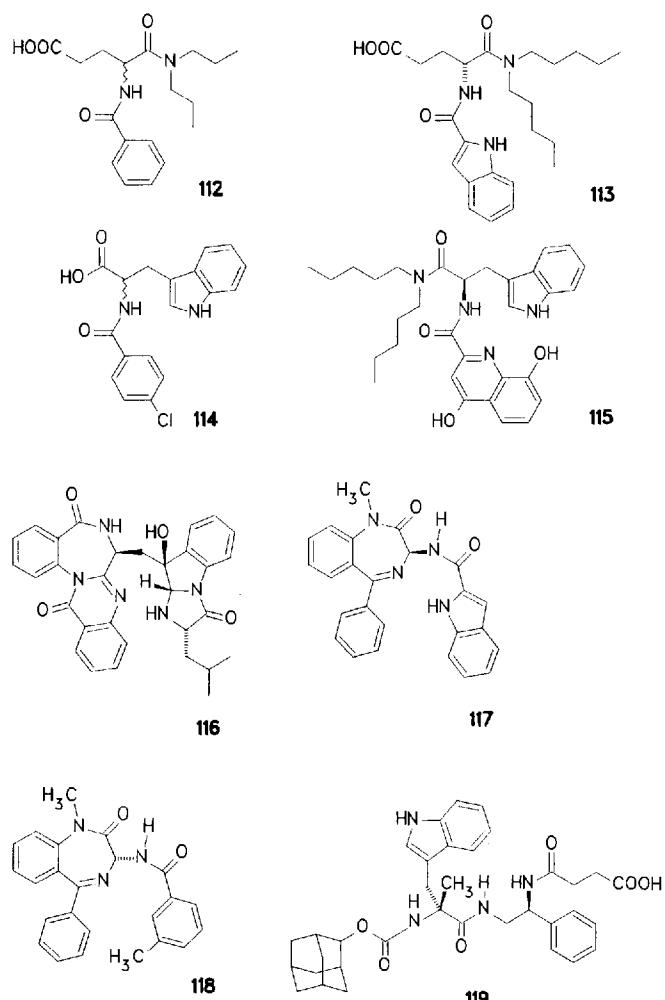
111

oder möglicherweise identisch mit dem peripheren Gastrinrezeptor. Es handelt sich dabei um ein Protein von 74 kDa^[166], das bei Stimulierung durch einen Agonisten eine G-Protein-vermittelte Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat-Hydrolyse bewirkt^[167]. Der CCK-B(Gastrin)-Rezeptor des Hunds wurde kloniert, sequenziert und in COS-7-Zellen exprimiert^[168]. Er zeigt ebenfalls Homologien zu Vertretern der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren.

Es wurden zahlreiche CCK-A-Rezeptoragonisten auf Peptidbasis entwickelt, die gegenüber dem endogenen Peptid eine erhöhte metabolische Stabilität zeigen. Ein Beispiel für eine solche Verbindung ist das CCK-7-Analogon **107**: ersetzt man die säurelabilen und für die biologische Funktion essentielle Schwefelsäureesterfunktion durch einen Methylsulfonylrest sowie Methionin durch Norleucin, erhöht sich die Stabilität bei hoher Rezeptoraffinität ($K_i = 1 \text{ nM}$) und voller agonistischer Aktivität (Amylasesekretion durch die Bauchspeicheldrüse und Ileumkontraktion)^[169]. Auch ein Austausch der Schwefelsäurefunktion durch einen Acetat- oder Tetrazolylrest wird vom Rezeptor toleriert^[170]. Weitere peptidische CCK-A-selektive Agonisten sind A-71 378 **108** ($\text{IC}_{50} = 0.42 \text{ nM}$, Selektivität 700fach gegenüber dem CCK-B-Rezeptor)^[171] sowie A-71 623 **109** ($\text{IC}_{50} = 4 \text{ nM}$, Selektivität >1000 fach gegenüber CCK-B-Rezeptor)^[172]. Es wurden auch viele CCK-B-Rezeptoragonisten auf Peptidbasis entwickelt. Beispiele sind die beiden in Abschnitt 2.4 erwähnten cyclischen Verbindungen **42** und **43** oder auch die konformativ fixierten Derivate A-63 387 **110** und **111**. Verbindung **110** ($\text{IC}_{50} = 0.7 \text{ nM}$, 9000fache Selektivität für CCK-B)^[173] enthält das in Abschnitt 3.1 vorgestellte Tryptophan-Analogon **11**, während die Verbindung **111**^[174] ein Dioxopiperazin als Dipeptid-Analogon enthält.

Während das Indikationsgebiet der CCK-Agonisten eingeschränkt zu sein scheint, liegt das therapeutische Potential von CCK-Antagonisten in der Behandlung von Erkrankungen des Verdauungstrakts (Gastritis, Pankreatitis, endokrine Tumoren wie Insulinome und Gastrinome), neuropsychiatrischer Störungen (Angst, Panik, kognitive Dysfunktion, Schizophrenie) und Schmerz.

Durch Optimierung von Leitstrukturen wurden potente Nichtpeptidantagonisten der CCK-Rezeptoren entwickelt. Proglumid **112**, das seit längerer Zeit in der Therapie der Pankreatitis eingesetzt wird, diente als Leitstruktur zur Entwicklung beispielsweise des CCK-A-Antagonisten **113**^[175]. Auch das Medikament Benzotript **114** war gemeinsam mit **112** ein Vorbild für die Entwicklung des CCK-A-Antagonisten **115**^[176] ($\text{IC}_{50} = 21 \text{ nM}$). Die Entdeckung des Pilzmetaboliten Asperlicin **116**^[177] als CCK-A-Antagonist ($\text{IC}_{50} = 1 \mu\text{M}$) stellt einen Meilenstein auf diesem Gebiet dar und ermöglichte die Entwicklung der selektiven und oral aktiven CCK-A-Antagonisten MK-329 **117**^[178] (früher L-364 718, $\text{IC}_{50} = 0.08 \text{ nM}$) sowie des CCK-B-Antagonisten L-365 260 **118**^[179] ($\text{IC}_{50} = 2 \text{ nM}$). Die Ähnlichkeit von Asperlicin mit den klinisch bewährten Benzodiazepinen war hier der Hauptantrieb zur Synthese der Verbindungen MK-329 und L-365 260. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, daß einige Benzodiazepine wie Diazepam als schwache CCK-A-Antagonisten wirken. Auch das Benzodiazepinderivat Tifluadom **81**, das zunächst als α -Opioidrezeptoragonist entwickelt wurde, stellte sich später ebenfalls als CCK-A-Antagonist heraus^[180]!



Ausgehend von der Beobachtung, daß für die biologische Aktivität an zentralen CCK-Rezeptoren die Minimalssequenz des C-terminalen Tetrapeptids von CCK (Trp-Met-Asp-Phe-NH₂) erforderlich ist, wurde zunächst das Dipeptidderivat Boc-Trp-Phe-NH₂ als schwacher CCK-B-Agonist synthetisiert^[181]. Die Modifizierung dieser Struktur, unterstützt durch Untersuchungen zur Konformationsenergie^[182] des Tetrapeptids Trp-Met-Asp-Phe-NH₂, kulminierte in der Synthese des oral aktiven Dipeptoids CI-988 (früher PD-134 308) **119**, das sich als selektiver Cholecystokinantagonist herausstellte ($\text{IC}_{50} = 1.7 \text{ nM}$ mit 1000facher Selektivität für den CCK-B-Rezeptor)^[183]. Die Verbindung CI-988 ist der erste rational entwickelte Nichtpeptidligand für einen Neuropeptidrezeptor.

CI-988 **119** und L-365 260 **118** haben bei Tierexperimenten sehr interessante pharmakologische Effekte gezeigt. Sie wirken stark angstlösend, zeigen aber gleichzeitig keine sedierende Wirkung, und die Erzeugung von Abhängigkeit wurde nicht beobachtet^[184]. Bezüglich dieser Eigenschaften sind sie den Benzodiazepinen weit überlegen. Vor einem klinischen Einsatz dieser neuartigen CCK-B-Antagonisten sollte allerdings ein in Tierexperimenten nachgewiesener appetitsteigernder Effekt berücksichtigt werden^[185]. Obwohl weder CI-988 noch L-365 260 als Einzelsubstanzen analgetische Eigenschaften haben, können sie den analgetischen Effekt von Morphin verstärken und auch zeitlich verlängern^[186]. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß CCK der physiologische Opioidantagonist ist^[187].

4.6. Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH, LH-RH)

Das Gonadotropin-Releasing-Hormon GnRH^[188] 120 wird vom Hypothalamus synthetisiert und abgesondert. Im Hypophysenvorderlappen bewirkt es die Freisetzung der Gonadotropine, und zwar des luteinisierenden Hormons (LH) und des follikelstimulierenden Hormons (FSH). Die LH- und FSH-Freisetzung erfolgt nach Bindung von GnRH an seinen membranständigen Rezeptor. Dabei kommt es intrazellulär zu einer G-Protein-vermittelten Aktivierung der Phospholipase C sowie zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration an freiem Ca^{2+} ^[189] und einer damit verbundenen Aktivierung von Calmodulin. Neuere Untersuchungen^[190] belegen auch die Beteiligung von Leukotrienen als Second Messenger bei der GnRH-induzierten Gonadotropinfreisetzung durch Zellen der Hypophyse.

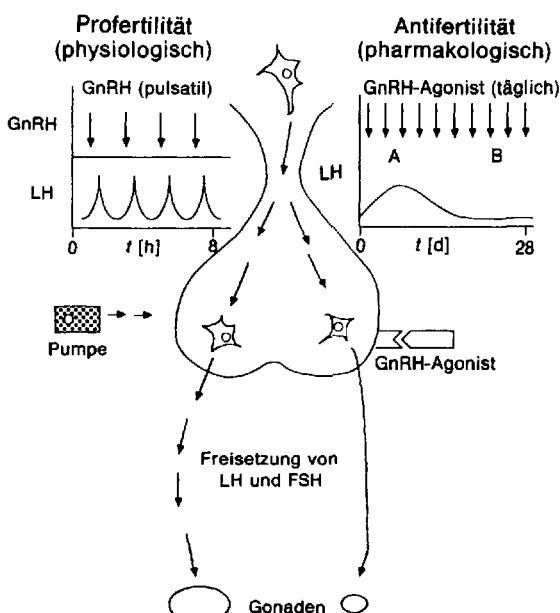
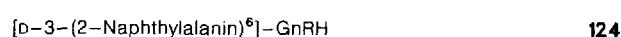
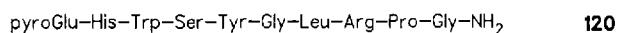


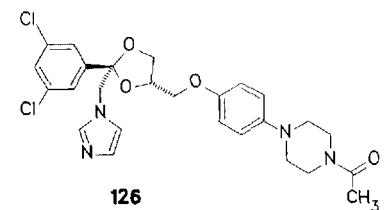
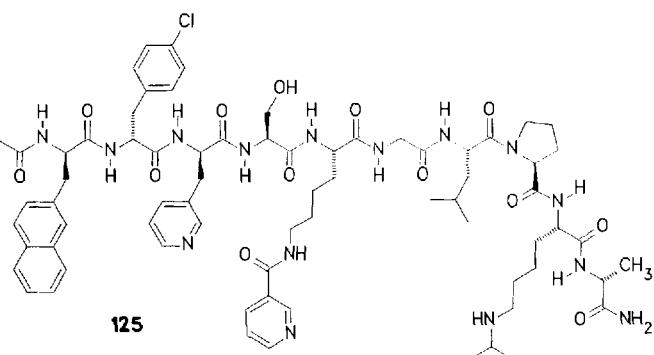
Abb. 4. Der Wirkungsmechanismus des Gonadotropin-Releasing-Hormons (GnRH) und von GnRH-Agonisten mit langanhaltender Wirkung. Die Behandlung von Fertilitätsstörungen erfordert eine pulsartige Applikation von natürlichem GnRH (physiologische Anwendungsart, links). Diese Applikationsart imitiert die physiologische Sekretion von GnRH durch den Hypothalamus. Für die Suppression der Hypophysen-Gonaden-Achse werden langwirkende GnRH-Agonisten als Depotform oder einmal täglich verabreicht (pharmakologische Anwendungsart, rechts). Nach einer agonistischen Initialphase A, die mehrere Tage bis Wochen dauern kann, folgt eine langanhaltende Hemmung der Gonadotropinsekretion, die nahezu komplett und selektiv ist (antagonistische Phase B). Durch die Beendigung der Verabreichung des GnRH-Antagonisten kann diese Hemmung aufgehoben werden [188].

die Hypophyse. Der genaue molekulare Mechanismus dieses Phänomens ist zwar nicht eindeutig geklärt, jedoch spricht einiges dafür, daß es in der Hypophyse zum Verlust von GnRH-Rezeptoren (down-regulation der Rezeptoren) und/oder zu deren Entkopplung vom intrazellulären Effektorsystem kommt. Wie dem auch sei, kann die Wirkung von GnRH durch die Wahl der Applikationsart von GnRH (oder seiner Agonisten) sowohl imitiert als auch antagonisiert werden!

