

Erhöhung der $\alpha\beta 3$ -Selektivität des Angiogenese hemmenden Wirkstoffs Cilengitid durch N-Methylierung**

Carlos Mas-Moruno, Johannes G. Beck, Lucas Doedens, Andreas O. Frank, Luciana Marinelli, Sandro Cosconati, Ettore Novellino und Horst Kessler*

Cilengitid [c(RGDf(NMe)V)] ist ein cyclisches RGD-Peptid, das sich zurzeit in klinischer Phase III zur Behandlung von Hirntumoren und in Phase II zur Therapie anderer Krebsarten befindet.^[1] Die tumorhemmenden Eigenschaften dieses Peptids beruhen auf seiner antagonistischen Aktivität gegenüber angiogenesefördernden Integrinen wie $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ oder $\alpha 5\beta 1$. Die spezifischen Funktionen dieser Integrin-Subtypen während der Angiogenese sind jedoch weder eindeutig noch vollständig verstanden. In dieser Arbeit präsentieren wir di-N-methylierte Analoga des Stammpeptids c(RGDfV), welche ihre nanomolare $\alpha\beta 3$ -Bindungsaktivität behalten, jedoch ihre Aktivität gegenüber den Integrinen $\alpha\beta 5$ und/oder $\alpha 5\beta 1$ verloren haben. Hochaktive und selektive Peptide dieser Art für $\alpha\beta 3$ sind wichtige Werkzeuge, um die spezifische Rolle dieses Integrins während der Angiogenese und bei Krebserkrankungen zu untersuchen.

Integrine sind heterodimere Rezeptoren, die Zell-Zell- und Zell-ECM-Wechselwirkungen (ECM = extrazelluläre Matrix) steuern und für eine Vielzahl zellulärer Funktionen essentiell sind.^[2] Der Umstand, dass viele Integrine an pathologischen Prozessen wie der Tumorangiogenese beteiligt sind, regte zu Untersuchungen ihrer Eignung als Therapeutika an.^[3] Viele Integrinrezeptoren erkennen und binden die Tripeptidsequenz RGD, die ein bedeutendes Zelladhäsionsmotiv in ECM-Proteinen darstellt.^[4] Die Nachahmung dieser Tripeptidsequenz mittels RGD-Peptiden oder Peptidmimetika ist ein vielversprechender Ansatz, um Integrine, welche an der Angiogenese beteiligt sind, anzugreifen und somit krebshemmende Wirkstoffe zu entwickeln.^[1,3b,5]

Es ist bekannt, dass $\alpha\beta 3$ und $\alpha\beta 5$ an zwei verschiedenen angiogenetischen Pfaden beteiligt sind.^[6] Während die Angiogenese von $\alpha\beta 3$ abhängig ist, wenn sie durch den basalen Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) oder den Tumorkrosefaktor- α eingeleitet wird, hängt sie von $\alpha\beta 5$ ab, wenn sie durch den vaskulären Endothelwachstumsfaktor (VEGF) oder den transformierenden Wachstumsfaktor- α ausgelöst wird. Beide Integrine wurden weiterhin als wichtige Vermittler bei der Sauerstoffmangelregulation in Glioblastomen beschrieben.^[7] Andererseits zeigten Mäuse, denen entweder $\alpha\beta 3$ oder $\beta 3$ und $\beta 5$ fehlten, eine starke Angiogenese.^[8] Diese verblüffenden Resultate sind in der Fachliteratur umstritten und haben unser Verständnis hinsichtlich der Rolle der beiden Integrine während der Angiogenese in Frage gestellt.^[9] Das Integrin $\alpha 5\beta 1$ wird zudem stark in wachsenden Gefäßen exprimiert, was durch mehrere angiogenetische Stimuli wie bFGF, jedoch nicht durch VEGF ausgelöst wird.^[10] Da $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ und $\alpha 5\beta 1$ teilweise überlappende Ligandenaffinitäten aufweisen,^[4b] leuchtet es ein, dass $\alpha 5\beta 1$ die pro-angiogenetische Aktivität der anderen Integrine übernehmen kann. In einer jüngeren Studie konnte gezeigt werden, dass Cilengitid, in geringen Konzentrationen eingesetzt, die VEGF-vermittelte Angiogenese paradoxerweise stimuliert.^[11] Obwohl die in dieser Arbeit verwendeten Dosierungen deutlich unter therapeutischen Konzentrationen lagen und deshalb wahrscheinlich keine pro-angiogenetischen klinischen Effekte zu erwarten sind,^[12] wird es klar, dass ein besseres Verständnis Angiogenese hemmender Wirkstoffe von Nöten ist.^[13]

Sowohl wir als auch andere Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass N-Methylierung von Peptiden die Selektivität gegenüber bestimmten Rezeptoruntergruppen steigern kann.^[14] Solche biologischen Effekte werden oft durch die Einführung konformativer Einschränkungen ausgelöst, was zum Auftreten einzelner bevorzugter Konformere führt, die essentiell für die biologische Aktivität sind.^[14a,d,h,15] Wir vermuteten daher, dass zusätzliche N-Methylierungen von Cilengitid zu einem verbesserten Selektivitätsprofil führen sollten. Demzufolge konstruierten wir eine Bibliothek mit allen di-N-methylierten Analoga von c(RGDfV) (Abbildung 1).

