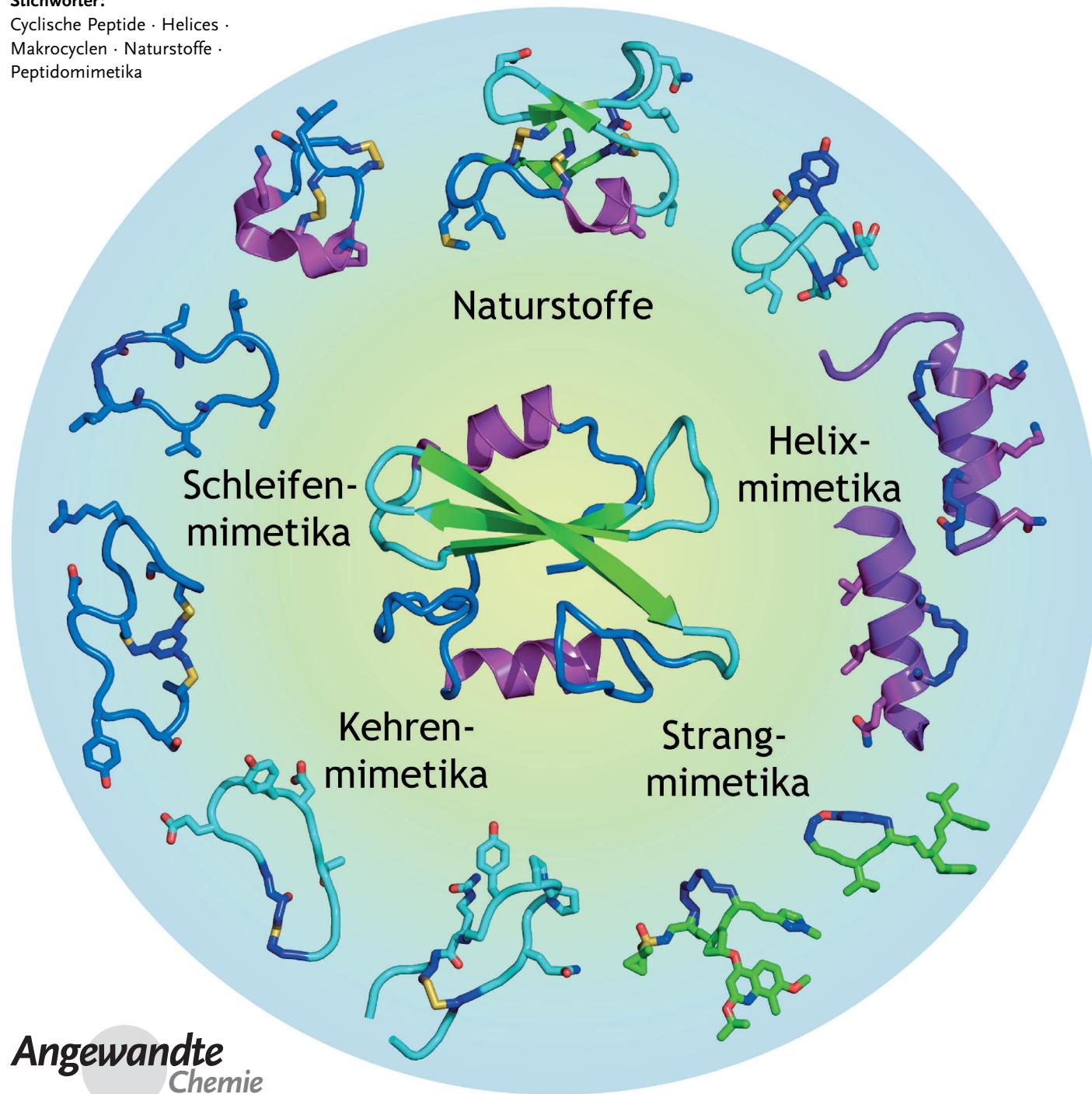


# Fixierung cyclischer Peptide: Mimetika von Proteinstrukturmotiven

Timothy A. Hill, Nicholas E. Shepherd, Frederik Diness und David P. Fairlie\*

**Stichwörter:**

Cyclische Peptide · Helices ·  
Makrocyclen · Naturstoffe ·  
Peptidomimetika



Viele Proteine entfalten ihre biologische Aktivität über kleine exposierte Oberflächenregionen aus gefalteten Peptiden mit wohldefinierten dreidimensionalen Strukturen, Epitope genannt. Kurze synthetische Peptidsequenzen, die diesen bioaktiven Proteinoberflächen entsprechen, bilden in Wasser keine thermodynamisch stabilen proteinähnlichen Strukturen. Die Bildung proteinähnlicher biologisch aktiver Konformationen (Stränge, Helices, Kehren) kann jedoch durch Cyclisierung in Verbindung mit anderen molekularen Verstrebungen induziert werden. Letztere helfen bei der Feinabstimmung der dreidimensionalen Struktur. Solche fixierten cyclischen Peptide können ähnliche biologische Aktivitäten und Wirkungen wie das als Vorbild dienende Protein haben, sodass sie als biologische Sonden und Leitstrukturen für Therapeutika, Diagnostika und Impfstoffe dienen können. Dieser Aufsatz beleuchtet Beispiele für cyclische Peptide, die dreidimensionale Strukturen von Strang-, Kehren- oder Helixabschnitten von Peptiden und Proteinen nachahmen und beschreibt einige weitere Elemente, die in cyclisch peptidischen Naturstoffen und synthetischen makrocyclischen Peptidomimetika vorkommen, dort die Peptidstruktur verfeinern und ihr biologische Aktivitäten verleihen.

## 1. Einführung

Wechselwirkungen von Proteinen mit anderen Proteinen, DNA, RNA und niedermolekularen Substanzen vermitteln die meisten biologischen Vorgänge, die Leben, Wachstum, Reproduktion, Altern, Krankheit und Tod bestimmen.<sup>[1,2]</sup> Die Funktionen der Proteine werden durch spezifische dreidimensionale Strukturelemente ausgemacht, die aus hochgeordneten Faltungen des Polypeptidrückgrats hervorgehen.<sup>[1]</sup> Oft ist die Wirkung von Proteinen auf kleine, strukturell definierte Regionen begrenzt, die durch die Faltung des Rückgrats erzeugt und durch die Proteinumgebung stabilisiert werden. Sie erhalten oft einen Entropievorteil durch die Vorformung in eine spezifische, wenn auch noch formbare Gestalt mithilfe eines Bindungspartners.<sup>[2,3]</sup> Es besteht großes Interesse daran, diese funktionalen Polypeptidregionen in niedermolekularen Substanzen künstlich zu erzeugen, vor allem weil man erwartet, dass die strukturelle Mimikry auch eine funktionelle Mimikry erzeugt und man so zu biologisch aktiven niedermolekularen Verbindungen kommt.<sup>[3–8]</sup> Die ersten unter diesem Aspekt betrachteten Zielproteine wurden intensiv auf β- und γ-Kehren<sup>[3–5]</sup> und später auf β-Stränge,<sup>[6]</sup> β-Faltblätter<sup>[7]</sup> und α-Helices<sup>[8]</sup> untersucht (Abbildung 1), die durch polare Amid-NH- und CO-Gruppen im Peptidrückgrat gebildet werden. Dies geschieht durch Wasserstoffbrücken, die die Sekundärstruktur des Proteins induzieren und stabilisieren. Kurze synthetische Peptidsequenzen, die kleinen gefalteten Proteinepitopen entsprechen, neigen jedoch nicht dazu, in Wasser thermodynamisch stabile Strukturen auszubilden;<sup>[9]</sup> Grund sind die konkurrierenden Wasserstoffbrücken zwischen Wasser und den polaren Atomen des Peptidrückgrats, die die Bildung der Peptidstruktur behindern.

## Aus dem Inhalt

<b>1. Einführung</b>	13235
<b>2. Cyclische Peptid-β-Stränge</b>	13237
<b>3. Cyclische Peptidkehren</b>	13239
<b>4. Cyclische Peptidhelices</b>	13242
<b>5. Aus der Natur ins Labor</b>	13246
<b>6. Zusammenfassung und Ausblick</b>	13251

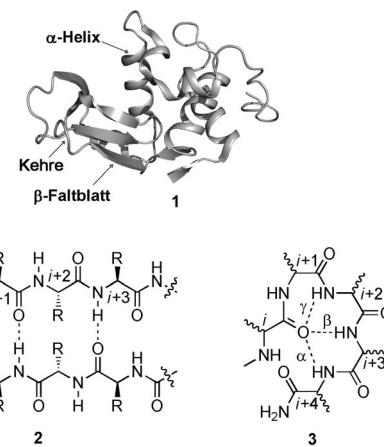


Abbildung 1. Protein (1), zwei Stränge in einem β-Faltblatt (2), α-, β- oder γ-Kehre (3).

[\*] Dr. T. A. Hill, Prof. Dr. D. P. Fairlie  
Division of Chemistry and Structural Biology, Institute for Molecular Bioscience, The University of Queensland  
Brisbane, Queensland 4072 (Australien)  
E-Mail: d.fairlie@imb.uq.edu.au  
Dr. N. E. Shepherd  
School of Molecular Biosciences, The University of Sydney  
New South Wales 2006 (Australien)  
Dr. F. Diness  
Center for Evolutionary Chemical Biology, Department of Chemistry,  
University of Copenhagen  
Copenhagen (Dänemark)

Es gibt ein großes Potenzial für die Nachbildung von Proteinoberflächen mit kleinen Molekülen; meist konzentrierte sich die Forschung stattdessen aber auf die einfachere Variante, biologisch aktive Peptide zu modifizieren und Verstrebungen einzufügen, um ihre Wirkung zu verstärken. Peptide besitzen umfangreiche biologische Aktivitäten, doch werden ihre Einsatzmöglichkeiten als Wirkstoffe durch Proteasesensitivität, kaum vorhandene Membranpermeabilität oder orale Bioverfügbarkeit, schnelle Eliminierung und metabolische Instabilität stark eingeschränkt.<sup>[10]</sup> Kurze Peptide haben normalerweise fast keine oder eine zufällige Struktur in Wasser, während die Zielmoleküle für eine Bindung gewöhnlich eine spezifische Konformation erkennen. Um einige dieser Mängel zu beheben, ist die Cyclisierung oft als Mittel eingesetzt worden, um die Flexibilität der Peptidkonformation einzuschränken. Um die Resistenz des Peptides gegen Proteasen zu erhöhen, werden oft die freien N- und C-Termini entfernt, die von Amino- bzw. Carboxypeptidasen angegriffen werden. Die umfangreiche Veröffentlichungstätigkeit zu dieser Zeit haben wir vor zwanzig Jahren kommentiert, als wir auf dem sich entwickelnden Gebiet der makrocyclischen Peptidomimetika („wie man Peptide in bioaktive Konformationen zwingt“) Beispiele für natürliche und synthetische bioaktive makrocyclische Peptide beleuchtet haben, die verschiedene molekulare Verstrebungen, weniger frei rotierende Bindungen und stabilere Peptidkonformationen aufwiesen als acyclische Analoga.<sup>[3a]</sup> Die Art der Verstrebungen korrelierte mit ihren Effekten auf die dreidimensionalen Strukturen und die möglichen biologischen Aktivitäten.<sup>[3a]</sup> Man stellte fest, dass die Entwicklung makrocyclischer Peptidomimetika große Erwartungen auf die strukturelle und funktionelle Nachbildung von Proteinoberflächen weckte.<sup>[3–8]</sup> Die Entwicklung kleiner synthetischer cyclischer Peptide, deren Struktur durch zusätzliche molekulare Verstrebungen

feinabgestimmt wurde, um damit Elemente der Protein-Sekundärstruktur nachzuahmen und die Proteinoberflächen hin zu niedermolekularen Verbindungen zu verkleinern, ist seitdem der Realisierung viel näher gekommen. Inzwischen sind cyclische Peptide bekannt, die Peptidrückgrate nachbilden, die in Stränge, Faltblätter, Helices oder Kehren gezwungen sind; dieser Aufsatz beschreibt einige Beispiele fixierter cyclischer Peptide, die das Potenzial für die Nachahmung von Proteinstrukturen besitzen.

In den vergangenen Jahren ist das Interesse an Peptiden und cyclischen Peptiden wieder erwacht, da erkannt wurde, dass diese Moleküle einen schnellen Zugang zu relativ wenig verwerteten chemischen Verbindungen mit höherem Molekulargewicht jenseits des chemischen Raumes der „Regel der Fünf“ bieten,<sup>[11]</sup> die aber kleiner sind als Antikörper. Es wird zunehmend klar, dass wertvolle Richtlinien,<sup>[11]</sup> die entwickelt und erfolgreich angewendet wurden, um oral bioverfügbare kleine Moleküle zu erhalten, zu Regeln in der Medizinalchemie geworden sind, die die chemische Diversität stark eingeschränkt haben;<sup>[11f]</sup> es ist jetzt aber erforderlich, größere und weniger hydrophobe Oberflächenregionen zu erreichen, die an vielen Protein-Protein-Wechselwirkungen (PPIs) beteiligt sind. Cyclische Peptide sind Kandidaten, um die nächste Ebene des chemischen Raumes höherer Molekulargewichte jenseits der klassischen kleinen organischen Moleküle zu erforschen, und sie können auch spezifische Wechselwirkungen zwischen Proteinen besser reproduzieren. Dieser Aufsatz berücksichtigt hauptsächlich neue Publikationen aus den letzten zwanzig Jahren über cyclische Peptide, die Peptidstränge, -kehren oder -helices nachahmen und schließt mit einem Ausblick auf wenig begangene Wege zu fixierten Peptidstrukturen, die durch in der Natur vorkommende cyclische Peptide inspiriert sind.



Tim Hill (B.Sc., Ph.D., Newcastle) ist Postdoktorand an der University of Queensland im Labor von Prof. Fairlie. Seine Forschung befasst sich mit medizinischer und biologischer Chemie, insbesondere mit der Entwicklung peptidischer Pharmazeutika.



Frederik Diness (Ph.D., Carlsberg Laboratory) war Postdoktorand an der Universität Kopenhagen und der University of Queensland, bevor er im Jahr 2013 zum Center for Evolutionary Chemical Biology wechselte. Seine Forschungsinteressen gelten der medizinischen Chemie von Peptiden, nukleophilen aromatischen Substitutionen und G-Protein-gekoppelten Rezeptoren.



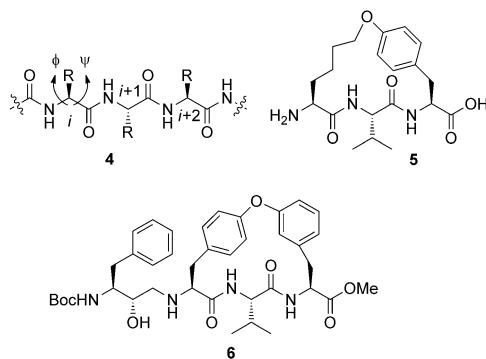
Nicholas Shepherd (B.Sc. Monash, Ph.D. Qld) ist ein Discovery Early Career Research Fellow an der School of Molecular Biosciences, University of Sydney. Er forscht über die Entwicklung von Inhibitoren, Sonden und Affinitätsreagentien zur Isolierung und Untersuchung von genregulativen Proteinkomplexen.



David Fairlie (B. Sc. Adel, Ph.D. NSW) ist Leiter der Chemistry and Structural Biology am Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland. Seine Forschungsinteressen gelten der medizinischen und Biochemie, Pharmakologie, Immunologie und Virologie sowie der Aufklärung der molekularen Wechselwirkungen und Medikamentenwirkungen gegen Krebs, Infekte, Entzündungen, metabolische und neurodegenerative Erkrankungen.

## 2. Cyclische Peptid- $\beta$ -Stränge

$\beta$ -Stränge und  $\beta$ -Faltblätter machen etwa 30% der Protein-Sekundärstrukturen aus. Peptidische  $\beta$ -Stränge<sup>[6]</sup> sind ausgedehnte „lineare“ Peptide, die meist in Proteinen als antiparallele, parallele oder fassförmige  $\beta$ -Faltblätter gepaart sind,<sup>[7]</sup> wobei die Stränge durch eine Fläche von Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden, die die Struktur stabilisieren. Anhand charakteristischer dihedrischer Torsionswinkel ( $\phi$ , C'-N-C<sup>a</sup>-C, und  $\psi$ , N-C<sup>a</sup>-C-N; **4**, Abbildung 2)

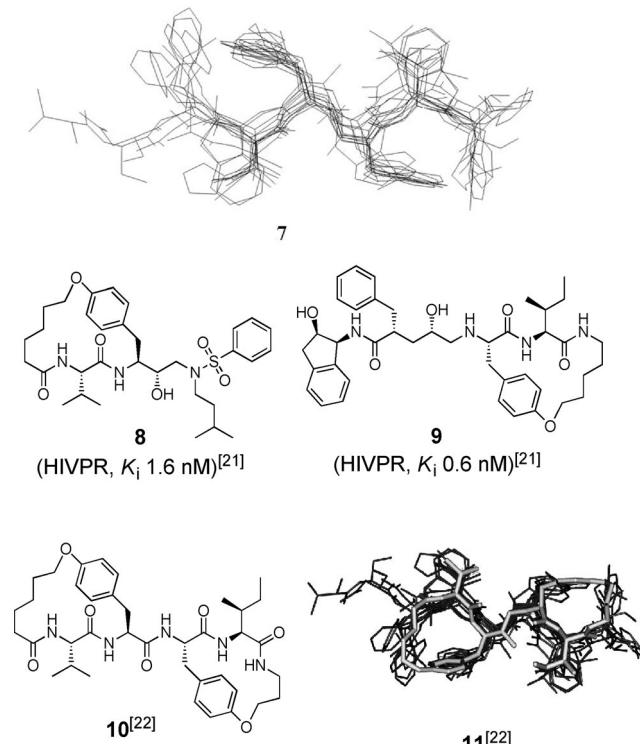


**Abbildung 2.** Peptid als  $\beta$ -Strang mit den Torsionswinkeln  $\psi$  und  $\phi$  (**4**); Tripeptid-Makrocyclen werden über die Seitenketten von  $i$  und  $i+2$  zum Ring geschlossen (**5**, **6**). Boc = *tert*-Butoxycarbonyl.

lassen sich Stränge und Faltblätter (z.B. antiparallel,  $\phi = -139^\circ$ ,  $\psi = 135^\circ$ ; parallel,  $\phi = -119^\circ$ ,  $\psi = 113^\circ$ ) von  $\alpha$ -Helix ( $-58^\circ$ ,  $-47^\circ$ ) und  $\beta$ -Kehren (z.B. Typ I  $-60^\circ$ ,  $-30^\circ$ ) unterscheiden. Aminosäuren, die in Proteinen eine Strangbildung begünstigen, sind die verzweigten Reste Val, Ile, Thr, außerdem Tyr, Cys, Trp und Phe. Eine entscheidende Eigenschaft des  $\beta$ -Strangs ist, dass aufeinanderfolgende Seitenketten (also  $i$ ,  $i+1$ ) in entgegengesetzte Richtungen orientiert sind, sodass erst jede zweite Seitenkette einer Peptidsequenz (also  $i$ ,  $i+2$ ) auf der gleichen Seite des Stranges oder Faltblatts liegt und damit für einen möglichen Ringschluss zu einem cyclischen Peptid zur Verfügung steht (z.B. **5**, **6**; Abbildung 2).

