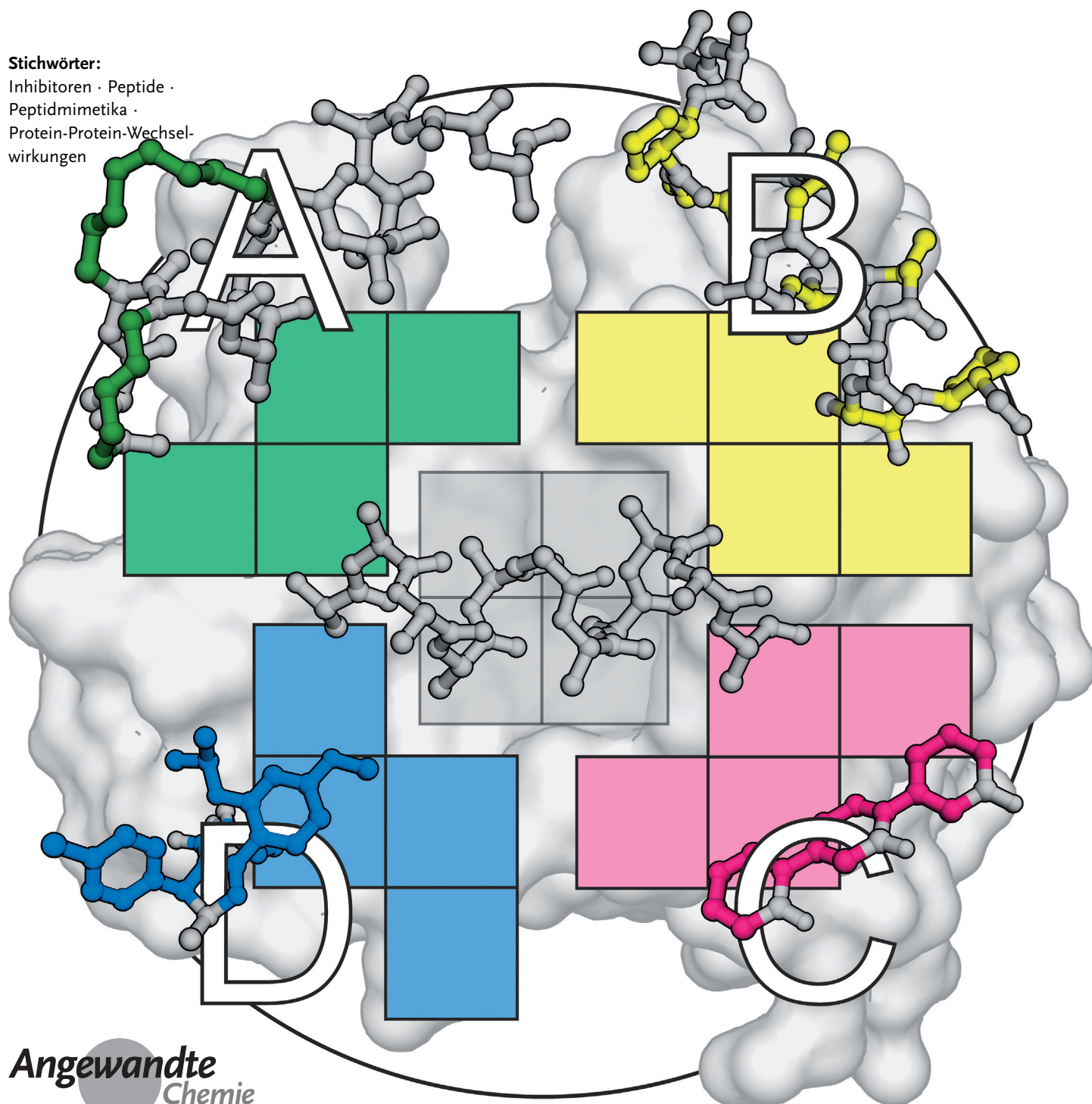


# Strukturbasierte Entwicklung von Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren: Stabilisierung und Nachahmung von Peptidliganden

Marta Pelay-Gimeno, Adrian Glas, Oliver Koch und Tom N. Grossmann\*

## Stichwörter:

Inhibitoren · Peptide ·  
Peptidmimetika ·  
Protein-Protein-Wechsel-  
wirkungen



**P**rotein-Protein-Interaktionen (PPIs) spielen auf allen Ebenen der Zellorganisation eine wichtige Rolle, was die Entwicklung von PPI-Inhibitoren äußerst interessant macht. Die Herstellung von selektiven Inhibitoren ist wegen der relativ flachen und ausgedehnten Protein-Protein-Interaktionsflächen oftmals sehr aufwendig. Derartige Inhibitoren können beispielsweise durch das Nachahmen von Peptidliganden in deren bioaktiver Konformation generiert werden. Für die Entwicklung so genannter Peptidmimetika steht eine Reihe von Ansätzen zur Verfügung, die eine Ausrichtung der Seitenkettenfunktionalitäten in Analogie zu einer bestimmten Peptidsekundärstruktur ermöglichen. In diesem Aufsatz führen wir eine neue Klassifizierung von Peptidmimetika (Klasse A–D) ein, die eine klare Zuordnung der bestehenden Strategien erlaubt. Basierend auf dieser Klassifizierung werden Strategien erörtert, die bereits für ein strukturbasiertes Design von PPI-Inhibitoren durch Stabilisierung oder Nachahmung von Kehren,  $\beta$ -Faltblattstrukturen und Helices angewendet wurden.

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	9023
2. Methodik	9025
3. Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren	9037
4. Zusammenfassung	9045

## 1. Einleitung

Protein-Protein-Interaktionen (PPIs) sind für viele zelluläre Prozesse essenziell und beeinflussen biologische Funktionen durch die Veränderung von Proteineigenschaften, z. B. Enzymaktivität, subzelluläre Lokalisierung und/oder Bindungseigenschaften. Daher wird die Modulation von PPIs als vielversprechende Strategie für die Entwicklung von neuartigen Therapeutika angesehen.<sup>[1]</sup> Im Unterschied zu den definierten Proteintaschen, die im Allgemeinen durch niedermolekulare Binder erkannt werden, sind die Grenzflächen der PPIs vergleichsweise flach und mit einer durchschnittlichen Ausdehnung von 800–2000 Å<sup>2</sup> sehr groß.<sup>[2]</sup> PPIs können zwischen zwei strukturierten Proteindomänen, einer strukturierten Domäne und einem relativ kurzen Peptid oder zwischen zwei kurzen Peptidabschnitten auftreten. In vielen Fällen tragen zusätzlich noch schwache Kontakte in der Umgebung der Interaktionsfläche zur Bindung bei, was die Komplexität und Vorhersage von PPI-Eigenschaften weiter erschwert.<sup>[3]</sup> Zahlreiche Untersuchungen von PPI-Grenzflächen (orange/rot, Abbildung 1a) haben ergeben, dass einzelne Aminosäureseitenketten hauptsächlich zur Gibbs-Energie einer Protein-Protein-Bindung beitragen. Diese so genannten Hot-Spots (rot, Abbildung 1a) überlagern häufig mit strukturell konservierten Proteinregionen und stellen eine charakteristische Eigenschaft von PPI-Grenzflächen dar.<sup>[2,4]</sup>

PPI-Modulatoren können die Aufklärung biologischer Prozesse unterstützen und gelten als vielversprechende Kandidaten in der Wirkstoffentwicklung.<sup>[1,7,8]</sup> Leider eignen sich in vielen Fällen die üblicherweise verwendeten niedermolekularen Wirkstoffstrukturgerüste nicht als selektive PPI-Inhibitoren. Dies ist darauf zurückzuführen, dass PPIs großflächig und oft sehr flach sind und die meisten niedermolekularen Wirkstoffe in wohldefinierte Taschen eines Proteins binden. Folglich weicht der chemische Raum traditioneller