Es ist wichtig, zu berücksichtigen, dass die Synthese von NMe-Peptiden (vor allem wenn diese cyclisch sind) nicht frei von Herausforderungen ist, die sorgfältig beachtet werden müssen.^[14a,16] Obwohl sie kommerziell erhältlich sind, sind viele N-methylierte Aminosäuren weiterhin teuer. Aus diesem Grund synthetisierten wir durch Reduktion der entsprechenden Oxazolidinone unter Freidinger-Bedingungen NMe-Reste von Gly, Val und D-Phe in Lösung.^[17] Alternativ

[*] Dr. C. Mas-Moruno, J. G. Beck, Dr. L. Doedens, Dr. A. O. Frank, Prof. Dr. H. Kessler
Institute for Advanced Study and Center of Integrated Protein Science, Department Chemie, Technische Universität München, 85747 Garching (Deutschland)
E-Mail: kessler@tum.de

Prof. Dr. H. Kessler
Chemistry Department, Faculty of Science,
King Abdulaziz University, 21589 Jeddah (Saudi-Arabien)
Prof. Dr. L. Marinelli, Dr. S. Cosconati, Prof. Dr. E. Novellino
Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica,
Università di Napoli „Federico II“, 80131 Napoli (Italien)

[**] Diese Arbeit wurde durch die International Graduate School of Science and Engineering gefördert. Wir danken B. Cordes für technische Hilfe bei der Massenspektrometrie. C.M.M. thanks the Generalitat de Catalunya für ein Beatriu de Pinós-Stipendium. J.G.B. dankt der TUM Graduate School für Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201102971> zu finden.

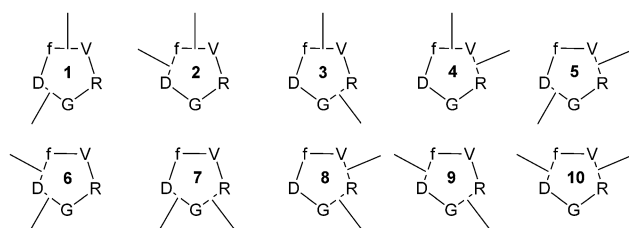
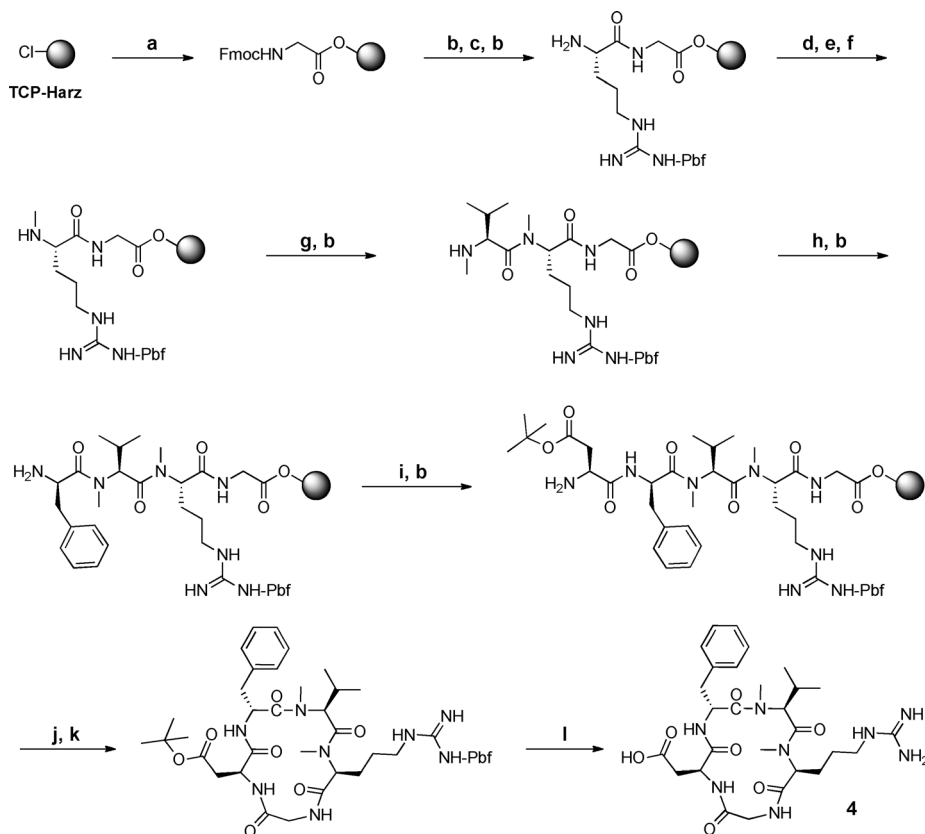