Stränge werden nun für sich als wichtige Erkennungsmotive bei PPIs mit Proteasen,<sup>[12]</sup> Amyloiden,<sup>[13]</sup> Proteinen des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC),<sup>[14]</sup> Transferasen,<sup>[15]</sup> SH2-Domänen,<sup>[16]</sup> PDZ-Domänenproteinen<sup>[17]</sup> und anderen PPIs angesehen, bei denen ein isolierter Strang<sup>[17]</sup> oder ein Strang innerhalb eines Faltblatts<sup>[7]</sup> erkannt wird. Die am besten untersuchten Zielstrukturen für ein  $\beta$ -Strang-Mimetikum<sup>[6]</sup> sind Polypeptide in Wechselwirkung mit Proteasen,<sup>[12]</sup> Enzymen also, die für Synthese und Durchsatz aller Proteine und bei der Entwicklung vieler krankhafter Zustände wichtig sind. Mit Proteaseinhibitoren werden Bluthochdruck, HI- und Hepatitis-C-Virusinfektionen, Diabetes Typ 2, Krebserkrankungen, multiple Myelome, Parasiteninfektionen, Thrombopenie, Schlaganfall und entzündliche Erscheinungen behandelt.<sup>[18]</sup> Eine Eigenschaft Hunderter von Proteasen ist, dass sie in ihren Substraten und Inhibitoren einen Peptid- $\beta$ -Strang erkennen. Belege dafür wurden in über 1500 Cokristallstrukturen von mehr als 100 Aspartat-, Serin-,

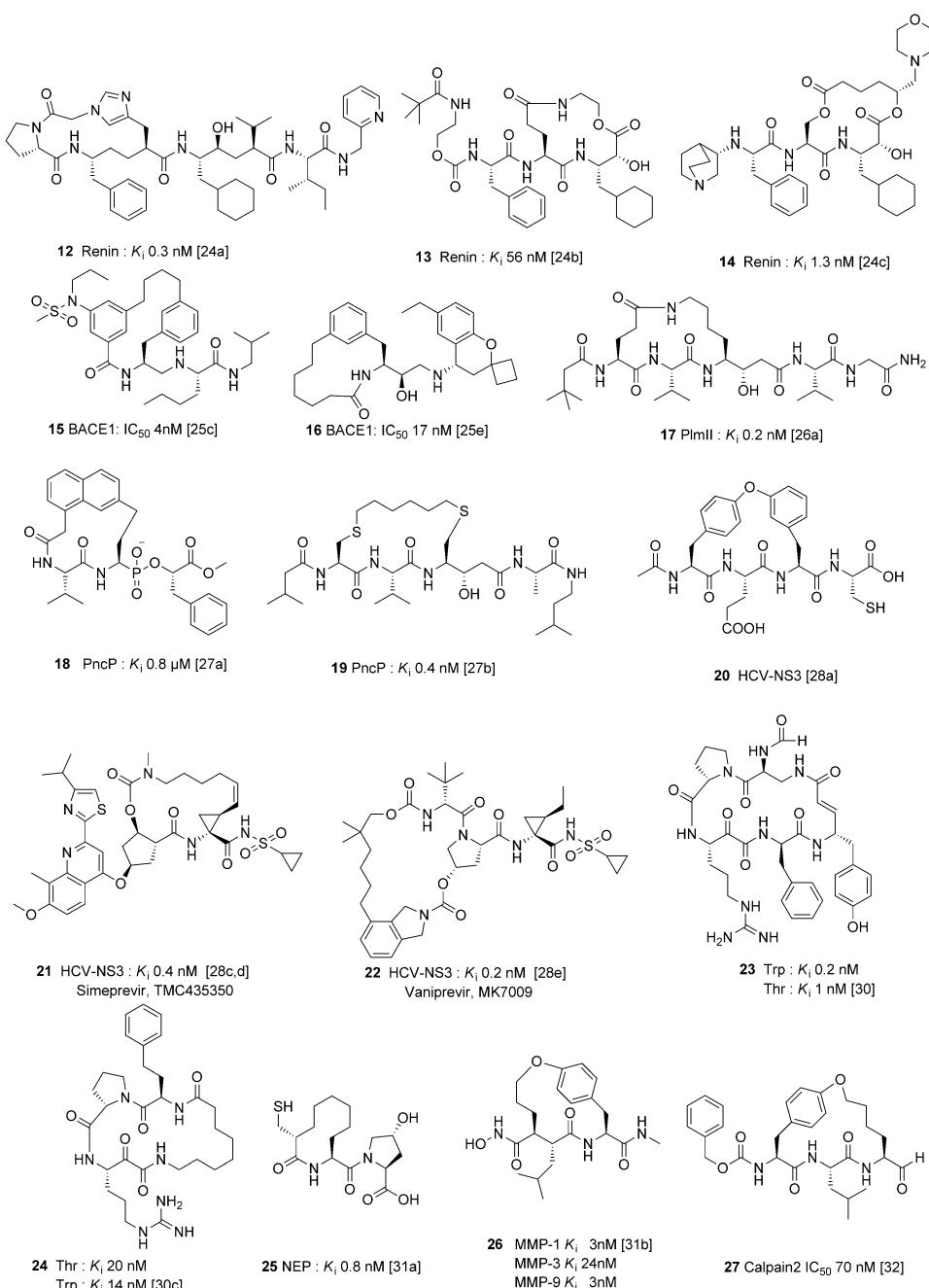
Cystein-, Metallo-, Threonin- und Asparaginproteasen mit Substraten und Inhibitoren gefunden.<sup>[12]</sup> Wir und andere haben durch Bindungen zwischen Seitenketten (z.B. **5**, **6**) oder zwischen Seitenkette und Hauptkette (z.B. **7–15**) cyclische Derivate von Peptidsubstraten und -inhibitoren erzeugt, die nur 2 oder 3 Aminosäuren lang waren.<sup>[19]</sup> Wichtig ist, dass diese Ringstrukturen die sie bildenden Peptidreste in einer Konformation mit einem  $\beta$ -Strang-Rückgrat arretieren, die auch im aktiven Zentrum von Proteasen aufrechterhalten wird (**7**) (Abbildung 3).<sup>[20–22]</sup> Solche cyclischen  $\beta$ -Stränge



**Abbildung 3.** Die HIV-1-Protease (HIVPR) bindet Substrat (**7**), Inhibitoren (**8**, **9**) und Bicyclen (**10**) in einer gemeinsamen  $\beta$ -Strangkonformation (**11**) (Enzym nicht gezeigt), die Tripeptidabschnitte werden durch die Ringe nachgeahmt.<sup>[12, 19–22]</sup>

waren wirksame ( $K_i$  0.1–50 nM) und selektive Inhibitoren (z.B. **8**, **9**) der HIV-1-Protease und waren auch zellpermeabel mit hoher antiviraler Aktivität ( $IC_{50}$  1–50 nM) in infizierten Zellen.<sup>[21]</sup> Wir zeigten für die HIV-1-Protease, dass eine solche „Vorab-Organisation“ von  $\beta$ -Strängen die Affinität von Substraten/Inhibitoren für die Enzyme um das 10- bis 10<sup>4</sup>-fache steigert und dass cyclische Peptidstränge mit Peptiden, nicht-peptidischen Verbindungen (**8**, **9**) oder untereinander (**10**) verknüpft werden konnten, wobei sie immer die  $\beta$ -Strangkonformation des Rückgrats in Lösung und bei Bindung an die Protease behielten.<sup>[20–22]</sup>

Die charakteristischen  $\phi$ -Winkel für aufeinanderfolgende Peptidreste eines Stranges schlagen sich in <sup>1</sup>H-NMR-Kopplungskonstanten nieder ( $^3J_{NHCh_a}$  8–10 Hz),<sup>[18–22]</sup> die leicht von denen aufeinanderfolgender Reste in  $\alpha$ -Helix-Kehren ( $^3J_{NHCh_a} < 6$  Hz) und von isolierten Kehren unterscheidbar sind.



**Abbildung 4.** Strukturen und Aktivitäten anderer makrocyclischer Inhibitoren von Aspartat-, Serin-, Metallo- und Cysteinproteasen.<sup>[24–32]</sup>

Ähnlich wurden cyclische Peptid-β-Stränge als Inhibitoren vieler anderer Proteasen entwickelt (Abbildung 4), darunter andere *Aspartat-Proteasen*<sup>[23]</sup> (z.B. Renin (wie **12–14**),<sup>[24]</sup> β-Secretase (wie **15, 16**),<sup>[25]</sup> Plasmeprine (wie **17**),<sup>[26]</sup> Penicillopepsin (wie **18, 19**),<sup>[27]</sup> *Serin-Proteasen*<sup>[23]</sup> (z.B. HCV-Protease (wie **20–22**),<sup>[28]</sup> Plasmin,<sup>[29]</sup> Thrombin/Trypsin (wie **23, 24**),<sup>[30]</sup> Tryptase, Prolyl-Endopeptidase), *Metalloproteasen*<sup>[23]</sup> (z.B. Angiotensin-umwandelndes Enzym (ACE), neutrale Endopeptidase NAP (wie **25**), Thermolysin, Aminopeptidase, MMP1, -3, -8, -9 (wie **26**), TNFα-umwandelndes Enzym (TACE)), und *Cystein-Proteasen* wie Calpaine (wie

**27).**<sup>[31]</sup> Solche Makrocyclen enthalten funktionisierte Seitenketten von Tyr (z.B. **8, 9, 20, 26, 27**), His (**12**), Glu (**13**), Ser (**14**), Phe (**15, 16**), Lys (**17**), Cys (**19**) oder von Thr, Trp, Arg, Orn, Asp, Pro, Asn und weitere Derivate. Diese erleichtern die Ringbildung und können weitere Konformationseinschränkungen einbringen, durch die die cyclischen Peptide eine Form einnehmen können, die das β-Strang-Peptidrückgrat nachahmt. Viele dieser und andere Makrocyclen wurden mit einer Protease cokristallisiert. Die Kristallstrukturen zeigen, dass die Makrocyclen gut in das aktive Zentrum der Protease passen, während die Seitenketten in die Vertiefungen eindringen, die die substratbindenden Höhlungen der Proteasen umgeben. Die Makrocyclen sind aktive und selektive Inhibitoren spezifischer Proteasen (z.B. Abbildung 4),<sup>[23]</sup> einige mit hoher Aktivität in Zellen und im Tier. Die HIV-1-Protease-inhibitoren **8** und **9** und ihre Analoga haben eine starke anti-HIV-Aktivität. Die Hepatitis C-NS3/4A-Protease-inhibitoren<sup>[28b]</sup> **21** (Simeprevir, TMC435350)<sup>[28c,d]</sup> und **22** (Vaniprevir, MK-7009),<sup>[28e]</sup> die von älteren Makrocyclen<sup>[28b]</sup> wie Ciluprevir (BILN-2061) abgeleitet sind, wirken in Zellen und im Menschen HCV-hemmend. Simeprevir wurde 2013 von der FDA für die Behandlung von HCV-Infektionen zugelassen.

BACE1-Inhibitoren (z.B. **15**) senken die Amyloidspiegel in Gehirn und Plasma von Mäusen.<sup>[25c]</sup> Inhibitoren von Calpain-2 (**26**) verhindern die Linsentrübung beim Schaf und den kortikalen Katarakt im Tier.<sup>[32]</sup>

Es gibt eines großen, noch unerschlossenen Potenzial für den Entwurf von β-Strang- und β-Faltblatt-Mimetika, mit denen die Protein-Protein-Wechselwirkungen gestört oder die Bindung eines der Partner nachgeahmt werden soll.<sup>[6,7]</sup> PPI spielen sich oft an großen polaren Regionen der Oberfläche mit nur flachen Einbuchtungen ab, die oft nicht effektiv von kleinen hydrophoben Molekülen besetzt werden

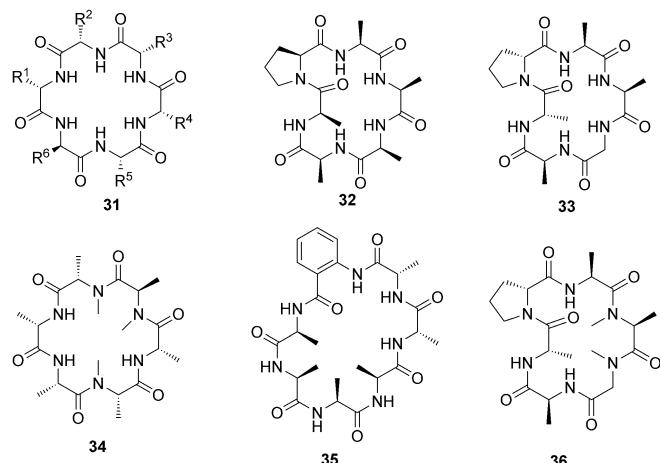
können. Weil eine Seite eines  $\beta$ -Stranges oft dem Lösungsmittel zugewandt ist, steht nur jede zweite Seitenkette für eine Verknüpfung zur Verfügung, um einen  $\beta$ -Strang-nach-ahnenden Makrocyclus zu bilden, der seinerseits mit einem anderen  $\beta$ -Strang-Makrocyclus  $\beta_n$  (z.B.  $\beta\beta$  in **10**),  $\alpha$ -helicalen Makrocyclen (z.B.  $\beta\alpha$ ,  $\alpha\beta\alpha$ ), acyclischen Peptidketten oder nichtpeptidischen Anhängen (z.B. **8**, **9**) verbunden werden kann. Der Einsatz von Makrocyclen als Matrizen für Strangmimetika kann ein wertvoller neuer Ansatz sein, um Testverbindungen zu entwerfen, mit denen sich die Bedeutung von  $\beta$ -Strangoberflächen schwieriger oder weniger gut als Zielstruktur geeigneter Proteine ausloten lässt. Bereits aus den wenigen Beispielen für Makrocyclen, die oben beschrieben wurden, wird klar, dass Verstrebungen innerhalb der Ringstruktur (z.B. aromatische Ringe, Heterocyclen, Amide, Ester, Cycloalkane, Disulfide, N-Methylierungen, D-Reste) weitere Einschränkungen der Makrocyclen-Konformation einbringen können, die die Rezeptorselektivität, Zellpermeabilität und Bioverfügbarkeit beeinflussen können, wie dies an anderer Stelle beschrieben ist.<sup>[3-8, 12, 19-32]</sup> Wenn man versteht, wie individuelle molekulare Verstrebungen die Struktur der Makrocyclen, die Rezeptorbindung und die Membranpermeabilität beeinflussen, hat man den Schlüssel zu einer rationalen Herstellung bioaktiver Makrocyclen als neue biologische Sonden und Leitstrukturen in der Hand.

### 3. Cyclische Peptidkehren

Kehren („turns“) sind Motive, bei denen die Richtung von Peptidsträngen und -helices umgekehrt werden. Kehren zunehmender Größe werden definiert als  $\gamma$ -,  $\beta$ - oder  $\alpha$ - (und andere) Subtypen anhand benachbarter  $\phi$ - und  $\psi$ -Winkel von 3, 4 oder 5 aufeinanderfolgenden Aminosäuren in einer Peptidsequenz (Abbildung 5); anhand von 7-, 10- und 13-gliedrigen durch H-Brücken geschlossenen Ringen; und anhand von Abständen zwischen den Resten  $C\alpha_i...C\alpha_{i+2}$ ,  $C\alpha_i...C\alpha_{i+3}$  ( $<5.5$  Å) und  $C\alpha_i...C\alpha_{i+4}$  ( $<6.5$  Å) (Abbildung 5). Es gibt umfangreiche chemische Literatur über die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Kehren-Subtypen,<sup>[3-5, 33]</sup> die durch verschiedene  $\phi$ - und  $\psi$ -Winkel klassifiziert sind. Es gibt viele niedermolekulare Mimetika für Kehren mit bekannten biologischen Aktivitäten, von denen manche zu Wirkstoffen weiterentwickelt wurden.<sup>[5, 33]</sup>

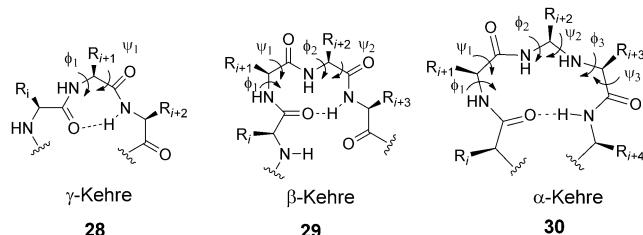
Die Cyclisierung von Peptiden ist bislang die verbreitetste Methode zur Stabilisierung von Kehren. Sie kann auf un-

schiedliche Arten herbeigeführt werden (Kopf-Schwanz; Kopf-Seitenkette; Seitenkette-Schwanz; Seitenkette-Seitenkette). Viele chemische Reaktionen wurden zur Cyclisierung eingesetzt, von Disulfid- und Lactambildung über Ringschlussmetathese bis zur Klick-Chemie. Die Chemie der Peptidcyclisierung wurde an anderer Stelle detailliert dargestellt.<sup>[34]</sup> Allerdings reicht die Cyclisierung alleine oft nicht aus, um eine Kehrenstruktur zu stabilisieren.<sup>[34b]</sup> Andere Kehren induzierende Strukturelemente werden oft benötigt, um ein cyclisches Peptid in eine Kehre zu zwingen (Abbildung 6). Eine Methode ist, eine *cis*-Amidbindung in eine



**Abbildung 6.** Cyclische Peptide mit Kehren-induzierenden Elementen wie D-Aminosäuren (**31**), L-Prolin (**32**), D-Prolin (**33**), N-Methylierung (**34**), aromatische Linker (**35**) oder Kombinationen aus einigen dieser Elemente (**36**).

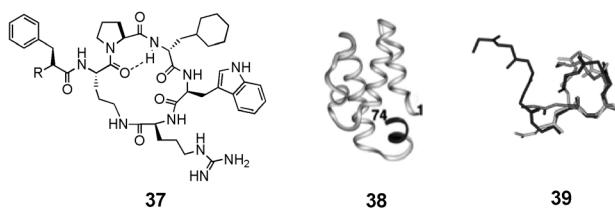
Peptidkette einzuführen; dadurch entsteht ein Motiv, das der  $\beta$ -Kehre analog ist.<sup>[35]</sup> Dies lässt sich in vielen Fällen durch den Einbau eines Prolinrings, von Glycin, einer D-Aminosäure oder einer N-Methylgruppe in die Peptidstruktur erreichen. Prolin kommt in der Natur unter allen Aminosäuren in zurückgebogenen Kehren am häufigsten vor, während Glycin die kleinste Seitenkette (gerade einmal ein Proton) und damit die größte Flexibilität in der Konformation hat (weil die Seitenkette de facto fehlt). Glycin kann folglich D- und L-Aminosäuren ohne sterische Hinderung nachahmen. Der Einbau von D-Aminosäuren in Peptide induziert Kehren, die dann durch eine nachfolgende Cyclisierung erweitert oder an Ort und Stelle fixiert werden können.<sup>[36]</sup> Eine N-Methylierung kann einen ähnlichen Effekt wie Prolin haben, indem sie teilweise die *cis*-Amid-Konformation begünstigt, was die Ausbildung von Umkehrschleifen in cyclischen Peptiden ermöglicht.<sup>[37]</sup> Statt der N-Methylierung kann auch eine N-4-Azidobutylgruppe den gleichen Zweck erfüllen.<sup>[38]</sup> Auch die Triazolgruppe, die bei der Klick-Reaktion entsteht, induziert als Nachahmung von *cis*-Prolin eine Kehre.<sup>[39]</sup> Pseudoproline<sup>[40]</sup> und Heterocyclen<sup>[41]</sup> wurden ebenfalls genutzt, um Kehrenstrukturen in cyclischen Peptiden einzuführen. Mit 4S-Azidoprolinen lassen sich cyclische all-*cis*-Peptide erzeugen.<sup>[42]</sup> Eingeschränkt bewegliche cyclische Peptide, die  $\beta$ -



**Abbildung 5.**  $\gamma$ -,  $\beta$ - und  $\alpha$ -Kehren, definiert anhand ihrer Torsionswinkel.

Kehren nachahmen, wurden vielfach verwendet, um an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs) zu binden, die bevorzugt Kehrenkonformationen erkennen.<sup>[5f,43]</sup> Beispiele dafür sind weiter unten gezeigt.

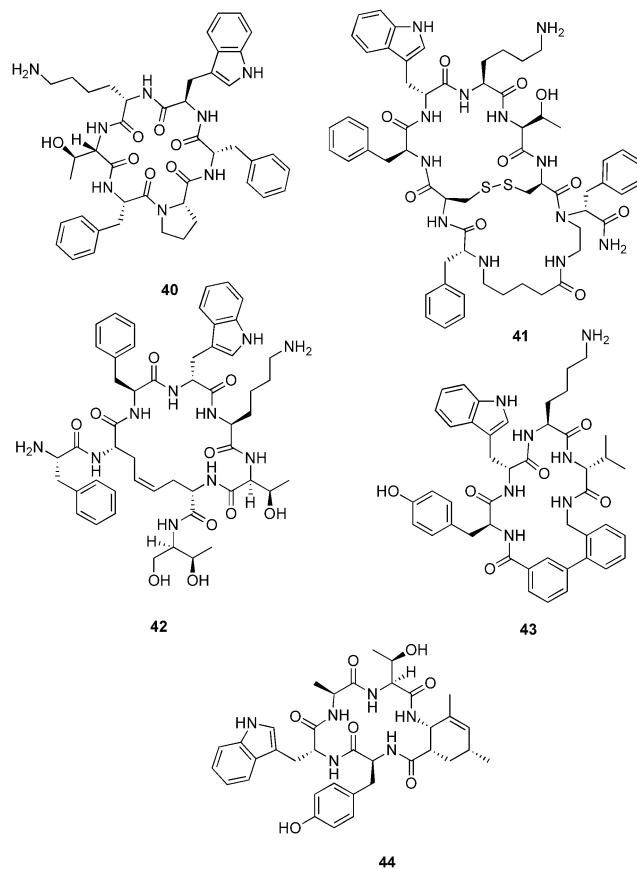
Eine Familie von cyclischen  $\beta$ -Kehren-Peptiden, die den C-Terminus eines 74 Aminosäuren langen proinflammatorischen humanen Proteins (Komplement C5a) nachbilden sollen, ist mit cyclo-(2,6)-Phe-[Orn-Pro-(D-Cha)-Trp-Arg] (**37**, Abbildung 1) verwandt.<sup>[44–47]</sup> Die Peptide enthalten einen Pentapeptid-Makrocyclus, der durch eine 2→6-Lactambrücke zwischen einer Seitenkette und dem C-Terminus geschlossen wird. Zwischen 1980 und 1995 suchten viele Pharmaunternehmen nach Antagonisten, um die Bindung des C-Terminus von C5a an den GPCR der Immunzellen zu blockieren. Die Hoffnung auf oral verfügbare, voll aktive Antagonisten als mögliche anti-inflammatorische Wirkstoffe erwies sich aber als trügerisch. Weil bekannt war, dass GPCRs zur Bindung von Proteinkehren neigen<sup>[3,43]</sup> und dass die Cyclisierung Peptide in bioaktive Konformationen zwingen kann,<sup>[3a]</sup> wurden cyclische Analoga (z.B. **37**) des C-Terminus von C5a (**38**, Abbildung 7) entwickelt, um eine  $\gamma$ - und  $\beta$ -



**Abbildung 7.** a) Cyclische C5aR-Antagonisten (**37**); R=AcNH (3D53 oder PMX53),<sup>[44]</sup> R=H (3D624 oder PMX205);<sup>[45]</sup> b) Helixbündel in humanem C5a (**38**) mit aktivierendem C-Terminus (fett); c) NMR-Strukturen (**39**) von Peptiden auf dem Weg zu **37**.<sup>[44]</sup>

Kehre in kurzen acyclischen Peptiden zu stabilisieren (**39**, Abbildung 7).<sup>[44–47]</sup> Die Cyclohexen stellten eine Pro-(D-Cha)-Kehren-induzierende Verstrebung dar; damit erzielten sie eine 10<sup>6</sup>-fach höhere Affinität für den C5a-Rezeptor als der Hexapeptid-C-Terminus von C5a, einen starken und vollständigen Antagonismus ( $IC_{50} \approx 30$  nm) mit hoher Selektivität, langer Verweilzeit und oraler Verfügbarkeit in Dosen von 0.3–5.0 mg kg<sup>-1</sup> in Nagermodellen von Entzündungen und anderen Erkrankungen. Dies war die erste Nachbildung einer „helicalen“ (aber nicht  $\alpha$ -helicalen) Proteinkehre, die in klinischen Phase-II-Studien getestet wurde.<sup>[47]</sup>

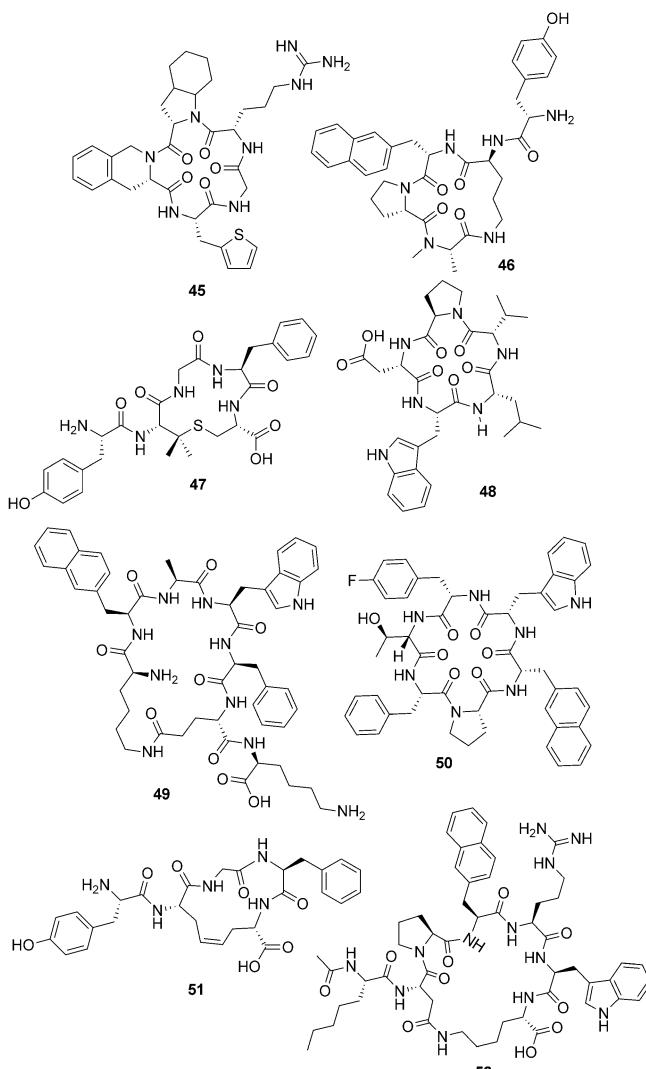
Somatostatin ist ein 14 Aminosäuren langes cyclisches Peptid AG[CKNFFWKTFTSC], das im Zentralnervensystem, im Gastrointestinaltrakt und in endokrinen Geweben exprimiert wird.<sup>[48]</sup> Das Octapeptid Sandostatin (Octreotid) ist ein stark wirksames Analogon von Somatostatin mit langer Halbwertszeit, das in der Klinik gegen Krebs und Akromegalie eingesetzt wurde. NMR-<sup>[49]</sup> und Röntgenstrukturanalysen<sup>[50]</sup> zeigen, dass Sandostatin im Bereich um D-Trp8-Lys9 eine  $\beta$ -Kehre vom Typ II oder II' ausbildet, die in dem Hexapeptid **40** (durch die Verknüpfung von Prolin mit D-Trp8) und der bicyclischen Verbindung **41** stabilisiert werden (Abbildung 8).<sup>[48]</sup> In jüngeren Ansätzen wurden ein Dicarba-



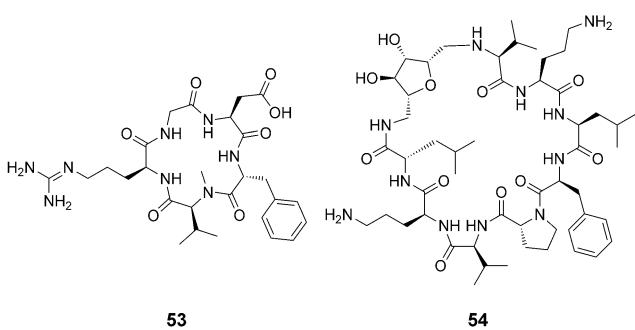
**Abbildung 8.** Somatostatin-Analoga mit unterschiedlichen Kehren-Verstrebungen.