Durch Verwendung von GnRH-Antagonisten kann die Unterdrückung der Gonadotropinfreisetzung auf direkte Weise erfolgen. Vorteilhaft ist, daß hierbei die Initialphase der vermehrten LH-, FSH- und Sexualhormonsekretion nicht beobachtet wird. GnRH und seine Analoga werden hauptsächlich in folgenden Bereichen eingesetzt^[191]:

a) Bei der Behandlung von Fertilitäts(Fruchtbarkeits)-störungen, z.B. bei Patienten mit GnRH-Defizienz. Wegen der zuvor genannten Gründe ist hierbei die Anwendung externer Pumpen, durch die natives GnRH pulsartig verabreicht wird, erforderlich.

b) Für die selektive und reversible Suppression der Hypophyse-Gonaden-Achse. Hier ist die kontinuierliche GnRH-Applikation notwendig. Alternativ können langwirkende GnRH-Agonisten oder -Antagonisten verwendet werden. Als Beispiele von Erkrankungen, die auf diese Art behandelt werden, sind Endometriose, polycystisches Ovar sowie Prostatakarzinome hervorzuheben. GnRH-Agonisten wurden bisher für diese Zwecke vorgezogen, da sie im Vergleich zu den Antagonisten der ersten Generation insgesamt weniger Nebenwirkungen aufweisen. Letztere werden bei den bis-



Bei den Gonadotropinen handelt es sich um heterodimere Glycoproteine mit gemeinsamer α - und unterschiedlicher β -Untereinheit. Sie fungieren als geschlechtsunspezifische übergeordnete Sexualhormone: FSH stimuliert die Follikelreifung und Östrogenbiosynthese bei der Frau sowie die Spermiogenese beim Mann; durch LH wird bei der Frau der Eisprung, die Gelbkörper- und Östrogenbildung, beim Mann die Testosteronausschüttung und die Androgenbiosynthese ausgelöst.

GnRH wird unter physiologischen Bedingungen pulsartig ausgeschüttet (Abb. 4)^[188]. Eine kontinuierliche Applikation von GnRH (oder eines GnRH-Agonisten) bewirkt daher nach einer initialen Erhöhung eine Reduktion und schließlich einen Ausfall der Gonadotropinfreisetzung durch

her getesteten Antagonisten im wesentlichen durch Freisetzung von Histamin hervorgerufen.

Eine Vielzahl von GnRH-Analoga auf Peptidbasis wurde bisher synthetisiert. Der Austausch von Gly⁶ in **120** durch D-Aminosäuren und Substitutionen in Position 10 führen zu Agonisten, die um ein Vielfaches wirksamer sind als GnRH selbst und die sich zum Teil in klinischer Anwendung befinden. Darunter sind Leuproolid **121**, Buserelin **122**, Histrelin **123** mit 15–20- bzw. 210facher Wirksamkeit von nativem GnRH. Ein weiterer potenter GnRH-Agonist ist das Azapeptid^[192] [D-Ser(*t*Bu)⁶,azagly¹⁰]-GnRH (Goserelin). Die verbesserte Wirkung ist bei diesen Verbindungen sowohl auf die Blockierung kataboler Stellen in Position 6 und 10 als auch auf die verbesserte Rezeptorbindung und die erhöhte Hydrophobie, die zur Depotbildung im Körper und erhöhter Halbwertzeit führt, zurückzuführen.

Es gibt Hinweise darauf, daß die rezeptorgebundene Konformation einen Tyr⁵-Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-β-II'-Turn aufweist^[193]. Der Einbau eines β-Turn-Mimeticums in diesem Bereich führt zum Peptid **65**. Dieses zeigt zwar in vivo nur 2,4fache Wirksamkeit verglichen mit GnRH^[194], lieferte jedoch den Beweis der Existenz eines β-Turns in der biologisch aktiven GnRH-Konformation und leitete die Anwendung von Lactamen als Turnmimetica ein.

GnRH-Agonisten wie Buserelin^[195] und Leuproolid^[196] finden Anwendung in der Behandlung von metastasierendem Prostatakrebs, dessen Wachstum sexualhormonabhängig ist. Hierbei ist die gleichzeitige Anwendung von Antiandrogenen erforderlich, um ein androgeninduziertes anfängliches Aufflackern der Symptomatik zu unterbinden.

Der GnRH-Agonist Nafarelin **124** wurde kürzlich in der Therapie der sonst schwer behandelbaren gynäkologischen Erkrankung Endometriose (für deren Pathogenese ein erhöhter Östrogenspiegel verantwortlich gemacht wird) erfolgreich eingesetzt^[197]. Nafarelin hat im Vergleich zu dem bisher für solche Zwecke verwendeten Steroidderivat Danazol weniger Nebenwirkungen und wird anscheinend von den Patientinnen sehr gut vertragen^[198]. In diesem Zusammenhang ist es auch wichtig anzumerken, daß von vielen Endokrinologen GnRH-Analoga als der wichtigste Fortschritt seit der Entdeckung und dem Einsatz synthetischer Östrogene und Progestagene im Bereich der Therapie gynäkologischer Erkrankungen angesehen werden^[198].

Charakteristisch für GnRH-Antagonisten ist, daß die Positionen 1 und 10 zum Schutz von Exopeptidasen modifiziert sind und eine D-Aminosäure in Position 2 eingebaut ist. Ein Beispiel für einen Antagonisten mit vernachlässigbarer Histaminfreisetzung ist Antid **125**^[199].

Die zufällige Beobachtung^[200], daß das Antimycoticum Ketoconazol **126**, in hohen Dosen oral verabreicht, über eine Senkung des Serumtestosteronspiegels zur Remission von Prostatakrebs führt, gab Anlaß zu der Entdeckung, daß Ketoconazol ein schwacher kompetitiver Antagonist des GnRH-Rezeptors^[201] ist. Seine Affinität liegt im mikromolekularen Bereich. Damit steht erstmals eine Leitstruktur auf Nichtpeptidbasis zur Verfügung, deren Rezeptoraffinität noch zu verbessern ist.

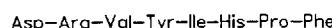
4.7. Angiotensin II (A II)

Das Renin-Angiotensin-System spielt eine bedeutende Rolle bei der Regulation des Blutdrucks. Das enorme Inter-

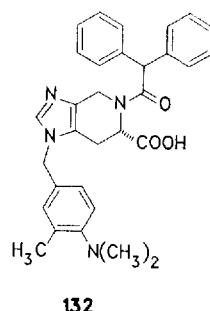
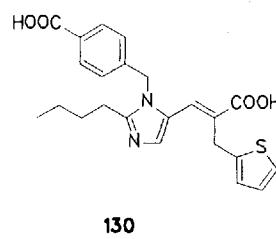
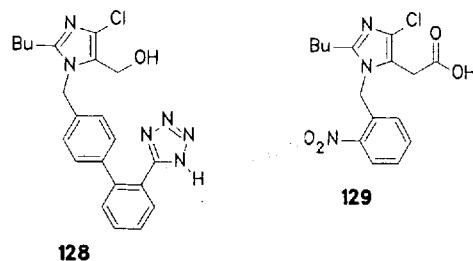
esse an diesem System resultiert aus der hohen Inzidenz von cardiovaskulären Erkrankungen wie der Hypertonie und der Herzinsuffizienz.

Die Biosynthese von Angiotensin II geht von Angiotensinogen aus, ein Protein von etwa 60 kDa Masse, das weitgehend von der Leber synthetisiert und in die Blutbahn abgegeben wird. In der Niere wird es durch die Aspartylprotease Renin in das Decapeptid Angiotensin I gespalten, das seinerseits durch das weitgehend in der Lunge lokalisierte Angiotensin-Converting-Enzym (ACE), einer Carboxypeptidase, zum biologisch aktiven Angiotensin II **127** umgewandelt wird. Sein Abbau erfolgt durch C-terminale Abspaltung einer weiteren Aminosäure und führt zu Angiotensin III. Auch das Gehirn kann Angiotensin II synthetisieren. Dieses Octapeptid galt bis zur Entdeckung von Endothelin-1 als die stärkste blutdrucksteigernde Substanz. Seine Wirkung auf den Blutdruck wird direkt durch Vasokonstriktion (Gefäßverengung) und indirekt durch Ausschüttung von Aldosteron durch die Nebennierenrinde vermittelt.

Neben seiner Wirkung auf den Blutdruck vermittelt Angiotensin II zahlreiche andere Effekte^[202], etwa die Freisetzung von Catecholaminen aus dem Nebennierenmark und die Stimulierung der Glycogenolyse in der Leber. In der Niere stimuliert es die Prostaglandinsynthese und die Rückresorption von Natrium-Ionen, auch hemmt es die Freisetzung von Renin und damit seine eigene Biosynthese. Es bewirkt die Kontraktion des Uterus und stimuliert die Ovulation; im Gehirn stimuliert es die Freisetzung von Vasopressin und des



127



adrenocorticotropen Hormons (ACTH) durch die Hypophyse und wirkt auch als Neuromodulator.

Auf der Basis unterschiedlicher Selektivität synthetischer Liganden konnten zwei Rezeptorsubtypen, AT-1 und AT-2, unterschieden werden^[203]. Kürzlich konnte mit Hilfe eines von AT-1 abgeleiteten Oligonucleotid-Primers ein zusätzlicher Rezeptorsubtyp, AT-3, aus der Nebennierenrinde der Ratte kloniert, sequenziert und in COS-Zellen sowie in *Xenopus*-Oocytes exprimiert werden^[204].

Alle bekannten physiologischen Effekte von Angiotensin II werden bisher dem AT-1-Rezeptor zugeschrieben, der in vielen Geweben (Nebennierenrinde, Leber, Niere, Gehirn, glatte Muskulatur von Gefäßen, Bronchien und Verdauungstrakt) nachgewiesen werden konnte, und dessen cDNA aus verschiedenen Spezies (Rind^[205], Ratte^[206], Mensch^[207]) kloniert und in COS-Zellen exprimiert wurde. Eine G-Protein-vermittelte Wirkung mit unterschiedlichen Second-Messenger-Systemen, darunter die Hemmung der Adenylatcyclaseaktivität, die Erhöhung der intrazellulären Konzentration der Ca-Ionen durch die Mobilisierung intrazellulärer Speicher oder durch die Öffnung von Calciumkanälen sowie durch die Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat-Hydrolyse, konnte nachgewiesen werden. Der Rezeptorsubtyp AT-2, der verglichen mit AT-1 vermehrt im Nebennierenmark und im Uterus gefunden wird und anders als AT-1 durch disulfid-reduzierende Agentien nicht inaktiviert wird, ist offenbar nicht mit einem G-Protein gekoppelt. Seine biologische Funktion ist nicht bekannt.