Abbildung 1. Unsere Bibliothek di-N-methylierter Analoga von c(RGDfV).

wurden Arg und Asp mithilfe des Miller-Scanlan-Protokolls,^[18] das später durch Biron et al.^[19] optimiert wurde, an der Festphase methyliert; dies ist mit der Verwendung säureempfindlicher Seitenkettenschutzgruppen vereinbar. Darüber hinaus gibt es weitere Limitierungen: Beispielsweise führte die Anwesenheit von NMeGly am C-Terminus zu einer Diketopiperazinbildung. Außerdem benötigten wir starke Kupplungsreagentien wie HATU, um die Kupplungseffizienz zu steigern. Ein weiterer kritischer Schritt war die Cyclisierung: Um diese zu begünstigen, wurden NMe-Aminosäuren am N-Terminus vermieden, und wann immer möglich wurde Gly am C-Terminus fixiert, um Racemisierung zu verhindern. Schließlich wurden Reaktionszeiten und verwendete TFA-Konzentrationen optimiert, um Peptidfragmentierung während der Seitenkettenentschützung zu vermeiden. Die Synthese von Peptid **4**, welche die beschriebenen Überlegungen zusammenfasst, ist in Schema 1 gezeigt (siehe Hintergrundinformationen für eine detaillierte Beschreibung der Synthesen aller Analoga).

Der Einfluss der zusätzlichen N-Methylierung auf die Integrinbindungsaktivität und -selektivität von Cilengitid wurde mithilfe eines Festphasenbindungsassays getestet, wobei Bindung an die pro-angiogenetischen Integrine $\alpha\beta3$, $\alpha\beta5$ und $\alpha5\beta1$ sowie an den Plättchenrezeptor $\alphaIIb\beta3$ untersucht wurde (Tabelle 1). Diejenigen Analoga, die kein NMeVal aufwiesen (**5–10**), zeigten unabhängig von den Positionen der N-methylierten Reste eine drastisch reduzierte $\alpha\beta3$ -Bindungsaktivität. Dieser Effekt wurde vor allem für die Peptide **9** und **10** beobachtet, die ihre antagonistische Aktivität für den Vitronektinrezeptor vollständig verloren haben.

Demgegenüber wiesen die Analoga, deren Val N-methyliert war (**1–4**), eine Aktivität im unteren nanomolaren Bereich gegenüber dem $\alpha\beta3$ -Rezeptor auf. Diese Ergebnisse zeigen, dass NMeVal möglicherweise aufgrund der Erzeugung einer bevorzugten bioaktiven $\alpha\beta3$ -Bindungskonformation ein essentieller Rest zur Erhaltung der Rezeptoraktivität ist.^[5a,20] Die vollständig inaktiven Analoga **9** und **10** sind an D-Phe N-methyliert. Es lässt sich somit vermuten, dass dieser biologische Effekt durch den Verlust eines H-Brücken-Donors an dieser Position ausgelöst wird;^[21] andererseits weist Peptid **2**, das ebenfalls NMe-D-Phe besitzt, eine bemerkenswerte, nanomolare antagonistische Aktivität auf. In dieser Hinsicht ist ebenfalls der Effekt von NMeArg interessant. In einer früheren Studie zeigte ein Peptid mit einer einzelnen N-Methylierung dieses Restes einen IC_{50} -Wert von 5.5 nM.^[5a] In der vorliegenden Arbeit fanden wir bei Anwesenheit von NMeArg Peptide mit Aktivitäten im superpotenten (1.9 nM, **4**), mittleren (142 nM, **5**), niedrigen (> 1000 nM, **8**) und sehr niedrigen Bereich (> 10000 nM, **10**). Diese Daten zeigen deutlich, dass die biologische Aktivität der Peptide stärker von ihrer Gesamtkonformation und weniger von lokalen Ef-