Linker **42**, Biphenylgerüste **43** oder die cyclische  $\alpha$ -Aminosäure [1S,2S,5R]-2-Amino-3,5-dimethyl-2-cyclohex-3-encarbonsäure **44** anstelle von Prolin eingebaut.<sup>[51]</sup> Andere Kehrenmimetika für GPCRs als Zielproteine umfassen Agonisten (**45–52**) von Melanocortin, Bradykinin, Casmorphin, Endothelin, Enkephalin, GHRP-2, Gonadotropin-freisetzendes Hormon, Oxytocin und Vasopressin (Abbildung 9).<sup>[52–57]</sup> Nicht nur für GPCRs wurden verstrebte cyclische Peptide entwickelt, sondern auch, um die Kehren vieler anderer Proteine und Peptide nachzubilden. Dazu gehören die Integrine, eine wichtige Klasse von Oberflächenrezeptoren, die an Wechselwirkungen zwischen Zellen und zwischen Zellen und Matrix beteiligt sind. Hoch wirksame und selektive Inhibitoren wurden entwickelt, indem die Pharmakophorsequenz RGD in kleine cyclische Peptide eingeführt wurde, die dieses Motiv in Kehrenkonformation präsentieren. So gelangte man zu Cilengitid (**53**) (Abbildung 10), das in klinischen Studien gegen Glioblastom getestet wurde.<sup>[58]</sup> Fixierte Kehrenstrukturen wurden auch bei der Entwicklung von antibakteriellen Analoga von Gramicidin S (**54**) und antiviralen Substanzen gegen HIV und Hepatitis verwendet.<sup>[59,60]</sup>

Im Gegensatz zu Mimetika von  $\beta$ -Kehren sind nur wenige Mimetika von  $\alpha$ -Kehren bekannt.<sup>[61]</sup> Cyclische Tetrapeptide wurden durch (*i,i*+3)-Brücken zwischen Seitenkette und C-Terminus (**55**) oder durch (*i*+3,*i*)-Brücken zwischen Seiten-

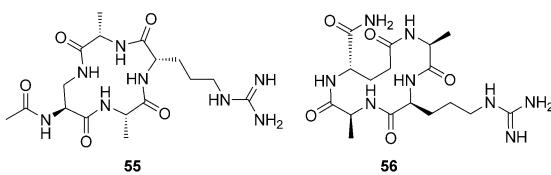


**Abbildung 9.** Andere makrocyclische Agonisten und Antagonisten von GPCRs.



**Abbildung 10.** Der RGD-Integrin-Antagonist Clengitid (**53**) und das Gramicidin-Analogon **54**.

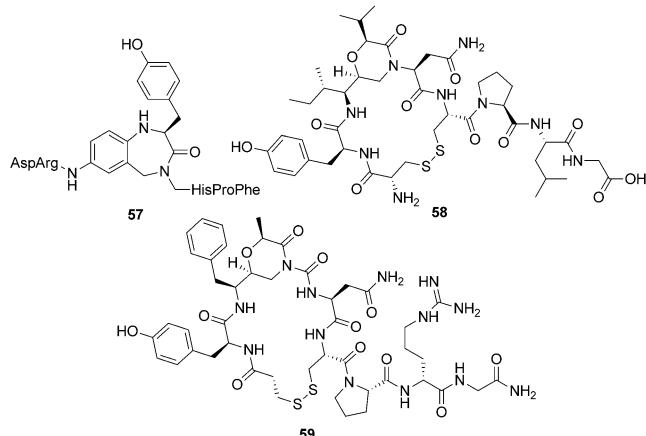
kette und N-Terminus (**56**) verstreb (Abbildung 11). Die CD-Spektren in 10 mM Phosphatpuffer waren denen der Peptid- $\alpha$ -Helices sehr ähnlich. NMR-Analyse und MD-Simulationen weisen **55** als  $\alpha$ -Kehre vom Typ Ia-RS aus, während **56** zum Typ IIa gehört. Diese cyclischen Peptide sind



**Abbildung 11.** Mimetika für nichtklassische  $\alpha$ -Kehren.

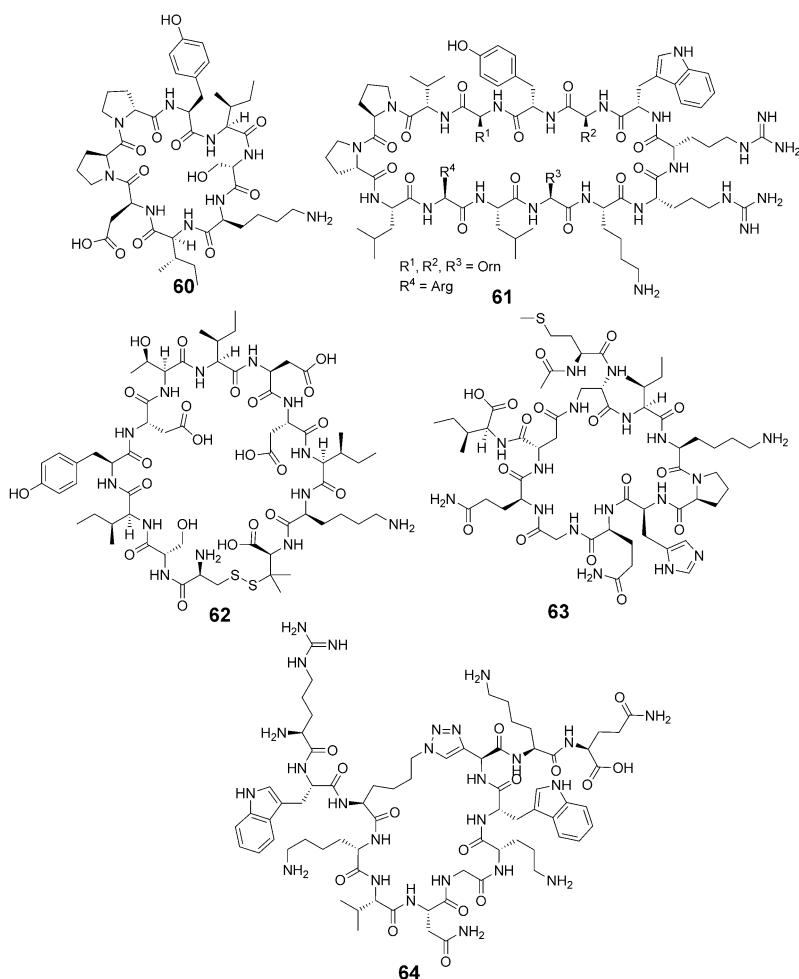
pseudoplanar ohne helicale Neigung und bilden  $\alpha$ -Kehren in einer Reihe von Proteinstrukturen nach.<sup>[61]</sup>

Auch die  $\gamma$ -Kehre wurde in einer Reihe kleiner cyclischer Peptide fixiert.<sup>[3–5]</sup> Wegen der stark verspannten Natur der  $\gamma$ -Kehre wurden die cyclischen Gerüste im Allgemeinen durch Verknüpfungen im Peptid-Rückgrat geschlossen. Aktuell mit  $\gamma$ -Kehren-Mimetika entwickelt wurden Analoga von Angiotensin (**57**), Melanocyten stimulierendem Hormon, Desmopressin (**58**) und Oxytocin (**59**) (Abbildung 12).<sup>[62]</sup>



**Abbildung 12.** Beispiele für Gerüste, die  $\gamma$ -Kehren begünstigen.

Die  $\beta$ -Haarnadelschleife mit ihren beiden hintereinander liegenden, durch Wasserstoffbrücken verbundenen antiparallelen  $\beta$ -Strängen und der dazwischenliegenden Kehre oder Schleife ist in der Natur weit verbreitet. Es kommen verschiedene Formen vor, die sich in Kettenlänge, Wasserstoffbrückenmuster und Kehren- oder Schleifenmotiven unterscheiden. Mimetika wurden meist entworfen, indem man eine Haarnadel-Sequenz in eine halbstarre Matrize einfügte, die die Haarnadelstruktur stabilisiert; dafür kommt z.B. heterochirales Diprolin ( $D$ -Pro-L-Pro) wie in **60** in Frage (Abbildung 13).<sup>[63]</sup> Diese Verbindung unterbricht die Wechselwirkung zwischen dem Zelladhäsionsmolekül CD2 und seinem Liganden CD58. Die mit NMR-Spektroskopie aufgelöste Struktur und Molekulardynamik-Simulationen deuten auf eine  $\beta$ -Haarnadelstruktur in **61** hin. Das D-Pro-L-Pro-Motiv wurde auch bei der Entwicklung antimikrobieller (**62**) und antiviraler Peptide, Protease-Inhibitoren und PPI-Inhibitoren eingesetzt. Andere Gerüste basieren auf Motiven, die Kehren nachahmen (**63**) und fixieren die Haarnadelstruktur durch Klick-Chemie (**64**).<sup>[63–69]</sup>



**Abbildung 13.** Verbrückte Makrocyclen mit  $\beta$ -Haarnadelschleifen.

#### 4. Cyclische Peptidhelices

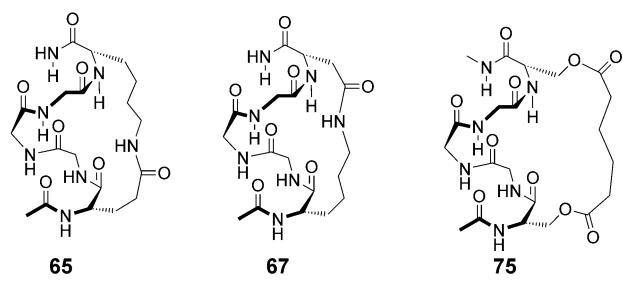
Helices entstehen durch aufeinanderfolgende Kehren, die durch Wasserstoffbrücken über die Kehren hinweg verbunden sind. In Proteinen findet man  $\alpha$ -Helices,  $3_{10}$ -Helices und  $\pi$ -Helices. Mehrere aufeinanderfolgende  $\beta$ -Kehren bilden eine  $3_{10}$ -Helix mit  $i + 3 \rightarrow i$ -Wasserstoffbrücken zwischen dem Amidproton und dem Carbonylsauerstoff des Peptidrückgrats. Aufeinanderfolgende  $\alpha$ -Kehren eines spezifischen Typs ( $\phi = -58^\circ$ ,  $\psi = -47^\circ$ ) definieren  $\alpha$ -Helices und bilden  $i + 4 \rightarrow i$ -Wasserstoffbrücken. Die  $\pi$ -Helix entsteht bei  $i + 5 \rightarrow i$ -Wasserstoffbrücken und kommt im Allgemeinen bei weniger als 7 Aminosäuren langen Sequenzen nicht vor.

Die  $\alpha$ -Helix macht etwa 40 % der Sekundärstrukturmotive in Proteinen aus. In der PDB haben > 60 % aller komplexierten Proteine eine  $\alpha$ -Helix an ihrer Berührungsfläche.<sup>[70]</sup> Die Entwicklung von Methoden, um helicale Regionen an Protein-Protein-Kontaktflächen nachzubilden, hat große Aufmerksamkeit auf sich gezogen,<sup>[71]</sup> doch haben kurze Peptide nur eine geringe Neigung, in Wasser unter physiologischen Bedingungen Helixstrukturen auszubilden, und sie haben nur eingeschränkte biologische Stabilität. Durch die Fixierung eines Peptides in der bioaktiven Helix-Konforma-

tion lässt sich der Entropieverlust durch die Faltung überwinden; außerdem wird der Abbau durch Proteasen verhindert, die die ausgestreckte ( $\beta$ -Strang-) Konformation erkennen.<sup>[72]</sup> Der Durchmesser der  $\alpha$ -Helix ist zu groß, um ins aktive Zentrum der meisten Proteasen (mit Ausnahme einiger Hefeproteasen) zu passen.

#### 4.1. Seitenketten-Bindungen

Historisch gesehen ist die am meisten benutzte Methode, um Helices zu induzieren oder in einem Peptid zu stabilisieren, die Knüpfung von kovalenten Amidbindungen zwischen den Seitenketten von Lysin/Ornithin und Glutamin-/Asparaginsäureresten, die 2 oder 3 Positionen auseinanderliegen. Ein Überblick über die Synthese lactamverbrückter Peptide zur Stabilisierung von  $\alpha$ -Helix-Strukturen wurde an anderer Stelle gegeben.<sup>[8b]</sup> Die ersten Forschungen<sup>[73]</sup> konzentrierten sich auf die Charakterisierung helicaler Peptide gegen biologische Zielstrukturen. Insbesondere  $i \rightarrow i + 4$ - und  $i \rightarrow i + 3$ -Bindungen zwischen Seitenketten wurden in 15–30 Reste lange Peptide eingeführt, um die Bioaktivität zu verbessern. Gezeigt wurde dies an Peptidhormonen wie Neuropeptid Y,<sup>[74]</sup> Dynorphin A,<sup>[75]</sup> Parathormon (PTH),<sup>[76]</sup> CRF,<sup>[77]</sup> Galanin,<sup>[78]</sup> Calcitonin,<sup>[79]</sup> GCN4,<sup>[80]</sup> Secretin<sup>[81]</sup> und GLP-1.<sup>[82]</sup> Dennoch gab es kein klares Bild, welche Lactambrücke zur Stabilisierung einer  $\alpha$ -Helix am besten geeignet ist. Eine Reihe von Lactambrücken wurde verwendet, um das LXXLL-Motiv in GRIP-1-Coaktivatorpeptiden zu stabilisieren.<sup>[83a,b]</sup> Die Glu( $i$ ) $\rightarrow$ Lys( $i+4$ )-Brücke (65, Abbildung 14) brachte eine 10-fach bessere Hemmung des Thyroidrezeptors ( $IC_{50} 0.62 \mu\text{M}$ ) (66, Tabelle 1) als die Lys( $i$ ) $\rightarrow$ Asp( $i+4$ )-Brücke ( $IC_{50} 5.8 \mu\text{M}$ ). Nachfolgende Untersuchungen mit cyclo-(7,11)-EKHKIX<sub>1</sub>-[ERX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>K]DS als Gerüst, in dem X<sub>1</sub>–X<sub>3</sub> durch hydrophobe Reste ersetzt wurden, deckten eine Selektivität für Östrogenrezeptor-Isoformen auf.<sup>[83c,d]</sup>



**Abbildung 14.** Lactam- und Esterbrücken  $i \rightarrow i + 4$  zur Stabilisierung der  $\alpha$ -Helices.

In einer systematischen Untersuchung aus dem Jahr 2005 wurden Kombinationen von Seitenketten für einen makrocyclischen Lactamringschluss in einem Modell-Pentapeptid untersucht. Dabei erwies sich Lys(*i*)→Asp(*i*+4) (**67**, Abbildung 14) gegenüber anderen Lactambrücken für die Stabilisierung der  $\alpha$ -Helix als überlegen.<sup>[84]</sup> Die cyclischen Pentapeptide wie Ac-cyclo-(1,5)-[KARAD]-NH<sub>2</sub> bilden mit einem  $\alpha$ -Helixanteil von ca. 100% in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) die kleinsten  $\alpha$ -Helices, die in wässriger Lösung bekannt sind.<sup>[8d, 84]</sup> Sie werden weder durch helixinduzierende (TFE; 2,2,2-Trifluorethan) noch durch helixdenaturierende (8 M Guanidinium) Reagentien beeinflusst, sind protease-resistent und können aneinandergekoppelt werden.<sup>[8d]</sup> Diese außergewöhnlichen Eigenschaften hängen davon ab, dass das Peptid  $\alpha$ -Helix-begünstigende Reste (Ala, Leu, Met, Arg, Gln, Glu, Lys)<sup>[72, 84]</sup> enthält und an N- und C-Terminus amidderivatisiert ist, um dort drei  $\alpha$ -Helix-definierende Wasserstoffbrücken zu bilden. Nicht cyclisierte Sequenzen haben nur einen vernachlässigbaren  $\alpha$ -Helix-Anteil in Wasser.<sup>[8d, 72, 84–88]</sup>

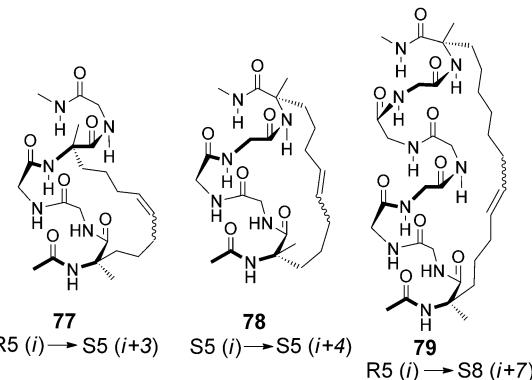
Viele cyclo-(1,5)-[KXXXD]-lactamverbrückte Module sind in biologisch aktive Peptidsequenzen von Protein- $\alpha$ -Helices eingefügt worden, um die Proteine durch kleinere synthetische Moleküle zu ersetzen, die aber die Wirkstärke und Stabilität in biologischen Flüssigkeiten und gegenüber Proteasen behalten.<sup>[72]</sup> Diese Methode wurde angewendet (Tabelle 1) auf die Hemmung der viralen Fusion (RSV: **68**, **69**,<sup>[85]</sup> HIV-Rev: **70**),<sup>[72]</sup> antibakterielle Substanzen (CSP-1) (**71**),<sup>[86]</sup> ORL-1-Rezeptoragonisten (**72**) und -antagonisten (**73**)<sup>[87]</sup> sowie Transkriptionsfaktor-Antagonisten (cFos) (**74**).<sup>[88]</sup> Agonist **72** löste langdauernde Schmerzlinderung bei Mäusen aus, die durch die gleichzeitige Verabreichung von **73** umgekehrt werden konnten.<sup>[87]</sup> Eine Lactambrücke wurde vor kurzem genutzt, um das  $\mu$ -Conotoxin-KIIIA-Protein zu verkleinern, doch hatten die Analoga eine verringerte biologische Aktivität.<sup>[89]</sup>

Eine Alternative zu Lactambrücken sind diesterverbrückte Peptidfragmente, z.B. vom Parathormon (PTH<sub>1–11</sub>).<sup>[90]</sup> Die Verbindungen wurden durch Acylierung der Seitenketten von Ser6 und Ser10 mit Adipinsäure zu einem 23-gliedrigen Ring geschlossen (**75**, Abbildung 14). Der Diester **76** (Tabelle 1) war aktiver als das entsprechende Glu(*i*)→Lys(*i*+4)-lactamverbrückte Peptid, auch wenn das cyclische Peptid zwei Atome größer war und im NMR-Spektrum weniger kompakt erschien. Die Verknüpfung von zwei Serin-Seitenketten mit Dicarbonsäuren erzeugt Brücken variabler Länge mit zwei Estergruppen, die mögliche Wasserstoffbrückenakzeptoren sind.