Es gibt Hinweise darauf, daß Angiotensin II eine Rolle bei der Embryonalentwicklung spielt. Möglicherweise wird durch den AT-2-Rezeptor eine Wachstumsfaktor-ähnliche Wirkung von Angiotensin II vermittelt^[208]. In Aorta^[209] und Hirn^[210] der Ratte wurde eine entwicklungsabhängige unterschiedliche Expression der beiden Rezeptoren AT-1 und AT-2 beobachtet.

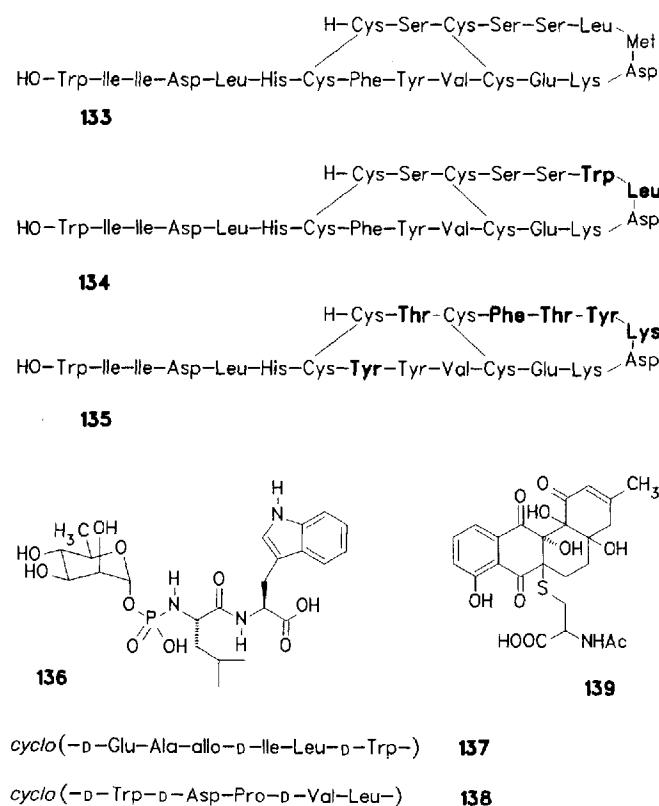
Prinzipiell gibt es mehrere Möglichkeiten der pharmakologischen Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Systems. Dies kann z.B. durch Verabreichung von Renininhibitoren, ACE-Inhibitoren und von Antagonisten des A-II-Rezeptors geschehen. In der Behandlung der Hypertonie haben sich ACE-Inhibitoren bewährt. Neben der Entwicklung oral wirksamer Renininhibitoren ist seit einiger Zeit eine rege Aktivität auf dem Gebiet der Entwicklung von Angiotensin-II-Analoga zu verzeichnen. Während A-II-Agonisten für biochemische und pharmakologische Untersuchungen von Interesse sind (z.B. der Charakterisierung und Lokalisation der verschiedenen A-II-Rezeptoren) sind A-II-Antagonisten von hohem therapeutischen Potential. Zu den neueren Liganden des A-II-Rezeptors auf Peptidbasis gehört [Sar¹, (2', 3', 4', 5', 6'-Br₅)Phe⁸]-AII, ein starker nichtkompetitiver Antagonist mit *in vivo* langanhaltender Wirkung^[211]. Derivate von [Sar¹]-AII, in denen Phe⁸ durch β,β' -Diphenylalanin 3 ersetzt wurde, sind potente Agonisten des A-II-Rezeptors, während [Sar¹]-A-II-Analoga mit 2-Naphthylalanin 4 und 2-Amino-2-indancarbonsäure 5 anstelle von Phe⁸ Antagonisten darstellen. Globale Einschränkung der konformativen Flexibilität führte zum Agonisten [HCy^{3,5}]-AII sowie zum Antagonisten [Sar¹, HCy^{3,5}, Ile⁸]-AII mit jeweils hoher Affinität zum Rezeptor (HCy = Homocystein)^[212]. Peptidantagonisten mit Selektivität für den AT-2-Rezeptorsubtyp sind [*p*-Aminophenylalanin⁶]-AII^[213] oder Nicotinsäure-Tyr-(N-Z-Arg)-Lys-His-Pro-IleOH^[214].

Der erste potente, oral wirksame Nichtpeptidantagonist des AT-1-Rezeptors und Prototyp einer Reihe von Verbindungen ähnlicher Struktur^[202] ist DuP 753 (MK-954) 128^[215] ($IC_{50} = 19$ nM). Verbindung 128 wurde durch Überlagerung der Leitstruktur von S-8308 129, einem schwachen, aber spezifischen Antagonisten des AT-1-Rezeptors^[216], mit der Struktur von Angiotensin II unter Zuhilfenahme von computer modeling entwickelt. In klinischen Versuchen konnte der Blutdruck von Versuchspersonen konzentrationsabhängig gesenkt werden. Diese Entdeckung war der Beginn intensiver Forschungsaktivitäten auf diesem Gebiet, die in der Konzeption potenter und selektiver Antagonisten des AT-1-Rezeptors wie SK&F 108 566 130 ($IC_{50} = 1$ nM)^[217] und A-81 988 131 ($K_i = 0.76$ nM; K_i für AT-2 $> 10\,000$ nM)^[218] gipfelten. Auch selektive Antagonisten des AT-2-Rezeptors wurden ermittelt: PD-123 319 132, ein Nichtpeptidantagonist des AT-2-Rezeptors ($IC_{50} = 34$ nM)^[219], steht hier stellvertretend für weitere Verbindungen ähnlicher Struktur.

Untersuchungen mit 128 und anderen Nichtpeptidliganden lieferten Hinweise darauf, daß insbesondere Angiotensin III nach Aufnahme in die Zelle durch Hemmung der cGMP-Phosphodiesterase gegenteilige Effekte (Relaxation der glatten Muskulatur) wie Angiotensin II nach Bindung an den AT-1-Rezeptor bewirkt^[220]. Kontrollierte klinische Studien mit nichtpeptidischen A-II-Antagonisten stehen noch aus, so daß derzeit die Eignung solcher Wirkstoffe zur Behandlung cardiovaskulärer Erkrankungen nicht beurteilt werden kann.

4.8. Endothelin

Endothelin-1 133^[221], ein Peptid aus 21 Aminosäuren mit stark gefäßverengender Wirkung (10mal stärker als Angio-



tensin II), wurde 1988 aus kultivierten Endothelzellen isoliert^[222]. Später wurden zwei verwandte Peptide, Endothelin-2 **134** und Endothelin-3 **135** gefunden^[223]. Sie sind mit den Sarafotoxinen (Schlangen-Toxine) sowohl in struktureller als auch in pharmakologischer Hinsicht verwandt. Endotheline gehören zu einer Reihe von Substanzen, die von Endothelzellen (Zellen der Gefäßinnenwand) sezerniert werden können und die regulierende Wirkung von Endothelzellen auf den Tonus der Gefäßmuskulatur und somit auf den Blutdruck vermitteln (Abb. 5)^[221]. Neben den Endothelinen

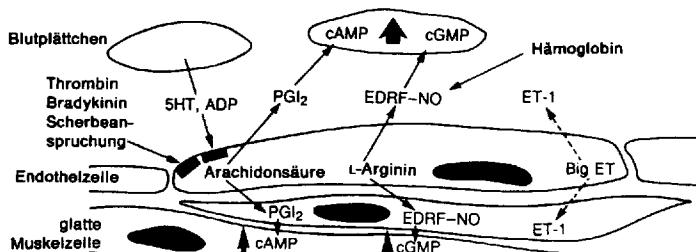


Abb. 5. Produktion von Prostacyclin (PGI₂), Endothelial-Derived-Relaxing-Faktor-Stickstoffmonoxid (EDRF-NO) und Endothelin-1 (ET-1) in Zellen der Gefäßinnenwand (Endothelzellen). Durch den Einfluß von Thrombin, Bradykinin oder durch Scherbeanspruchung setzen die Blutplättchen (Thrombocyten) Serotonin (SHT) und Adenosindiphosphat (ADP) frei. Die Stimulation der Zellrezeptoren durch Serotonin oder Adenosindiphosphat führt zur Freisetzung von gefäßaktiven Mediatoren. Das aus der Arachidonsäure gebildete Prostacyclin relaxiert die glatte Muskulatur der Gefäße und hemmt die Aggregation der Blutplättchen durch Erhöhung der Konzentration von *cyclo*-Adenosinmonophosphat (cAMP). Das aus L-Arginin gebildete EDRF-NO ruft die gleichen Effekte hervor, allerdings über die Erhöhung des *cyclo*-Guanosinmonophosphat(cGMP)-Spiegels. Prostacyclin und EDRF-NO wirken durch die gleichzeitige Erhöhung der cAMP- und cGMP-Konzentration synergistisch bei der Hemmung der Blutplättchenaggregation. Hämoglobin inaktiviert EDRF-NO. Endothelin-1 wird durch Proteolyse des Big-Endothelins (Big-ET) in den Endothelzellen erzeugt. Nach Exozytose bindet es an Membranrezeptoren der glatten Muskelzellen und führt zur Kontraktion der Gefäßmuskulatur [224].

gehören zu diesen Substanzen^[224] unter anderem Prostacyclin und der seit kurzem als Stickstoffmonoxid identifizierte endothelium-derived-relaxing-factor (EDRF-NO). Die Endotheline bewirken eine langandauernde Kontraktion von Arterien und Venen, vermindern die Ausscheidung von Natrium-Ionen durch die Nieren und vermitteln eine Reihe von biologischen Effekten wie die Kontraktion der glatten Bronchial-, Darm- und Uterusmuskulatur^[221]. Im Zentralnervensystem scheinen sie an der Regulation der GnRH-Sekretion beteiligt zu sein^[225].

Die Biosynthese des am besten untersuchten Endothelin-1 verläuft über ein Präproendothelin (203 Aminosäuren) und ein Proendothelin (39 Aminosäuren). Dieses auch „big endothelin“ genannte Peptid wird durch das Endothelin-Converting-Enzym gespalten, das durch den Metalloprotease-Inhibitor Phosphoramidon **136** hemmbar ist^[226]. Bisher wurden zwei Endothelin(ET)-Rezeptortypen ET_A mit Selektivität für Endothelin-1 und ET_B ohne Selektivität für Isopeptide, isoliert. Sie wurden anschließend sequenziert, kloniert und exprimiert^[227]. Die Rezeptoren weisen sieben Transmembranregionen auf. Sie sind über G-Proteine zum Phosphatidyl-inositol-4,5-bisphosphat-Second-Messenger-System gekoppelt und bewirken die Mobilisierung von Calcium-Ionen aus intrazellulären Speichern. Interessanterweise wird, nachdem Endothelin an seinen Rezeptor (Swiss 3T3 Zellen) gebunden ist, auch eine Tyrosinkinase stimuliert^[156a]. Endotheline und

ihre Rezeptoren kommen sowohl in peripheren Geweben als auch in unterschiedlichen Regionen des Gehirns vor^[228].

Ein lineares Endothelin-1, bei dem alle vier Cysteinreste durch Alanin ersetzt worden sind, wirkt als selektiver Agonist für den ET_B-Rezeptor^[229]. Wird die äußere der beiden Disulfidbrücken in Endothelin-1 durch eine Amidbindung zwischen Diaminopropionsäure und Asparaginsäure in Position 15 (den Positionen der äußeren Cysteinreste) ersetzt, so resultiert ein spezifischer, potenter Antagonist für den ET_A-Rezeptor^[230]. Die Autoren diskutieren eine direkte Beteiligung der äußeren Disulfidbrücke bei der Erkennung von Endothelin-1 durch seinen Rezeptor, möglicherweise durch einen Disulfidaustausch zwischen Ligand und Rezeptor^[231].