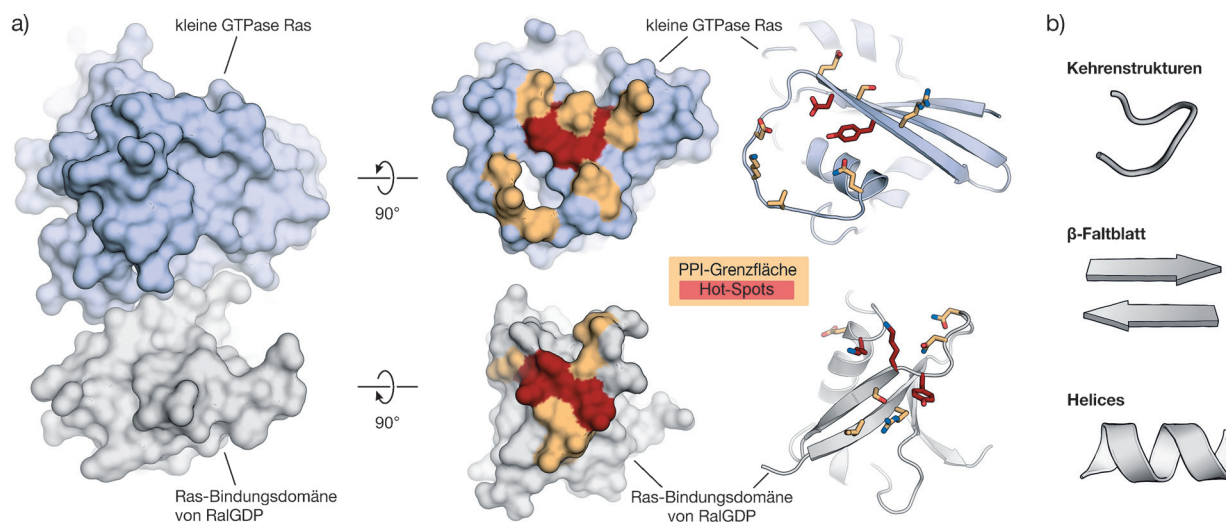
niedermolekularer Wirkstoffbibliotheken von dem der PPI-Inhibitoren ab.<sup>[9]</sup> Diese Tatsache hat die Suche nach alternativen Strategien angeregt, die unter anderem fragmentbasierte Screens oder naturstoffinspierte Bibliotheken umfassen.<sup>[1]</sup> Darüber hinaus werden computergestützte Hilfsmittel genutzt, um strukturell diversere Bibliotheken zu generieren oder um computergestützte Screens mit verbesserten virtuellen Bibliotheken durchzuführen.<sup>[10–12]</sup> In einem strukturbasierten Ansatz werden Peptidliganden, die von Proteininteraktionsflächen abgeleitet werden, als Startpunkt für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren verwendet. Solche Bindungsepitope sind durch die Sekundärstruktur der zugrundeliegenden Polypeptidkette und der daraus resultierenden Ausrichtung der Aminosäureseitenketten definiert. Sekundärstrukturelemente können, basierend auf der Rückgratkonformation, in reguläre  $\beta$ -Stränge und Helices (mit spezifischen, repetitiven Diederwinkelbereichen)<sup>[13–15]</sup> und in irreguläre, nichtrepetitive Kehren oder Schleifen (mit einem breiten Diederwinkelbereich) unterteilt werden (Abbildung 1b).<sup>[16,17]</sup> Peptide neigen dazu, ihre definierte Sekundärstruktur zu verlieren, sobald sie aus der stabilisierenden

[\*] Dr. M. Pelay-Gimeno,<sup>[†]</sup> A. Glas,<sup>[†]</sup> Dr. T. N. Grossmann  
Chemical Genomics Centre der Max-Planck-Gesellschaft  
Otto-Hahn-Straße 15, 44227 Dortmund (Deutschland)  
E-Mail: tom.grossmann@cgc.mpg.de

Dr. O. Koch, Dr. T. N. Grossmann  
Technische Universität Dortmund  
Fakultät für Chemie und Chemische Biologie  
Otto-Hahn-Straße 6, 44227 Dortmund (Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

© 2015 The Authors. Published by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.



**Abbildung 1.** Beispiel einer PPI mit Interaktionsfläche und Hot-Spots: a) Links: Kristallstruktur eines Komplexes zwischen Ras (hellblau) und der Ras-Bindungsdomäne von RalGDP (grau, PDB: 1LFD).<sup>[5]</sup> Rechts: Die gleichen Proteine mit ihrer PPI-Grenzfläche (orange/rot). Hot-Spots sind rot markiert. Proteine sind in der Oberflächen- und Cartoondarstellung dargestellt (interagierende Reste sind hervorgehoben).<sup>[6]</sup> b) Peptidsekundärstrukturen in der Cartoondarstellung.

Umgebung einer Proteindomäne entfernt werden und frei in Lösung vorliegen. Stattdessen liegt ein Ensemble von Konformationen vor. Dieses erhöhte Maß an Flexibilität macht die Peptide anfälliger für einen proteolytischen Abbau und führt zu einem Verlust an Affinität zum Zielprotein.<sup>[18]</sup>

Die effiziente Stabilisierung oder Nachahmung von Peptiden in ihrer bioaktiven Konformation gilt als ein wichtiges Ziel und ist nicht nur für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren

entscheidend. Eine Vielzahl an Strategien wurde erarbeitet, um so genannte Peptidmimetika zu entwickeln – Verbindungen, die eine Projektion der Seitenkettenfunktionalitäten in Analogie zur Peptidsekundärstruktur ermöglichen.<sup>[19]</sup> In der Literatur werden Peptidmimetika unterschiedlich definiert: angefangen bei restriktiven Definitionen, die nur den Ersatz des Peptidrückgrats mit verschiedenen Molekülgerüsten berücksichtigen, bis hin zu sehr allgemeinen, die zu-



Marta Pelay Gimeno erhielt ihren Bachelor in Chemie von der Universität Barcelona. Danach führte sie in der Gruppe von Prof. F. Albericio am Institute for Research in Biomedicine (IRB) in Barcelona die Arbeiten zur Promotion durch, die sie 2013 mit einer Dissertation zur Synthese und Strukturaufklärung von biologisch aktiven marinen Peptiden abschloss. Derzeit ist sie als Postdoc in der Gruppe von Dr. T. N. Grossmann tätig und wendet Ihr Wissen über Peptidsynthese auf die Stabilisierung von Peptid- und Proteinstrukturen an.



Oliver Koch studierte an der Philipps-Universität Marburg Pharmazie und Informatik und promovierte dort in pharmazeutischer Chemie bei Prof. G. Klebe. Nach einem Postdoktorat 2008 am Cambridge Crystallographic Data Centre arbeitete er bei MSD Animal Health Innovation in der Wirkstoffforschung. 2012 begann er eine unabhängige akademische Karriere als Nachwuchsgruppenleiter für medizinische Chemie an der TU Dortmund. Seine Forschungsinteressen gelten der Entwicklung und Anwendung computerbasierter Methoden in der rationalen Wirkstoffforschung.



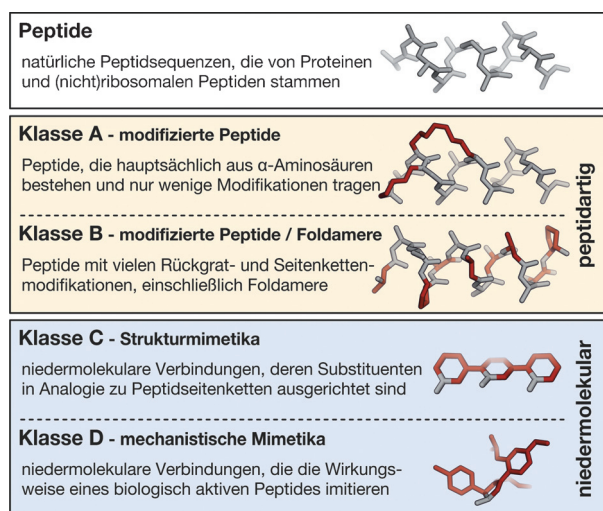
Adrian Glas, geboren in Berlin, ist Doktorand in der Arbeitsgruppe von Dr. T. N. Grossmann. Sein Studium der Chemie an der Humboldt-Universität zu Berlin schloss er 2011 mit einem Diplom ab. Seit 2012 promoviert er am Chemical Genomics Centre in Dortmund. Sein Interesse gilt der Stabilisierung von irregulären Peptidsekundärstrukturen und deren Anwendung als Inhibitoren von Protein-Protein-Interaktionen.



Tom N. Grossmann studierte Chemie an der Humboldt-Universität zu Berlin. Nach seiner Diplomarbeit bei K. P. C. Vollhardt an der University of California Berkeley promovierte er bei Prof. O. Seitz an der Humboldt-Universität zu Berlin. 2009 wechselte er für ein Postdoktorat in die Gruppe von Prof. G. L. Verdone an die Harvard University. Im Anschluss wurde er Gruppenleiter am Chemical Genomics Centre und der TU Dortmund. Schwerpunkte seiner Forschung liegen in der Stabilisierung von Peptidsekundärstrukturen und der Entwicklung biokompatibler Reaktionen.



sätzlich modifizierte Peptidsequenzen für verbesserte biologische Eigenschaften einbeziehen.<sup>[20–24]</sup> In diesem Übersichtsartikel definieren wir Peptidmimetika als Verbindungen, die ganz allgemein die Bindungseigenschaften von natürlichen Peptidvorläufern nachahmen. In der historischen Betrachtung sind Typ-I-Mimetika kurze Peptide, die die Topographie einer Sekundärstruktur replizieren. Diese Mimetika unterscheiden sich vom Ausgangspeptid nur durch Substitutionen, die die Stabilisierung der erwünschten Konformation ermöglichen (oftmals einer  $\alpha$ -Helix). Typ-II-Mimetika bezeichnen funktionale Mimetika, die ein niedermolekulares Strukturgerüst aufweisen und nicht unbedingt alle Seitenketteninteraktionen des Ausgangs-peptids abbilden. Zu den Typ-III-Mimetika zählt man nichtpeptidische Template, die dem Startpeptid zwar topologisch ähnlich sind, jedoch keine atomgenaue Übereinstimmung aufweisen.<sup>[20,21]</sup> Diese historische Klassifizierung von Peptidmimetika wird jedoch weder den neusten Fortschritten gerecht, noch ermöglicht sie eine klare Zuordnung aller Strategien. Des Weiteren bildet sie den Abstraktionsgrad relativ zur Startsequenz nur unzureichend ab. Aus diesen Gründen führen wir hier eine neue Klassifizierung von Peptidmimetika ein. Basierend auf der Ähnlichkeit zum Ausgangs-peptid unterscheiden wir die vier Klassen A–D, wobei A die Klasse mit den meisten und D die mit den geringsten Ähnlichkeiten darstellt (Abbildung 2).