Kohlenwasserstoffbrücken sind in den letzten Jahren zunehmend zur Stabilisierung von Helixstrukturen in Peptiden genutzt worden.<sup>[84, 91]</sup> Die Verstrebung von Peptiden mit Kohlenwasserstoff-Linkern zwischen den Seitenketten wurde zuerst an dem Modellpeptid Boc-V[XLAibVX]L-OMe gezeigt, das an den Positionen *i* und *i*+4 O-Allyl-geschütztes Serin oder Homoserin trägt.<sup>[91a]</sup> Die Querverbindung wurde durch eine Metathesereaktion geknüpft und ergab Peptide mit einem erhöhten Helixanteil, der sich im CD-Spektrum nachweisen ließ. Die Röntgenstrukturanalyse eines cyclischen Bis-Homoserinpeptids nach Ringschlussmetathese und

Reduktion der Doppelbindung deutete auf eine Stabilisierung der  $\alpha$ -Helix durch die Cyclisierung hin.<sup>[91b]</sup>

Die nächste Generation Kohlenwasserstoff-verbrückter Peptide enthielt nichtnatürliche  $\alpha,\alpha$ -disubstituierte Aminosäuren mit  $\alpha$ -Methylgruppen und Seitenketten unterschiedlicher Längen mit endständigen Alkengruppen. Diese Aminosäuren können an den Positionen *i*→*i*+3 (**77**), *i*→*i*+4 (**78**) und *i*→*i*+7 (**79**) in das Peptid eingebaut sein (Abbildung 15).



**Abbildung 15.** Verschieden lange Alkyllinker zwischen den Positionen *i*→*i*+3, *i*→*i*+4 und *i*→*i*+7. Die Stereochemie der  $\alpha,\alpha$ -disubstituierten Aminosäuren (S oder R) ist zusammen mit der Zahl der Kohlenstoffatome (5 oder 8) angegeben.

Anschließende Vernetzung über Ringschlussmetathese ergab cyclische Peptide, in denen eine oder zwei Kehren der  $\alpha$ -Helix stabilisiert sind. Die Technik wurde „Kohlenwasserstoff-Heftung“ (hydrocarbon stapling) genannt. Die *i*→*i*+3- und *i*→*i*+4-Kohlenwasserstofflinker können im Tandem kombiniert werden, um noch stabilere, bicyclische Peptide zu erhalten.<sup>[92–94]</sup> In einer aktuellen Untersuchung<sup>[95]</sup> wurde nachgewiesen, dass ein „geheftetes“ BID-Peptid ohne  $\alpha$ -Methylgruppen in den überbrückten Aminosäuren den gleichen Helixanteil und die gleiche Affinität und Protolysestabilität wie ein Peptid mit  $\alpha$ -Methylaminosäuren hat. Kohlenwasserstoff-Linker wurden bei der Entwicklung von Inhibitoren für zahlreiche Protein-Protein-Wechselwirkungen (Tabelle 1) eingesetzt. Parallel zur kommerziellen Verfügbarkeit der Aminosäuren, die für die Synthese solcher Peptide notwendig sind, wird sich auch das Feld der Anwendungen weiter ausdehnen.

Der Einsatz dieser *i*→*i*+4-Linker in bioaktiven Peptiden (Tabelle 1) wurde erstmals im BID-BH3-Peptid<sup>[96]</sup> (**80**) gezeigt; damit wurden Affinität und Stabilität verbessert. Eines der verstreuten Peptide führte in Mäusen zur Tumorregression von humanen Leukämie-Xenografts. Die Peptide binden direkt an Bax und lösen eine mitochondriale Apoptose aus. Photoreaktive Analoga von BIM (**81**) und BAD (**82**) aus der BH3-Familie wurden auch mit einem Benzophenon enthaltenden Peptid entwickelt, um die Bcl-2-Wechselwirkungen zu untersuchen.<sup>[97]</sup> Auch ein Inhibitor von Mcl-1<sup>[98]</sup> wurde vorgestellt (**83**). Mit **84** wurde ein Antagonist des onkogenen ternären NOTCH-1-Transkriptionsfaktor-Komplexes entwickelt. Das 15 Aminosäuren lange Peptid MAML1<sub>21–36</sub>

blockiert die Bindung des vollständigen MAML1 an den ternären Komplex, unterdrückt die Signalgebung durch NOTCH-1 und hat eine Antileukämie-Wirkung *in vivo*.<sup>[99]</sup> Inhibitoren der p53-hDM2/hDMX-Wechselwirkung wurden unter Einsatz einer  $i \rightarrow i + 7$ -Klammer entwickelt (**85–87**). Die eingangs erwähnte Verbindung **82** hat hohe Helixanteile, eine gute Affinität für HDM2 und Wirksamkeit in Mäusen.<sup>[100]</sup> Peptide mit vergleichbarer Stabilisierung (**86**) aus einer anderen Familie<sup>[101]</sup> hemmen MDM2 und reaktivieren p53 stärker als **85** und die niedermolekularen Nutline. Aileron Therapeutics berichtete vor kurzem über **87**<sup>[102]</sup> und seine beeindruckende Affinität und gute anti-MDM2-Aktivität in Krebszelllinien und einem Maus-Xenograft-Tumormodell.

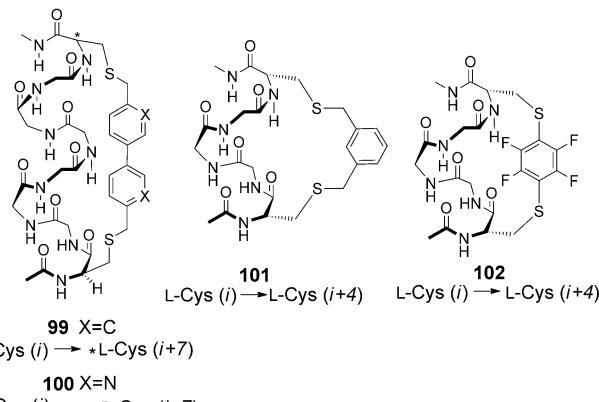
Kohlenwasserstoff-Linker werden noch immer für verschiedene Zielstrukturen eingesetzt (Tabelle 1), darunter EZH2-EED (**88**),<sup>[103]</sup> ER/Coaktivator (**89**),<sup>[104]</sup> HIV (**90**),<sup>[105]</sup> ein kardiovaskulärer Transporter<sup>[106]</sup> und Diabetes.<sup>[106]</sup> Aktuelle Ergebnisse zeigen jedoch auch, dass die Einführung eines solchen Linkers keine Garantie für biologische Aktivität<sup>[107]</sup> oder Zellpermeabilität bietet; letztere ist aufgrund der endocytotischen Aufnahme stark sequenzabhängig.<sup>[108]</sup> Die Stabilisierung der Helixbildung in einem Peptid verbessert nicht immer die Bioaktivität, und verbesserte In-vitro-Affinitäten korrelieren nicht zwangsläufig mit der zellulären Aktivität. Kristallstrukturen von verstreuten Peptiden nach Bindung an MDM2, den Östrogenrezeptor und MCL-1 zeigen, dass Wechselwirkungen des Linkers mit einem Protein manchmal entscheidend für die Verbesserung der Aktivität sind. Kohlenwasserstoff-Linker können einem Peptid gegenüber dem linearen Analogon höhere Zellpermeabilität verleihen.<sup>[109]</sup> Die Membrangängigkeit ist entscheidend für den Angriff auf intrazelluläre Proteine wie Transkriptionsfaktoren.

Die Chemie der Huisgen-Reaktion, einer 1,3-dipolaren Azid-Alkin-Cyclisierung, wurde erfolgreich zur Entwicklung verbrückter helicaler Peptide eingesetzt. Dazu werden spezielle Aminosäuren mit Aziden und Alkinen als funktionellen Gruppen verwendet, insbesondere ein azidfunktionalisiertes Norleucin und L- (**91**, Abbildung 16) oder D-Propargylalanin (**92**, Abbildung 16) an den Positionen  $i$  und  $i + 4$  des Peptids. Peptide, die vom Parathormon (PTH) abgeleitet sind<sup>[110]</sup> und

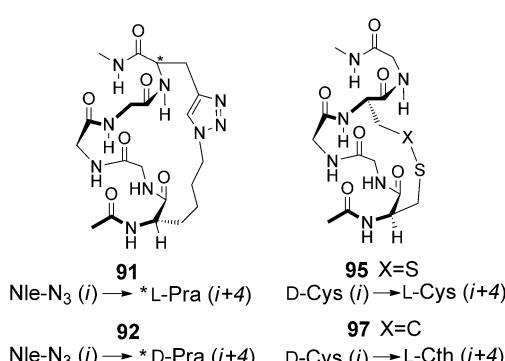
mit L-Azidonorleucin und L-Propargylalanin cyclisiert wurden, weisen Helixstrukturen auf. Ein- und zweifach mit der Klick-Reaktion cyclisierte Peptide aus BCL9 wurden mit L-Azidonorleucin und L- oder D-Propargylalanin hergestellt und wirken als Peptidinhibitoren von  $\beta$ -Catenin (**93**, **94**; Tabelle 1).<sup>[111]</sup> Allerdings war die Kombination aus L-Azidonorleucin und D-Propargylalanin besser, sowohl um die Bildung der  $\alpha$ -Helix zu stabilisieren als auch um die Affinität für  $\beta$ -Catenin zu verbessern.

Auch makrocyclische Disulfide wurden zur Stabilisierung helicaler Konformationen eingeführt, wobei D- und L-Cystein die Positionen  $i$  und  $i + 3$  besetzen (**95**, Abbildung 16). Werden sie in NR-Box-Peptide eingebaut, hemmen sie wirkungsvoll ER $\alpha$  und ER $\beta$  (**93**, Tabelle 1). Auffällig ist, dass die über Disulfide cyclisierten Peptide wirksamer sind als die früher beschriebenen lactamverbrückten Peptide.<sup>[112]</sup> Eine spätere Untersuchung mit L-Cystathionin an Position  $i + 3$  (wodurch ein redoxstabiles cyclisches Peptid entsteht; **97**, Abbildung 16) erbrachte noch eine weitere leichte Steigerung der Aktivität (**98**, Tabelle 1).

$\alpha$ -Helices lassen sich in Peptiden mit zwei Cysteinresten auch mit Arylresten stabilisieren (**99–102**, Abbildung 17). In



**Abbildung 17.** Helix-Stabilisierung von Peptiden mit zwei Cysteinresten durch  $i \rightarrow i + 7$ - und  $i \rightarrow i + 4$ -Brückenbildung mit Arylresten (**99–102**).



**Abbildung 16.** Helixstabilisierung in Peptiden mit  $i \rightarrow i + 4$ -Triazolverbindungen (**91–92**) oder  $i \rightarrow i + 3$  Disulfid- (**95**) und Thioethercyclisierung (**97**). Nle-N<sub>3</sub> = Azidonorleucin, Pra = Propargylalanin, Cth = Cystathionin.

den gezeigten Beispielen wurde die Brücke zwischen den Cysteinresten in den Positionen  $i$  und  $i + 7$  mit Bis-Arylmethylendibromiden gebildet. Mcl-1-Peptide,<sup>[113]</sup> die nach dieser Strategie hergestellt wurden, hatten D-Cystein an Position  $i$  und L-Cystein an Position  $i + 7$  (**99**, Abbildung 17); Ergebnisse waren eine um den Faktor 20–30 verbesserte Affinität und ein größerer Helixanteil als in dem acyclischen Vorläufer. Durch N-Methylierung, N-terminale Carbamoylierung und Mutagenese wurde das Verschwinden der Nettoladung des Peptids erreicht, was mit größerer Zellpermeabilität einherging (**103**, Tabelle 1). MDM2/MDMX-Inhibitoren mit einem leicht modifizierten Arylrest (**100**, Abbildung 17) hatten D-Cysteine an beiden Positionen (**104**),<sup>[114]</sup> sodass die Biarylbrücke günstige Wechselwirkungen mit dem Protein eingehen konnte. Von Calpastatin abgeleitete aktivitätsbasierte Sonden, die gegen Calpain gerichtet waren, enthielten eine kurze spezifitätsbestimmende Sequenz, die mit Dibromxylol

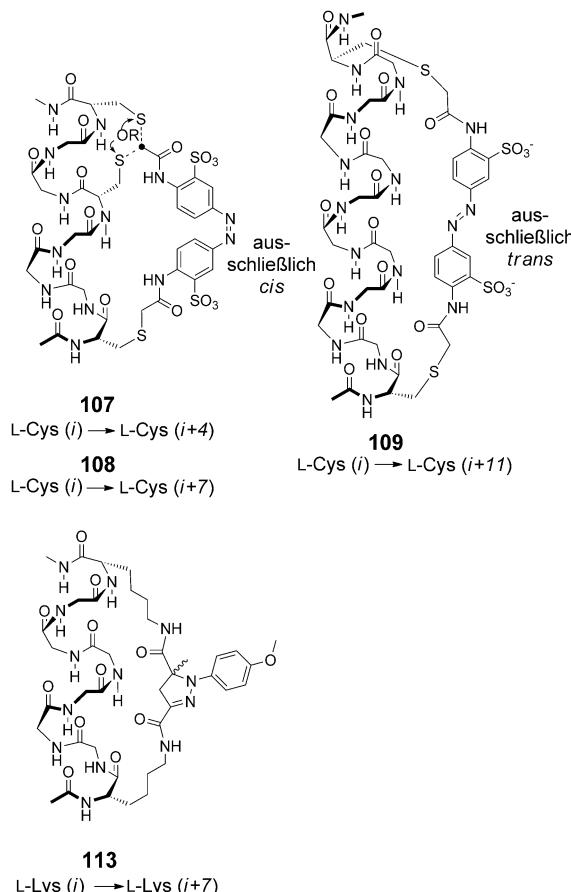
zur Helixstabilisierung verbrückt war (**101**, Abbildung 17; **105**, Tabelle 1).<sup>[115]</sup> Ein Perfluorbenzol-Linker (**102**, Abbildung 17) verbindet chemoselektiv die Seitenketten von zwei Cysteinresten an den Positionen *i* und *i* + 4 in einem ungeschützten Peptid zum HIV-Capsidzusammenbau und verbesserte Bindung und Aufnahme in die Zelle (**106**).<sup>[116]</sup>

Azobenzol-Brücken wurden an Cysteinen in den Positionen *i* und *i* + 4, *i* + 7 und *i* + 11 angebracht (**107–109**, Abbildung 18). Der Azobenzolrest durchlief bei UV-Bestrahlung

reaktion zu einer fluoreszierenden Pyrazolin-Brücke, die die Helixbildung verbessert (**113**, Abbildung 18). Dieser Ansatz diente zur Unterbrechung der Wechselwirkung zwischen p53 und MDM2/MDMX (Tabelle 1; **114**). Die vernetzten Peptide hatten zwar nur eine mäßige In-vivo-Aktivität, doch erleichterte die fluoreszierende Brücke die Aufnahme des Peptids in die Zelle im Vergleich zu den acyclischen Ausgangspeptiden.<sup>[118]</sup>

#### 4.2. Vergleich helixinduzierender Linker

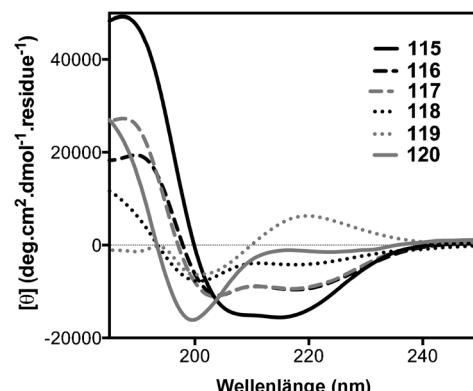
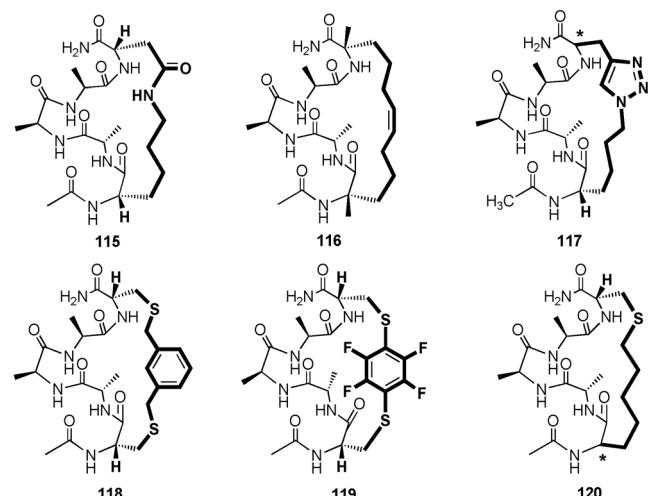
Der Einfluss verschiedener Linker auf den  $\alpha$ -Helixanteil der cyclischen Pentapeptide **115–120** wurde in wässriger Lösung mit NMR- und CD-Spektroskopie bestimmt (Abbildung 19).<sup>[119]</sup> Der Lys-Asp-Lactamlinker (**115**) stabilisierte die



**Abbildung 18.** Helixstabilisierung bei Biscystein-Peptiden durch *i* → *i* + 4- und *i* → *i* + 7-Verbrückung mit Diazobenzolresten (**107–109**) und bei Bislysin-Peptiden mit einer Diacylpyrazolin-Einheit (**113**).

lung eine *cis/trans*-Isomerisierung, die große Konformationsänderungen vom Zufallsknäuel hin zur  $\alpha$ -Helix auslöste. Wenn der Azobenzolrest mit den Positionen *i* und *i* + 4 (**107**) oder *i* + 7 (**108**) verknüpft war, stabilisierte nur die *cis*-Konformation die Helixbildung. Wenn demgegenüber aber die Positionen *i* und *i* + 11 verbrückt wurden (**109**), stabilisierte nur die *trans*-Konformation die Helixbildung. Diese Methode wurde mit Erfolg angewendet, um aktive BID- (**110**, Tabelle 1) und Bak-nachbildende (**111**, **112**; Tabelle 1) Peptide gegen das anti-apoptotische Bcl-X<sub>L</sub> zu entwickeln.<sup>[117]</sup>

Baut man Lysine an den Positionen *i* und *i* + 4 ein, acyliert sie mit Methacrylat und Carboxytetrazol und bestreht sie mit UV-Licht, erleichtert man eine 1,3-dipolare Cycloadditions-



**Abbildung 19.** Vergleich von cyclischen Pentapeptiden **115–120** mit unterschiedlichen Linkern bezüglich ihrer  $\alpha$ -Helixanteile in 10 mM Phosphatpuffer (pH 7.2, 298 K) mittels CD-Spektroskopie.<sup>[119]</sup>

$\alpha$ -Helixbildung doppelt so gut wie die Kohlenwasserstoff- (**116**) und Triazol-Linker (**117**), die auch eine gewisse  $3_{10}$ -Helixbildung unterstützen, während die Thioethercyclen (**118–120**) in PBS nur einen geringen Helixanteil haben. Die Zugabe des helixstabilisierenden Lösungsmittels TFE steigerte nach der CD-Analyse den  $\alpha$ -Helixanteil bei allen Ver-

bindungen mit Ausnahme von **115**, die unbeeinflusst blieb und bereits in Wasser die optimale  $\alpha$ -Helixbildung zeigte.

#### 4.3. Wasserstoffbrücken-Surrogate

Ein alternativer Ansatz zur Fixierung von Helixstrukturen durch Quervernetzung der Seitenketten ist, eine  $i \rightarrow i + 4$ -Wasserstoffbrücke durch ein Wasserstoffbrücken-Surrogat (HBS) in Form einer kovalenten Bindung zu ersetzen. Diese verknüpft den N-Terminus des Peptids und den Amidstickstoff des  $i + 4$ -Restes und ahmt damit ziemlich genau die 13-gliedrige wasserstoffbrückenstabilisierte  $\alpha$ -Kehre in kanonischen  $\alpha$ -Helices nach (**121**, Abbildung 20). Die Ringgröße ist

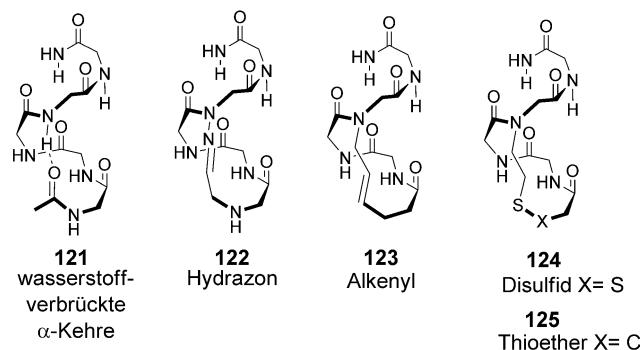


Abbildung 20. Wasserstoffbrücken in einer  $\alpha$ -Helix-Kehre (**121**) und Wasserstoffbrücken-Surrogate (**122–125**).

entscheidend für die Bildung und Induktion stabiler artifizieller  $\alpha$ -Helices.<sup>[120,121]</sup> Der HBS-Ansatz wurde zunächst mit einem kovalenten Hydrazon zwischen  $i$  und  $i + 4$  umgesetzt (**122**, Abbildung 20). Auch wenn der Ansatz erfolgreich war, hat er aufgrund der begrenzten Stabilität des Hydratzons nur eingeschränkte Anwendungsmöglichkeiten.<sup>[122]</sup> Das Hydrazon wurde durch einen Alkenyl-Linker ersetzt, der durch den Einbau von Alkenen in das Peptid und anschließende Ringschlussmetathese<sup>[123]</sup> synthetisiert wurde (**123**, Abbildung 20). Die Chemie für die Synthese dieser Moleküle an der Festphase wurde verfeinert<sup>[124]</sup> und modifiziert, indem die Alkenbrücke durch ein Disulfid oder einen Thioether ersetzt wurde (**124**, **125**; Abbildung 20).<sup>[125]</sup> Eine 1.15-Å-Röntgenkristallstruktur eines kurzen HBS-stabilisierten Peptides wurde gelöst; sie passte zu der einer kanonischen  $\alpha$ -Helix.<sup>[126]</sup> HBS-Peptide mit gekoppelten Alkenyl-Linkern wurden gegen verschiedene Zielstrukturen getestet (Tabelle 1), darunter p53 (**126**),<sup>[127]</sup> Bcl-xL (**127**),<sup>[128]</sup> HIV gp41 (**128**),<sup>[129]</sup> HIF-1 $\alpha$  (**129**)<sup>[130]</sup> und Ras (**130**).<sup>[131]</sup>

#### 4.4. Ungewöhnliche Helixnachahmungen

In einem ungewöhnlichen Ansatz zur Nachbildung bioaktiver Helices wurden cyclische  $\beta$ -Haarnadel-Peptide verwendet (Abbildung 21). Das Rückgrat cyclischer Deca- oder Tetradecapeptide mit eingebautem D-Pro-L-Pro-Motiv bildet eine gut definierte  $\beta$ -Haarnadel-Matrize. In den cyclischen

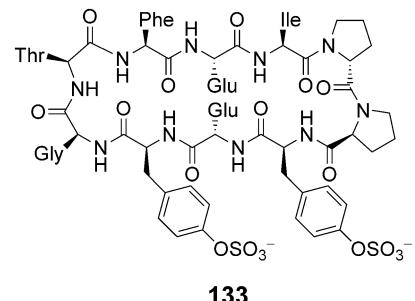
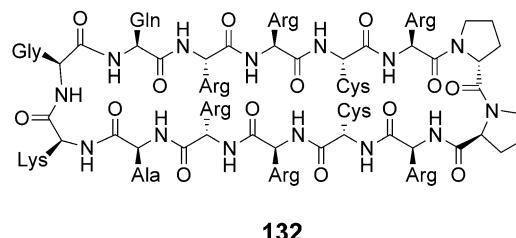
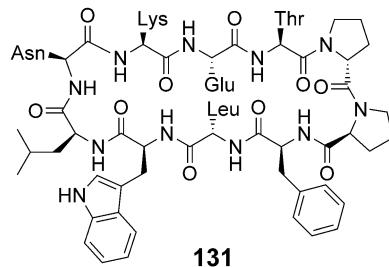


Abbildung 21.  $\alpha$ -Helix-Nachbildung mit cyclischen  $\beta$ -Haarnadel-Peptiden mit einer D-Pro-L-Pro-Einheit zur Induktion der Richtungsumkehr.