Durch Screening wurde ein weiterer selektiver ET_A-Antagonist gefunden^[232], und zwar das Cyclopeptid **137**. Eine auf dieser Verbindung aufbauende Struktur-Aktivitäts-Analyse führte zu Verbindung **138** mit verbesserter Affinität und Selektivität für den ET_A-Rezeptor^[233]. Offenbar wirkt diese Verbindung als nichtkompetitiver Antagonist^[234]. Als selektiver Antagonist für den ET_B-Rezeptor wurde kürzlich IRL1038[Cys¹¹-Cys¹⁵]-Endothelin-1(11-21)^[235] und als erster Nichtpeptidantagonist des ET-Rezeptors das Anthrachinonderivat **139** beschrieben^[236].

Neben pharmakologischen und pathophysiologischen Aspekten liegt das wesentliche therapeutische Potential von ET_A-selektiven Antagonisten in der Behandlung von Bluthochdruck. Andere mögliche Anwendungsbiete für ET_A-Antagonisten liegen in der Behandlung von Arteriosklerose, Vasospasmen im Gehirn und Herz, Asthma und Funktionsstörungen der Niere. Über das Potential von ET_B-Rezeptorantagonisten lässt sich derzeit keine konkrete Angabe machen, zumal die physiologische Bedeutung des ET_B-Rezeptors noch unklar ist. Eine gegenteilige Wirkung zu der des ET_A-Rezeptors, d.h. Relaxation der Gefäßmuskulatur und somit ein blutdrucksenkender Effekt, wird diskutiert^[237].

4.9. Verschiedenes

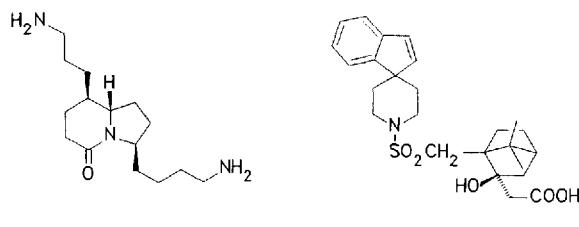
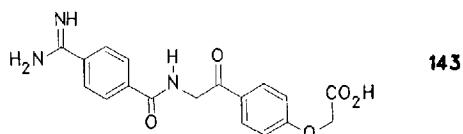
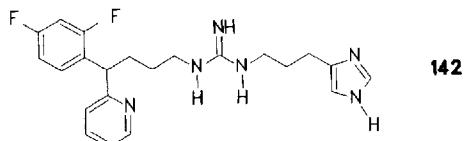
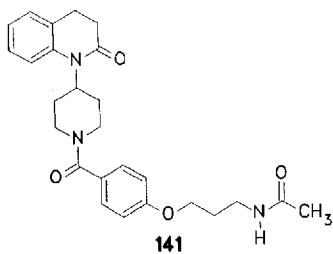
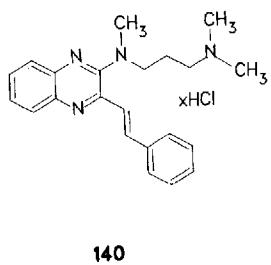
Eine Reihe länger bekannter Wirkstoffe erwiesen sich im nachhinein als Mimetica endogener Peptidliganden. Ergänzend zu den zuvor besprochenen Beispielen seien hier noch folgende erwähnt:

a) Das Antibioticum Erythromycin hat sich als ein Agonist des Polypeptids Motilin, das für die Koordination der Kontraktionen des Magen-Darm-Trakts verantwortlich ist, erwiesen^[238]. Aufgrund dieser Eigenschaft wurde Erythromycin zur Behandlung der diabetisch bedingten Störung der Magenentleerung erfolgreich eingesetzt und somit sein Indikationsgebiet erweitert^[239].

b) Die in der Therapie des Diabetes mellitus Typ II seit langem verwendeten Medikamente der Sulfonylharnstoffgruppe sind Mimetica der Endosulfine, d.h. der endogenen Peptidliganden des Sulfonylharnstoffrezeptors^[240].

c) Die endogenen Liganden des Benzodiazepinrezeptors – eines integralen Bestandteils des GABA_A-Rezeptors (GABA = γ -Aminobuttersäure)^[241] – sind peptidischer Natur^[242].

Weitere Nichtpeptidliganden für Peptidrezeptoren sind der Glucagon-Rezeptor-Antagonist CP-99 711 **140**^[243], der Vasopressin-V1-Rezeptor-Antagonist OPC-21268 **141**^[244], der Neuropeptid Y-Antagonist He-90 481 **142**^[245] sowie der



Glycoprotein(GP)-II b-III a-Antagonist **143** (hochpotenter Inhibitor der Thrombocytenaggregation)^[246], der Antagonist **144**^[247] des immunstimulierenden Tetrapeptids Tuftsin (Thr-Lys-Pro-Arg) und des ersten nichtpeptidischen Oxytocin-Antagonisten **145**^[248].

Das Steroidderivat **146**^[249] wurde kürzlich als Analogon eines postulierten Typ-I- β -Turns **147** der Glycoprotein-(Gp)II b-III a-gebundenen Sequenz Arg-Gly-Asp (RGD) des Fibrinogens synthetisiert. Das Steroidderivat **146** bindet am GpII b-III a-Rezeptor und zeigt einen IC₅₀-Wert von 100 μ M, wenn Fibrinogen als Ligand verwendet wird. Dagegen ist das Peptid *cyclo*-(Arg-Gly-Asp-Phe-d-Val) **148** mit einem IC₅₀-Wert von 2 μ M viel potenter^[250]. Die für das Glycoprotein(Gp)II b-III a relevante RGD-Konformation wird anscheinend durch **148** besser imitiert. Gemäß NMR-spektroskopischen Untersuchungen nimmt der Arg-Rest dieses Cyclopeptids die Position *i* + 2 eines β II'-Turns ein, während

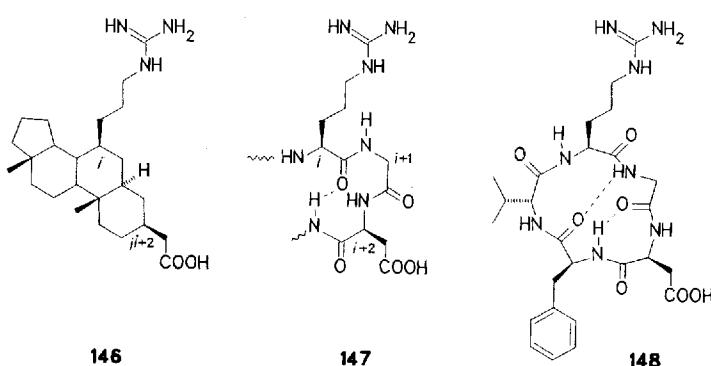
der Asp-Rest die zentrale Position eines γ -Turns einnimmt^[251].

5. Zusammenfassung und Ausblick

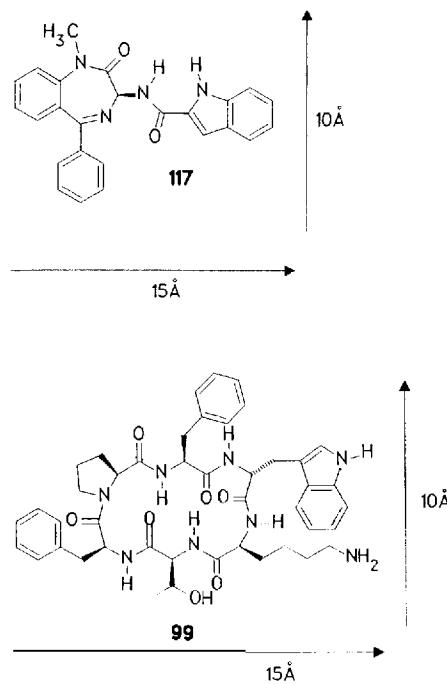
Die Entwicklung von Rezeptorliganden auf Peptidbasis wird trotz der eingangs erwähnten Nachteile sicherlich auch in Zukunft aktuell bleiben^[252]. Die Erfolge auf diesem Gebiet sind nicht von der Hand zu weisen. Die eindeutige Tendenz der letzten Jahre ist die Konzeption oral wirksamer Nichtpeptidliganden für Peptidrezeptoren. Bedeutsam ist dabei die Erkenntnis, daß es prinzipiell möglich ist, die Wirkung eines relativ großen Peptids auf Rezeptorebene mit niedermolekularen Verbindungen zu imitieren oder aber auch zu blockieren. Die Opiodalkaloide sind hierfür Paradebeispiele. Der peptidmimetische Charakter weiterer Wirkstoffe wie Ketoconazol, Erythromycin, Sulfonylharnstoffe und Benzodiazepine wurde erst vor kurzem entdeckt.

Die meisten der bisher bekannten Peptidrezeptoren sind an Guanin-Nucleotid-bindende Proteine (G-Proteine)^[253] gekoppelt. Betrachtet man nun die Strukturen der zuvor besprochenen Nichtpeptidliganden, so fällt auf, daß sie häufig hydrophobe und insbesondere aromatische Strukturelemente enthalten. Dies weist auf die Existenz lipphiler Domänen an der Ligandbindungsstelle dieser Rezeptoren hin. Aromatische Reste am Liganden scheinen im allgemeinen eine zentrale Rolle bei seiner Erkennung und bei der nachfolgenden Rezeptoraktivierung zu spielen. Die Eliminierung solcher Reste führt häufig dazu, daß die Wirkung am Rezeptor invertiert wird^[254]. Dies zeigt beispielsweise eindrucksvoll der Vergleich der Strukturen **100a** (Substanz-P-Agonist) und **100b** (Substanz-P-Antagonist).

Ein Hauptproblem bei der Konzeption von Liganden für Peptidrezeptoren mit günstigen pharmakologischen Eigenschaften war und ist die Entdeckung einer Leitstruktur. Daß dies auch rational geschehen kann, zeigt eindeutig Verbindung **119**: Die korrekte räumliche Plazierung der pharmakophoren Gruppen eines peptidischen CCK-Agonisten lieferte ein „Peptoid“ mit hoher Affinität und antagonistischen Eigenschaften am CCK-Rezeptor. In diesem Fall diente ein endogenes Peptid als Leitstruktur. Ähnliches gilt auch für das Immunglobulinmimeticum **59**, das auf der Basis von Röntgenstrukturanalysen eines Antigen-Antikörper-Komplexes synthetisiert wurde. Diese Verbindung wie auch der Somatostatinagonist Octreotid **98**, der GnRH-Agonist **65** und der Thrombininhibitor **67** demonstrieren eindeutig den Wert des Konzepts der konformativen Einschränkung und der Verwendung von Sekundärstrukturmimetica bei der Entwicklung von Liganden, die die rezeptorgebundene Konformation eines Peptids imitieren. Zunehmend hilfreich bei der Untersuchung der bioaktiven Peptidkonformation erweist sich die NMR-Spektroskopie. Außerordentlich wichtig ist dabei die Tatsache, daß die Rezeptorproteine mit Hilfe molekulärbiologischer Methoden in größeren Mengen und bei Bedarf – z. B. durch Expression in Fremdzellen – auch isotope-markiert zur Verfügung gestellt werden können. Die Bedeutung der NMR-Spektroskopie beim Studium von Peptid-Rezeptor-Komplexen^[17b] unter physiologischen Bedingungen wurde spätestens am Beispiel des Cyclosporin A und seiner Interaktion mit dem Protein Cyclophilin gezeigt^[17c, d]. Eine allgemeine Methode für die Nutzung solcher Erkenntnisse



beim Konformationsdesign^[255] steht allerdings noch aus. Ziel eines solchen Designs ist häufig die Konzeption geeigneter Gerüste (scaffolds), die für die Rezeptorbindung erforderlichen funktionellen Gruppen in passender räumlicher Anordnung tragen. Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen haben gezeigt, daß zum einen nur eine relativ kleine Peptidsequenz bestehend aus vier bis acht Aminosäuren für die biologische Wirkung verantwortlich ist, zum anderen das Amidgerüst an der Besetzung des Rezeptors und seiner Aktivierung nicht beteiligt ist^[12, 254]. Konformations-Aktivitäts-Untersuchungen belegen darüber hinaus, daß diese Sequenzen gefaltete und kompakte bioaktive Konformation, im allgemeinen der Größe $10 \times 15 \text{ \AA}$, aufweisen. Dies sind die gleichen Dimensionen, die ein Benzodiazepin wie **117** (MK-329) oder ein cyclisches Hexapeptid wie **99** einnimmt^[19].