Schema 1. Festphasensynthese von **4**. a) Fmoc-Gly-OH, DIEA, DCM; b) Piperidin-NMP (1:4); c) Fmoc-Arg(Pbf)-OH, TBTU, HOBt, DIEA, NMP; d) NBS-Cl, Collidin, NMP; e) Ph_3P , MeOH, DIAD, THF; f) $HS-CH_2-CH_2-OH$, DBU, NMP; g) Fmoc-NMeVal-OH, HATU, HOAt, DIEA, NMP; h) Fmoc-D-Phe-OH, HATU, HOAt, DIEA, NMP; i) Fmoc-Asp(OtBu)-OH, TBTU, HOBt, DIEA, NMP; j) HFIP-DCM (2:8); k) DPPA, $NaHCO_3$, DMF; l) TFA-DCM- H_2O -TIS (60:35:2.5:2.5). Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl, DIEA = Ethyldiisopropylamin, DCM = Dichlormethan, NMP = N-Methylpyrrolidin, TBTU = O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluoroborat, NBS-Cl = Nitrobenzolsulfonylchlorid, DIAD = Diisopropylazodicarboxylat, DBU = 1,5-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en, HATU = O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, HFIP = Hexafluorisopropylalkohol, DPPA = Di-phenylphosphorylazid, TFA = Trifluoressigsäure, TIS = Triisopropylsilan.

Tabelle 1: Zehn di-N-methylierte Analoga von Cilengitid einschließlich ihrer Bindungsaktivität (IC_{50} in nM) gegenüber $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha 5\beta 1$ und $\alpha II\beta 3$.^[a]

Peptid		$\alpha v\beta 3$	$\alpha v\beta 5$	$\alpha 5\beta 1$	$\alpha II\beta 3$	$\alpha v\beta 5 / \alpha v\beta 3$	$\alpha 5\beta 1 / \alpha v\beta 3$
Cil	c(-R-G-D-f-V-)	0.65(±0.07)	11.7(±1.5)	13.2(±0.6)	815(±60)	18	20
1	c(-R-G-D-f-V-)	5.9(±2.5)	> 3000	270(±95)	> 1000	> 500	46
2	c(-R-G-D-f-V-)	36.2(±8.1)	> 10000	> 2000	> 10000	> 250	55
3	c(-R-G-D-f-V-)	13.2(±1.8)	313(±122)	> 1000	> 2000	24	> 75
4	c(-R-G-D-f-V-)	1.9(±0.3)	40.9(±3.2)	39.5(±1.3)	> 1000	22	21
5	c(-R-G-D-f-V-)	142(±33)	> 10000	> 2000	> 10000	> 70	> 14
6	c(-R-G-D-f-V-)	173(±12)	> 10000	> 5000	> 10000	> 58	> 29
7	c(-R-G-D-f-V-)	965(±96)	> 10000	> 1000	> 10000	–	–
8	c(-R-G-D-f-V-)	> 1000	> 10000	> 10000	> 2000	–	–
9	c(-R-G-D-f-V-)	> 10000	> 10000	> 10000	> 2000	–	–
10	c(-R-G-D-f-V-)	> 10000	> 10000	> 10000	> 10000	–	–

[a] Die Reste in fett + kursiv sind N-methyliert.

effekten einer einzelnen N-Methylierung abhängt.^[22] Bemerkenswerterweise sind die meisten Verbindungen der Bibliothek inaktiv gegenüber den Integrinen $\alpha v\beta 5$ und $\alpha 5\beta 1$. Beim Blick auf die Peptide **1–4** (hochaktiv für $\alpha v\beta 3$) weist lediglich **4** eine nanomolare Aktivität für die beiden vorher genannten Rezeptoren auf, wobei die Selektivitätsverhältnisse denen von Cilengitid sehr ähneln. Im Unterschied hierzu ist die Aktivität der Peptide **1** und **2** gegenüber $\alpha v\beta 5$ stark bzw. vollständig unterdrückt; die Verhältnisse der Selektivitäten sind im Vergleich zu Cilengitid stark angestiegen (> 500-fach für **1** und > 250-fach für **2**). Molekül **3** weist keine verbesserte Selektivität gegenüber $\alpha v\beta 5$, jedoch gegenüber $\alpha 5\beta 1$ auf. Im Vergleich zu Cilengitid zeigen diese Peptide alle eine entweder vergleichbare oder verbesserte Selektivität gegenüber $\alpha II\beta 3$. Für die Analoga **5–10** wurde eine starke Verringerung der Bindungsaktivität bezüglich $\alpha v\beta 5$ und $\alpha 5\beta 1$ beobachtet. Diese Peptide sind wegen ihrer niedrigen (oder fehlenden) Affinität für $\alpha v\beta 3$ jedoch von geringerem biologischen Interesse.