Peptiden liegen die Seitenketten so, dass sie ungefähr die Position wie in einer  $\alpha$ -Helix einnehmen. Die Strategie war, die Positionen  $i$ ,  $i + 4$  und  $i + 7$  in der p53-Helix (**131**),<sup>[132]</sup> die Positionen  $i$ ,  $i + 1$ ,  $i + 4$ ,  $i + 5$ ,  $i + 8$  und  $i + 9$  in der HIV-Rev-Helix (**132**)<sup>[133]</sup> und die sulfatierten Tyrosinreste an den Positionen  $i$  und  $i + 4$  der CCR4-Helix (**133**) nachzubilden.<sup>[134]</sup>

#### 5. Aus der Natur ins Labor

Hinweise auf die Synthese spezifischer Formen cyclischer Peptide kamen auch aus der Natur, wo eine diverse Gruppe molekulärer Verstrebungen die dreidimensionale Struktur sichert, eine hohe funktionale Kapazität verleiht, große Stabilität erzielt und die Membranpermeabilität cyclischer Peptide ermöglicht.<sup>[135]</sup> In der Natur werden die meisten cyclischen Peptide ribosomal synthetisiert, in deren Verlauf mRNAs zu Peptidketten mit L-Aminosäuren translatiert werden. Oft folgt eine posttranskriptionale Modifikation und eine Cyclisierung durch Enzyme.<sup>[136]</sup> Daneben gibt es in der Natur aber auch vielfältige nichtribosomale Synthesen, in denen auch nichtproteinogene Aminosäuren und ihre Derivate

**Tabelle 1:** Einige biologisch aktive Helices, die mit unterschiedlichen Methoden stabilisiert wurden.

Formel-Nummer	Linker-strukturtyp <sup>[a]</sup>	Sequenz <sup>[b]</sup>	α-Helix	Aktivität	Lit.
<b>Lactambrücken</b>					
66	65	Ac-EKHKIL[XRLX]DS	GRIP1	$K_i = 0.62 \mu\text{M}$	[83]
68	67	Ac-FP[XDEFX][XSISX]-N-NH <sub>2</sub>	RSV-F-Protein	$IC_{50} = 36 \text{ nM}$	[85]
69	67	Ac-1Nal-[XDEFX][XSISX]-N-NH <sub>2</sub>		$IC_{50} = 0.18 \text{ nM}$	[72]
70	67	Ac-TRQA[XRNRX]RR[XRERX]-NH <sub>2</sub>	HIV <sub>34–50</sub> Rev	$IC_{50} = 50 \text{ nM}$	[72]
71	67	E-Nle-RL[XKFFX][XFILX]RKK-NH <sub>2</sub>	Sp CSP-1	$IC_{50} = 0.5 \mu\text{M}$	[72, 86]
72	67	FGG-(4F)F-[XARSX][XANQX]-NH <sub>2</sub>	Nociceptin	$EC_{50} = 0.04 \text{ nM}$	[72, 87]
73	67	Bn-GGG-(4F)F-[XARSX][XANQX]-NH <sub>2</sub>		$IC_{50} = 7.5 \text{ nM}$	[87]
74	67	Ac-Cha-R[XEYX]LR[XKANX]LR[XHIAAX]-Cha-NH <sub>2</sub>	cFos	$K_i = 7.25 \mu\text{M}$	[88]
<b>Diester-Linker</b>					
75	75	Aib-V-Aib[XL-Nle-HX]-Har	PTH	$EC_{50} = 0.2 \text{ nM}$	[90]
<b>Kohlenwasserstoffbrücken</b>					
80	78	EDIIRNIARHLA[XVGDX]-Nle-DRSIW	BID BH3	$IC_{50} = 40 \text{ nM}$	[96, 97]
81	78	IWIAQELR[XICDX]FNAYYARR	BIM BH3	$IC_{50} = 16 \text{ nM}$	[97]
82	78	NLWAQRYGRELR[X-Nle-SDX]FVDSFKK	BAD BH3	$IC_{50} = 60 \text{ nM}$	[97]
83	78	KALETLRRVGDGV[XRNHX]TAF	Mcl1 BH3	$K_i = 0.84 \mu\text{M}$	[98]
84	78	βA-ERLRRRI[XLCR]HHST	MAML1	$IC_{50} = 16 \text{ nM}$	[99]
85	79	Ac-QSQQTF[XNLWRLL]QN-NH <sub>2</sub>	p53	$K_D = 50 \text{ nM}$	[100]
86	79	Ac-TSF[XEY-(6Cl)W-ALLX]QN-NH <sub>2</sub>	p53	$K_D = 6 \text{ nM}$	[101]
87	79	Ac-LTF[XEYWAQ-Cba-X]SAA-NH <sub>2</sub>	p53	$K_D = 0.9 \text{ nM}$	[102]
88	78	FSSNR[XKILX]RTQILNQQWKQRRIPQPV	EZH2	$K_D = 468 \text{ nM}$	[103]
89	78	YT[XLIHX]LIEESQNQQEKNEQELLEL[XKWAX]LWNWF	HIV GP41	$IC_{50} = 2.5 \text{ nM}$	[104]
90	78	EKHKIL[XRLX]DS	GRIP1	$K_D = 75 \text{ nM (ER}\alpha\text{)}$ $K_D = 155 \text{ nM (ER}\beta\text{)}$	[105]
<b>Triazol-Linker</b>					
93	91	Ac-LSQEQLLEHR[XRSIX]TLRDIQRMLF-NH <sub>2</sub>	BcI9	$K_i = 330 \text{ nM}$	[111]
94	92	Ac-LSQEQLLEHR[XRSIX]TLRDIQRMLF-NH <sub>2</sub>	BcI9	$K_i = 130 \text{ nM}$	[111]
<b>Disulfid-/Thioether-Linker</b>					
96	95	R[XILX]GRLLQ-NH <sub>2</sub>	NR-Box	$K_i = 11 \text{ nM}$	[112a]
98	97	R[XILX]GRLLQ-NH <sub>2</sub>	RB-Box	$K_i = 6.9 \text{ nM}$	[112b]
<b>Cystin-Linker</b>					
103	99	Moc-MeA-MeA[XGRAIGDX]VNLAQALLN-NH <sub>2</sub>	Mcl1	$IC_{50} = 22 \text{ nM}$	[114]
104	100	LTF[XLRAIGDX]S-COOH	p53	$IC_{50} = 5.4 \text{ nM}$ $IC_{50} = 14 \text{ nM}$	[115]
105	100	Et-O-Epoxysuccinat-βAAIPPKY[XELLX]K-NH <sub>2</sub>	Calpain-ABP	$K_i = 10.2 \mu\text{M}$	[116]
106	102	ITF[XDLLX]YYGKKK-NH <sub>2</sub>	HIV CAP	$K_D = 1 \mu\text{M}$	[117]
110	107	DIIRNIARHLA[XDVGX]IDRSI	BID	$K_D = 55 \text{ nM}$	[118]
111	108	GQVGR[XLAIIGDX]INR	BAK	$K_D = 42 \text{ nM}$	[118]
112	109	G[XVGRALAIIGDX]INR	BAK	$K_D = 21 \text{ nM}$	[118]
<b>Pyrazolin-Linker</b>					
114	113	LTF[XHYWAQLX]S	p53	$IC_{50} = 6.2 \text{ nM}$	[117]
<b>Wasserstoffbrücken-Surrogate<sup>[c]</sup></b>					
126	123	[-QE-]-GASDLWKLLS-NH <sub>2</sub>	p53	$K_D = 160 \text{ nM}$	[127]
127	123	[-QV-]-GRQLAIIGD-K(Ac)-INR-NH <sub>2</sub>	Bak-BH3	$K_D = 69 \text{ nM}$	[128]
128	123	[-MT-]-WEEWDKKIEEYTKKI-NH <sub>2</sub>	HIV GP41	$K_D = 42.7 \mu\text{M}$	[129]
129	123	[-FE-]-GIYRLELLKAEEAN-NH <sub>2</sub>	Ras	$K_D = 28 \mu\text{M}$	[130]
130	123	[-EL-]-ARALDQ-NH <sub>2</sub>	HIF1α	$K_D = 690 \text{ nM}$	[131]

[a] Die Zahlen verweisen auf die Linkertypen, wie sie durch die Strukturen im Text gezeigt sind. [b] [X...X] verweist auf Makrocyclus-bildende Linker, bei denen die Seitenketten der jeweiligen Reste beteiligt sind. [c] [...] verweist auf ein Wasserstoffbrücken-Surrogat. 1Nal = 1-Naphtylalanin; (4F)F = 4-Fluorphenylalanin; Cha = Cyclohexylalanin; Aib = α-Aminoisobuttersäure; Har = Homoarginin; Nle = Norleucin; (6Cl)W = L-6-Chlortryptophan; Cba = Cyclobutylalanin; βA = β-Alanin; Moc = Methoxycarbonyl; MeA = N-Methylalanin; K(Ac) = Acetyllysin.

vate enzymatisch eingebaut werden; anschließend folgt die Cyclisierung.<sup>[137]</sup> Jeder Teil einer Aminosäure kann als Linker zur Cyclisierung der Peptide dienen. Einige Beispiele werden

hier besprochen, um die Vielfalt der Verstrebungen zu demonstrieren und Synthese und Anwendung neuer cyclischer Peptide anzuregen.

### 5.1. Monocyclische Peptide

Die einfachsten natürlichen cyclischen Peptide sind monocyclisch; die Bindungen für den Ringschluss versteifen das Peptid. Die einfachste und verbreitetste Cyclisierung ist eine konventionelle Kopf-Schwanz-Makrocyclisierung, die die geladenen N- und C-Termini entfernt. Eine solche Cyclisierung induziert oft intramolekulare Wasserstoffbrücken, die helfen, polare Oberflächenregionen zu verbergen. Beispielsweise ist der Pilzmetabolit Cyclosporin A (**134**; Abbildung 22) bekannt für die immunsuppressive Wirkung und

und ermöglicht einen passiven Transport aus dem Darm in die Zellen.

Die Kondensation benachbarter Aminosäuren (wie in **136**) ist auf viele verschiedene Arten möglich, unter anderem in einer großen Gruppe von Azotiden<sup>[141]</sup> (Thiazol-, Thiazolin-, Thiazolidin- und/oder Oxazol-, Oxazolin-Peptide), die in cyclische Peptide eingebaut sind. Diese Heterocyclen (Abbildung 23) verstreiben die Konformation des Makrocyclus und erleichtern die Proteinbindung, beispielsweise in den sehr wirksamen Enzyminhibitoren GE2270A (**137**)<sup>[142]</sup> und Largazol (**138**),<sup>[143]</sup> die über einen acyclischen „Arm“ an das Protein binden.

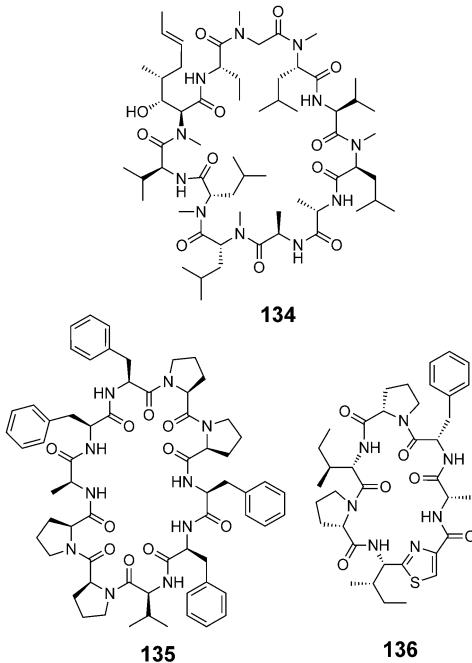


Abbildung 22. Oral bioverfügbare monocyclische Peptide.

wird verwendet, um Organabstoßung nach einer Transplantation zu verhindern.<sup>[138]</sup> Dieses elf Aminosäuren große Peptid hat sieben N-methylierte Aminosäuren, die übrigen vier sind an Wasserstoffbrücken beteiligt, die eine gute Membranpermeabilität verleihen und die Verbindung zu einer der wenigen bekannten oral verfügbaren cyclischen Peptide machen. Der Pilzmetabolit Antamanid (**135**), ebenfalls ein Immunsuppressivum, erreicht seine Lipophilie auf anderem Wege, nämlich mit vier Prolinresten, die die Amid-NH-Donoren und frei drehbare Bindungen in dem Decapeptid reduzieren.<sup>[139]</sup> Das Heptapeptid Sanguinamid A (**136**) ist ein cyclisches Thiazol-Peptid aus der Meeresschnecke *H. sanguineus*. Es wird durch drei heterocyclische Ringe verstehen, eine *cis*-Phe2-Pro3-Amidbindung und ein Ile-Thiazol-Dipeptidmimetikum, die zusammen zwei transannulare, antiparallele Wasserstoffbrücken induzieren; **136** wird zu einem gewissen Teil oral von Ratten adsorbiert.<sup>[140]</sup> In diesem Fall schirmt die Cyclisierung zusammen mit molekularen Verstrebungen, Wasserstoffbrücken und hydrophoben Seitenketten polare Atome von der Solvatisierung durch Wasser ab

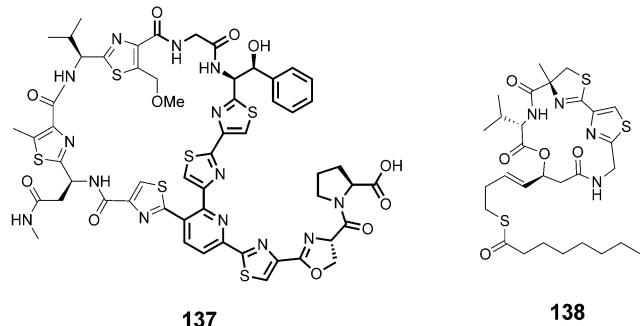


Abbildung 23. Verstreute monocyclische Azotide.

Ein anderer Typ von Cyclisierung verläuft über die Kupplung einer Seitenkette an einen Peptidterminus. Eine solche Bindung findet man z.B. in den Polymyxinen, kationischen cyclischen Heptapeptiden wie Colistin (**139**, Abbildung 24), die hauptsächlich gegen Gram-negative Bakterien antibiotisch wirken. Hydrophobe ( $N^{\alpha}$ -Fettsäurekette und eine D-Leu-L-Leu- $\beta$ -Kehre vom Typ II') und hydrophile (3

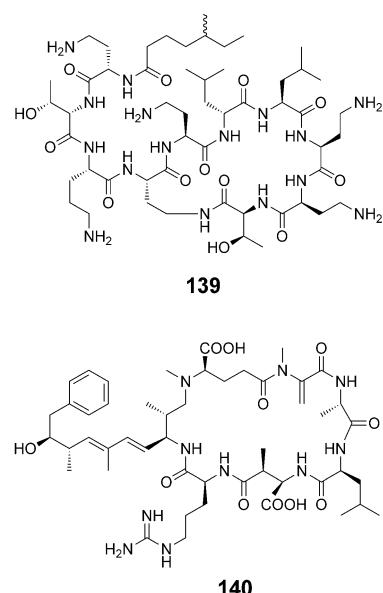


Abbildung 24. Monocyclische Peptide mit Ringschluss zwischen Seitenkette und Terminus.

oder 4 kationische Aminosäuren) Komponenten in solchen cyclischen Peptiden erzeugen amphiphile Oberflächen, die detergensähnliche Wechselwirkungen mit Bakterienmembranen eingehen und bakterizid wirken.<sup>[144]</sup> Microcystin LR (**140**) ist ein Repräsentant vieler cyclischer Heptapeptide, die durch eine alternative Kupplung zwischen Seitenkette und N-Terminus entstehen und D-Glu, N-Methyldehydroalanin, D-Ala, D-Methyl-Asp und die β-Aminosäure Adda enthalten. Diese makrocyclischen Cyanotoxine werden in giftigen blaugrünen Algenblüten von Cyanobakterien gebildet. Sie hemmen die Proteinphosphatasen 1 ( $IC_{50}$  1.7 nm) und 2A ( $IC_{50}$  0.04 nm), sind nach oraler Aufnahme lebertoxisch und sind Tumorpromotoren.<sup>[145]</sup>

Kupplungen zwischen Seitenketten sind ebenfalls häufig. Ein typisches Beispiel ist das Hypophysenhormon Oxytocin (**141**; Abbildung 25), ein Nonapeptid mit einer Cys-Cys-Disulfidbrücke, die eine cyclische Hexapeptidverbindung bildet,

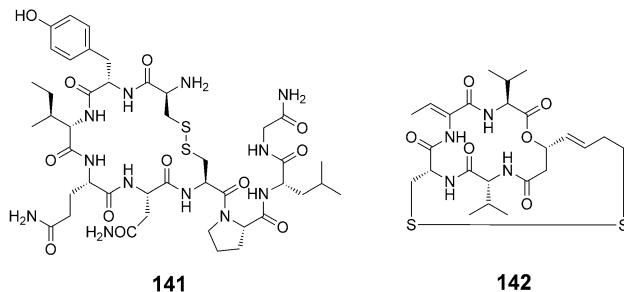


Abbildung 25. Cyclische Peptide, die über die Seitenketten verlinkt sind.

die in die Furche des Trägerproteins Neurophysin ragt.<sup>[146]</sup> Oxytocin bildet eine β-Kehre an den Resten Tyr2–Asn5 und aktiviert seinen GPCR auf der Zelloberfläche. Dadurch werden während der Schwangerschaft Wehen ausgelöst. Während der Stillzeit kommt es zum Einschießen der Milch; außerdem werden unterschiedliche Verhaltensformen ausgelöst. Manchmal erzeugt die Cyclisierung einen Prodrug-Status, der die Membranpassage ermöglicht, nach der die bioaktive Verbindung aus der geschützten Form freigesetzt wird. Meist wird dies durch eine Ester-Schutzgruppe an einer Alkohol- oder Carbonsäuregruppe erreicht, doch auch die reduktive Spaltung der Disulfidbrücke zu Thiolen ist möglich, wie bei dem bicyclischen Wirkstoff Romidepsin **142**,<sup>[147]</sup> einem sehr aktiven Hemmstoff gegen die Histondeacetylase-Enzyme.

## 5.2. Andere cyclische Peptide mit Disulfid-Ringschluss

Auch in der Natur kommen Disulfidbrücken oft als vielseitige Verbindung zwischen Seitenketten vor;<sup>[148]</sup> es entstehen stark komprimierte globuläre Strukturen als Folge komplexer Faltmuster. Diese gefalteten Strukturen erzielen spezifische Konformationen, die selektiv an Höhlungen oder Gelenkregionen der Zielproteine binden, wo sie in vielen Fällen ausgezeichnete selektive biologische Wirkungen ent-

falten. Viele der Verbindungen sind ribosomal synthetisierte, cysteinreiche Toxine, die man in Spinnen,<sup>[149]</sup> Skorpionen,<sup>[150]</sup> Schlangen,<sup>[151]</sup> giftigen Meerestieren, Eidechsen, Pflanzen und in einigen Säugetieren findet.<sup>[152]</sup> Die selektive Kombination von Cysteinen wird dadurch begünstigt, dass die Disulfidbindung reversibel ist. Auf diese Art werden die stabilsten Peptidkonformationen gebildet. Einige Spinnentoxine enthalten bis zu sieben unterschiedliche Disulfidbrücken. Der Trypsin-Inhibitor-1 der Sonnenblume<sup>[153]</sup> und die α-Conotoxine aus dem Gift der Kegelschnecken gehören zu den kleinsten Verbindungen dieser Klasse.<sup>[154]</sup> Ein Beispiel für die letztgenannte Gruppe ist Vc1.1 (**143**; Abbildung 26), ein starker nAChR-Antagonist.<sup>[155]</sup> Die α-Conotoxine enthalten zwei Disulfidbrücken, die die Faltung in ein α-Helix-Motiv (**144**) erleichtern.<sup>[154]</sup>

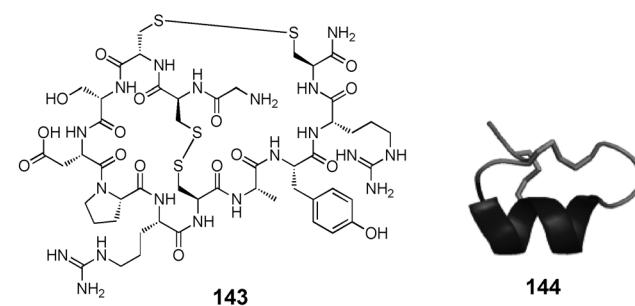


Abbildung 26. Chemische Struktur und Form von α-Conotoxin Vc1.1.