Als vielseitig hat sich das Benzodiazepingerüst erwiesen, das nicht nur Neuropeptidmimetica (z.B. Tifluadom **81**, MK-329 **117** und L-365 260 **118**), sondern auch HIV-Proteaseinhibitoren (HIV = human immunodeficiency virus) aufweisen^[256]. Somit scheint es, daß Benzodiazepine^[257] wie auch verwandte Strukturen sowohl Chemiker als auch Kliniker noch für längere Zeit beschäftigen werden.

Die biochemische und pharmakologische Eigenschaften der Verbindungen **100a, b** deuten schließlich auf das Potential des Kohlenhydratgerüsts beim Design von Nicht-peptidliganden hin. Kohlenhydrate bieten den Vorteil der Strukturvielfalt und der leichten Derivatisierung mit einer Vielzahl von funktionellen Gruppen^[260].

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die finanzielle Unterstützung. Thomas Kolter dankt dem Land Nordrhein-Westfalen für ein Graduiertenstipendium.

Eingegangen am 5. November 1992 [A 915]

[1] G. Schmidt, *Top. Curr. Chem.* **1986**, *136*, 109.

[2] D. T. Krieger, *Science* **1983**, *222*, 975.

[3] J. H. Schwarz in *Principles of Neural Science* (Hrsg.: E. R. Kandel, J. H. Schwarz, T. M. Jessel), Elsevier, **1991**, S. 213.

- [4] a) *A Textbook of Drug Design and Development* (Hrsg.: P. Krogsgaard-Larsen, H. Bundgaard), Harwood Academic Publishers, Chur, **1991**; b) M. Williams, A. M. Nadzan in [4a], S. 1.
- [5] G. Jung, A. G. Beck-Sickinger, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 367.
- [6] D. F. Veber, R. M. Freidinger, *Trends Neurosci.* **1985**, 392.
- [7] a) W. F. De Grado, *Adv. Protein Chem.* **1988**, *39*, 51; b) G. D. Rose, L. M. Giersch, J. A. Smith, *ibid.* **1985**, *37*, 1.
- [8] B. A. Morgan, J. A. Gainor, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 243.
- [9] R. M. Freidinger, *Trends Pharmacol. Sci.* **1989**, 270.
- [10] V. J. Hruby, F. Al-Obeidi, W. Kazmierski, *Biochem. J.* **1990**, *268*, 249.
- [11] G. Hölzemann, *Kontakte (Darmstadt)* **1991**, *3*, 55.
- [12] R. Hirschmann, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1305; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1278.
- [13] E. C. Griffith in [4a], S. 486.
- [14] J. Rizo, L. M. Giersch, *Annu. Rev. Biochem.* **1992**, *61*, 387.
- [15] Um diesen Sachverhalt Rechnung zu tragen, wurde von Veber der Begriff *Peptidlimeticum* (von Peptid Ligand Mimeticum) vorgeschlagen: D. F. Veber in *Peptides – Chemistry and Biology, Proceedings of the Twelfth American Peptide Symposium*, Escom, **1992**, S. 3.
- [16] a) M. J. Brownstein in *Basic Neurochemistry* (Hrsg.: G. J. Siegel, B. W. Agnafoff, R. W. Albers, P. B. Molinoff), Elsevier, Amsterdam, **1989**, S. 287; b) J. van Nispen, R. Pinder, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1986**, *21*, 51.
- [17] a) H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 509; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512; zu NMR-Untersuchungen von Rezeptor-Ligand-Komplexen: b) S. W. Fesik, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2937; c) K. Wüthrich, B. von Freyberg, C. Weber, G. Wider, R. Traber, H. Widmer, W. Braun, *Science* **1991**, *254*, 953; d) W. L. Jorgensen, *ibid.* **1991**, *254*, 954.
- [18] S. K. Burt, J. Greer, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 285.
- [19] *Conformationally Directed Drug Design – Peptides and Nucleic Acids as Templates or Targets*, ACS Symp. Ser. **1984**, 251.
- [20] Übersichten: a) [5]; b) M. Mutter, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1992**, *40*, 172; c) W. J. Dower, S. P. A. Fodor, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 271; d) H.-E. Radunz, *GIT Fachz. Lab.* **1992**, *9*, 869.
- [21] a) K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmierski, R. J. Knapp, *Nature* **1991**, *354*, 82; b) R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *ibid.* **1991**, *354*, 84; c) R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, D. C. Spellmeyer, R. Tan, A. D. Frankel, D. V. Santi, F. E. Cohen, P. A. Bartlett, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 9367.
- [22] H. Bundgaard in [4a], S. 113.
- [23] E. T. Kaiser, F. J. Kézdy, *Science* **1984**, 223, 249.
- [24] a) IUPAC-IUB-Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochemistry* **1970**, *9*, 3471; b) Abb. 3: G. E. Schulz, R. H. Schirmer, *Principles of Protein Structure* (Hrsg.: C. R. Cantor), Springer, New York, **1979**, S. 19.
- [25] K.-H. Hsieh, T. R. LaHann, R. C. Speth, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 898.
- [26] a) S. Kotha, A. Kuki, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1565; b) S. Kotha, D. Anglos, A. Kuki, *ibid.* **1992**, *33*, 1569.
- [27] a) E. J. Corey, J. O. Link, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1906; b) E. J. Corey, J. O. Link, Y. Shao, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3435.
- [28] D. Seebach, E. Dziedulewicz, L. Behrendt, S. Cantoreggi, R. Fizzi, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 1215.
- [29] W. M. Kazmierski, H. I. Yamamura, V. J. Hruby, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2275.
- [30] a) W. Kazmierski, V. J. Hruby, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 697; b) W. Kazmierski, W. S. Wire, G. K. Lui, R. J. Knapp, J. E. Shook, T. F. Burks, H. I. Yamamuran, V. J. Hruby, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2170; c) P. W. Schiller, T. M. D. Nguyen, G. Weltrowska, B. C. Wilkes, B. J. Marsken, C. Lemieux, N. N. Chung, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 11871.
- [31] P. W. Schiller, G. Weltrowska, T. M. D. Nguyen, C. Lemieux, N. N. Chung, B. J. Marsken, B. C. Wilkes, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 3125.
- [32] W. M. Kazmierski, V. J. Hruby, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5769.
- [33] a) R. Naef, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 135; b) D. Seebach, J. D. Aebi, R. Naef, T. Weber, *ibid.* **1985**, *68*, 144; c) R. Fitzi, D. Seebach, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5277.
- [34] J. Y. L. Chung, J. T. Wasicak, W. A. Arnold, C. S. May, A. M. Nadzan, M. W. Holladay, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 270.
- [35] M. W. Holladay, C. W. Lin, C. S. May, D. S. Garvey, D. G. Witte, T. R. Miller, C. A. W. Wolfram, A. M. Nadzan, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 455.
- [36] G. I. Georg, X. Guan, J. Kant, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, *1*, 125.
- [37] M. W. Holladay, A. M. Nadzan, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3900.
- [38] Asymmetrische Synthese von 4-Alkyl-substituierten Prolinderivaten: a) A. M. P. Koskinen, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1859, zit. Lit.; b) F. Soucy, D. Wernic, P. Beaumieu, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 2885, zit. Lit.
- [39] J. Y. L. Chung, J. T. Wasicak, A. M. Nadzan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1039.
- [40] D. Seebach, H. Bossler, H. Grondler, S.-i. Shoda, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 197.
- [41] Beispiele: a) R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein, *Science* **1980**, *210*, 656; b) R. M. Freidinger, D. S. Perlow, D. F. Veber, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 104; c) Z. Procházka, M. Lebl, T. Barth, J. Hlaváček, A. Trka, M. Budešinský, K. Jošt, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1984**, *49*, 64; d) R. M. Freidinger, *J. Org. Chem.* **1985**,