**Abbildung 2.** Verwendete Klassifizierung von Peptidmimetika: Zur Veranschaulichung sind ein  $\alpha$ -helikales Peptid und entsprechende Helixmimetika gezeigt. Modifizierungen sind in Rot hervorgehoben.

Die Klassen A und B enthalten demnach peptidähnliche Strukturen (d.h., Typ-I-Mimetika werden differenzierter betrachtet, und Typ-III-Mimetika sind teilweise enthalten), wohingegen die Klassen C und D niedermolekulare Strukturgerüste einschließen (d.h., Typ-II- und teilweise Typ-III-Mimetika werden erfasst):

- **Klasse-A-Mimetika** sind Peptide, die hauptsächlich aus der Aminosäuresequenz des Mutterpeptids bestehen. Es wird nur eine begrenzte Anzahl an modifizierten Aminosäuren eingeführt, um die bioaktive Konformation zu stabilisieren. Das Rückgrat und die Seitenketten von

Klasse-A-Mimetika überlagern sehr gut mit der bioaktiven Konformation des Vorläuferpeptids.

- **Klasse B** enthält Klasse-A-Mimetika, die durch den Einsatz verschiedener nichtnatürlicher Aminosäuren und isolierter niedermolekularer Bausteine und/oder erheblicher Rückgratänderungen weiter modifiziert wurden. Foldamere, z.B.  $\beta$ - und  $\alpha/\beta$ -Peptide, und Peptoide, deren Seitenkettenausrichtung topologisch dem Vorläuferpeptid nachempfunden ist, gehören ebenfalls dieser Klasse an.
- **Klasse C** umfasst sehr stark modifizierte Strukturen mit niedermolekularem Charakter, deren Peptidrückgrat komplett ersetzt wurde. Das zentrale Gerüst projiziert die Substituenten in Analogie zur Orientierung der entscheidenden Reste (z.B. Hot-Spots) der bioaktiven Konformation des Vorläuferpeptids.
- **Klasse-D-Mimetika** sind Verbindungen, die die Wirkungsweise von bioaktiven Peptiden nachahmen, ohne dabei eine direkte Verbindung zu dessen Seitenkettenfunktionalitäten aufzuweisen. Diese Verbindungen können durch Affinitäts-optimierung von Klasse-C-Mimetika generiert oder durch das Screening von Substanzbibliotheken (auch computergestützt) identifiziert werden.

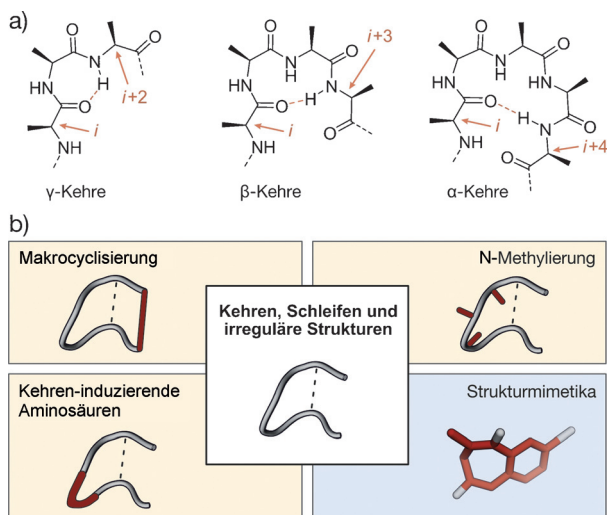
Dieser Aufsatz fasst Strategien zusammen, die ausgehend von Peptidliganden für eine strukturbasierte Entwicklung von PPI-Inhibitoren angewendet wurden. Aus diesem Grund werden Screening-Ansätze nicht betrachtet. Vielmehr richten wir den Fokus auf die Stabilisierung oder Nachahmung von Peptiden, die weder die Größe noch die Komplexität des Inhibitors maßgeblich vergrößern. Daher werden Strategien wie die Übertragung von Bindungssepiptopen auf Miniproteine oder peptidische Toxine nicht berücksichtigt.<sup>[1]</sup> Durch posttranslationale Modifikation (z.B. Phosphorylierung und Lipidierung) vermittelte Interaktionen werden ebenfalls nicht diskutiert, da sie hauptsächlich durch die Erkennung der Modifikation getrieben sind. Der Aufsatz ist folgendermaßen aufgeteilt: Der methodische Teil (Abschnitt 2) beschreibt allgemein Ansätze für die Stabilisierung und Nachahmung von Peptiden mit einem Schwerpunkt auf Strategien, die für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren verwendet wurden. Abschnitt 3 beschreibt die Anwendungen dieser Methoden zur Inhibition biologisch relevanter PPIs.

## 2. Methodik

### 2.1. Kehrenmimetika

Mit einer Anzahl von zwei bis sechs Aminosäuren sind Kehren (turns) irreguläre Sekundärstrukturen, die sich von Helices und  $\beta$ -Faltblattstrukturen durch nichtrepetitive Diederwinkel des Rückgrats unterscheiden. Der Begriff Schleife (loop) wird oft als Synonym gebraucht; allerdings bezeichnen Schleifen in diesem Aufsatz irreguläre Abschnitte der Polypeptidkette, die sich außerhalb von Helix- und  $\beta$ -Faltblattstrukturen befinden.<sup>[25,26]</sup> Ursprünglich wurden Kehren als Regionen bezeichnet, die ein Zurückfallen der Polypeptidkette ermöglichen und so die Bildung von globulären Pro-

teinen ermöglichen.<sup>[27]</sup> In den letzten Jahrzehnten wurden diverse allgemeine Definitionen aufgestellt. Eine weitverbreitete klassifiziert Kehlen in Übereinstimmung mit dem H-Brückenmuster zwischen den Rückgratcarbonylgruppen des Restes an Position  $i$  und den Rückgratamidprotonen an Position  $i+n$ .<sup>[28]</sup> Dies führt zu den vier Kehlenfamilien  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$  und  $\pi$  mit  $n=2, 3, 4$  bzw.  $5$  und entsprechend drei bis sechs Aminosäuren (Abbildung 3a). Ein umgekehrtes H-Brü-



**Abbildung 3.** Kehlen mit allgemeinen Stabilisierungs- und Mimetika-Ansätzen: a) Chemische Strukturen einer  $\gamma$ -,  $\beta$ - und  $\alpha$ -Kehle; stabilisierende H-Brücken sind als orange gestrichelte Linien dargestellt; teilnehmende Reste sind durch orange Pfeile markiert. b) Allgemeine Strategien für Kehlenstabilisierung und -mimikry (rot markiert; Klassen A und B: gelb hinterlegt; Klasse C: blau hinterlegt).

ckenmuster findet man zwischen dem Amidproton der Hauptkette an Position  $i$  und der Carbonylgruppe an Position  $i+n$  für  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Kehlen mit  $n=1$  bzw.  $2$ .<sup>[29]</sup> Weiterhin können sich ähnliche Rückgratkonformationen bilden, so genannte offene Kehlen, bei denen man statt einer H-Brücke einen spezifischen  $\text{Ca}_i\text{-Ca}_{i+n}$ -Abstand vorfindet.<sup>[30,31]</sup> Innerhalb einer Kehlenfamilie können basierend auf den unterschiedlichen Rückgratkonformationen und Diederwinkeln  $\phi$  und  $\psi$  Untergruppen oder Kehlentypen definiert werden. Nach den ersten Untersuchungen durch Venkatachalam<sup>[27]</sup> wurde die Klassifizierung der  $\beta$ -Kehlentypen mehrmals angepasst,<sup>[32–34]</sup> bis sich letztlich die heute üblichen  $\beta$ -Kehlen des Typs I, I', II, II', VIa1, VIa2, VIb, VIII und IV von Hutchinson und Thornton durchgesetzt haben.<sup>[30]</sup> Ähnliche Untersuchungen wurden auch für die übrigen Familien durchgeführt. Erst durch eine kürzlich durchgeführte Analyse der Kehlerrückgratkonformationen bekannter Proteinstrukturen konnte eine Vereinheitlichung der Klassifizierung aller Kehlenfamilien umgesetzt werden.<sup>[17,35]</sup> Berücksichtigt man, dass nichtrepetitive Kehlenregionen gehäuft in schwachen und kurzlebigen Heterodimeren<sup>[36]</sup> auftreten, könnte diese Klassifizierung ein Rational für die Entwicklung neuartiger PPI-Inhibitoren darstellen. Außer den erfassten Kehlenkonfor-

mationen gibt es noch so genannte Kehlenmotive, die aus überlagerten Kehlenstrukturen bestehen.<sup>[37,38]</sup> Auch wenn diese noch nicht detailliert im Kontext der PPIs untersucht wurden, kommen Kehlenmotive vermehrt in Schleifenregionen von strukturierten Proteindomänen vor, die wiederum für PPIs von großer Bedeutung sind.<sup>[39]</sup>

Das Nachahmen PPI-relevanter Kehlen gilt als vielversprechende Strategie für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren. Durch Makrocyclisierung, Kehlen-induzierende Aminosäuren, und N-Methylierungen (Abbildung 3b) können bestimmte Rückgratkonformationen von Peptidliganden stabilisiert werden, wodurch Mimetika der Klassen A und B entstehen. Eine Kombination dieser Modifikationen kann den Stabilisierungseffekt weiter verstärken und ist für die Entwicklung hoch-affiner Liganden oft unerlässlich. Alternativ können Strukturmimetika (Klasse C) generiert werden, bei denen das komplette Peptidrückgrat durch ein niedermolekulares Strukturgerüst ersetzt wird und die Seitenketten entsprechend der Peptidkehlenreste ausgerichtet sind. Obwohl Kehlen wichtig für PPIs und Kehlenmimetika vielversprechend für die Entwicklung entsprechender Inhibitoren sind, wurde bisher nur über wenige Beispiele berichtet. In den meisten Fällen handelt es sich dabei um Inhibitoren von Enzymen (z.B. Proteasen) oder von Peptidligand-Protein-Interaktionen (z.B. Ligand-aktivierte G-Protein-gekoppelte Rezeptoren). Um das zugrundeliegende Konzept von Kehlenmimetika zu diskutieren, stellen wir hier einige Beispiele für Inhibitoren von Peptidligand-Protein-Interaktionen vor. Dabei führen wir zunächst Ansätze zur Entwicklung von Mimetika von Einzelkehlenstrukturen ein, um anschließend Mimetika von Kehlenmotiven zu diskutieren.