Um diese Resultate zu verstehen und die gefundenen Selektivitäten besser erklären zu können, wurden drei Peptide für Strukturuntersuchungen ausgewählt: Peptid **1**, ein selektiver Ligand mit nanomolarer Aktivität für $\alpha v\beta 3$ und geringer Aktivität für $\alpha v\beta 5$; Peptid **4**, das aktiv gegenüber beiden Rezeptoren und deshalb nicht selektiv ist; und Peptid **10**, das vollständig inaktiv gegenüber beiden Integrinen ist. Basierend auf NMR-Zuordnungen (Tabelle S2 in den Hintergrundinformationen), ROEs, homo- und heteronuklearen skalaren Kopplungen, H^N -Temperaturgradienten und Distanzgeometrierechnungen konnten eindeutige, bevorzugte Strukturmodelle für alle drei Peptidrückgrate generiert werden (Abbildung 2). Die Strukturen von **1**, **4** und **10** weisen ausgeprägte Unterschiede auf, die detailliert in den Hintergrundinformationen zusammen mit zusätzlichen Informationen zu deren Dynamik beschrieben sind. Diese Peptidstrukturen wurden zu Molekuldocking-Studien in die Röntgenstruktur von $\alpha v\beta 3$ und in ein neu konstruiertes $\alpha v\beta 5$ -Homologiemodell eingesetzt. Das Docking von **1** in $\alpha v\beta 3$ zeigte, dass dieses Peptid in ähnlicher Weise wie Cilengitid mit dem Rezeptor wechselwirken kann (Abbildung 3a). Gleichwohl soll angemerkt werden, dass die Substitution des Asp-Restes in Cilengitid durch NMeAsp in **1** den Bindungsmodus zu $\alpha v\beta 3$

in einem gewissen Umfang beeinflusst: Diese Modifizierung führte zum Verlust der H-Brücke zu ($\beta 3$)-D216-CO, und es kommt – was noch bedeutender erscheint – zu einer offensichtlichen Umlagerung der unteren Hälfte des Peptids (siehe Abbildung 3b). Dies erklärt, wieso **1** eine im Vergleich zu Cilengitid ungefähr 10-fach geringere Affinität zu $\alpha v\beta 3$ aufweist (5.9 nM bzw. 0.65 nM). Für das Docking an den $\alpha v\beta 3$ -Rezeptor wurden 100 Homologiemodelle generiert, die sich in ihren Konformationen der spezifitätsbestimmenden Schleife (SDL) unterschieden. Vor den Dockingrechnungen wurden alle 100 Modelle bezüglich ihrer Fähigkeit, das unspezifische Cilengitid zu binden, getestet; lediglich solche Strukturen, die binden konnten, wurden im Weiteren für das Docking von **1**, **4** und **10** berücksichtigt. Wie vorherzusehen war, nahm Cilengitid eine Bindungsstellung ein, die dem experimentell bestimmten, gebundenen Zustand in $\alpha v\beta 3$ ähnelt.^[20] Interessanterweise ergab die Auswertung der mehrfach durchgeführten Dockingsimulationen mit den für $\alpha v\beta 5$ ausgewählten Modellen, dass im Fall von **1** kein gut definierter Bindungsmodus identifiziert werden kann. Somit kann gefolgert werden, dass in diesem Fall die Asp-N-Methylierung einen ausgeprägten Einfluss auf die Bindung an $\alpha v\beta 5$ hat. Zur weiteren Charakterisierung dieses Verhaltens wurde der vorhergesagte **1**/ $\alpha v\beta 3$ -Komplex mit der modellierten $\alpha v\beta 5$ -Rezeptorstruktur überlagert. Abbildung 3c verdeutlicht, dass die ($\beta 3$)-A252/($\beta 5$)-D279-Mutation eine bemerkenswerte Einschränkung des verfügbaren Raumes zur

in einem gewissen Umfang beeinflusst: Diese Modifizierung führte zum Verlust der H-Brücke zu ($\beta 3$)-D216-CO, und es kommt – was noch bedeutender erscheint – zu einer offensichtlichen Umlagerung der unteren Hälfte des Peptids (siehe Abbildung 3b). Dies erklärt, wieso **1** eine im Vergleich zu Cilengitid ungefähr 10-fach geringere Affinität zu $\alpha v\beta 3$ aufweist (5.9 nM bzw. 0.65 nM). Für das Docking an den $\alpha v\beta 3$ -Rezeptor wurden 100 Homologiemodelle generiert, die sich in ihren Konformationen der spezifitätsbestimmenden Schleife (SDL) unterschieden. Vor den Dockingrechnungen wurden alle 100 Modelle bezüglich ihrer Fähigkeit, das unspezifische Cilengitid zu binden, getestet; lediglich solche Strukturen, die binden konnten, wurden im Weiteren für das Docking von **1**, **4** und **10** berücksichtigt. Wie vorherzusehen war, nahm Cilengitid eine Bindungsstellung ein, die dem experimentell bestimmten, gebundenen Zustand in $\alpha v\beta 3$ ähnelt.^[20] Interessanterweise ergab die Auswertung der mehrfach durchgeführten Dockingsimulationen mit den für $\alpha v\beta 5$ ausgewählten Modellen, dass im Fall von **1** kein gut definierter Bindungsmodus identifiziert werden kann. Somit kann gefolgert werden, dass in diesem Fall die Asp-N-Methylierung einen ausgeprägten Einfluss auf die Bindung an $\alpha v\beta 5$ hat. Zur weiteren Charakterisierung dieses Verhaltens wurde der vorhergesagte **1**/ $\alpha v\beta 3$ -Komplex mit der modellierten $\alpha v\beta 5$ -Rezeptorstruktur überlagert. Abbildung 3c verdeutlicht, dass die ($\beta 3$)-A252/($\beta 5$)-D279-Mutation eine bemerkenswerte Einschränkung des verfügbaren Raumes zur