Cysteinreiche Peptide werden auch im Immunsystem exprimiert.<sup>[156]</sup> Ein Beispiel ist das humane β-Defensin 2 (**145**; Abbildung 27), das als antimikrobielles Peptid hauptsächlich

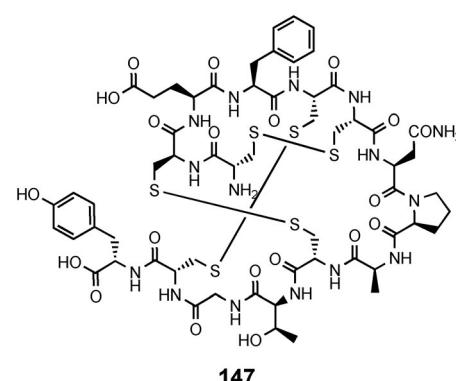
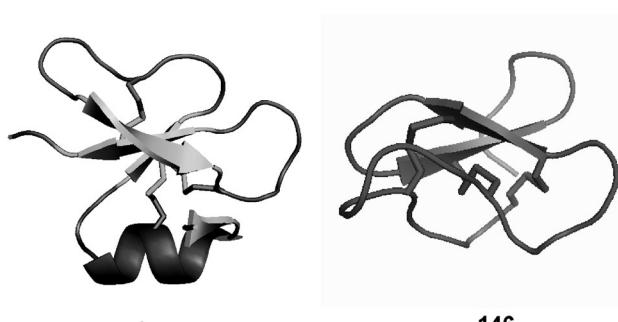


Abbildung 27. β-Defensin 2 (**145**), Kalata-B1 (**146**), Linactolid (**147**).

als Reaktion auf Hautverletzungen gebildet und ausgeschieden wird. Es enthält drei Disulfidbrücken, die eine  $\beta$ -Faltblattstruktur aus drei  $\beta$ -Strängen und einem  $\alpha$ -Helix-Motiv stabilisieren. Eine verwandte Klasse von makrocyclischen Lactampeptiden mit Quervernetzungen über die Seitenketten wurde aus Pilzen, Pflanzen und Tieren isoliert.<sup>[158]</sup> Zu diesen gehören die Cyclotide, die ein Cystinknotenmotiv aus drei Disulfidbindungen tragen.<sup>[158]</sup> Ein solcher Knoten findet sich auch in vielen Peptiden ohne die Lactamcyclisierung.<sup>[159]</sup> Eines der am besten untersuchten Cyclotide ist Kalata B1 (**146**), das hämolytisch, stark insektizid und HIV-hemmend wirkt.<sup>[160]</sup> Diese Effekte kommen hauptsächlich durch die selektive Bindung an Phospholipide in Membranen zustande, durch die sie Undichtigkeiten verursachen.<sup>[161b]</sup> Linactolid (**147**) ist ein weiteres stark gespanntes Peptid aus 14 Resten mit drei intramolekularen Disulfidbrücken zwischen C1–C6, C2–C10 und C5–C13.<sup>[161]</sup> Es wurde unter der Bezeichnung Linzess durch die US FDA zur Behandlung des Reizdarmsyndroms zugelassen. Linactolid ist ein Homologes des Enterotoxins STa, das von *E. coli* gebildet wird und Durchfälle auslöst. Angriffspunkt der Verbindung ist der Guanylatcyclase-C-Rezeptor Typ C im Dünndarm, wo er die Darmbewegung und den Durchfluss steigert.

### 5.3. Bicyclische Peptide

Synthetische bicyclische Peptide sind eine immer wichtiger werdende Verbindungsklasse, die für biologische Aktivitäten interessant ist. Die Peptide sind durch natürlich vorkommende bicyclische Peptide wie  $\alpha$ -Amanitin,<sup>[162]</sup> Phalloidin,<sup>[163]</sup> Bouvardin<sup>[164]</sup> und Moroidin<sup>[165]</sup> inspiriert. So ist  $\alpha$ -Amanitin (**148**; Abbildung 28) ein cyclisches Octapeptid, in dem eine transannulare Brücke zwischen den Trp-Cys-Seitenketten zwei aneinandergrenzende Makrocyclen mit einer oxidierten Thiogruppe erzeugt.<sup>[162]</sup> Die Verbindung ist ein starkes Pilzgift ( $LD_{50}$  0.1 mg kg<sup>-1</sup>).<sup>[162]</sup> Sie hemmt die RNA-Polymerase II,<sup>[162b]</sup> was zu Leberversagen und Tod führt.<sup>[162c]</sup>

Die Natur hat die Entwicklung vieler synthetischer bicyclischer Peptide inspiriert (Abbildung 29). Peptide aus Phagen mit drei Cysteinresten wurden durch Umsetzung mit 1,3,5-Trisbrommethylbenzol (TBMB) zu Bicylen umgewandelt (**149**).<sup>[166]</sup> Über mehrere Anreicherungsrunden

(„phage panning“) wurden wirksame Inhibitoren des Plasminogenaktivators vom Urokinasetyp und danach von Kallikrein identifiziert. Ringe unterschiedlicher Größe wurden untersucht, um Alternativen zu der bicyclischen TMBM-Verstrebung zu finden. Bicyclische Bisdisulfid-Peptidinhibitoren von uPa wurden ebenfalls mit Phagendisplay gesucht; hier waren die Peptide zwar selektiv, aber weniger wirksam als TBMB-cyclisierte Peptide. Auch über eine Festphasenstrategie zur Herstellung bicyclischer Inhibitoren von TNF- $\alpha$  (**150**) wurde berichtet.<sup>[167]</sup> Die Peptide tragen C-terminal einen Diaminopropionsäurerest (Dap) und im Inneren der Sequenz Lysin. Die Cyclisierung erfolgt über einen planaren Trimesinsäurerest, der gleichzeitig die N-terminale und die Seitenketten-Aminogruppen der Dap- und Lys-Reste acy-

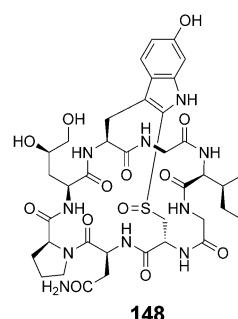


Abbildung 28. Chemische Struktur von  $\alpha$ -Amanitin **148**.

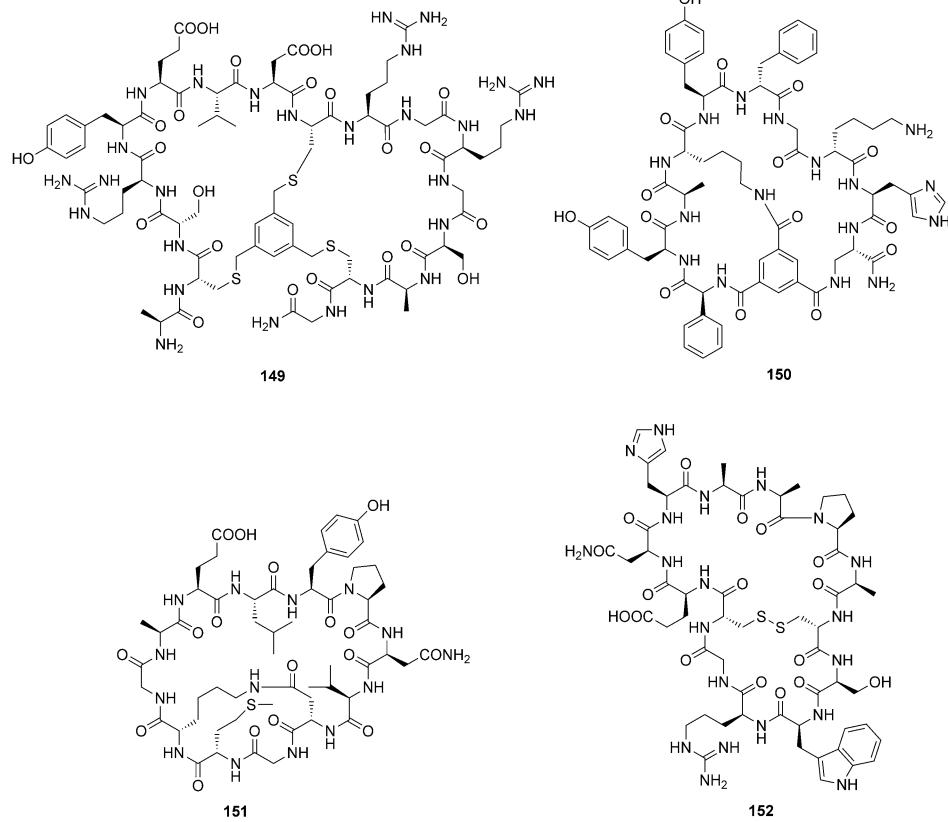


Abbildung 29. Künstlich entworfene bicyclische Peptid-Inhibitoren (**149**–**152**).

liert. Das bicyclische Decamer hatte einen  $K_D$  von 450 nm für die Hemmung von TNF- $\alpha$ . Auch bicyclische Peptidinhibitoren der Grb2-SH2-Domäne wurden entwickelt (**151**).<sup>[168]</sup> Ein in mikromolaren Konzentrationen wirksames cyclisches Disulfid mit elf Aminosäureresten mit dem Schlüsselmotiv Glu-Tyr-Asn wurde zusätzlich Kopf-Schwanz-cyclisiert, wodurch die Aktivität sich leicht verbesserte. Eine weitere Verstrebung des Makrocyclus mit einer Lys-Asp-Lactambrücke ergab einen im sub-mikromolaren wirksamen Inhibitor, der 60-mal wirksamer, 200-mal selektiver und über 24 h in Serum stabil war. Mit einem ähnlichen Ansatz wurde auch ein neuer bicyclischer Inhibitor von uPa (**152**) entwickelt. Das Disulfidcyclisierte Peptid wurde nochmals Kopf-Schwanz-cyclisiert und durch den Einbau einer inneren Disulfidbrücke weiter optimiert. Das bicyclische Peptid hatte eine verbesserte, aber noch moderate Hemmstärke (26  $\mu\text{M}$ ).<sup>[169]</sup>

#### 5.4. Multicyclische Peptide

Die Natur hat viele Peptide mit multicyclischen Motiven geschaffen. Beispiele sind die Lantibiotika wie Nisin (**153**) und das kompaktere Mersacidin (**154**) (Abbildung 30).<sup>[170]</sup> Die auffälligste Vernetzung innerhalb der Lantibiotika ist ein

Thioether, der durch den Angriff eines Cysteinyl-Thiols auf 2,3-Didehydroalanin oder 2,3-Didehydrobutyryl gebildet wird. Die entstehenden Strukturen binden an Phospholipid II, wodurch es zur Porenbildung und/oder zur Blockade der Membranbiosynthese kommt.<sup>[170]</sup> Beide Verbindungen sind stark antibakteriell, und Nisin wird schon seit über 40 Jahren in der Lebensmittelkonservierung eingesetzt.<sup>[170]</sup>

Eine Gruppe sehr starrer Peptide sind die Glycopeptid-Antibiotika wie Vancomycin (**155**),<sup>[171]</sup> ein injizierbares Antibiotikum, das als letzte Therapiemöglichkeit in Kliniken zurückgehalten wird, um Infektionen mit multiresistenten Gram-positiven Bakterien wie dem methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* zu behandeln. Die Starrheit resultiert aus der Bildung von zwei Ringen durch die Kondensation von zwei  $\beta$ -Hydroxychortyrosinen ( $\beta$ -hTyr) mit einem Trihydroxyphenylglycin (HRP) und einem dritten Ring durch die Kondensation von 4-Hydroxyphenylglycin (HPG) mit einem 3,5-Dihydroxyphenylglycin (3,5-DPG). Vancomycin bindet das D-Ala-D-Ala-Motiv des Pentapeptid-Vorläufers des bakteriellen Membranpolymers und hemmt dadurch die enzymatische Vernetzung, in deren Folge die Zellwand der Bakterien destabilisiert wird.<sup>[172]</sup>

#### 6. Zusammenfassung und Ausblick

In den Abschnitten 2–4 dieses Aufsatzes wurden die verschiedenen Arten des Ringschlusses beleuchtet und wie damit das Rückgrat kurzer Peptidsequenzen in Strang-, Kehre- oder Helixstrukturen gezwungen werden kann, die den Sekundärstrukturmotiven in Proteinen ähneln. An einigen Beispielen konnte man sehen, wie die Forscher spezielle Strukturen optimierten, um eine spezifische biologisch aktive Protein- oder Peptidoberfläche nachzubilden. Oft entsteht aus dieser strukturellen Mimikry eine wirkungsvolle und enorm selektive biologische Aktivität, die die Wirksamkeit und Spezifität eines Proteins widerspiegelt. In einigen Fällen konnten verstrebte Makrocyclen bis zu klinischen Studien und zugelassenen Wirkstoffen weiterentwickelt werden.

Im letzten Abschnitt 5 wurde sehr kurz vorgestellt, wie die Bildung von Makrocyclen in der Natur in Verbindung mit unübersehbar vielen Arten molekularer Verstrebungen kommt, um Peptidfragmente zu formen und zu schützen und so Verbindungen mit starker biologischer Wirkung zu bilden. Die in der Natur zu findende Kombination aus Ringschluss-Linkern und molekularen Verstrebungen ist eine wirksame Mischung, um die Form kurzer Peptidsequenzen fein abzustimmen, um so Rezeptoraffinität, Selektivität, Funktion und Membranpermeabilität zu steigern. Wie dies erreicht wird und wie daraus beispielsweise aktive Enzyminhibitoren, Proteinagonisten und -antagonisten, Antiinfektiva, Tumoregulatoren und andere medizinische Verbindungen werden, kann wichtige Hinweise darauf liefern, wie Chemiker versuchen können, die Proteinfunktion in kleineren, bioverfügbaren Molekülen zu verankern. In der Mehrzahl aller Fälle haben natürlich vorkommende cyclische Peptide noch unbekannte dreidimensionale Strukturen, und größere Anstrengungen, diese Strukturen zu lösen, versprechen viele wichtige neue Einsichten.

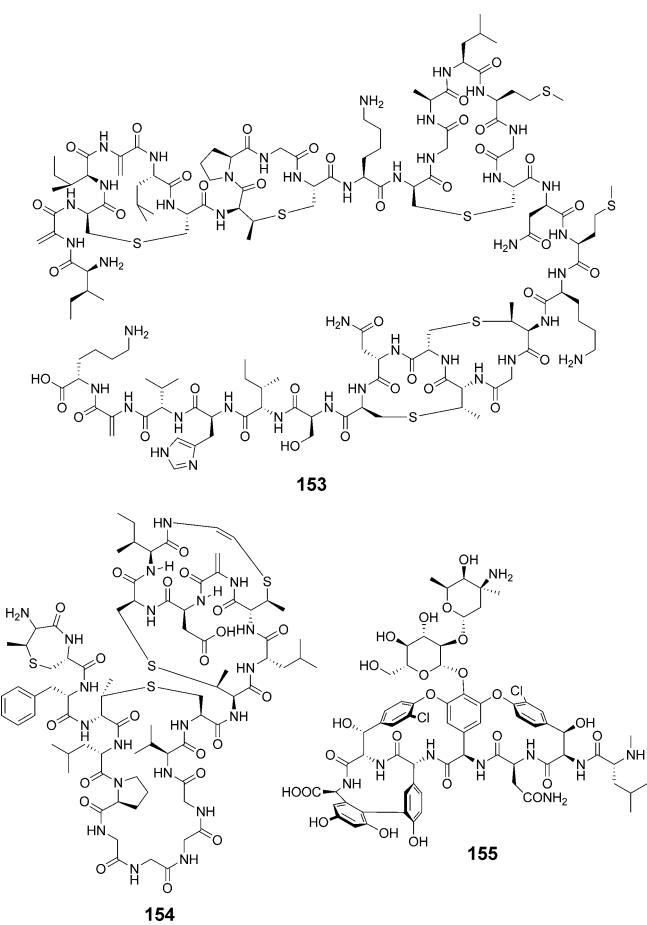


Abbildung 30. Nisin (**153**), Mersacidin (**154**), Vancomycin (**155**).

Der Schwerpunkt liegt dabei auf minimalistischen Ansätzen, um die kleinsten Strukturelemente ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) der Proteine in kleinen cyclischen Peptiden abzubilden. Natürlich gibt es viele weitere Beispiele, in denen auch viel größere Motive eine diskontinuierliche Proteinoberfläche bilden, die dann nachgebildet werden soll ( $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha\beta\alpha$ ,  $\beta\alpha\beta$ , usw.). Auch auf diesem Gebiet hat es Fortschritte dadurch gegeben, dass cyclische Peptide eingebaut wurden, doch befindet sich das Gebiet noch in den Anfängen, wohl zum Teil auch deshalb, weil es Schwierigkeiten gibt, eine rationale Kontrolle auszuüben und größere Strukturen vorherzusagen. Im nächsten Jahrzehnt erwarten wir auf diesem Feld signifikante Fortschritte.

*Wir danken dem Australian Research Council für ein Federation Fellowship FF0668733 (für D.P.F.), ein DECRA Fellowship DE120102857 (für N.E.S.), für Fördermittel (DP1096290, DP130100629, LP110200213) und für das Centre of Excellence in Advanced Molecular Imaging (CE40100011); dem National Health and Medical Research Council für ein Senior Principal Research Fellowship 1027369 (an D.P.F.) und die Förderungsmittel 511194 und 1025883; der Queensland State Government für ein CIF-Stipendium; und der Carlsberg Foundation, Dänemark, für ein Postdoctoral Fellowship (an F.D.).*

Eingegangen am 31. Januar 2013,  
veränderte Fassung am 2. April 2013  
Online veröffentlicht am 5. Oktober 2014

Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] a) [http://www.bmrb.wisc.edu/data\\_library/Diseases](http://www.bmrb.wisc.edu/data_library/Diseases); b) *Protein Structure and Function: From Sequence to Structure* (Hrsg.: G. A. Petsko, D. Ringe), New Science Press, **2004**, Kap. 1, S. 2–49.
- [2] M. R. Arkin, J. A. Wells, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, *3*, 301–317.
- [3] a) D. P. Fairlie, G. Abbenante, D. R. March, *Curr. Med. Chem.* **1995**, *2*, 654–686; b) R. P. McGeary, D. P. Fairlie, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **1998**, *1*, 208–217; c) D. P. Fairlie, M. L. West, A. K. Wong, *Curr. Med. Chem.* **1998**, *5*, 29–62.
- [4] a) A. Giannis, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1303–1326; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244–1267; b) J. Gante, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1780–1802; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699–1720; c) J. P. Schneider, J. W. Kelly, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2169–2187; d) E. M. Driggers, S. P. Hale, J. Lee, N. K. Terrett, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, *7*, 608–624; e) J. A. Robinson, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15*, 379–386; f) D. J. Craik, D. P. Fairlie, S. Liras, D. Price, *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *81*, 136–147.
- [5] a) V. J. Hruby, F. al-Obeidi, W. Kazmierski, *Biochem. J.* **1990**, *268*, 249–262; b) C. Toniolo, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, *35*, 287–300; c) G. R. Marshall, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3547–3558; d) R. M. Jones, P. D. Boatman, G. Semple, Y. J. Shin, S. Y. Tamura, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2003**, *3*, 530–543; e) S. Kee, S. D. S. Jois, *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 1209–1224; f) J. D. A. Tyndall, B. Pfeiffer, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 793–826.
- [6] a) W. A. Loughlin, J. D. A. Tyndall, M. P. Glenn, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6085–6117; b) W. A. Loughlin, J. D. A. Tyndall, M. P. Glenn, T. A. Hill, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2010**, *110*(6), PR32–PR69.
- [7] a) J. S. Nowick, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 287–296; b) T. Moriuchi, T. Hirao, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 294–301; c) J. S. Nowick, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1319–1330; d) P.-N. Cheng, J. D. Pham, J. S. Nowick, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5477–5492.
- [8] a) M. J. I. Andrews, A. B. Tabor, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11711–11743; b) J. W. Taylor, *Biopolymers* **2002**, *66*, 49–75; c) M. J. Kelso, H. N. Hoang, W. N. Oliver, N. Sokolenko, D. R. March, T. G. Appleton, D. P. Fairlie, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 437–440; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 421–424; d) N. E. Shepherd, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2741–2744; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2687–2690; e) R. Fasan, R. L. A. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, J. W. Vrijbloed, D. Obrecht, J. A. Robinson, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2161–2164; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2109–2112; f) G. L. Verdine, G. J. Hilinski, *Methods Enzymol.* **2012**, *503*, 3–33; g) Y.-W. Kim, T. N. Grossmann, G. L. Verdine, *Nat. Protoc.* **2011**, *6*, 761–771; h) G. H. Bird, W. C. Crannell, L. D. Walensky, *Curr. Protoc. Chem. Biol.* **2011**, *3*, 99–117; i) A. B. Mahon, P. S. Arora, *Drug Discovery Today Technol.* **2012**, *9*, e57–e62.
- [9] a) B. H. Zimm, J. K. Bragg, *J. Chem. Phys.* **1959**, *31*, 526–535; b) J. M. Scholtz, R. L. Baldwin, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1992**, *21*, 95–118; c) H. J. Dyson, P. E. Wright, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1991**, *20*, 519–538.
- [10] a) E. J. Milner-White, *Trends Pharmacol. Sci.* **1989**, *10*, 70–74; b) M. L. West, D. P. Fairlie, *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16*, 67–75; c) O. H. Chan, B. H. Stewart, *Drug Discovery Today* **1996**, *1*, 461–473; d) E. M. Topp, *Med. Chem. Res.* **1997**, *7*, 493–508; e) K. A. Witt, T. J. Gillespie, J. D. Huber, R. D. Eggleton, T. P. Davis, *Peptides* **2001**, *22*, 2329–2343; f) H. J. Lee, *Arch. Pharmacol. Res.* **2002**, *25*, 572–584.
- [11] a) C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3–25; b) C. A. Lipinski, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, *44*, 235–249; c) C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3–26; d) C. A. Lipinski, *Drug Discovery Today Technol.* **2004**, *1*, 337–341; e) D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2615–2623; f) P. D. Leeson, B. Springthorpe, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 881–890.
- [12] a) J. D. A. Tyndall, D. P. Fairlie, *J. Mol. Recognit.* **1999**, *12*, 363–370; b) D. P. Fairlie, J. D. A. Tyndall, R. C. Reid, A. K. Wong, G. Abbenante, M. J. Scanlon, D. R. March, D. A. Bergman, C. L. C. Chai, B. A. Burkett, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1271–1281; c) J. D. A. Tyndall, T. Nall, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 973–1000; d) P. K. Madala, J. D. A. Tyndall, T. Nall, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2010**, *110*(6), PR1–PR31.
- [13] R. S. Harrison, P. C. Sharpe, Y. Singh, D. P. Fairlie, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **2007**, *159*, 1–77.
- [14] J. H. Brown, T. S. Jardetzky, J. C. Gorga, L. J. Stern, R. G. Urban, J. L. Strominger, D. C. Wiley, *Nature* **1993**, *364*, 33–39.
- [15] Y. Qian, M. A. Blaskovich, M. Saleem, C. M. Seong, S. P. Wathen, A. D. Hamilton, S. M. Sefti, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 12410–12413.
- [16] M. C. Hammond, B. Z. Harris, W. A. Lim, P. A. Bartlett, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1247–1251.
- [17] H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4200–4235; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4130–4163.
- [18] a) D. Leung, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 305–341; b) G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Med. Chem.* **2005**, *1*, 71–104; c) *Protease inhibitors: Advances in Research and Application* (Hrsg.: A. Acton), Scholarly Additions, Atlanta, **2012**.
- [19] R. C. Reid, M. J. Kelso, M. J. Scanlon, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5673–5683.
- [20] a) G. Abbenante, D. R. March, D. A. Bergman, P. A. Hunt, B. Garnham, R. J. Dancer, J. L. Martin, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem.*