### 2.1.1. Strategien zur Entwicklung von Kehlenmimetika

#### 2.1.1.1. Makrocyclisierung

In natürlichen Peptiden und Proteinen kommen Makrocyclisierungen, z.B. über Disulfid- oder Thioetherbrücken, häufig als konformativ einschränkendes Element in Kehlenstrukturen vor.<sup>[40,41]</sup> Anhand dieser natürlichen Vorkommnisse wurden in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Cyclisierungsstrategien entwickelt, z.B. die Rückgrat-, Seitenkette-Rückgrat- und Seitenkette-Seitenkette-Cyclisierung.<sup>[42,43]</sup> Erste Beispiele für makrocyclische Peptide als Kehlenmimetika wurden für Peptidliganden berichtet, deren Zielproteine membranassoziierte Rezeptoren sind. Auf diesem Gebiet haben Kessler und Mitarbeiter Pionierarbeit geleistet, indem sie eine Struktur-Wirkungs-Beziehung von Rückgratcyclisierten Peptiden mithilfe von NMR-Spektroskopie aufgestellt haben.<sup>[44]</sup> Die Auswirkungen von N-Methylierungen und Epimerisierungen auf die konformative Flexibilität wurden an cyclischen Penta- und Hexapeptiden untersucht. Grubbs und Mitarbeitern ist es dagegen gelungen, die Disulfidverknüpfung in natürlichen Peptiden unter Beibehaltung der ursprünglichen bioaktiven Konformation durch eine Kohlenwasserstoffbrücke zu ersetzen.<sup>[45]</sup> Eine weitere Cyclisierungsstrategie für die Entwicklung bioaktiver PPI-Inhibitoren baut Bindungsmotive in so genannte Cysteinleitern ein, die natürlicherweise in  $\theta$ -Defensinen als parallele Anordnung von Disulfiden für die Stabilisierung der Kehlenstruktur

vorkommen.<sup>[46]</sup> Alternativ wurden Peptidpitope auf Lasso-peptide übertragen, um eine Präorganisation der bioaktiven Konformationen zu ermöglichen.<sup>[47]</sup> Diese genetisch kodierten Peptide bilden einen Makrocyclus, bei dem der C-terminale Schwanz durch den Ring gefädelt ist. Üblicherweise wird diese Konformation durch sperrige Seitenketten eingefroren.<sup>[48]</sup> Kürzlich wurde ein Ansatz zur Synthese bicyclischer Peptide durch Verknüpfung von Thiol-haltigen Aminosäuren vorgestellt. Dabei können entweder drei natürliche Cysteine durch ein trifunktionales Molekül über stabile Thioetherbindungen verbrückt werden, oder zwei natürliche Cysteine können mit einer nichtnatürlichen Dithiol-haltigen Aminosäure zwei Disulfidbrücken bilden.<sup>[49,50]</sup> Diese Strategien wurden zwar bislang noch nicht für die strukturbasierte Entwicklung von PPI-Inhibitoren eingesetzt, bieten jedoch angesichts der so gewonnenen konformativen Einschränkung und Strukturdiversität vielversprechende Ansätze.

#### 2.1.1.2. Kehren-induzierende Aminosäuren

Da die Cyclisierung alleine nur unzureichend die Population einer einzigen Konformation sichert, werden häufig weitere einschränkende Elemente eingebaut. Im Falle von  $\gamma$ -Kehren wird z. B. oft ein sterisch anspruchsvoller Rest an Position  $i + 1$  beobachtet.<sup>[17,27]</sup> Andere Aminosäuren wie Pro, Gly, Asn und Asp kommen in  $\beta$ -Kehren vermehrt vor.<sup>[16,17]</sup> Prolin, die einzige proteinogene Aminosäure mit einem sekundären Rückgratamin und einem im Rückgrat befindlichen Ring, spielt für die Proteinfaltung eine einzigartige Rolle, da dadurch keine H-Brücken gebildet werden können und die konformative Flexibilität eingeschränkt wird. Das sekundäre Amin stellt außerdem einen sperrigeren Substituenten dar, wodurch das *cis-trans*-Gleichgewicht der Amidbindung auf die *cis*-Seite verschoben wird.<sup>[51]</sup> Weiterhin werden  $\beta$ -Kehren durch D-Aminosäuren an Position  $i + 1$  induziert<sup>[52–54]</sup> und durch D-Prolin (D-Pro oder p) stabilisiert.<sup>[55–57]</sup> Kessler und Mitarbeiter führten eine räumliche Analyse an cyclischen Pentapeptiden durch, um den Einfluss von D-Aminosäuren zu prüfen. Beginnend mit all-L-Peptiden wurde eine Aminosäure nach der anderen gegen ihr D-Enantiomer ausgetauscht.<sup>[58]</sup> Die stabilste  $\beta$ II'/ $\gamma$ -Konformation enthielt eine D-Aminosäure an Position  $i + 1$  der  $\beta$ -Kehre II'. Ferner werden nichtproteinogene Aminosäuren wie Zuckeraminosäuren (SAAs) eingesetzt, um Kehrenkonformationen zu begünstigen.<sup>[59]</sup> Eine weitere häufig verwendete Aminosäure ist die  $\alpha$ -Aminoisobuttersäure (Aib), die bekanntermaßen konformativ einschränkt und  $\beta$ -Kehren induziert.<sup>[60]</sup> Da  $\beta$ -Haarnadeln aus zwei durch eine Kehrenstruktur verknüpften  $\beta$ -Strängen bestehen, sind Kehren-induzierende Aminosäuren ebenfalls wertvolle Bausteine für die Stabilisierung von  $\beta$ -Faltblattstrukturen (Abschnitt 2.2.1).

#### 2.1.1.3. N-Methylierung

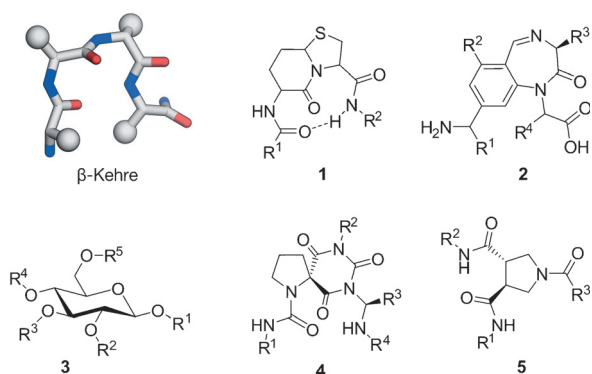
Normalerweise sind Proteine nur an den Seitenketten N-methyliert. Allerdings findet man bei nichtribosomalen natürlichen Peptiden, hauptsächlich aus marinen Schwämmen und Pilzen, häufig N-Methylierungen am Rückgrat. Das oral verfügbare und als Therapeutikum verwendete Cyclospo-

rin A ist ein prominentes Beispiel für ein natürliches cyclisches Peptid, das mehrfach N-methyliert vorliegt.<sup>[61]</sup> Im Allgemeinen kann die Methylierung des Amidstickstoffatoms mehrere Auswirkungen auf die Struktureigenschaften eines Peptids haben.<sup>[62]</sup> Die N-Methylierung verändert das H-Brückenmuster durch Verringerung der Anzahl der H-Brückendonoren. Wie auch schon für Prolin beschrieben, bewirkt die N-Methylierung zusätzlich eine Begünstigung des *cis*-Konformers im *cis-trans*-Gleichgewicht der Amidbindung. Des Weiteren beeinflusst die erhöhte sterische Hinderung die konformative Freiheit der benachbarten Aminosäuren.<sup>[63]</sup> N-Methylierungen können durch die genannten Auswirkungen die komplette Rückgratkonformation beeinflussen. Vor allem für kurze cyclische Peptide bewährte sich die N-Methylierung als nützliches, konformativ einschränkendes Element. Kessler und Mitarbeiter untersuchten die Konformationen 30 Rückgrat-cyclisierter Pentaalanine, die aus vier L- und einer D-Aminosäure bestanden und mono-, di-, tri- oder tetra-N-methyliert waren. Es wurde festgestellt, dass sieben dieser Peptide in nur einer Konformation existieren, von denen wiederum sechs an der D-Aminosäure methyliert sind. Dieser Befund stimmt mit der Beobachtung überein, dass N-Methylierungen Proline nachahmen können, die bekanntermaßen in ihrer D-Konfiguration  $\beta$ -Kehren stabilisieren.<sup>[55–57]</sup> Weiterhin haben neun Peptide zwar mehrere Konformationen eingenommen, jedoch war eine Konformation mit mehr als 80 % bevorzugt.<sup>[64,65]</sup> Die Identifizierung allgemeiner Richtlinien für die Peptidligandenentwicklung ist kompliziert, da die Auswirkungen von Modifikationen stark von der Peptidsequenz abhängen und gerade bei PPIs bereits geringe Konformationsänderungen eine signifikante Wirkung auf Affinität und Selektivität haben. Darüber hinaus tragen N-Methylierungen zu einer erhöhten Proteaseresistenz bei, die in Kombination mit Makrocyclisierung und Einführung nichtnatürlicher Aminosäuren weiter verstärkt werden kann.<sup>[62]</sup> Insgesamt können diese Eigenschaften hochwirksame bioaktive Verbindungen hervorbringen, wie für cyclische Pentapeptide und den klinischen Kandidaten Cilengitide beschrieben wurde.<sup>[66–68]</sup>