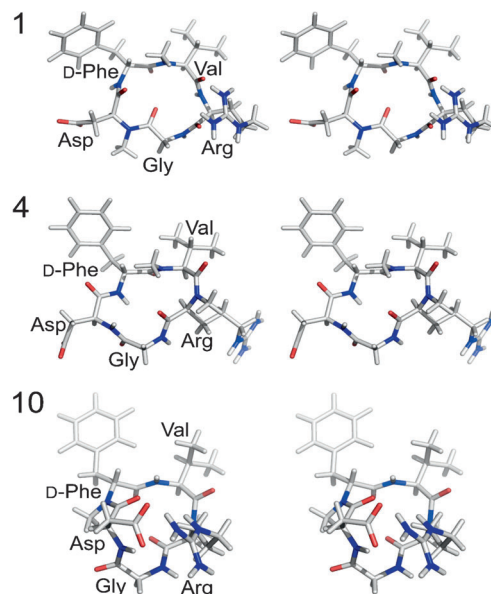


Abbildung 2. Stereoansicht der Strukturen von **1**, **4** und **10**, wie sie durch NMR-basierte Distanzgeometrierechnungen und anschließende Energieminimierungen gewonnen wurden (siehe Hintergrundinformationen für Details).

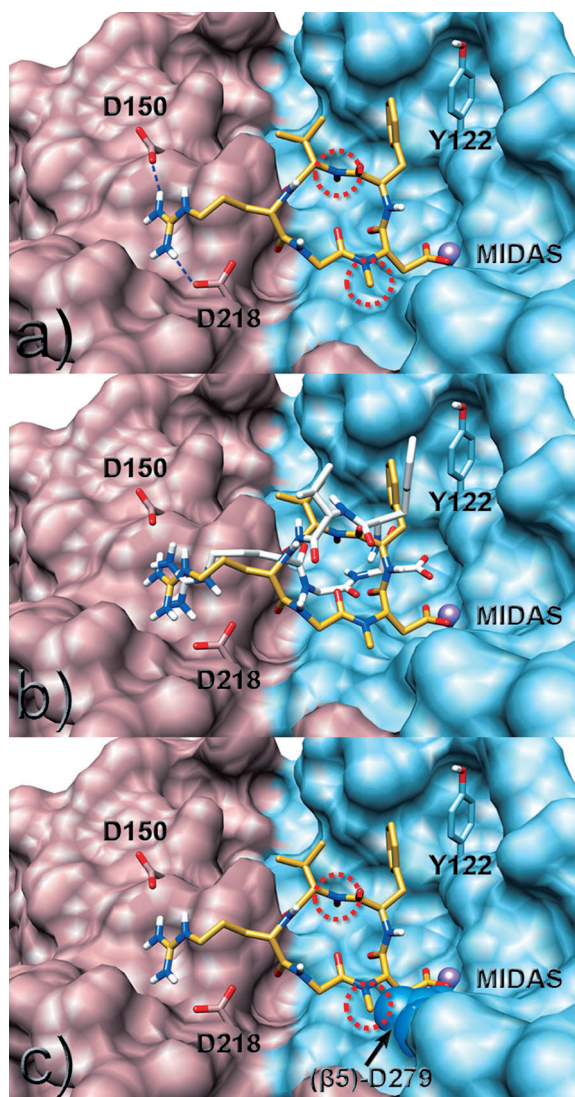


Abbildung 3. a) Struktur von **1** (gelb), die in die $\alpha\text{v}\beta 3$ -Bindungstasche gedockt wurde. Die αv - und $\beta 3$ -Untereinheiten sind als rosa bzw. türkise Oberflächen gekennzeichnet. In beiden Untereinheiten sind diejenigen Aminosäureseitenketten als Stabmodelle dargestellt, die wichtig für die Ligandenbindung sind. Das Metallion in der MIDAS-Region ist durch eine violette Kugel repräsentiert. Zur Vergleichbarkeit sind die Röntgenkristallographiestruktur von Cilengitid (weiße Stäbe) (b) als auch der $(\beta 5)$ -D279-Rest (blaue Kugeln) eingezeichnet. Rote Kreise heben die N-Methylierung in (a) und (c) hervor.