- Soc.* **1995**, *117*, 10220–10226; b) D. R. March, G. Abbenante, D. A. Bergman, R. I. Brinkworth, W. A. Wickramasinghe, J. Begun, J. L. Martin, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3375–3379; c) R. C. Reid, L. K. Pattenden, J. D. A. Tyndall, J. L. Martin, T. Walsh, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1641–1651.
- [21] a) J. D. A. Tyndall, R. C. Reid, D. P. Tyssen, D. K. Jardine, B. Todd, M. Passmore, D. R. March, L. K. Pattenden, D. Alewood, S. Hu, P. F. Alewood, C. J. Birch, J. L. Martin, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3495–3504; b) „Mimicking extended conformations of protease substrates: designing cyclic peptidomimetics to inhibit HIV-1 Protease“: R. C. Reid, D. P. Fairlie in *Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics*, Bd. 1 (Hrsg.: A. Abell), JAI, London, **1997**, S. 77–107.
- [22] a) R. C. Reid, D. R. March, M. Dooley, D. A. Bergman, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8511–8517; b) J. D. A. Tyndall, L. K. Pattenden, R. C. Reid, S. H. Hu, D. Alewood, P. F. Alewood, T. Walsh, D. P. Fairlie, J. L. Martin, *Biochemistry* **2008**, *47*, 3736–3744.
- [23] J. D. A. Tyndall, D. P. Fairlie, *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 893–907.
- [24] a) S. Thaisrivongs, J. R. Blinn, D. T. Pals, S. R. Turner, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1276–1282; b) A. E. Weber, T. A. Halgren, J. J. Doyle, R. J. Lynch, P. K. Siegl, W. H. Parsons, W. J. Greenlee, A. A. Patchett, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2692–2701; c) A. E. Weber, M. G. Steiner, P. A. Krieter, A. E. Colletti, J. R. Tata, T. A. Halgren, R. G. Ball, J. J. Doyle, T. W. Schorn, R. A. Stearns, R. R. Miller, P. K. S. Siegl, W. J. Greenlee, A. A. Patchett, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3755–3773; d) C. Sund, O. Belda, D. Wiktelius, C. Sahlberg, L. Vrang, S. Sedig, E. Hamelink, I. Henderson, T. Agback, K. Jansson, N. Borkakoti, D. Derbyshire, A. Enerothe, B. Samuelsson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 358–362.
- [25] a) A. K. Ghosh, T. Devasamudram, L. Hong, C. DeZutter, X. Xu, V. Weerasena, G. Koelsch, G. Bilcer, J. Tang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 15–20; b) I. Rojo, J. A. Martin, H. Broughton, D. Timm, J. Erickson, H. C. Yang, J. R. McCarthy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 191–195; c) S. J. Stachel, C. A. Coburn, S. Sankaranarayanan, E. A. Price, G. Wu, M. Crouthamel, B. L. Pietrak, Q. Huang, J. Lineberger, A. S. Espey, L. Jin, J. Ellis, M. K. Holloway, S. Munshi, T. Allison, D. Haxuda, A. J. Simon, S. L. Graham, J. P. Vacca, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6147–6150; d) R. Machauer, S. Veenstra, J.-M. Rondeau, M. Tintelnot-Blomley, C. Betschart, U. Neumann, P. Paganetti, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1361–1365; e) weitere Zitate siehe: L. D. Pennington, D. A. Whittington, M. D. Bartberger, S. R. Jordan, H. Monenschein, T. T. Nguyen, B. H. Yang, Q. M. Xue, F. Vounatsos, R. C. Wahl, K. Chen, S. Wood, M. Citron, V. F. Patel, S. A. Hitchcock, W. Zhong, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 4459–4464.
- [26] a) A. M. Silva, A. Y. Lee, S. V. Gulnik, P. Maier, J. Collins, T. N. Bhat, P. J. Collins, R. E. Cachau, K. E. Luker, I. Y. Gluzman, S. E. Francis, A. Oksman, D. E. Goldberg, J. W. Erickson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 10034–10039; b) K. Ersmark, M. Nervall, H. Gutierrez-de-Teran, E. Hamelink, L. K. Janka, J. C. Clemente, B. M. Dunn, A. Gogoll, B. Samuelsson, J. Aqvist, A. Hallberg, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2197–2208.
- [27] a) J. H. Meyer, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4600–4609; b) Z. Szewczuk, K. L. Rebholz, D. H. Rich, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, *40*, 233–242.
- [28] a) A. Marchetti, J. Ontoria, V. G. Matassa, *Synlett* **1999**, 1000–1002; b) Y. S. Tsantrizos, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1252–1263; c) Y. S. Tsantrizos, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2009**, *10*, 871–881; d) T.-I. Lin, O. Lenz, G. Fanning, T. Verbinnen, F. Delouvroy, A. Scholliers, K. Vermeiren, A. Rosenquist, M. Edlund, B. Samuelsson, L. Vrang, H. de Kock, P. Wigerinck, P. Raboission, K. Simmen, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 1377–1385; e) J. A. McCauley, C. J. McIntyre, M. T. Rudd, K. T. Nguyen, J. J. Romano, J. W. Butcher, K. F. Gilbert, K. J. Bush, M. K. Holloway, J. Swestock, B. L. Wan, S. S. Carroll, J. M. DiMuzio, D. J. Graham, S. W. Ludmerer, S. S. Mao, M. W. Stahlhut, C. M. Fandozzi, N. Trainor, D. B. Olsen, J. P. Vacca, N. J. Liverton, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2443–2463.
- [29] F. Xue, C. T. Seto, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2009**, *24*, 779–794.
- [30] a) B. E. Maryanoff, X. Qiu, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, H. R., Jr. Almond, P. Andrade-Gordon, M. N. Greco, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, N. Fusetani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 8048–8052; b) V. Ganesh, A. Y. Lee, J. Clardy, A. Tulinsky, *Protein Sci.* **1996**, *5*, 825–835; c) „Macrocyclic inhibitors of Serine Proteases“: M. N. Greco, B. E. Maryanoff in *Advances in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics*, Bd. 1 (Hrsg.: A. Abell), JAI, London, **1997**, S. 41–76.
- [31] a) L. J. MacPherson, E. K. Bayburt, M. P. Capparelli, R. S. Bohacek, F. H. Clarke, R. D. Ghai, Y. Sakane, C. J. Berry, J. V. Peppard, A. J. Trapani, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3821–3828; b) C. B. Xue, X. He, J. Rodgerick, W. F. DeGrado, R. J. Cherney, K. D. Hardman, D. J. Nelson, R. A. Copeland, B. D. Jaffee, C. P. Decicco, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1745–1748.
- [32] A. D. Abell, M. A. Jones, J. M. Coxon, J. D. Morton, S. G. Aitken, S. B. McNabb, H. Y. Lee, J. M. Mehrten, N. A. Alexander, B. G. Stuart, A. T. Neffe, R. Bickerstaffe, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1483–1486; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1455–1458.
- [33] a) L. Gentilucci, A. Tolomelli, F. Squassabia, *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2449–2466; b) R. M. Jones, P. D. Boatman, G. Semple, Y.-J. Shin, S. Y. Tamura, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2003**, *3*, 530–543.
- [34] a) C. J. White, A. K. Yudin, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 509–524; b) R. J. Clark, D. J. Craik, *Biopolymers* **2010**, *94*, 414–422; c) S. Jiang, Z. Li, K. Ding, P. P. Roller, *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 1502–1542; d) J. S. Davies, *J. Pept. Sci.* **2003**, *9*, 471–501; e) M. Empting, O. Avrutina, R. Meusinger, S. Fabritz, M. Reinwarth, M. Biesalski, S. Voigt, G. Buntkowsky, H. Kolmar, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 5313–5317; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5207–5211.
- [35] a) H. Kessler, B. Haase, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, *39*, 36–40; b) M. Tamaki, S. Akabori, I. Muramatsu, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10492–10496.
- [36] J. Chatterjee, D. Mierke, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15164–15172.
- [37] J. Chatterjee, D. F. Mierke, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1508–1517.
- [38] A. I. Fernández-Llamazares, J. García, J. Adan, D. Meunier, F. Mitjans, J. Spengler, F. Albericio, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4572–4575.
- [39] I. E. Valverde, F. Lecaille, G. Lalmanach, V. Aucagne, A. F. Delmas, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 742–746; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 718–722.
- [40] a) T. Rückle, P. de Lavallaz, M. Keller, P. Dumy, M. Mutter, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11281–11288; b) D. Skropeta, K. A. Jolliffe, P. Turner, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8804–8809.
- [41] L. S. Sonntag, S. Schweizer, C. Ochsenfeld, H. Wennemers, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14697–14703.
- [42] P. Dumy, M. Keller, D. E. Ryan, B. Rohwedder, T. Wohr, M. Mutter, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 918–925.
- [43] G. Ruiz-Gómez, J. D. A. Tyndall, B. Pfeiffer, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2010**, *110*(4), PR1–PR41.
- [44] a) A. K. Wong, A. M. Finch, G. K. Pierens, D. J. Craik, S. M. Taylor, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3417–3425; b) A. M. Finch, A. K. Wong, N. J. Paczkowski, S. K. Wadi, D. J. Craik, D. P. Fairlie, S. M. Taylor, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1965–1974.

- [45] D. R. March, L. M. Proctor, M. J. Stoermer, R. Sbaglia, G. Abbenante, R. C. Reid, T. M. Woodruff, K. Wadi, N. Paczkowski, J. D. A. Tyndall, S. M. Taylor, D. P. Fairlie, *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 868–879.
- [46] „Discovery of Potent Antagonists of Human C5a Receptors“: S. M. Taylor, D. P. Fairlie in *Structural Biology of Complement System* (Hrsg.: M. Lambris), CRC, Boca Raton, **2005**, S. 341–362.
- [47] P. N. Monk, A. M. Scola, P. Madala, D. P. Fairlie, *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152*, 429–448.
- [48] D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. J. Paleveda, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, *292*, 55–58.
- [49] G. Melacini, Q. Zhu, M. Goodman, *Biochemistry* **1997**, *36*, 1233–1241.
- [50] E. Pohl, A. Heine, G. M. Sheldrick, Z. Dauter, K. S. Wilson, J. Kallen, W. Huber, P. J. Pfaffli, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1995**, *51*, 48–59.
- [51] a) A. Di Cianni, A. Carotenuto, D. Brancaccio, E. Novellino, J. C. Reubi, K. Beetschen, A. M. Papini, M. Ginanneschi, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6188–6197; b) R. P. Cheng, D. J. Suich, H. Cheng, H. Roder, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12710–12711.
- [52] a) R. Thirumoorthy, J. R. Holder, R. M. Bauzo, N. G. J. Richards, A. S. Edison, C. Haskell-Luevano, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4114–4124; b) A. Wilczynski, X. S. Wang, C. G. Joseph, Z. M. Xiang, R. M. Bauzo, J. W. Scott, N. B. Sorensen, A. M. Shaw, W. J. Millard, N. G. Richards, C. Haskell-Luevano, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2194–2207; c) C. Thurieau, M. Feletou, P. Hennig, E. Raimbaud, E. Canet, J. L. Fauchere, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2095–2101.
- [53] a) G. Kotovsky, J. R. Cann, J. M. Stewart, H. Yamamoto, *Biochem. Cell Biol.* **1998**, *76*, 257–266; b) K. A. Carpenter, P. W. Schiller, R. Schmidt, B. C. Wilkes, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1996**, *48*, 102–111; c) W. M. Kazmierski, H. I. Yamamura, V. J. Hruby, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2275–2283.
- [54] a) M. Coles, V. Sowemimo, D. Scanlon, S. L. A. Munro, D. J. Craik, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2658–2665; b) R. S. McDowell, K. A. Elias, M. S. Stanley, D. J. Burdick, J. P. Burnier, K. S. Chan, W. J. Fairbrother, R. G. Hammonds, G. S. Ingle, N. E. Jacobsen, D. L. Mortensen, T. E. Rawson, W. B. Won, R. G. Clark, T. C. Somers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 11165–11169.
- [55] a) J. Rizo, R. B. Sutton, J. Breslau, S. C. Koerber, J. Porter, A. T. Hagler, J. E. Rivier, L. M. Giersch, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 970–976; b) P. Grieco, A. Lavecchia, M. Y. Cai, D. Trivedi, D. Weinberg, T. MacNeil, L. H. T. Van der Ploeg, V. J. Hruby, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5287–5294; c) C. Fotsch, D. M. Smith, J. A. Adams, J. Cheetham, M. Croghan, E. M. Doherty, C. Hale, M. A. Jarosinski, M. G. Kelly, M. H. Norman, N. A. Tamayo, N. Xi, J. W. Baumgartner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2337–2340.
- [56] a) M. A. Bednarek, T. MacNeil, R. N. Kalyani, R. Tang, L. H. T. Van der Ploeg, D. H. Weinberg, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *261*, 209–213; b) M. A. Bednarek, T. MacNeil, R. N. Kalyani, R. Tang, L. H. T. Van der Ploeg, D. H. Weinberg, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3665–3672; c) G. Skala, C. W. Smith, C. J. Taylor, J. H. Ludens, *Science* **1984**, *226*, 443–445.
- [57] a) W. Kowalczyk, D. Sobolewski, A. Prahl, I. Derdowska, A. Kwiatkowska, J. Slaninova, B. Lammek, *J. Pept. Sci.* **2006**, *12*, 181–182; b) D. Sobolewski, A. Prahl, I. Derdowska, J. Slaninova, K. Kaczmarek, J. Zabrocki, B. Lammek, *J. Pept. Sci.* **2007**, *13*, 128–132.
- [58] a) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1375–1389; b) R. Haubner, W. Schmitt, G. Holzemann, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881–7891; c) S. L. Goodman, M. Picard, *Trends Pharmacol. Sci.* **2012**, *33*, 405–412; d) C. Mas-Moruno, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, *10*, 753–768; e) M. Schottelius, B. Laufer, H. Kessler, H. J. Wester, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 969–980.
- [59] a) A. W. Tuin, D. K. Palachanis, A. Buiertz, G. M. Grotenbreg, E. Spalburg, A. J. de Neeling, R. H. Mars-Groenendijk, D. Noort, G. A. van der Marel, H. S. Overkleef, M. Overhand, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 4231–4241; b) G. M. Grotenbreg, A. E. M. Buiertz, A. L. Llamas-Saiz, E. Spalburg, P. A. V. van Hooft, A. J. de Neeling, D. Noort, M. J. van Raaij, G. A. van der Marel, H. S. Overkleef, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7559–7565.
- [60] a) C. Solanas, B. G. de La Torre, M. Fernandez-Reyes, C. M. Santiveri, M. A. Jimenez, L. Rivas, A. I. Jimenez, D. Andreu, C. Cativiela, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4119–4129; b) M. Tamaki, I. Sasaki, M. Kokuno, M. Shindo, M. Kimura, Y. Uchida, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1791–1797; c) C. S. Dowd, S. Leavitt, G. Babcock, A. P. Godillot, D. Van Ryk, G. A. Canziani, J. Sodroski, E. Freire, I. M. Chaiken, *Biochemistry* **2002**, *41*, 7038–7046; d) H. Tamamura, K. Hiramatsu, K. Miyamoto, A. Omagari, S. Oishi, H. Nakashima, N. Yamamoto, Y. Kuroda, T. Nakagawa, A. Otaka, N. Fujii, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 923–928.
- [61] H. N. Hoang, R. W. Driver, R. L. Beyer, A. K. Malde, G. T. Le, G. Abbenante, A. E. Mark, D. P. Fairlie, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11303–11307; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11107–11111.
- [62] a) L. Belvisi, C. Gennari, A. Mielgo, D. Potenza, C. Scolastico, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 389–400; b) M. K. Cho, S. S. Kim, M. R. Lee, J. Shin, J. Y. Lee, S. K. Lim, J. H. Baik, C. J. Yoon, I. Shin, W. Lee, *J. Biochem. Mol. Biol.* **2003**, *36*, 552–557; c) S. Lindman, G. Lindeberg, F. Nyberg, A. Karlén, A. Hallberg, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2375–2383; d) U. Rosenström, C. Sköld, B. Plouffe, H. Beaudry, G. Lindeberg, M. Botros, F. Nyberg, G. Wolf, A. Karlén, N. Gallo-Payet, A. Hallberg, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4009–4024; e) Z. Q. Yuan, D. Blomberg, I. Sethson, K. Brickmann, K. Ekholm, B. Johansson, A. Nilsson, J. Kihlberg, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2512–2519; f) K. Brickmann, Z. Yuan, I. Sethson, P. Somfai, J. Kihlberg, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2241–2253.
- [63] a) J. A. Robinson, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1278–1288; b) M. E. Pfeifer, K. Moehle, A. Linden, J. A. Robinson, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 444–464; c) J. Späth, F. Stuart, L. Y. Jiang, J. A. Robinson, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 1726–1738.
- [64] A. Gokhale, T. K. Weldeghiorghis, V. Taneja, S. D. Satyanarayananajois, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5307–5319.
- [65] J. A. Robinson, S. C. Shankaramma, P. Jettera, U. Kienzl, R. A. Schwendener, J. W. Vrijbloed, D. Obrecht, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2055–2064.
- [66] J. Liu, C. Li, S. Ke, S. D. Satyanarayananajois, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4038–4047.
- [67] M. I. Garcia-Aranda, Y. Mirassou, B. Gautier, M. Martin-Martinez, N. Ingumbert, M. Vidal, M. T. Garcia-Lopez, M. A. Jimenez, R. Gonzalez-Muniz, M. J. P. de Vega, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7526–7533.
- [68] J. H. Park, M. L. Waters, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 69–77.
- [69] V. Celentano, D. Diana, L. De Rosa, C. Di Salvo, A. Romanelli, R. Fattorusso, L. D. D'Andrea, *J. Pept. Sci.* **2012**, *18*, S173–S173.
- [70] A. L. Jochim, P. S. Arora, *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5*, 919–923.
- [71] a) K. Estieu-Gionnet, G. Guichard, *Expert Opin. Drug Discovery* **2011**, *6*, 937–963; b) V. Azzarito, K. Long, N. S. Murphy, A. J. Wilson, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 161–173; c) R. Dharani-pragada, *Future Med. Chem.* **2013**, *5*, 831–849.
- [72] R. S. Harrison, N. E. Shepherd, H. N. Hoang, G. Ruiz-Gomez, T. A. Hill, R. W. Driver, V. S. Desai, P. R. Young, G. Abbe-