#### 2.1.1.4. Strukturmetika

Der Austausch des gesamten Peptidrückgrats einer Kehrenstruktur durch ein niedermolekulares Grundgerüst ist ein alternativer Ansatz, der Verbindungen mit verbesserter oraler Verfügbarkeit und günstigeren pharmakokinetischen Eigenschaften produzieren kann. In der Tat kommen solche Verbindungen den Lipinskis „Rule of Five“ in vielen Fällen näher, sodass sie vielversprechend für die Wirkstoffentwicklung sind.<sup>[69]</sup> Die Substituenten Kehrenstruktur-nachahmender Grundgerüste sollten räumlich wie die Seitenketten des entsprechenden Kehrrentyps ausgerichtet sein. Viele Metika der Klasse C wurden auf Basis des Strukturabgleichs der Kehrenkonformation entwickelt, wobei man hauptsächlich bei der Entwicklung von Inhibitoren von Peptidligand-Protein-Interaktionen erfolgreich war. Beispielsweise werden Peptidliganden, die eine Kehrenstruktur enthalten<sup>[70]</sup> und mit niedermolekularen Bindern nachgeahmt wurden, von einer Untergruppe G-Protein-gekoppelter Rezeptoren (GPCRs)





**Abbildung 4.** Grundgerüste, die  $\beta$ -Kehrenkonformationen nachahmen: Bicyclisches Peptid **1**,<sup>[71]</sup> Benzodiazepine **2**,<sup>[75]</sup> Glucosederivate **3**,<sup>[77]</sup> spirocyclische Mimetika **4**,<sup>[82]</sup> *trans*-Pyrrolidin-3,4-dicarboxamide **5**.<sup>[83]</sup>

erkannt. Anhand der Ergebnisse dieser Studien wollen wir die allgemeinen Konzepte für die Entwicklung von Kehren-Strukturmimetika vorstellen. Ob diese auch für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren geeignet sind, bleibt abzuwarten. Wegen ihres erhöhten Vorkommens und der gründlichen Charakterisierung fungieren  $\beta$ -Kehren (Abbildung 4, links) als primäre Zielmotive für Strukturmimetika (Klasse C), wobei das bicyclische Peptid **1** eines der ersten Beispiele ist (Abbildung 4).<sup>[71]</sup> Nagai und Sato zeigten, dass diese bicyclische Verbindung die Rückgratkonformation von D-Ala-L-Pro in Gramicidin S mit einer Typ-II'- $\beta$ -Kehre nachbildet. Diese Befunde bildeten die Basis für weitere konformativ eingeschränkte bicyclische Grundgerüste mit unterschiedlichen Ringgrößen.<sup>[72–74]</sup> Benzodiazepine (**2**; Abbildung 4) sind die prominentesten Beispiele für Kehrenmimetika.<sup>[75]</sup> Wegen der zwei eindeutigen Konformationen des zentralen siebengliedrigen Rings kann das Grundgerüst für die Nachahmung fast aller  $\beta$ -Kehrentypen verwendet werden.<sup>[76]</sup> Ein weiteres Grundgerüst, das als  $\beta$ -Kehrenmimetikum verwendet wird und für die Nachahmung des cyclischen Peptids Somatostatin eingesetzt wurde, ist Glucose (**3**; Abbildung 4).<sup>[77]</sup> Tetrahydropyran-basierte  $\beta$ -Kehrenmimetika wurden ebenfalls in die Peptidsequenzen von PPI-Inhibitoren eingebaut.<sup>[78]</sup> Eine alternative Klasse von  $\beta$ -Kehrenmimetika stellen spirocyclische Verbindungen dar (**4**; Abbildung 4), die ursprünglich von Robinson und Mitarbeitern<sup>[79]</sup> beschrieben und von Gmeiner und Mitarbeitern im Detail untersucht wurden.<sup>[80–82]</sup> Erst kürzlich wurde festgestellt, dass *trans*-Pyrrolidin-3,4-dicarboxamide (**5**; Abbildung 4)  $\beta$ -Kehren nachahmen, die ein Prolin an Position  $i+1$  beherbergen.<sup>[83]</sup> In einer erneuten, detaillierten Studie von Müller et al. wurde allerdings festgestellt, dass einige der beschriebenen Kehrenmimetika die gewünschte Kehrenstruktur nicht korrekt wiedergeben.<sup>[84]</sup>

### 2.1.2. Mimetika von Kehrenmotiven

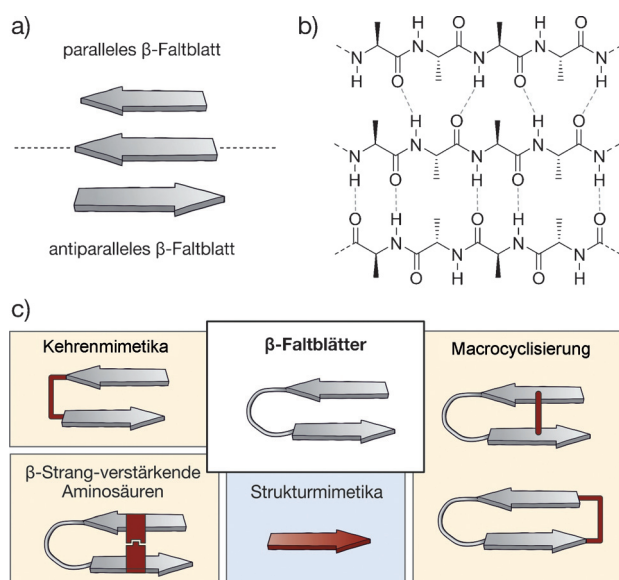
Kehrenmotive werden zum einen als überlappende Kehrenkonformationen definiert, wie das Shellman-Motiv,<sup>[37,85]</sup> in denen eine H-verbrückte Typ-I- $\beta$ -Kehre von einer H-verbrückten Typ-I- $\pi$ -Kehre eingerahmt wird, wobei die letztgenannte als abschließendes Motiv wirkt.<sup>[86]</sup> Zum anderen definieren sie spezifische Kehren, wie das Asx-Motiv, in der eine

Aspartat- oder Asparaginseitenkette an Position  $i$  mit einem Rückgratamid an Position  $i+2$  wechselwirkt.<sup>[87]</sup> Obwohl schon vor Jahrzehnten beschrieben, wurden überlappende Kehren bislang noch nicht eingehend untersucht,<sup>[38,88]</sup> vor allem nicht im Kontext von Mimetika-Ansätzen. Angesichts ihrer hohen Relevanz in PPIs<sup>[36,39]</sup> und der Möglichkeit der computergestützten Analyse von überlappenden Kehrenstrukturen<sup>[17,89]</sup> könnte die Suche nach Kehrenmotivmimetika neue Klassen von PPI-Inhibitoren hervorbringen. Als frühes Beispiel sind die Arbeiten von Gellman und Mitarbeitern zu nennen. In einem Peptid, das durch Phagen-Display generiert wurde<sup>[90]</sup> und Hot-Spots in der letzten Kehre einer  $\alpha$ -Helix und in der darauffolgenden Kehrstruktur enthält, wurden  $\alpha$ -durch  $\beta$ -Aminosäuren ersetzt.<sup>[91]</sup> Das finale Peptid weist eine erhöhte Proteaseresistenz auf und zeigt, dass die Nachahmung von Kehrenmotiven grundsätzlich möglich ist. Bisher gibt es nur ein Beispiel, in dem ein stabilisiertes natürliches Kehrenmotiv als Startpunkt für die Entwicklung eines PPI-Inhibitors fungiert.<sup>[92,93]</sup> Grossmann und Mitarbeiter entwickelten auf Basis der Kristallstruktur eines humanen Adapterproteins und eines bakteriellen Virulenzfaktors eine kleine Bibliothek konformativ eingeschränkter Peptide. Ausgewählte hydrophobe Reste, die für die Wechselwirkung essenziell sind, wurden durch Kohlenwasserstoffbrücken ersetzt. Die Optimierung der Brückenlänge und Konfiguration führte zu einem makrocyclischen Peptid, das die Wechselwirkung der beiden Proteine *in vitro* inhibiert. Die hohe Diversität an Kehrenmotiven und ihre intensive Beteiligung an PPIs erschwert die Identifikation allgemeiner Prinzipien für die Entwicklung derartiger Mimetika, was eventuell die bisher geringe Anzahl an Beispielen erklärt.