- 50, 3631; e) T. M. Zydowsky, J. F. Dellaria, Jr., H. N. Nellans, *ibid.* **1988**, 53, 5607; f) S. Thaisrivongs, D. T. Pals, S. R. Turner, L. T. Kroll, *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1369; g) J. D. Aebi, D. Guillaume, B. E. Dunlap, D. H. Rich, *ibid.* **1988**, 31, 1805; h) J. P. Wolf, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 3164; i) G. Valle, M. Crisma, C. Toniolo, K.-L. Yu, R. L. Johnson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1989**, 83; k) D. S. Garvey, P. D. May, A. M. Nadzan, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 936.
- [42] H. Yanagisawa, S. Ishihara, A. Ando, T. Kanazaki, S. Miyamoto, H. Koike, Y. Iijima, K. Oizumi, Y. Matsushita, T. Hata, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 1984, zit. Lit.
- [43] G. A. Flynn, E. L. Giroux, R. C. Dage, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7914.
- [44] a) D. S. Kemp, E. T. Sun, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3759; b) D. S. Kemp, P. E. McNamara, *ibid.* **1982**, 23, 3761; c) *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 2286; d) *ibid.* **1985**, 50, 5834.
- [45] N. J. Ede, J. D. Rae, M. T. W. Hearn, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 6071.
- [46] V. M. Robson, I. D. Rae, F. Ng, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1990**, 371, 423.
- [47] J. DiMaoi, B. Belleau, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1989**, 1687, zit. Lit.
- [48] a) Piperazinone: A. Giannis, T. Kolter, A. Klein, *Chemiedozententagung Heidelberg – Programmübersicht und Kurzreferate* **1992**, Abstract B33; b) vinyloge Dipeptide: T. Kolter, A. Klein, A. Giannis, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1394; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 1391; c) T. Kolter, Dissertation, Universität Bonn, **1992**.
- [49] a) [47]; b) T. Yamashita, J. Maruo, A. Fujimoto, K. Shibata, Y. Kojima, A. Ohsuka, *Macromol. Chem.* **1990**, 191, 1261; c) A. Bravo, I. Gómez-Monterrey, R. González-Muñiz, M. T. García-López, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 3117; d) T. P. Curran, S. M. Abelleira, R. J. Messier, G. F. Musso in *Peptides (Chemistry and Biology)*, Proc. 12th Am. Peptide Symp., June 16–21, Cambridge, MA, USA, Escom, Leiden, **1992**, S. 573; e) S. Jain, K. Sujatha, K. V. Rama Krishna, R. Roy, J. Singh, N. Anand, *Tetrahedron* **1992**, 48, 4985.
- [50] R. C. F. Jones, G. J. Ward, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 3853.
- [51] a) H. Kessler, *Angew. Chem.* **1970**, 82, 237; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1970**, 9, 219; b) W. E. Stewart, T. H. Siddall, *Chem. Rev.* **1970**, 70, 517.
- [52] a) D. F. Mierke, T. Yamazaki, O. E. Said-Nejad, E. R. Felder, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6847; b) H. Kessler, U. Anders, M. Schudok, *ibid.* **1990**, 112, 5908.
- [53] E. Bairaktari, D. F. Mierke, S. Mammi, E. Peggion, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 5383.
- [54] P. K. C. Paul, P. A. Burney, M. M. Campbell, D. J. Osguthorpe, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 141, zit. Lit.
- [55] a) K.-L. Yu, R. L. Johnson, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2051; b) J. Zabrocki, G. D. Smith, J. B. Dunbar, Jr., H. Iijima, G. R. Marshall, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5875.
- [56] D. K. Suumaran, M. Prorok, D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 706.
- [57] G. A. Flynn, T. P. Burkholder, E. W. Huber, P. Bey, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, 1, 309.
- [58] M. Elseviers, L. Van Der Auwera, H. Pepermans, D. Tourwé, G. Van Binst, *Bioorg. Biochem. Res. Commun.* **1988**, 154, 515.
- [59] Übersicht: A. F. Spatola, *Chem. Biochem. Amino Acids Pept. Proteins* **1983**, 7, 267.
- [60] M. M. Hann, P. G. Sammes, P. D. Kennewell, J. B. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1982**, 307.
- [61] T. Altmendinger, E. Fehler, E. Hungerbühler, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 7301.
- [62] J. Martinez, J. P. Bali, M. Rodriguez, B. Castro, R. Magous, J. Laur, M. F. Ligon, *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 1874.
- [63] D. H. Coy, P. Heinz-Erian, N.-Y. Jiang, Y. Sasaki, J. Taylor, J.-P. Moreau, W. T. Wolfrey, J. D. Gardner, R. T. Jensen, *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 5056.
- [64] A. Giannis, K. Sandhoff, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 220; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 218.
- [65] Vgl. [49d].
- [66] a) C. Dahl, Diplomarbeit, Universität Bonn, **1993**; b) vgl. [48c].
- [67] C. I. Fincham, M. Higginbottom, D. R. Hill, D. C. Horwell, J. C. O'Toole, G. S. Ratcliffe, D. C. Rees, E. Roberts, *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 1472.
- [68] M. Goodman, M. Chorev, *Acc. Chem. Res.* **1979**, 12, 1.
- [69] M. Rodriguez, P. Dubreuil, J.-P. Bali, J. Martinez, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 758.
- [70] H. Dürr, M. Goodman, G. Jung, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 773; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 785.
- [71] M. Cushman, J. Jurayj, J. D. Moyer, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 316, zit. Lit.
- [72] R. M. Freidinger, D. F. Veber, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 6129.
- [73] M. Haghara, N. J. Anthony, T. J. Stout, J. Clardy, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 6568.
- [74] H. I. Mosberg, R. Hurst, V. J. Hruby, K. Gee, H. I. Yamamura, J. J. Galligan, T. F. Burks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1983**, 80, 5871.
- [75] a) B. Charpentier, D. Pelaprat, C. Durieux, A. Dor, M. Reibaude, J. C. Blanchard, B. P. Roques, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, 85, 1986; b) B. Charpentier, A. Dor, P. Roy, H. England, H. Pham, C. Durieux, B. P. Roques, *J. Med. Chem.* **1989**, 32, 1184.
- [76] M. Rodriguez, M. Amblard, M. C. Galas, M. F. Lignon, A. Aumelas, J. Martinez, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, 35, 441.
- [77] M. Sato, Y. H. Lee, H. Nakanishi, M. E. Johnson, R. A. Chrusciel, M. Kahn, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, 187, 999.
- [78] M. Feigel, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 459.
- [79] M. Feigel, G. Lugert, C. Heichert, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 367.
- [80] V. Brandmeier, M. Feigel, *Tetrahedron* **1989**, 45, 1365.
- [81] P. C. Belanger, C. Dufresne, J. Scheitz, R. N. Young, J. P. Springer, G. I. Dimitrienko, *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 1019.
- [82] R. M. Freidinger, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3631.
- [83] J. D. Aebi, D. Guillaume, B. E. Dunlap, D. H. Rich, *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 1805.
- [84] D. S. Kemp, E. T. Sun, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 3759.
- [85] U. Nagai, K. Sato, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 647.
- [86] J. L. Krstenansky, R. L. Baranowski, B. L. Currie, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, 109, 1368.
- [87] M. Hinds, N. G. J. Richards, J. A. Robinson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1447.
- [88] M. Kahn, B. Chen, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 1623.
- [89] H. Nakanishi, R. A. Chrusciel, R. Shen, S. Bertenshaw, M. E. Johnson, T. J. Rydel, A. Tulinsky, M. Kahn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 1705.
- [90] D. S. Kemp, W. E. Stites, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 5057.
- [91] H. U. Saragovi, D. Fitzpatrick, A. Raktabutr, H. Nakanishi, M. Kahn, M. I. Greene, *Science* **1991**, 253, 792.
- [92] W. V. Williams, T. Kieber-Emmons, J. VonFeldt, M. I. Greene, D. B. Weiner, *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 5182.
- [93] Vgl. [41a].
- [94] a) P. Ward, G. B. Ewan, C. C. Jordan, S. J. Ireland, R. M. Hagan, J. R. Brown, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1848; b) Studien zur Erkennung eines Spiroactams durch Antikörper sowie zu einem α -Alkylprolin als Turnmimetikum: M. G. Hinds, J. H. Welsh, D. M. Brennan, J. Fisher, M. J. Glennie, N. G. J. Richards, D. L. Turner, J. A. Robinson, *ibid.* **1991**, 34, 1777.
- [95] C. B. Pert, S. H. Snyder, *Science* **1973**, 179, 1011.
- [96] J. Hughes, T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, L. A. Fothergill, B. A. Morgan, H. R. Morris, *Nature* **1975**, 258, 577.
- [97] S. Nakanishi, A. Inoue, T. Kita, M. Nakamura, A. C. J. Chang, S. N. Cohen, S. Numa, *Nature* **1979**, 278, 423.
- [98] S. Tachibana, K. Araki, S. Ohya, S. Yoshida, *Nature* **1982**, 295, 339.
- [99] D. R. Lynch, S. H. Snyder, *Annu. Rev. Biochem.* **1986**, 55, 773.
- [100] a) G. Zurawski, M. Benedik, B. J. Kamb, J. S. Abrams, S. M. Zurawski, F. D. Lee, *Science* **1986**, 232, 772; b) E. M. Smith, A. C. Morrill, W. J. Meyer III, J. E. Blalock, *Nature* **1986**, 321, 881.
- [101] C. J. Weitz, L. I. Lowney, K. F. Faull, G. Feistner, A. Goldstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 83, 9784.
- [102] M. Mavroyannis, *CR Soc. Biol.* **1903**, 55, 1092.
- [103] C. J. Weitz, K. F. Faull, A. Goldstein, *Nature* **1987**, 330, 674.
- [104] E. J. Simon, J. M. Hiller in *Basic Neurochemistry* (Hrsg.: G. J. Siegel, B. W. Agranoff, R. W. Albers, P. B. Molinoff), Elsevier, Amsterdam, **1989**, S. 271.
- [105] a) R. Maneckjee, J. D. Minna, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 1169; b) *ibid.* **1990**, 87, 3294; c) I. S. Zagon, P. J. McLaughlin, *Science* **1983**, 221, 671.
- [106] a) M. Wollemann, *J. Neurochem.* **1990**, 54, 1095; b) A. R. Ginzler, H. Xu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 4741; c) B. L. Kiefer, K. Befort, C. Gaveriaux, C. G. Hirth, *ibid.* **1992**, 89, 12048.
- [107] P. S. Portoghesi, *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1757; vgl. jedoch Lit. [99].
- [108] R. Schwwyer, *Ann. NY Acad. Sci.* **1977**, 297, 3.
- [109] a) P. S. Portoghesi, M. S. Sultana, A. E. Takemori, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1714; b) P. S. Portoghesi, *ibid.* **1991**, 34, 1757; c) *ibid.* **1992**, 35, 1927.
- [110] a) P. S. Portoghesi, D. L. Larson, L. M. Sayre, D. S. Fries, A. E. Takemori, *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 233; b) J. Szmulskovicz, P. F. Von Voigtlander, *ibid.* **1982**, 25, 1125.
- [111] P. S. Portoghesi, A. W. Lipkowski, A. E. Takemori, *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 238.
- [112] S. M. Evans, G. R. Lenz, R. A. Lessor, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1990**, 25, 11, zit. Lit.
- [113] D. M. Zimmerman, J. D. Leander, *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 895.
- [114] J. W. Lewis in *Medicinal Chemistry – The Role of Organic Chemistry in Drug Research* (Hrsg.: S. M. Roberts, B. J. Price), Academic Press, London, **1985**, S. 119.
- [115] C. Stein, A. H. S. Hassan, R. Przewlocki, C. Gramsch, K. Peter, A. Herz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87, 5935.
- [116] C. Stein, K. Cornisel, E. Haimeri, A. Yassouridis, K. Lehrberger, A. Herz, K. Peter, *N. Engl. J. Med.* **1990**, 325, 1123.
- [117] A. I. Basbaum, J. D. Levine, *N. Engl. J. Med.* **1990**, 325, 1168.
- [118] D. Römer, H. H. Büscher, R. C. Hill, R. Maurer, T. J. Petcher, H. Zeugner, W. Benson, E. Finner, W. Milkowski, P. W. Thies, *Nature* **1982**, 298, 759.
- [119] a) M. E. Logan, R. Goswami, B. E. Tomczuk, B. R. Venepalli, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, 26, 43; b) J. E. Maggio, *Annu. Rev. Neurosci.* **1988**, 11, 13.
- [120] U. S. von Euler, J. H. Gaddum, *J. Physiol.* **1931**, 72, 74.
- [121] M. M. Chang, S. E. Leeman, H. D. Niall, *Nature* **1971**, 232, 86.
- [122] G. W. Tregear, H. D. Niall, J. T. Potts, S. E. Leeman, M. M. Chang, *Nature* **1971**, 232, 87.