- nante, D. P. Fairlie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 11686–11691.
- [73] a) C. Bracken, J. Gulyas, J. W. Taylor, J. Baum, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6431–6432; b) G. Osapay, J. W. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6046–6051; c) M. E. Houston, A. P. Campbell, B. Lix, C. M. Kay, B. D. Sykes, R. S. Hodges, *Biochemistry* **1996**, *35*, 10041–10050; d) M. E. Houston, C. L. Gannon, C. M. Kay, R. S. Hodges, *J. Pept. Sci.* **1995**, *1*, 274–282.
- [74] M. Bouvier, J. W. Taylor, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1145–1155.
- [75] a) S. Arttamangkul, T. F. Murray, G. E. Delander, J. V. Aldrich, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2410–2417; b) F. D. T. Lung, N. Collins, D. Stropova, P. Davis, H. I. Yamamura, F. Porreca, V. J. Hruby, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1136–1141.
- [76] M. Chorev, E. Roubini, R. L. McKee, S. W. Gibbons, M. E. Goldman, M. P. Caulfield, M. Rosenblatt, *Biochemistry* **1991**, *30*, 5968–5974.
- [77] J. F. Hernandez, W. Kornreich, C. Rivier, A. Miranda, G. Yamamoto, J. Andrews, Y. Tache, W. Vale, J. Rivier, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2860–2867.
- [78] K. A. Carpenter, R. Schmidt, S. Y. Yue, L. Hodzic, C. Pou, K. Payza, C. Godbout, W. Brown, E. Roberts, *Biochemistry* **1999**, *38*, 15295–15304.
- [79] A. Kapurniotu, J. W. Taylor, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 836–847.
- [80] M. Zhang, B. Wu, H. Zhao, J. W. Taylor, *J. Pept. Sci.* **2002**, *8*, 125–136.
- [81] M. Dong, J. A. Te, X. Xu, J. Wang, D. I. Pinon, L. Storjohann, A. J. Bordner, L. J. Miller, *Biochemistry* **2011**, *50*, 8181–8192.
- [82] L. P. Miranda, K. A. Winters, C. V. Gegg, A. Patel, J. Aral, J. Long, J. Zhang, S. Diamond, M. Guido, S. Stanislaus, M. Ma, L. P. Li, M. J. Rose, L. Poppe, M. M. Veniant, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2758–2765.
- [83] a) T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1525–1526; b) T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6852–6853; c) T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *Methods Enzymol.* **2003**, *364*, 223–246; d) T. R. Geistlinger, A. C. McReynolds, R. K. Guy, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 273–281.
- [84] N. E. Shepherd, H. N. Hoang, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2974–2983.
- [85] N. E. Shepherd, H. N. Hoang, V. S. Desai, E. Letouze, P. R. Young, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13284–13289.
- [86] N. E. Shepherd, R. S. Harrison, D. P. Fairlie, *Curr. Drug Targets* **2012**, *13*, 1348–1359.
- [87] R. S. Harrison, G. Ruiz-Gomez, T. A. Hill, S. Y. Chow, N. E. Shepherd, R.-J. Lohman, G. Abbenante, H. N. Hoang, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8400–8408.
- [88] T. Rao, G. Ruiz-Gomez, T. A. Hill, H. N. Hoang, D. P. Fairlie, J. M. Mason, *PLoS One* **2013**, *8*, e59415.
- [89] K. K. Khoo, M. J. Wilson, B. J. Smith, M.-M. Zhang, J. Gulyas, D. Yoshikami, J. E. Rivier, G. Bulaj, R. S. Norton, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7558–7566.
- [90] A. Caporale, M. Sturlese, L. Gesiot, F. Zanta, A. Wittelsberger, C. Cabrele, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 8072–8079.
- [91] a) H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3469–3472; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3281–3284; b) H. E. Blackwell, J. D. Sadowsky, R. J. Howard, J. N. Sampson, J. A. Chao, W. E. Steinmetz, D. J. O’Leary, R. H. Grubbs, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5291–5302; c) G. L. Verdine, G. J. Hliniski, *Drug Discovery Today* **2012**, *9*, e41–e47.
- [92] Y.-W. Kim, P. S. Kutchukian, G. L. Verdine, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3046–3049.
- [93] Y.-W. Kim, G. L. Verdine, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2533–2536.
- [94] C. E. Schafmeister, J. Po, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5891–5892.
- [95] D. J. Yeo, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9131–9133.
- [96] a) L. D. Walensky, A. L. Kung, I. Escher, T. J. Malia, S. Barbuto, R. D. Wright, G. Wagner, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Science* **2004**, *305*, 1466–1470; b) L. D. Walensky, K. Pitter, J. Morash, K. J. Oh, S. Barbuto, J. Fisher, E. Smith, G. L. Verdine, S. J. Korsmeyer, *Mol. Cell* **2006**, *24*, 199–210.
- [97] C. R. Braun, J. Mintseris, E. Gavathiotis, G. H. Bird, S. P. Gygi, L. D. Walensky, *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 1325–1333.
- [98] M. L. Stewart, E. Fire, A. E. Keating, L. D. Walensky, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 595–601.
- [99] R. E. Moellering, M. Cornejo, T. N. Davis, B. C. Del, J. C. Aster, S. C. Blacklow, A. L. Kung, D. G. Gilliland, G. L. Verdine, J. E. Bradner, *Nature* **2009**, *462*, 182–188.
- [100] a) F. Bernal, A. F. Tyler, S. J. Korsmeyer, L. D. Walensky, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2456–2457; b) F. Bernal, M. Wade, M. Godes, T. N. Davis, D. G. Whitehead, A. L. Kung, G. M. Wahl, L. D. Walensky, *Cancer Cell* **2010**, *18*, 411–422.
- [101] a) C. J. Brown, S. T. Quah, J. Jong, A. M. Goh, P. C. Chiam, K. H. Khoo, M. L. Choong, M. A. Lee, L. Yurlova, K. Zolghadr, T. L. Joseph, C. S. Verma, D. P. Lane, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 506–512; b) S. J. Wei, T. Joseph, S. Chee, L. Li, L. Yurlova, K. Zolghadr, C. Brown, D. Lane, C. Verma, F. Ghadessy, *PLoS One* **2013**, *8*, e81068.
- [102] Y. S. Chang, B. Graves, V. Guerlavais, C. Tovar, K. Packman, K. H. To, K. A. Olson, K. Kesavan, P. Gangurde, A. Mukherjee, T. Baker, K. Darlak, C. Elkin, Z. Filipovic, F. Z. Qureshi, H. Cai, P. Berry, E. Feyfant, X. E. Shi, J. Horstick, D. A. Annis, A. M. Manning, N. Fotouhi, H. Nash, L. T. Vassilev, T. K. Sawyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, E3445–E3454.
- [103] W. Kim, G. H. Bird, T. Neff, G. Guo, M. A. Kerenyi, L. D. Walensky, S. H. Orkin, *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 643–650.
- [104] C. Phillips, L. R. Roberts, M. Schade, R. Bazin, A. Bent, N. L. Davies, R. Moore, A. D. Pannifer, A. R. Pickford, S. H. Prior, C. M. Read, A. Scott, D. G. Brown, B. Xu, S. L. Irving, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9696–9699.
- [105] a) H. Zhang, F. Curreli, X. Zhang, S. Bhattacharya, A. A. Waheed, A. Cooper, D. Cowburn, E. O. Freed, A. K. Debnath, *Retrovirology* **2011**, *8*, 28–36; b) G. H. Bird, N. Madani, A. F. Perry, A. M. Princiotti, J. G. Supko, X. He, E. Gavathiotis, J. G. Sodroski, L. D. Walensky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 14093–14098; c) T.-L. Sun, Y. Sun, C.-C. Lee, H. W. Huang, *Biophys. J.* **2013**, *104*, 1923–1932.
- [106] D. O. Sviridov, I. Z. Ikpot, J. Stonik, S. K. Drake, M. Amar, D. O. Osei-Hwedieh, G. Piszczek, S. Turner, A. T. Remaley, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *410*, 446–451.
- [107] N. N. Danial, L. D. Walensky, C.-Y. Zhang, C. S. Choi, J. K. Fisher, A. J. A. Molina, S. R. Datta, K. L. Pitter, G. H. Bird, J. D. Wikstrom, J. T. Deeney, K. Robertson, J. Morash, A. Kulkarni, S. Neschen, S. Kim, M. E. Greenberg, B. E. Corkey, O. S. Shirihai, G. I. Shulman, B. B. Lowell, S. J. Korsmeyer, *Nat. Med.* **2008**, *14*, 144–153.
- [108] T. Okamoto, K. Zobel, A. Fedorova, C. Quan, H. Yang, W. J. Fairbrother, D. C. S. Huang, B. J. Smith, K. Deshayes, P. E. Czabotar, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 297–302.
- [109] G. H. Bird, E. Gavathiotis, J. L. Labelle, S. G. Katz, L. D. Walensky, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 831–837.
- [110] a) S. Cantel, A. L. C. Isaad, M. Scrima, J. J. Levy, R. D. DiMachi, P. Rovero, J. A. Halperin, A. M. D’Ursi, A. M. Papini, M. Chorev, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5663–5674; b) M. Scrima, A. Le Chevalier-Isaad, P. Rovero, A. M. Papini, M. Chorev, A. M. D’Ursi, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 446–457.
- [111] S. A. Kawamoto, A. Coleska, X. Ran, H. Yi, C.-Y. Yang, S. Wang, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1137–1146.
- [112] a) A. M. Leduc, J. O. Trent, J. L. Wittliff, K. S. Bramlett, S. L. Briggs, N. Y. Chirgadze, Y. Wang, T. P. Burris, A. F. Spatola, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 11273–11278; b) A. K. Galande, K. S. Bramlett, T. P. Burris, J. L. Wittliff, A. F. Spatola, *J. Pept. Res.* **2004**, *63*, 297–302; c) A. K. Galande, K. S. Bram-

- lett, J. O. Trent, T. P. Burris, J. L. Wittliff, A. F. Spatola, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1991–1998.
- [113] A. Muppudi, K. Doi, S. Edwardraja, E. J. Drake, A. M. Gulick, H.-G. Wang, Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14734–14737.
- [114] A. Muppudi, Z. Wang, X. Li, J. Chen, Q. Lin, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9396–9398.
- [115] H. Jo, N. Meinhardt, Y. B. Wu, S. Kulkarni, X. Z. Hu, K. E. Low, P. L. Davies, W. F. DeGrado, D. C. Greenbaum, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17704–17713.
- [116] A. M. Spokony, Y. Zou, J. J. Ling, H. Yu, Y.-S. Lin, B. L. Pentelute, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5946–5949.
- [117] a) M. M. Madden, V. C. I. Rivera, W. Song, Q. Lin, *Chem. Commun.* **2009**, 5588–5590; b) M. M. Madden, A. Muppudi, Z. Li, X. Li, J. Chen, Q. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1472–1475.
- [118] a) S. Kneissl, E. J. Loveridge, C. Williams, M. P. Crump, R. K. Allemann, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 3046–3054; b) P. Wysoczanski, R. J. R. J. Mart, E. J. Loveridge, C. Williams, S. B. M. Whittaker, M. P. Crump, R. K. Allemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7644–7647.
- [119] A. D. de Araujo, H. N. Hoang, W. M. Kok, F. Diness, P. Gupta, T. A. Hill, D. A. Price, S. Liras, D. P. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6965–6999; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7085–7089.
- [120] D. Wang, K. Chen, G. Dimartino, P. S. Arora, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 4074–4081.
- [121] a) L. K. Henchey, A. L. Jochim, P. S. Arora, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 692–697; b) A. Patgiri, A. L. Jochim, P. S. Arora, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1289–1300; c) A. Patgiri, M. Z. Menzenski, A. B. Mahon, P. S. Arora, *Nat. Protoc.* **2010**, *5*, 1857–1865; d) A. B. Mahon, P. S. Arora, *Drug Discovery Today* **2012**, *9*, e57–e62.
- [122] E. Cabezas, A. C. Satterthwait, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3862–3875.
- [123] a) R. N. Chapman, G. Dimartino, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12252–12253; b) G. Dimartino, D. Y. Wang, R. N. Chapman, P. S. Arora, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2389–2392.
- [124] A. Patgiri, M. R. Witten, P. S. Arora, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1773–1776.
- [125] a) S. E. Miller, N. R. Kallenbach, P. S. Arora, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 4434–4437; b) A. B. Mahon, P. S. Arora, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 1416–1418.
- [126] J. Liu, D. Wang, Q. Zheng, M. Lu, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4334–4337.
- [127] L. K. Henchey, J. R. Porter, I. Ghosh, P. S. Arora, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2104–2107.
- [128] D. Y. Wang, W. Liao, P. S. Arora, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6683–6687; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6525–6529.
- [129] D. Wang, M. Lu, P. S. Arora, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1905–1908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1879–1882.
- [130] L. K. Henchey, S. Kushal, R. Dubey, R. N. Chapman, B. Z. Olenyuk, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 941–943.
- [131] A. Patgiri, K. K. Yadav, P. S. Arora, D. Bar-Sagi, *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 585–587.
- [132] a) R. Fasan, R. L. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, J. W. Vrijbloed, D. Obrecht, J. A. Robinson, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2161–2164; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2109–2112; b) R. Fasan, R. L. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, D. Obrecht, P. R. Mittl, M. G. Grüter, J. A. Robinson, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 515–526.
- [133] a) K. Moehle, Z. Athanassiou, K. Patora, A. Davidson, G. Varani, J. A. Robinson, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 9260–9264; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9101–9104; b) A. Davidson, K. Patora-Komisarska, J. A. Robinson, G. Varani, *Nucleic Acids Res.* **2011**, *39*, 248–256.
- [134] M. Seitz, P. Rusert, K. Moehle, A. Trkola, J. A. Robinson, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 7754–7756.
- [135] a) D. J. Craik, *Science* **2006**, *311*, 1563; b) R. M. J. Liskamp, D. T. S. Rijkers, S. E. Bakker in *Modern Supramolecular Chemistry: Strategies for Macrocyclic Synthesis* (Hrsg.: F. Diederich, P. J. Stang, R. R. Tykwiński), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, S. 1–26; c) A. T. Bockus, C. M. McEwen, R. S. Lokey, *Curr. Top. Med. Chem.* **2013**, *13*, 821–836; d) „Cyclic Peptides“: S. R. Adusumalli, A. K. Yudin, V. Rai in *Natural Lactones and Lactams: Synthesis Occurrence and Biological Activity* (Hrsg.: T. Janecki), **2013**, Wiley-VCH, Weinheim.
- [136] a) W. Xu, L. Li, L. Du, N. Tan, *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **2011**, *43*, 757–762; b) P. G. Arnison, M. J. Bibb, G. Bierbaum, A. A. Bowers, T. S. Bugni, G. Bulaj, J. A. Camarero, D. J. Campopiano, G. L. Challis, J. Clardy, P. D. Cotter, D. J. Craik, M. Dawson, E. Dittmann, S. Donadio, P. C. Dorrestein, K.-D. Entian, M. A. Fischbach, J. S. Garavelli, U. Goeransson, C. W. Gruber, D. H. Haft, T. K. Hemscheidt, C. Hertweck, C. Hill, A. R. Horswill, M. Jaspars, W. L. Kelly, J. P. Klinman, O. P. Kuipers, A. J. Link, W. Liu, M. A. Marahiel, D. A. Mitchell, G. N. Moll, B. S. Moore, R. Müller, S. K. Nair, I. F. Nes, G. E. Norris, B. M. Olivera, H. Onaka, M. L. Patchett, J. Piel, M. J. T. Reaney, S. Rebuffat, R. P. Ross, H.-G. Sahl, E. W. Schmidt, M. E. Selsted, K. Severinov, B. Shen, K. Sivonen, L. Smith, T. Stein, R. D. Stüssmuth, J. R. Tagg, G.-L. Tang, A. W. Truman, J. C. Vedera, C. T. Walsh, J. D. Walton, S. C. Wenzel, J. M. Willey, W. A. van der Donk, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 108–160.
- [137] a) S. A. Sieber, M. A. Marahiel, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 715–738; b) M. A. Fischbach, C. T. Walsh, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3468–3496.
- [138] a) A. Rüegger, H. Kuhn, H. R. Lichti, R. Loos, R. Huguenin, A. Quiquerez, A. von Wartburg, *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 1075–1092; b) D. Faulds, K. L. Goa, P. Benfield, *Drugs* **1993**, *45*, 953–1040.
- [139] T. Wieland, G. Luben, H. Ottenheym, J. Faesel, J. X. de Vries, W. Konz, A. Prox, J. Schmid, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 209–213; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, *7*, 204–208.
- [140] a) D. S. Dalisay, E. W. Rogers, A. S. Edison, T. F. Molinski, *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 732–738; b) D. S. Nielsen, H. N. Hoang, R.-J. Lohman, F. Diness, D. P. Fairlie, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5720–5723.
- [141] a) W. E. Houssen, M. Jaspars, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 1803–1815; b) D. Davyt, G. Serra, *Mar. Drugs* **2010**, *8*, 2755–2780; c) R. A. Hughes, C. J. Moody, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8076–8101; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7930–7954.
- [142] a) E. Selva, G. Beretta, N. Montanini, G. S. Saddler, L. Gastaldo, P. Ferrari, R. Lorenzetti, P. Landini, F. Ripamonti, B. P. Goldstein, M. Berti, L. Montanaro, M. Denaro, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 693–701; b) G. Heckmann, T. Bach, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1223–1226; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1199–1201; c) K. C. Nicolaou, D. H. Dethe, G. Y. C. Leung, B. Zou, D. Y.-K. Chen, *Chem. Asian J.* **2008**, *3*, 413–429 und Lit. zit.
- [143] a) K. Taori, V. J. Paul, H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806–1807; b) J. Hong, H. Luesch, *Nat. Prod. Rep.* **2012**, *29*, 449–456.
- [144] T. Velkov, P. E. Thompson, R. L. Nation, J. Li, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1898–1916.
- [145] a) S. Rudolph-Böhner, D. F. Mierke, L. Moroder, *FEBS Lett.* **1994**, *349*, 319–323; b) L. Pearson, T. Mihali, M. Moffitt, R. Kellmann, B. Neilan, *Mar. Drugs* **2010**, *8*, 1650–1680; c) H. Fujiki, M. Suganuma, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2011**, *11*, 4–18.
- [146] a) A. Liwo, A. Tempczyk, S. Ołdziej, M. D. Shenderovich, V. J. Hruby, S. Talluri, J. Ciarkowski, F. Kasprzykowski, L. Łankiewicz, Z. Grzonka, *Biopolymers* **1996**, *38*, 157–175; b) J. P. Rose, C. K. Wu, C. D. Hsiao, E. Breslow, B. C. Wang, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 163–169; c) V. J. Hruby, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 847–858.
- [147] a) H. Ueda, H. Nakajima, Y. Hori, T. Fujita, M. Nishimura, T. Goto, M. Okuhara, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 301–310; b) H. Nakajima, Y. B. Kim, H. Terano, M. Yoshida, S. Horinouchi, *Exp.*

- Cell Res.* **1998**, *24*, 126–133; c) K. M. VanderMolen, W. McCulloch, C. J. Pearce, N. H. Oberlies, *J. Antibiot.* **2011**, *64*, 525–531.
- [148] M. Góngora-Benítez, J. Tulla-Puche, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 901–926.
- [149] a) J. K. Klint, S. Senff, D. B. Rupasinghe, S. Y. Er, V. Herzig, G. M. Nicholson, G. F. King, *Toxicon* **2012**, *60*, 478–491; b) G. Estrada, E. Villegas, G. Corzo, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 145–161.
- [150] R. C. R. de La Vega, L. D. Possani, *Toxicon* **2005**, *46*, 831–844.
- [151] Y. Yamazaki, T. Morita, *Toxicon* **2004**, *44*, 227–231.
- [152] a) B. G. Fry, K. Roelants, D. E. Champagne, H. Scheib, J. D. A. Tyndall, G. F. King, T. J. Nevalainen, J. A. Norman, R. J. Lewis, R. S. Norton, C. Renjifo, R. C. R. de la Vega, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2009**, *10*, 483–511; b) N. R. Casewell, W. Wüster, F. J. Vonk, R. A. Harrison, B. G. Fry, *Trends Ecol. Evolution* **2013**, *28*, 219–229.
- [153] S. Luckett, R. S. Garcia, J. J. Barker, A. V. Konarev, P. R. Shewry, A. R. Clarke, R. L. Brady, *J. Mol. Biol.* **1999**, *290*, 525–533.
- [154] a) H. Terlau, B. M. Olivera, *Physiol. Rev.* **2004**, *84*, 41–68; b) B. M. Olivera, R. W. Teichert, *Mol. Interventions* **2007**, *7*, 251–260; c) L. Azam, J. M. McIntosh, *Acta Pharmacol. Sin.* **2009**, *30*, 771–783; d) R. Halai, D. J. Craik, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 526–536.
- [155] R. J. Clark, H. Fischer, S. T. Nevin, D. J. Adams, D. J. Craik, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 23254–23263.
- [156] A. Weinberg, G. Jin, S. Sieg, T. S. McCormick, *Front. Immunol.* **2012**, *3*, 1–9.
- [157] a) J.-M. Schröder, J. Harder, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **1999**, *31*, 645–651; b) M. V. Sawai, H. P. Jia, L. Liu, V. Aseyev, J. M. Wienczek, P. B. McCray, Jr., T. Ganz, W. R. Kearney, B. F. Tack, *Biochemistry* **2001**, *40*, 3810–3816.
- [158] L. Thorstholm, D. J. Craik, *Drug Discovery Today Technol.* **2012**, *9*, e13–e21.
- [159] D. J. Craik, N. L. Daly, C. Waine, *Toxicon* **2001**, *39*, 43–60.
- [160] a) O. Saether, D. J. Craik, I. D. Campbell, K. Sletten, J. Juul, D. G. Norman, *Biochemistry* **1995**, *34*, 4147–4158; b) S. T. Henriques, Y.-H. Huang, K. J. Rosengren, H. G. Franquelim, F. A. Carvalho, A. Johnson, S. Sonza, G. Tachedjian, M. A. R. B. Castanho, N. L. Daly, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 24231–24241.
- [161] a) L. A. Harris, M. D. Crowell, *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2007**, *9*, 403–410; b) N. Lee, A. Wald, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2011**, *7*, 651–659; c) G. M. Pitari, *Drug Des. Dev. Ther.* **2013**, *7*, 351–360; d) S. Sharma, T. Sharma, R. Dhingra, P. Tomar, S. Singh, M. Malhotra, T. R. Bhardwaj, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2013**, *13*, 1685–1690.
- [162] a) T. Wieland, *Peptides of Poisonous Amanita Mushrooms*, Springer, New York, **1986**, S. 256; b) D. A. Bushnell, P. Cramer, R. D. Kornberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 1218–1222; c) F. Enjalbert, S. Rapior, J. Nouguier-Soule, S. Guillou, N. Amouroux, C. Cabot, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* **2002**, *40*, 715–757.
- [163] a) F. Lynen, U. Wieland, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1938**, *533*, 93–117; b) T. Wieland, *Naturwissenschaften* **1977**, *64*, 303–309.
- [164] a) S. D. Jolad, J. J. Hoffmann, S. J. Torrance, R. M. Wiedhopf, J. R. Cole, S. K. Arora, R. B. Bates, R. L. Gargiulo, G. R. Kriek, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8040–8044; b) M. Zalacaín, E. Zaera, D. Vázquez, A. Jiménez, *FEBS Lett.* **1982**, *148*, 95–97.
- [165] a) T.-W. C. Leung, D. H. Williams, J. C. J. Barna, S. Foti, P. B. Oelrichs, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 3333–3348; b) S. D. Kahn, P. M. Booth, J. P. Walther, D. H. Williams, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1901–1904.
- [166] a) C. Heinis, T. Rutherford, S. Freund, G. Winter, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 502–507; b) A. Angelini, L. Cendron, S. Chen, J. Touati, G. Winter, G. Zanotti, C. Heinis, *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 817–821; c) S. Chen, J. Morales-Sanfrutos, A. Angelini, B. Cutting, C. Heinis, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1032–1038; d) V. Baeriswyl, C. Heinis, *ChemMedChem* **2013**, *8*, 377–384.
- [167] W. Lian, P. Upadhyaya, C. A. Rhodes, Y. Liu, D. Pei, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 11990–11995.
- [168] J. S. Quartararo, P. Wu, J. A. Kritzer, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1490–1496.
- [169] R. Roodbeen, B. Paaske, L. Jiang, J. K. Jensen, A. Christensen, J. T. Nielsen, M. Huang, F. A. Mulder, N. C. Nielsen, P. A. Andreasen, K. J. Jensen, *ChemBioChem* **2013**, *14*, 2179–2188.
- [170] C. Chatterjee, M. Paul, L. Xie, W. A. van der Donk, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 633–683.
- [171] D. L. Boger, *Med. Res. Rev.* **2001**, *21*, 356–381.
- [172] J. R. Knox, R. F. Pratt, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 1342–1347.