### 2.2. $\beta$ -Strang- und $\beta$ -Faltblattmimetika

$\beta$ -Stränge sind Strukturelemente, in denen das Peptid eine ausgedehnte Konformation mit wohldefinierten Diederwinkeln einnimmt, wodurch die Amidbindungen fast coplanar und die Seitenketten abwechselnd über und unter dieser Ebene ausgerichtet sind. Die Bildung eines  $\beta$ -Faltblatts durch parallele und antiparallele Ausrichtung mehrerer  $\beta$ -Stränge wird durch die Bildung von H-Brücken zwischen zwei  $\beta$ -Strängen unterstützt (Abbildung 5a,b).  $\beta$ -Faltblätter sind stark an der Bildung von tertiären und quartären Proteinstrukturen, Proteinaggregation und PPIs beteiligt. Die Verbindung zweier antiparalleler  $\beta$ -Stränge über eine Kehre führt zu einer  $\beta$ -Haarnadel, die durch ein fortgesetztes H-Brückenmuster zwischen den beiden Strängen stabilisiert wird.<sup>[94]</sup> Der leichte Zugang über die Peptidfestphasensynthese führte zu einer eingehenden Untersuchung der Faltungseigenschaften<sup>[95]</sup> und förderte den Zugang zu  $\beta$ -Haarnadel-Mimetika.

Es wurden mehrere Strategien zur Synthese von modifizierten  $\beta$ -Strängen,  $\beta$ -Haarnadeln und  $\beta$ -Faltblättern entwickelt.<sup>[96–98]</sup> Allgemein können drei Ansätze für die Synthese von  $\beta$ -Faltblattmimetika der Klassen A und B unterschieden werden: die Verwendung von Kehrenmimetika für die Initiierung der  $\beta$ -Faltblattanordnung, kovalente und nichtkovalente Makrocyclisierung (Rückgrat- oder Seitenkette-Sei-



**Abbildung 5.**  $\beta$ -Faltblätter mit allgemeinen Stabilisierungs- und Mimika-Ansätzen: a) Cartoondarstellung paralleler (oben) und antiparalleler  $\beta$ -Faltblätter (unten). b) Chemische Struktur einer parallelen (oben) und antiparallelen  $\beta$ -Faltblattanordnung (unten); H-Brücken sind durch gestrichelte Linien dargestellt. c) Allgemeine Strategien für die Nachahmung von  $\beta$ -Faltblättern (rot hervorgehoben; Klassen A und B: gelb; Klasse C: blau).

tenkette) und die Nutzung von  $\beta$ -Strang-fördernden Aminosäuren (Abbildung 5c, gelb). Bedingt durch die intrinsische Komplexität der  $\beta$ -Faltblattstruktur wird in vielen Fällen eine Kombination der genannten Ansätze benötigt, um eine ausreichende Stabilisierung zu erreichen. Ein weiterer Ansatz umfasst die Verwendung niedermolekularer  $\beta$ -Strang-Struktur-mimetika (Klasse C, blau; Abbildung 5c). Allerdings ist deren angemessene Funktionalisierung und Diversifizierung schwierig, und es wurde bisher noch nicht über Strategien für die Bildung komplexer  $\beta$ -Faltblattemimetika berichtet.

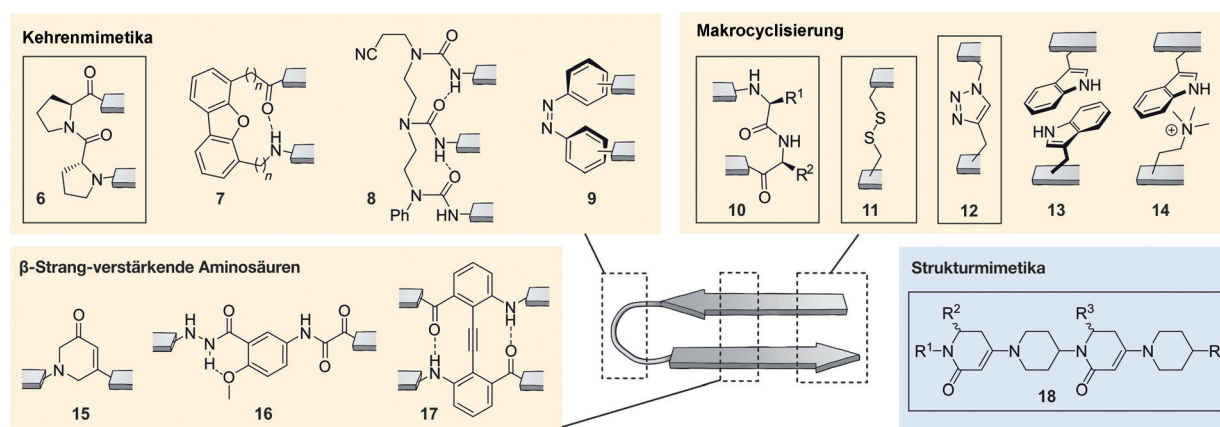
Grundsätzlich gibt es sehr wenige Beispiele für den Einsatz von  $\beta$ -Faltblattemimetika als PPI-Inhibitoren. Allerdings sollte eine Reihe der Strategien, die für die Stabilisierung und Nachahmung von  $\beta$ -Faltblättern beschrieben wurden (z. B. als Inhibitoren von Proteasen),<sup>[99]</sup> auch für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren anwendbar sein. Aus diesem Grund werden hier auch Beispiele erörtert, die noch nicht für die PPI-Inhibition verwendet wurden.

## 2.2.1. Stabilisierte $\beta$ -Faltblattstrukturen

### 2.2.1.1. $\beta$ -Haarnadel-induzierende Kehrenmimetika

In Analogie zu den bereits genannten Einzelkehrenmimetika wurde eine Vielzahl von Kehrenmimetika zur Stabilisierung von  $\beta$ -Haarnadeln verwendet (Abbildung 6; siehe Abschnitt 2.1.1). D-Aminosäuren an Kehrenposition  $i+1$  wurden genutzt, um Typ-II'- $\beta$ -Kehren und dadurch die  $\beta$ -Haarnadelbildung zu begünstigen.<sup>[56,100]</sup> Des Weiteren unterstützen die Gegenwart N-alkylierter Aminosäuren und die Kombination aus Prolinen und aromatischen Resten in der Kehrenregion eine effiziente Initiierung der  $\beta$ -Haarnadelstruktur.<sup>[101]</sup> Dipeptidtemplate, wie D-Pro-L-Pro (6)<sup>[102–104]</sup> und D-Pro-Gly,<sup>[57,105,106]</sup> werden genutzt, um antiparallele  $\beta$ -Haarnadeln zu stabilisieren, während D-Pro-DADME (1,2-Diamino-1,1-dimethylethan) parallele  $\beta$ -Faltblattanordnungen begünstigt.<sup>[107,108]</sup> Andere Dipeptide, wie Aib-Gly<sup>[109]</sup> und Asn-Gly, wurden ebenfalls genutzt, um die  $\beta$ -Faltblattkonformation zu induzieren.<sup>[110,111]</sup> Ebenfalls nützlich für die Initiierung von  $\beta$ -Haarnadeln in  $\beta$ -<sup>[112]</sup> und  $\alpha$ -Peptiden<sup>[113]</sup> sind auf Di- $\beta$ -peptiden basierende Kehren. Bisher ist D-Pro-L-Pro (6) das einzige Kehrenmimetikum, das tatsächlich für die Stabilisierung  $\beta$ -Haarnadel-abgeleiteter PPI-Inhibitoren genutzt wurde (in Kombination mit Macrocyklisierung, siehe Abschnitt 2.2.1.2).<sup>[114,115]</sup>

Verschiedene niedermolekulare Grundgerüste sind geeignete Strukturalternativen für peptidische Kehrenmimetika, bisher allerdings ohne Anwendungen für PPI-Inhibitoren. Beispiele sind Dibenzofuranderivate (7),<sup>[116,117]</sup> Oligoharn-



**Abbildung 6.**  $\beta$ -Faltblattemimetika: Kehrenmimetika: L-Pro-D-Pro (6), Dibenzofuranderivate (7), Oligoharnstoff (8), Azobenzol (9); Makrocyclisierung: Rückgrat- (10) oder Seitenketten-Seitenketten-Verbrückung über Disulfid (11) und 1,2,3-Triazolring (12), Seitenkette-Seitenkette- $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkung (Trp-Trp) (13) und Kation- $\pi$ -Wechselwirkung ( $N^6$ -Trimethylornitin-Trp) (14);  $\beta$ -Strang-induzierende Aminosäuren: 1,6-Dihydro-3(2H)-pyridinon (Ach, 15), Hao-Baustein (16), Diphenylacetylen-Baustein (17); Struktur-mimetika: Piperidin-Piperidinon-basierte Strangmimetika (18); Klassen A und B: gelb; Klasse C: blau. Kästen: im Zusammenhang mit PPI-Inhibition genutzte Strukturen.



stoffe (8),<sup>[118–120]</sup> Azobenzole (9)<sup>[121]</sup> und andere.<sup>[122–128]</sup> Durch das H-Brückenmuster gestützt, können Oligoharnstoffe (8)  $\beta$ -Haarnadeln und komplexere  $\beta$ -Faltblattanordnungen begünstigen. Azobenzole (9) ermöglichen eine lichtkontrollierte  $\beta$ -Haarnadelbildung, und auch Beispiele für Metallionen-kontrollierte  $\beta$ -Faltblattformationen wurden beschrieben. Dabei wirken Kupfer-,<sup>[129,130]</sup> Ruthenium-,<sup>[131]</sup> Eisen-,<sup>[132]</sup> Zink-<sup>[130,133]</sup> und Platinkomplexe<sup>[134]</sup> als Verbrückungselement für parallele und antiparallele  $\beta$ -Faltblattstrukturen.