Folge hat. Die Methylgruppe von NMeAsp kann deshalb nur schwer in der gleichen Weise wie im $1/\alpha\text{v}\beta 3$ -Komplex gebunden werden. Dies wiederum scheint die RGD-Bindung an $\alpha\text{v}\beta 5$ stark zu beeinflussen.

Die Dockingstudien waren ebenfalls hilfreich, um zu erklären, wieso die N-Methylierung des Arg-Restes (**4**) keine Auswirkung auf das Zustandekommen der $\alpha\text{v}\beta 3/\alpha\text{v}\beta 5$ -Selektivität hat (Tabelle 1). Tatsächlich beeinflusst eine solche Modifizierung die Bindung von **4**, welche durch die konservierte RGD-Sequenz sichergestellt ist, nicht, während sie eine unterschiedliche Konformation im Vergleich zu Cilengitid induziert (Abbildung S1). Demgegenüber offenbart das Docking von **10**, dass dieses Peptid nicht gleichzeitig an die

Metallion-abhängige Adhäsionsstelle (MIDAS) und an den β -Propeller der αv -Untereinheit in effizienter Weise binden kann. In der Tat zeigt ein Vergleich der NMR-Lösungsstruktur von **10** mit der Röntgenkristallographiestruktur des gebundenen Cilengitids, dass die Doppelmethylierung der Arg- und D-Phe-Reste (**10**) einen deutlichen Unterschied in der Distanz zwischen den Arg- und Asp-Ca-Atomen (5.0 Å und 6.4 Å für **10** bzw. Cilengitid) und den Orientierungen der Ca-C β -Bindungsvektoren der beiden Reste herbeiführt (Abbildung S2). Beide Merkmale sind bekannt für ihre Wichtigkeit hinsichtlich der Integrinbindung und -selektivität.^[1a,23] Somit scheint die doppelte N-Methylierung in **10**, anders als in **1** und **4**, eine kontraproduktive Peptidkonformation zu induzieren, welche die Bindung an die Integrine $\alpha\text{v}\beta 3$ und $\alpha\text{v}\beta 5$ nicht zulässt.

Wir konnten zeigen, dass die Doppelmethylierung von Peptidrückgraten eine Feineinstellung der biologischen Aktivität durch die Erzeugung bevorzugter bioaktiver Konformationen ermöglicht. Einige Mitglieder unserer Bibliothek di-N-methylierter c(RGDfV)-Peptide behalten nanomolare Affinität für $\alpha\text{v}\beta 3$, sind jedoch vollständig inaktiv gegenüber den Integrin-Subtypen $\alpha\text{v}\beta 5$ und $\alpha 5\beta 1$, was eine Verbesserung der Selektivität von Cilengitid zur Folge hat. Moleküle, die solche Selektivitätsprofile aufweisen, stellen neue, vielversprechende Werkzeuge dar, um die Rolle nahe verwandter Integrine in essentiellen biologischen Prozessen zu untersuchen.

Eingegangen am 29. April 2011,
veränderte Fassung am 27. Mai 2011
Online veröffentlicht am 25. August 2011

Stichwörter: Cyclopeptide · Integrin · Konformationsstudien · N-Methylierung · Rezeptorselektivität

- [1] a) C. Mas-Moruno, F. Reichenmacher, H. Kessler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, *10*, 753–768; b) G. Tabatabai, M. Weller, B. Nabors, M. Picard, D. Reardon, T. Mikkelsen, C. Rugg, R. Stupp, *Target. Oncol.* **2010**, *5*, 175–181.
- [2] R. O. Hynes, *Cell* **2002**, *110*, 673–687.
- [3] a) D. Cox, M. Brennan, N. Moran, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2010**, *9*, 804–820; b) T. Arndt, U. Arndt, U. Reuning, H. Kessler in *Cancer Therapy: Molecular Targets in Tumor Host Interactions* (Hrsg.: G. F. Weber), Horizon Bioscience, Norfolk, **2005**, S. 93–141; c) C. J. Avraamides, B. Garmy-Susini, J. A. Varner, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 604–617; d) J. S. Desgrosellier, D. A. Cheresh, *Nat. Rev. Cancer* **2010**, *10*, 9–22.
- [4] a) E. Ruoslahti, M. D. Pierschbacher, *Science* **1987**, *238*, 491–497; b) E. F. Plow, T. A. Haas, L. Zhang, J. Loftus, J. W. Smith, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21785–21788.
- [5] a) M. A. Dechantsreiter, E. Planker, B. Mathä, E. Lohof, G. Hölzemann, A. Jonczyk, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033–3040; b) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440–1456; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374–1389; c) A. Meyer, J. Auernheimer, A. Modlinger, H. Kessler, *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12*, 2723–2747.
- [6] M. Friedlander, P. C. Brooks, R. W. Shaffer, C. M. Kincaid, J. A. Varner, D. A. Cheresh, *Science* **1995**, *270*, 1500–1502.
- [7] N. Skuli, S. Monferran, C. Delmas, G. Favre, J. Bonnet, C. Toulas, E. C. J. Moyal, *Cancer Res.* **2009**, *69*, 3308–3316.