- [123] a) Y. Masu, K. Nakayama, H. Tamaki, Y. Harada, M. Kuno, S. Nakaniishi, *Nature* **1987**, *329*, 836; b) Y. Yokota, Y. Sasay, K. Tanaka, T. Fujiwara, K. Tsuchida, R. Shigemoto, A. Kahizuka, H. Ohkubo, S. Nakaniishi, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 17649; c) R. Shigemoto, Y. Yokota, K. Tsuchida, S. Nakanishi, *ibid.* **1990**, *265*, 623; d) A. D. Hershey, J. E. Krause, *Science* **1990**, *247*, 958; e) A. Graham, B. Hopkins, S. J. Powell, P. Danks, I. Briggs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *177*, 8; f) Y. Takeda, K. B. Chou, J. Takeda, B. S. Sachais, J. E. Krause, *ibid.* **1991**, *179*, 1232; g) B. Hopkins, S. J. Powell, P. Danks, I. Briggs, A. Graham, *ibid.* **1991**, *180*, 1110.
- [124] Y. Yokota, C. Akazawa, H. Ohkubo, S. Nakanishi, *EMBO J.* **1992**, *11*, 3586.
- [125] M. Lotz, J. H. Vaughan, D. A. Carson, *Science* **1988**, *241*, 1218.
- [126] M. Freidin, J. A. Kessler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 3200.
- [127] a) M. Lotz, D. A. Carson, J. H. Vaughan, *Science* **1987**, *235*, 893; b) E. D. Harris, Jr., *N. Engl. J. Med.* **1990**, *322*, 1277.
- [128] C. R. Mantyh, T. S. Gates, R. P. Zimmerman, M. L. Welton, E. P. Passaro, Jr., S. R. Vigna, J. E. Maggio, L. Kruger, P. W. Mantyh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 3235.
- [129] a) N. W. Kowall, M. F. Beal, J. Buscighio, L. K. Duffy, B. A. Yankner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 7247; b) M. Robertson, *Nature* **1992**, *356*, 103.
- [130] a) R. M. Snider, J. W. Constantine, J. A. Lowe III, K. P. Longo, W. S. Lebel, H. A. Woody, S. E. Drozda, M. C. Desai, F. J. Vinick, R. W. Spencer, H.-J. Hess, *Science* **1991**, *251*, 435; b) S. McLean, A. H. Ganong, T. F. Seeger, D. K. Bryce, K. G. Pratt, L. S. Reynolds, C. J. Siok, J. A. Lowe III, J. Heym, *ibid.* **1991**, *251*, 437.
- [131] a) C. Garret, A. Carruect, V. Fardin, S. Moussaoui, J.-F. Peyronel, J.-C. Blanchard, P. M. Laduron, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10208; b) J.-F. Peyronel, A. Truchon, C. Mountonnier, C. Garret, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 37.
- [132] B. R. Venepalli, L. D. Aimone, K. C. Appel, M. R. Bell, J. A. Dority, R. Goswami, P. L. Hall, V. Kumar, K. B. Lawrence, M. E. Logan, P. M. Scensny, J. A. Seelye, B. E. Tomczuk, J. M. Yanni, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 374.
- [133] K. C. Appell, B. E. Babb, R. Goswami, P. L. Hall, K. B. Lawrence, M. E. Logan, R. Przyklek-Elling, B. E. Tomczuk, B. R. Venepalli, J. M. Yanni, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1751.
- [134] C. T. Dourish, M. L. Clark, D. Hawley, B. J. Williams, S. D. Iversen, *Regul. Pept.* **1988**, *22*, 58.
- [135] A. T. McKnight, J. J. Maguire, B. J. Williams, A. C. Forster, R. Tridgett, L. L. Iversen, *Regul. Pept.* **1988**, *22*, 127.
- [136] A. B. McElroy, S. P. Clegg, M. J. Deal, G. B. Ewan, R. M. Hagan, S. J. Ireland, C. C. Jordan, B. Porter, B. C. Ross, P. Ward, A. R. Whittinton, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2582.
- [137] C. Advenier, N. Rouissi, Q. T. Nguyen, X. Emonds-Alt, J.-C. Breliere, G. Neliat, E. Naline, D. Regoli, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *184*, 1418.
- [138] G. Drapeau, N. Rouissi, F. Nantel, N.-E. Rhaleb, C. Tousignant, R. D. Reguli, *Regul. Pept.* **1990**, *31*, 125.
- [139] S. Rens-Domiano, T. Reisine, *J. Neurochem.* **1992**, *58*, 1987.
- [140] S. Reichlin, *N. Engl. J. Med.* **1983**, *309*, 1495.
- [141] S. Reichlin, *N. Engl. J. Med.* **1983**, *309*, 1556.
- [142] F.-W. Kluxen, C. Bruns, H. Lübert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 4618.
- [143] Vgl. [15].
- [144] D. Veber, R. Saperstein, R. Nutt, R. Freidinger, S. Brady, P. Curley, D. Perlow, W. Palveda, C. Colton, A. Zaccari, D. Tocco, D. Hoff, R. Vandlen, J. Gerich, L. Hall, L. Mandarino, E. Cordes, P. Anderson, R. Hirschmann, *Life Sci.* **1984**, *34*, 1371.
- [145] W. Bauer, U. Briner, W. Doeppner, R. Haller, R. Huguenin, P. Marbach, T. J. Petcher, *J. Physiol. Life Sci.* **1982**, *31*, 1133.
- [146] S. W. J. Lamberts, P. Uitterlinden, L. Verschoor, K. J. van Dongen, E. del Pozo, *N. Engl. J. Med.* **1985**, *313*, 1576.
- [147] L. K. Kvols, C. G. Moertel, M. J. O'Connell, A. J. Schutt, J. Rubin, R. G. Hahn, *N. Engl. J. Med.* **1986**, *315*, 702.
- [148] H. C. Soudah, W. L. Hasler, C. Owyang, *N. Engl. J. Med.* **1991**, *325*, 1508.
- [149] S. W. J. Lamberts, W. H. Bakker, J.-C. Reubi, E. P. Krenning, *N. Engl. J. Med.* **1990**, *323*, 1246.
- [150] D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. J. Paleveda, Jr., F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arrison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, *292*, 55.
- [151] R. Chamdrasekaren, A. V. Lakshminarayanan, U. V. Pandya, G. N. Ramachandran, *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *303*, 14.
- [152] a) 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* **1990**, 881; b) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengler, G. Furst, A. B. Smith III, C. D. Strader, M. A. Cascieri, M. R. Candelore, C. Donaldson, W. Vale, L. Maechler, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9217.
- [153] C. Papageorgiou, R. Haltiner, C. Bruns, T. J. Petcher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 135.
- [154] Y. Tache, M. Brown, *Trends Neurosci.* **1982**, *5*, 431; E. Spindel, *ibid.* **1986**, *9*, 130.
- [155] J. F. Battley, J. M. Way, M. H. Corjay, H. Shapira, K. Kusano, R. Hapkins, J. M. Wu, T. Slattery, E. Mann, R. I. Feldman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 395.
- [156] a) I. Zachary, J. Gil, W. Lehmann, J. Sinnet-Smith, E. Rozengurt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 4577; b) I. Zachary, J. Sinnet-Smith, E. Rozengurt, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 19031; c) Übersicht: I. Zachary, E. Rozengurt, *Cell* **1992**, *71*, 891.
- [157] F. Cottita, D. N. Carney, J. Milshine, T. W. Moody, J. Fedorko, A. Fischler, J. D. Minna, *Nature* **1985**, *316*, 823.
- [158] E. R. Larson, P. H. Fischer, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 121.
- [159] a) D. H. Coy, P. Heinz-Erian, N.-Y. Jiang, Y. Sasaki, J. Taylor, J.-P. Moreau, W. T. Wolfrey, J. D. Gardner, R. T. Jensen, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 5056; b) M. A. Shipp, G. E. Tarr, C.-Y. Chen, S. N. Switzer, L. B. Hersh, H. Stein, M. E. Sunday, E. L. Reinherz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10662.
- [160] J. A. Malikayil, L. V. Edwards, L. R. McLean, *Biochemistry* **1992**, *31*, 7043.
- [161] J. J. Valentine, S. Nakanishi, D. L. Hageman, R. M. Schneider, R. W. Spencer, F. J. Vinick, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 333.
- [162] A. M. Nadzan, J. F. Kerwin, Jr., *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 191.
- [163] H. F. Bradford, *Chemical Neurobiology* Freeman, New York, **1986**, S. 265.
- [164] P. L. Faris, B. R. Komisaruk, L. R. Watkins, D. J. Mayer, *Science* **1983**, *219*, 310.
- [165] S. A. Wank, R. Harkins, R. T. Jensen, H. Shapira, A. De Weerth, T. Slattery, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 3125.
- [166] G. S. Baldwin, R. Chandler, D. B. Scanlon, J. Weinstock, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 12252.
- [167] a) S. Mualem, G. Sachs, *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, *805*, 181; b) C. S. Chew, M. R. Brown, *ibid.* **1986**, *888*, 116; c) S. Roche, J. P. Bali, R. Magous, *ibid.* **1990**, *1055*, 287.
- [168] A. S. Kopin, Y.-M. Lee, E. W. McBride, L. J. Miller, M. Lu, H. Y. Lin, J. F. Kolakowski, Jr., M. Beinborn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 3605.
- [169] I. Marseigne, P. Roy, A. Dor, C. Durieux, D. Pelaprat, M. Rebaud, J. C. Blanchard, B. P. Roques, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 445.
- [170] J. W. Tilley, W. Danho, K. Lovey, R. Wagner, J. Swistok, R. Makofske, J. Michalewsky, J. Triscan, D. Nelson, S. Weatherford, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1125.
- [171] C. W. Lin, M. W. Holladay, D. G. Witte, T. R. Miller, C. A. W. Wolfram, B. R. Bianchi, M. J. Bennett, A. M. Nadzan, *Am. J. Physiol.* **1990**, *258*, G648.
- [172] K. Shiosaki, C. W. Lin, H. Kopecka, R. Craig, F. L. Wagenaar, B. Bianchi, T. Miller, D. Witte, A. M. Nadzan in *Peptides 1990* (Hrsg.: E. Giralt, D. Andreu), Escom, Leiden, **1991**, S. 710.
- [173] J. Y. L. Chung, M. D. Tufano, P. D. May, K. Shiosaki, A. M. Nadzan, D. S. Garvey, Y. K. Shue, M. Brodie, M. W. Holladay, *Eur. Pat. Appl. 1991*, *405*, 506.
- [174] a) *Peptides, Chemistry and Biology* (Hrsg.: J. Rivier), Escom, Leiden, **1990**; b) K. Shiosaki, R. Craig, C. W. Lin, R. W. Barrett, T. Miller, D. Witte, C. A. W. Wolfram, A. Nadzan in [174a], S. 978.
- [175] R. M. Freidinger, W. L. Whitter, N. P. Gould, M. K. Holloway, R. S. L. Chang, V. J. Lotti, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 591.
- [176] J. R. Kerwin, Jr., F. Wagenaar, H. Kopecka, C. W. Lin, T. Miller, D. Witte, A. M. Nadzan in [174a], S. 149.
- [177] R. S. L. Chang, V. J. Lotti, R. L. Monaghan, J. Birnbaum, E. O. Stapley, M. A. Goetz, G. Albers-Schönberg, A. A. Pachett, J. M. Liesch, O. D. Hensens, J. P. Springer, *Science* **1985**, *230*, 177.
- [178] B. E. Evans, M. G. Bock, K. E. Rittle, R. M. Dipardo, W. L. Whitter, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 4918.
- [179] M. G. Bock, R. M. Dipardo, B. E. Evans, K. E. Rittle, W. L. Whitter, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 13.
- [180] a) [116]; b) M. G. Bock, R. M. Dipardo, B. E. Evans, K. E. Rittle, W. L. Whitter, D. F. Veber, R. M. Freidinger, R. S. L. Chang, T. B. Chen, V. J. Lotti, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 450.
- [181] D. C. Horwell, A. Beeby, C. R. Clark, J. Hughes, *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 729.
- [182] M. R. Pincus, R. P. Carty, J. Chen, J. Lubowsky, M. Avitable, D. Shah, H. A. Scheraga, R. B. Murphy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 4821.
- [183] D. C. Horwell, J. Hughes, J. C. Hunter, M. C. Pritchard, R. S. Richardson, E. Roberts, G. N. Woodruff, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 404.
- [184] J. Hughes, P. Boden, B. Costall, A. Domency, E. Kelly, D. C. Horwell, J. C. Hunter, R. D. Pinnock, G. N. Woodruff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 6728.
- [185] C. T. Dourish, W. Rycroft, S. D. Iversen, *Science* **1989**, *245*, 1509.
- [186] Z. Wiesenfeld-Hallin, X.-J. Xu, J. Hughes, D. C. Horwell, T. Höckel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 7105.
- [187] E. P. Wiertelak, S. F. Maier, L. R. Watkins, *Science* **1992**, *256*, 830.
- [188] P. M. Conn, W. F. Crowley, Jr., *N. Engl. J. Med.* **1991**, *324*, 93.
- [189] A. Tse, B. Hille, *Science* **1992**, *255*, 462.
- [190] L. Kiesel, A. F. Przylipiak, A. J. R. Habenicht, M. S. Przylipiak, B. Runnenbaum, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 8801.