### 2.2.1.2. Makrocyclisierung

In der Natur erfüllen Makrocyclen diverse biologische Funktionen. Ein anschauliches Beispiel ist die Tachyplesin-Familie, gewonnen aus Hämocyten des Pfeilschwanzkrebes,<sup>[135]</sup> die aus wirkungsvollen antimikrobiellen Peptiden bestehen, die als Inhibitoren der HIV-Replikation fungieren.<sup>[136]</sup> Tachyplesine sind amphipathische Peptide, deren zwei Disulfidbrücken eine antiparallele  $\beta$ -Haarnadelkonformation stabilisieren.<sup>[137]</sup> Die Gegenwart von Disulfidbrücken in natürlichen Peptiden unterstreicht die Relevanz der Makrocyclisierung für die Stabilisierung isolierter  $\beta$ -Haarnadelstrukturen. An Tachyplesin wurden wegweisende Arbeiten durchgeführt, die mehrere vereinfachte Peptidanaloga hervorbrachten,<sup>[138–140]</sup> zum Teil mit modifizierten Grundgerüsten.<sup>[141]</sup> In Analogie zu natürlich vorkommenden, konformativ eingeschränkten  $\beta$ -Haarnadeln wurden kovalente und nichtkovalente Makrocyclisierungsstrategien für die Stabilisierung von  $\beta$ -Faltblattanordnungen verwendet. Um das typische terminale Aufbrechen der  $\beta$ -Haarnadelstruktur zu verringern, werden Ansätze genutzt, die auf kovalente Makrocyclisierung und nichtkovalente Kappungsmotive zurückgreifen (Abbildung 6). Kovalente Makrocyclisierungen, hauptsächlich Rückgratverknüpfungen (10), werden oft genutzt, um eine terminale Entfaltung zu verhindern und die H-Brücken zwischen zwei Strängen zu verstärken.<sup>[142–144]</sup> Nichtkovalente Kappungsmotive basieren hauptsächlich auf elektrostatischen Wechselwirkungen,<sup>[145–147]</sup> mit einer Ausnahme, die hydrophobe Kontakte nutzt.<sup>[148]</sup> Andersen und Mitarbeiter beschrieben ein Kappungsmotiv, das aus einem N-terminal acetylierten Trp und einer C-terminalen Trp-Thr-Gly-Sequenz besteht.<sup>[149]</sup> Eine Edge-to-Face-Wechselwirkung zwischen den beiden Indolen sowie H-Brücken zwischen den polaren Gruppen des Thr, Gly, Trp und der Alkanoylgruppe sind in diesem Fall für die Stabilisierung verantwortlich.

Kovalente und nichtkovalente Makrocyclisierungen können auch über die Seitenketten entlang des Strangs der  $\beta$ -Haarnadel erfolgen. Disulfidbrücken (11) zwischen zwei Cysteinen, die sich an Aminosäurepositionen ohne H-Brückenbeteiligung befinden, führen zu einer Haarnadelstabilisierung, die genutzt werden kann, um stabile<sup>[150–152]</sup> und komplexere quartäre  $\beta$ -Faltblattstrukturen zu bilden.<sup>[153]</sup> Eine weitere kovalente Wechselwirkung, die für die Stabilisierung von  $\beta$ -Haarnadeln genutzt wird, ist der über die Klickchemie<sup>[154–156]</sup> gebildete 1,2,3-Triazol-Baustein (12). Kürzlich wurde dieser für die Synthese eines PPI-Inhibitors eingesetzt.<sup>[157]</sup> Alternativ können so genannte Tryptophan-Zipper (13) zu einer  $\beta$ -Haarnadelstabilisierung beitragen,<sup>[158–160]</sup> wobei die Tryptophane so positioniert werden, dass sie die H-

Brückenbildung nicht stören und sich möglichst in Nachbarschaft zur  $\beta$ -Kehre befinden. Tryptophane sind auch an Kationen- $\pi$ -Wechselwirkungen (14) zwischen Seitenketten beteiligt, wobei der stabilisierende Effekt dieser strangübergreifenden Paarung stark von der Kettenlänge und dem Methylierungsgrad der basischen Aminosäure abhängt.<sup>[161–163]</sup>

### 2.2.1.3. $\beta$ -Strang-verstärkende Aminosäuren

Eine sehr nützliche Strategie, um  $\beta$ -Faltblattstrukturen zu induzieren und zu stabilisieren, ist die Verwendung von konformativ eingeschränkten Bausteinen, die das typische H-Brückenmuster des  $\beta$ -Faltblatts nachbilden und damit als  $\beta$ -Strangmimetika fungieren (Abbildung 6). Dazu gehören 1,6-Dihydro-3(2H)-pyridinon (Ach, 15),<sup>[164]</sup> die nichtnatürliche Aminosäure Hao (5-Hydrazino-2-methoxybenzoylsäure, 16),<sup>[165]</sup> der Diphenylacetylenrest 17<sup>[166]</sup> und andere.<sup>[167]</sup> Bartlett und Mitarbeiter waren die ersten, die Ach (15) für die Stabilisierung von  $\beta$ -Strängen und  $\beta$ -Haarnadeln beschrieben. Der Baustein kann weiter funktionalisiert<sup>[168]</sup> und in der Festphasensynthese eingesetzt werden, um Oligomere zu synthetisieren.<sup>[169]</sup> Analog dazu sind Hao (16) und dessen Derivate<sup>[170]</sup> rigide Aminosäuren, die das Muster der H-Brückendonoren und -akzeptoren in einem  $\beta$ -Strang nachahmen, um so die Bildung einer gut gefalteten  $\beta$ -Faltblattstruktur zu ermöglichen. Hao (16), beschrieben von Nowick et al., wurde des Öfteren in Kombination mit Oligoharnstoff-Templaten (8)<sup>[171]</sup> oder Ornithin verwendet.<sup>[172]</sup> Darüber hinaus zeigten sich Hao (16) und andere Reste auch für die Initiierung der intermolekularen  $\beta$ -Faltblattbildung nützlich.<sup>[173,174]</sup> Hamilton und Mitarbeiter nutzten einen Diphenylacetylenrest (17), um zwei Stränge in einem antiparallelen  $\beta$ -Strang anzuordnen.<sup>[166]</sup> Dieser Rest ersetzt jeweils eine Aminosäure pro Strang, sodass zwischen den beiden Strängen die charakteristischen H-Brücken der  $\beta$ -Faltblattstruktur nachgebildet werden und eine kovalente Überbrückung entsteht. Der Einsatz von  $\beta$ -Aminosäuren für die Verstärkung der sekundären  $\beta$ -Faltblattstruktur stellte sich als schwierig heraus, da die Struktureigenschaften von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Peptiden stark voneinander abweichen. Der einzelne, isolierte Einsatz von  $\beta$ -Aminosäuren führt zu partiell ungefalteten Strukturen,<sup>[175]</sup> und  $\alpha,\alpha$ -Dipeptid-Substitutionen erzielen nur moderate Resultate.<sup>[176]</sup> Bisher wurden keine dieser  $\beta$ -Strang-verstärkenden Aminosäuren für das Design von PPI-Inhibitoren beschrieben.

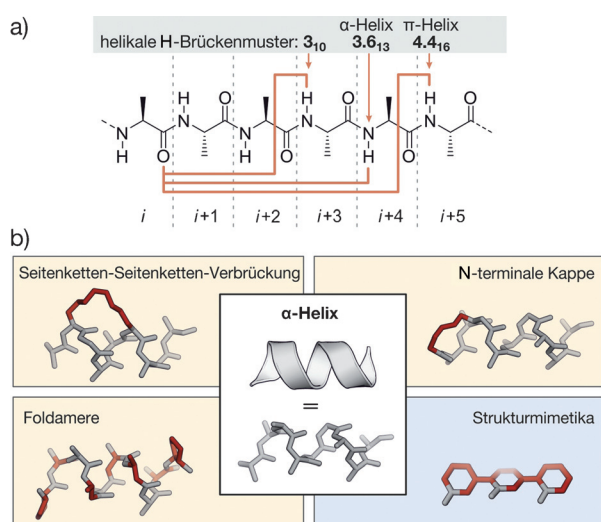
### 2.2.2. $\beta$ -Strang-Strukturmimetika

Aufbau und Zusammenhalt eines  $\beta$ -Faltblatts hängen stark von den H-Brücken-vermittelten Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren ab, die sich an voneinander entfernten Stellen in der Polypeptidkette befinden. Dadurch wird das Design von selbstorganisierenden  $\beta$ -Faltblattstrukturen mit niedermolekularen Grundgerüsten erschwert. Bisher wurde als Basiseinheit der  $\beta$ -Faltblattstruktur lediglich der  $\beta$ -Strang nachgeahmt (Abbildung 6). Zu den wenigen publizierten Beispielen gehören die 1,3-substituierten Triazololigomere von Arora und Angelo,<sup>[177]</sup> die 2,2-disubstituierten Indolin-3-one von Hamilton und Wyrembak,<sup>[178]</sup> die Pyrrolinon-basierten Strukturgerüste von Smith et al.<sup>[179]</sup> und die Piperidin-

Piperidinon-basierten Verbindungen (**18**) von Burgess und Mitarbeitern.<sup>[180]</sup> Das zuletzt genannte Beispiel wurde bereits als PPI-Inhibitor eingesetzt. Dabei handelt es sich um eine durch modulare Synthese leicht zugängliche, chirale Struktur mit eingeschränktem Rotationsfreiheitsgrad und fehlenden Positionen für eine Enolisierung. Interessanterweise wurde dieses Strukturgerüst für die Nachahmung sowohl von  $\beta$ -Strängen als auch von helikalen Konformationen entwickelt.