- [8] a) B. L. Bader, H. Rayburn, D. Crowley, R. O. Hynes, *Cell* **1998**, 95, 507–519; b) L. E. Reynolds, L. Wyder, J. C. Lively, D. Taverna, S. D. Robinson, X. Z. Huang, D. Sheppard, R. O. Hynes, K. M. Hodivala-Dilke, *Nat. Med.* **2002**, 8, 27–34.
- [9] a) P. Carmeliet, *Nat. Med.* **2002**, 8, 14–16; b) R. O. Hynes, *Nat. Med.* **2002**, 8, 918–921; c) D. A. Cheresh, D. G. Stupack, *Nat. Med.* **2002**, 8, 193–194.
- [10] a) S. Kim, K. Bell, S. A. Mousa, J. A. Varner, *Am. J. Pathol.* **2000**, 156, 1345–1362; b) N. J. Boudreau, J. A. Varner, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 4862–4868.
- [11] A. R. Reynolds et al., *Nat. Med.* **2009**, 15, 392–400.
- [12] a) M. Weller, D. Reardon, B. Nabors, R. Stupp, *Nat. Med.* **2009**, 15, 726; b) R. Stupp, C. J. Ruegg, *J. Clin. Oncol.* **2007**, 25, 1637–1638.
- [13] A. R. Reynolds, K. M. Hodivala-Dilke, *Nat. Med.* **2009**, 15, 727.
- [14] a) J. Chatterjee, C. Gilon, A. Hoffman, H. Kessler, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1331–1342; b) P. Pratim Bose, U. Chatterjee, C. Nerelius, T. Govender, T. Norström, A. Gogoll, A. Sandegren, E. Göthelid, J. Johansson, P. I. Arvidsson, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 8002–8009; c) K. S. Harris et al., *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 9361–9371; d) L. Doedens, F. Opperer, M. Cai, J. G. Beck, M. Dedek, E. Palmer, V. J. Hruby, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 8115–8128; e) H. Qu, P. Magotti, D. Ricklin, E. L. Wu, I. Kourtzelis, Y. Q. Wu, Y. N. Kaznessis, J. D. Lambris, *Mol. Immunol.* **2011**, 48, 481–489; f) A. C. Bach II, C. J. Eyermann, J. D. Gross, M. J. Bower, R. L. Harlow, P. C. Weber, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3207–3219; g) A. C. Bach II, J. R. Espina, S. A. Jackson, P. F. W. Stouten, J. L. Duke, S. A. Mousa, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 293–294; h) J. Chatterjee, O. Ovadia, G. Zahn, L. Marinelli, A. Hoffman, C. Gilon, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 5878–5881.
- [15] G. Müller, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2941–2943; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 2767–2769.
- [16] a) M. Teixidó, F. Albericio, E. Giralt, *J. Pept. Res.* **2005**, 65, 153–166; b) J. Tulla-Puche, N. Bayó-Puxan, J. A. Moreno, A. M. Francesch, C. Cuevas, M. Álvarez, F. Albericio, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 5322–5323.
- [17] R. M. Freidinger, J. S. Hinkle, D. S. Perlow, B. H. Arison, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 77–81.
- [18] S. C. Miller, T. S. Scanlan, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2301–2302.
- [19] E. Biron, J. Chatterjee, H. Kessler, *J. Pept. Sci.* **2006**, 12, 213–219.
- [20] J. P. Xiong, T. Stehle, R. Zhang, A. Joachimiak, M. Frech, S. L. Goodman, M. A. Arnaout, *Science* **2002**, 296, 151–155.
- [21] R. Haubner, R. Gratias, B. Diefenbach, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7461–7472.
- [22] a) J. Chatterjee, D. Mierke, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15164–15172; b) J. Chatterjee, D. Mierke, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 1508–1517; c) B. Laufer, A. O. Frank, J. Chatterjee, T. Neubauer, C. Mas-Moruno, G. Kummerlöwe, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 5385–5390.
- [23] a) M. Pfaff, K. Tangemann, B. Müller, M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, R. Timpl, J. Engel, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 20233–20238; b) G. Müller, M. Gurrath, H. Kessler, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **1994**, 8, 709–730.