- [191] J. J. Nestor, Jr., B. H. Vickery, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 211.
- [192] Zu Synthese und biologischen Eigenschaften von Azapeptiden: J. Gante, *Synthesis* **1989**, *405*.
- [193] F. A. Momany, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 2990.
- [194] R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein, *Science* **1980**, *210*, 656.
- [195] J.-M. Kuhn, T. Billebaud, H. Navratil, A. Moulognouet, J. Fiet, P. Grise, J.-F. Jouis, P. Costa, J.-M. Husson, R. Dahan, C. Bertagna, R. Edelstein, *N. Engl. J. Med.* **1989**, *321*, 413.
- [196] E. D. Crawford, M. A. Eisenberger, D. G. McLeod, J. T. Spaulding, R. Benson, F. A. Dorr, B. A. Blumenstein, M. A. Davies, P. J. Goodman, *N. Engl. J. Med.* **1989**, *321*, 419.
- [197] M. R. Henzl, S. L. Corson, K. Moghissi, V. C. Buttram, C. Berquist, J. Jacobson, *N. Engl. J. Med.* **1988**, *318*, 485.
- [198] R. L. Barbieri, *N. Engl. J. Med.* **1988**, *318*, 512.
- [199] a) A. Ljungqvist, D.-M. Feng, P.-F. L. Tang, M. Kubota, T. Okamoto, Y. Zhang, C. Y. Bowers, W. A. Hook, K. Folkers, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *148*, 849; b) Verbesserungen auf dieser Basis: A. Ljungqvist, D.-M. Reng, C. Bowers, W. A. Hook, K. Folkers, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 3297.
- [200] S. Bhasin, S. Sikka, T. Fielder, U. Sod-Moriah, H. B. Levine, T. S. Swerdlow, J. Rajfer, *J. Endocrinol.* **1986**, *118*, 1229.
- [201] D. Biswanath, J. J. Plattner, E. N. Bush, H.-S. Jae, G. Diaz, E. S. Johnson, T. I. Perun, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2038.
- [202] W. J. Greenlee, P. K. S. Siegl, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 63.
- [203] A. T. Chiu, W. F. Herblin, D. E. McCall, R. J. Ardecky, D. J. Carini, J. V. Duncia, L. J. Pease, P. C. Wong, R. R. Wexler, A. L. Johnson, P. B. M. W. M. Timmermans, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *165*, 196.
- [204] K. Sandberg, H. Ji, A. J. L. Clark, H. Shapira, K. J. Catt, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 9455.
- [205] K. Sasaki, Y. Yamano, S. Bardhan, N. Iwai, J. J. Murray, M. Hasegawa, Y. Matsuda, T. Inagami, *Nature* **1991**, *351*, 230.
- [206] T. J. Murphy, R. W. Alexander, K. K. Griendling, M. S. Runge, K. E. Bernstein, *Nature* **1991**, *351*, 233.
- [207] D. J. Bergsma, C. Ellis, C. Kumar, P. Nuthulaganti, H. Kersten, N. Eishourbagy, E. Griffin, J. M. Stadel, N. Alyar, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *183*, 989.
- [208] P. Feuillan, M. A. Millan, G. Aguilera, *FASEB J.* **1991**, *5*, A 872.
- [209] M. Viswanathan, K. Tsutsumi, F. M. A. Correa, J. M. Saavedra, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *179*, 1361.
- [210] M. A. Millan, D. M. Jacobowitz, G. Aguilera, K. J. Catt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 11440.
- [211] M. Holk, R. Bossé, W. Fischli, H. Gerold, E. Escher, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *160*, 1350.
- [212] K. L. Spear, M. S. Brown, E. J. Reinhard, E. G. McMahon, G. M. Olins, M. A. Palomo, D. R. Patton, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1935.
- [213] R. C. Speth, K. H. Kim, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *169*, 997.
- [214] S. Whitebread, M. Mele, B. Kamber, M. de Gasparo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *163*, 284.
- [215] D. J. Carini, J. V. Duncia, P. E. Aldrich, A. T. Chiu, A. L. Johnson, M. E. Pierce, W. A. Price, J. B. Santella III, G. J. Wells, R. R. Wexler, P. C. Wong, S. Yoo, P. B. M. W. M. Timmermans, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2525.
- [216] Y. Furukawa, S. Kishimoto, K. Nishikawa, US-A 4340598, **1982**.
- [217] J. Weinstock, R. M. Keenan, J. Samanen, J. Hempel, J. A. Finkelstein, R. G. Franz, D. E. Gaitanopoulos, G. R. Girard, J. G. Gleason, D. T. Hill, T. M. Morgan, C. E. Peishoff, N. Aiyar, D. P. Brooks, T. A. Fredrickson, E. H. Ohlstein, R. R. Ruffolo, Jr., E. J. Stack, A. C. Sulpizio, E. F. Weidley, R. M. Edwards, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1514.
- [218] B. De, M. Winn, T. M. Zydowsky, D. J. Kerkman, J. F. DeBernardis, J. Lee, S. Buckner, R. Warner, M. Brune, A. Hancock, T. Opgenorth, K. Marsh, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3714.
- [219] C. J. Blankley, J. C. Hodges, S. R. Klutchko, R. J. Himmelsbach, A. Chuholowski, C. J. Conolly, S. J. Neergaard, M. S. Van Nieuwenhze, A. Sebastian, J. Quin III, A. D. Essenburg, D. M. Cohen, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 3248.
- [220] R. K. Sharma, J. R. Smith, G. J. Moore, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *179*, 85.
- [221] A. M. Doherty, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 83.
- [222] M. Yanagisawa, H. Kurihara, S. Kumura, Y. Tomobe, M. Kobayashi, Y. Mitsui, Y. Yazaki, K. Goto, T. Masaki, *Nature* **1988**, *332*, 411.
- [223] a) A. Inoue, M. Yanagisawa, S. Kimura, Y. Kasuya, T. Miyauchi, K. Goto, T. Masaki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 2863; b) H. Matsumoto, N. Suzuki, H. Onda, M. Fujino, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *164*, 74.
- [224] Übersicht: J. R. Vane, E. E. Änggård, R. M. Botting, *N. Engl. J. Med.* **1990**, *323*, 27.
- [225] L. Z. Krsmanovic, S. S. Stojilovic, T. Balla, S. Al-Damluji, R. I. Weiner, K. J. Catt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 11124.
- [226] E. G. McMahon, M. A. Palomo, W. M. Moore, J. F. McDonald, M. K. Stern, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 703.
- [227] a) H. Arai, S. Hori, I. Aramori, H. Ohkubo, S. Nakanishi, *Nature* **1990**, *348*, 730; b) T. Sakurai, M. Yanagisawa, Y. Takuwa, H. Miyazaki, S. Kimura, K. Goto, T. Masaki, *Nature* **1990**, *348*, 732.
- [228] S. S. Stojilovic, F. Merelli, T. Iida, L. Z. Krsmanovic, K. J. Catt, *Science* **1990**, *248*, 1663.
- [229] T. Saeki, M. Ihara, T. Fukuroda, M. Yamagawa, M. Yano, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *179*, 286.
- [230] M. J. Spinella, A. B. Malik, J. Everitt, T. T. Andersen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 7743.
- [231] a) D. B. Morrison, M. L. Swanson, L. J. Swanson, L. J. Sweet, J. E. Pessin, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 8706; b) P. A. Wilden, J. L. Treadway, B. D. Morrison, J. E. Pessin, *Biochemistry* **1989**, *28*, 9734.
- [232] M. Ihara, T. Fukuroda, T. Saeki, M. Nishikibe, K. Kojiri, H. Suda, M. Yano, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *178*, 132.
- [233] K. Ishikawa, T. Fukami, T. Nagase, K. Fujita, T. Hayama, K. Niijyama, T. Mase, M. Ihara, M. Yano, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2139.
- [234] C. R. Hiley, D. J. Cowley, J. T. Pelton, A. C. Hargreaves, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *184*, 504.
- [235] Y. Urade, Y. Fujitani, K. Oda, T. Watakabe, I. Umemura, M. Takai, T. Okada, K. Sakata, H. Karaki, *FEBS Lett.* **1982**, *311*, 12.
- [236] N. Oochata, M. Nishikawa, S. Kiyoto, S. Takase, K. Hemmi, H. Murai, M. Okuhara, *Eur. Pat. Appl.*, EP-A 405421.
- [237] R. Takayanagi, K. Kitazumi, C. Tadasaki, K. Ohnaka, S. Aimoto, K. Tasaka, M. Ohashi, H. Nawata, *FEBS Lett.* **1991**, *282*, 103.
- [238] Y. Kondo, K. Torii, S. Omura, Z. Ito, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *150*, 877.
- [239] J. Janssens, T. J. Peters, G. Vantrappen, J. Tack, J. L. Urban, M. De Roo, E. Muls, R. Bouillon, *N. Engl. J. Med.* **1990**, *322*, 1028.
- [240] A. Virsolv-Vergne, H. Leray, S. Kuroki, B. Lupo, M. Dufour, D. Battaille, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 6629.
- [241] D. H. Hinzen, L. Pieri, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1992**, *40*, 811.
- [242] a) H. Alho, E. Costa, P. Ferrero, M. Fujimoto, D. Cosenza-Murphy, A. Guidotti, *Science* **1985**, *229*, 179; b) H. Marquardt, G. J. Todaro, M. Shoyad, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 9727.
- [243] J. L. Collins, P. J. Collins, S. W. Goldstein, W. S. Faraci, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 915.
- [244] Y. Yamamura, H. Ogawa, T. Chihara, K. Kondo, T. Onogawa, S. Nakamura, T. Mori, M. Tominaga, Y. Yabuuchi, *Science* **1991**, *252*, 572.
- [245] H. J. Motulsky, M. C. Michel, International Society of Hypertension, Montreal, Abstract P5.15, 1990, zitiert in A. M. Doherty, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1991**, *26*, 88.
- [246] L. Alig, A. Edenhofer, M. Müller, A. Trzeciak, T. Weller, US-A 5039805.
- [247] M. Kahn, B. Devens, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4841. Anlaß zur Synthese von 144 gab die Beobachtung, daß das Tripeptid Lys-Pro-Arg die Effekte von Tuftsin antagonisiert.
- [248] B. E. Evans, J. L. Leighton, K. E. Rittle, K. F. Gilbert, G. F. Lundell, N. P. Gould, D. W. Hobbs, R. M. DiPardo, D. F. Veber, D. J. Pettibone, B. V. Clineschmidt, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3919.
- [249] R. Hirschmann, P. A. Sprengler, T. Kawasaki, J. W. Leahy, W. C. Shakespeare, A. B. Smith III, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9699.
- [250] M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, H. Kessler, *FEBS Lett.* **1991**, *291*, 50.
- [251] G. Müller, M. Gurrath, H. Kessler, R. Timpl, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 341; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 326.
- [252] a) [4]; b) [13].
- [253] A. D. Strosberg, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *196*, 1.
- [254] G. R. Marshall, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1992**, *2*, 904.
- [255] R. W. Hoffmann, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1147; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1124.
- [256] a) R. Pauwels, K. Andries, J. Desmyter, D. Schols, M. Kukla, H. Breslin, A. Raeymaeckers, J. Van Gelder, R. Woestenborghs, J. Heykants, K. Schellekens, M. A. C. Janssen, E. De Clercq, P. Janssen, *Nature* **1990**, *343*, 470; b) V. J. Merlini, K. D. Hargrave, M. Labadia, K. Grozinger, M. Skoog, J. C. Wu, C.-K. Shih, K. Eckner, S. Hattox, J. Adams, A. S. Rosenthal, R. Faanes, R. J. Eckner, R. A. Koup, J. L. Sullivan, *Science* **1990**, *250*, 1411; c) G. V. De Luca, M. J. Otto, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 1639.
- [257] Benzodiazepine wie *N*-Desmethyl Diazepam wurden überraschenderweise im Gehirn von Menschen nachgewiesen, die nicht mit Benzodiazepinen behandelt wurden. Auch in menschlichen Autopsiematerial, das vor 52 Jahren, d. h. lange vor der ersten chemischen Benzodiazepinsynthese gewonnen wurde, konnte *N*-Desmethyl Diazepam nachgewiesen werden. Der Biosyntheseweg ist noch ungeklärt. a) L. Sangameswaran, H. M. Fales, P. Friedrich, A. L. De Blas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 9236; b) J. D. Rothstein, W. Garland, G. Puia, A. Guidotti, R. Weber, E. Costa, *J. Neurochem.* **1992**, *58*, 2102; c) Übersicht: F. A. Stephenson, *Trends Neurosci.* **1987**, *10*, 185.
- [258] L. L. Iversen, *Sci. Am.* **1979**, *241*, 134.
- [259] T. M. Jessel, D. D. Kelly in *Principles of Neural Science* (Hrsg.: E. R. Kandel, J. H. Schwarz, T. M. Jessel), Elsevier, New York, **1991**, S. 385.
- [260] **Ergänzung bei der Korrektur:** Wir möchten auf die kürzlich erschienenen Sonderhefte hinweisen: *Peptide Secondary Structure Mimetics (Tetrahedron 1993, 43 (17))*; *Approaches to non-peptide ligands for Peptide Receptor Sites (Bioorg. Med. Chem. Lett. 1993, 3 (5))*.