### 2.3. Helixmimetika

Helices sind repetitive Sekundärstrukturelemente, die 30–40 % der strukturierten Proteindomänen ausmachen.<sup>[89]</sup> Sie werden durch intramolekulare H-Brücken zwischen sequenziellen Aminosäureresten stabilisiert ( $i$  und  $i+n$ ; Abbildung 7a). Die allgemeine Nomenklatur für Helices ist wie



**Abbildung 7.** Helices mit entsprechenden Stabilisierungs- und Mimetika-Ansätzen: a) Chemische Struktur einer Peptidkette, Helix-stabilisierendes H-Brückenmuster ist durch orangefarbene Pfeile hervorgehoben. b) Cartoon-Darstellung einer  $\alpha$ -Helix und allgemeine Strategien für die Helixstabilisierung und -mimikry (rot hervorgehoben; Klassen A und B: gelb; Klasse C: blau).

folgt: die Basiszahl gibt die Anzahl der pro Helixumdrehung enthaltenen Aminosäurereste an und die tiefgestellte Zahl die Anzahl der Atome des Rings, der durch die H-Brücke zwischen Carbonylgruppe an Position  $i$  und Amidproton an Position  $i+n$  entsteht.<sup>[181,182]</sup> In natürlichen Proteinen werden nur  $3_{10}$ -,  $3_{6_{13}}$ - und  $4_{4_{16}}$ -Helices beobachtet, auch wenn andere theoretisch stabil wären.<sup>[13]</sup> Nur die  $3_{10}$ -Helix, bestehend aus repetitiven  $\beta$ -Kehren, behielt die Nomenklatur bei. Die  $3_{6_{13}}$ - und  $4_{4_{16}}$ -Helices sind aus aufeinanderfolgenden  $\alpha$ - bzw.  $\pi$ -Kehren aufgebaut und daher auch besser als  $\alpha$ - bzw.  $\pi$ -Helix bekannt. Während die  $\pi$ -Helix nur selten in Proteinsekundärstrukturen vorkommt,<sup>[183,184]</sup> tragen  $3_{10}$ -Helices zu 10 % aller helikalen Regionen in globulären Proteinen bei.<sup>[185]</sup> Die restlichen 90 % sind  $\alpha$ -Helices. Basierend auf vorhandenen Strukturdaten<sup>[186]</sup> tragen in 62 % aller PPIs Helices zur Protein-Protein-Interaktionsfläche bei,<sup>[187]</sup> was die hohe Re-

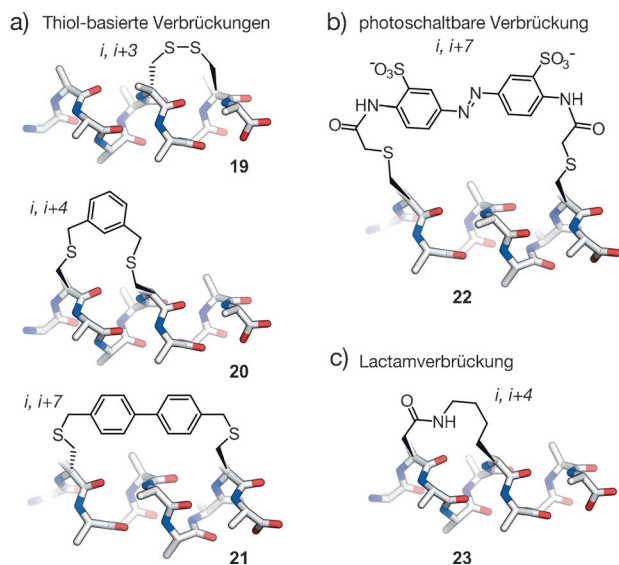
levanz für  $\alpha$ -Helices in diesem Kontext verdeutlicht. Seit Anfang der 1980er Jahre wurden unterschiedliche Stabilisierungsansätze beschrieben.<sup>[188]</sup> Die prominentesten Strategien zur Herstellung von Mimetika der Klasse A nutzten entweder Seitenketten-Seitenketten-Verbrückungen oder die Einführung stabilisierender N-terminaler Kappen (Abbildung 7b). Der Einsatz von Foldameren bietet eine Strategie zur Synthese von Helixmimetika der Klasse B. Foldamere sind Peptid- und Nukleinsäure-inspirierte Oligomere, die starke Abweichungen in der Rückgratstruktur gegenüber Peptiden aufweisen. Zusätzlich wurde von mehreren Strukturmimetika (Klasse C) berichtet. Diese Strukturgerüste enthalten stabförmige Template, von denen die Substituenten in Analogie zu den Seitenketten einer  $\alpha$ -Helix ausgerichtet werden können.

#### 2.3.1. Seitenketten-Seitenketten-Verbrückung

$\alpha$ -Helices werden durch intramolekulare H-Brücken zwischen dem Carbonylsauerstoffatom und dem Amidproton an den Positionen  $i$  bzw.  $i+4$  stabilisiert. Eine zusätzliche Stabilisierung kann durch die Bildung einer Salzbrücke zwischen Aminosäureresten erfolgen (z. B. Glutaminsäure und Lysin), die sich auf der gleichen Seite der Helix befinden. Dieser stabilisierende Effekt wurde in frühen Beispielen für Klasse-A-Mimetika genutzt, um die helikale Konformation zu begünstigen.<sup>[189]</sup> Später wurden kovalente Verknüpfungen an den Positionen  $i, i+3$  oder  $i, i+4$  eingebaut, um eine Kehre der Helix zu verbrücken, und an Positionen  $i, i+7$ , um zwei Kehren der Helix zu verbrücken. Zu den ersten Beispielen kovalenter Verbrückungen zählen eine Amidbindung zwischen Glutaminsäure und Lysin<sup>[190]</sup> oder ein Disulfid zwischen zwei Cysteinanaloga.<sup>[191]</sup> Die Kombination aus Seitenkettenverbrückung und helixbegünstigender  $\alpha$ -Kohlenstoffmethylierung<sup>[188]</sup> führte zu einer Technik namens „hydrocarbon peptide stapling“.<sup>[192]</sup> Diese Peptide enthalten eine Verbrückung, die ausschließlich aus Kohlenwasserstoffen besteht und durch Ringschluss-Metathese (RCM) gebildet wird. Alternativ werden  $\alpha$ -Helices durch Übergangsmetall-vermittelte oder supramolekulare Seitenketten-Seitenketten-Interaktionen stabilisiert.<sup>[193–197]</sup> Kürzlich wurde von einer genetisch kodierten Proteinverbrückung<sup>[198]</sup> berichtet, bei der eine nichtnatürliche, elektrophile Aminosäure in die Proteinsequenz eingebaut wird, um eine Verknüpfungsreaktion mit einem benachbarten nukleophilen Rest (z. B. Lysin, Histidin oder Cystein) zu ermöglichen. Die resultierende intramolekulare Verbrückung wurde so gestaltet, dass ein Teilabschnitt der  $\alpha$ -Helix innerhalb einer Proteindomäne stabilisiert wird. Im Allgemeinen müssen Position und Länge der Seitenkettenbrücke sorgfältig gewählt werden, um die Bindung an das Zielprotein nicht zu beeinträchtigen und eine effiziente Helixstabilisierung zu erreichen. Ansätze, die mit Erfolg auf die Generierung von PPI-Inhibitoren angewendet wurden, schließen Thiol-, Lactam- sowie Triazol-basierte Verbrückungen und „hydrocarbon staples“ ein.

### 2.3.1.1. Thiol-basierte Verbrückungen

Eines der ersten konformativ eingeschränkten Peptide wurde über eine Disulfidbindung zwischen einer in Position  $i$  eingeführten 2-Amino-6-mercaptohexansäure und einem Cystein in Position  $i+7$  generiert. Um eine korrekte Ausrichtung für die Verbrückung zu gewährleisten, wurde das D-Isomer der 2-Amino-6-mercaptohexansäure verwendet. Verbrückte Peptide haben einen höheren  $\alpha$ -helikalen Charakter als ihre acyclischen Pendants.<sup>[191]</sup> Die Verbrückung von D- und L-Cysteinen an Positionen  $i$  bzw.  $i+3$  erwies sich ebenfalls als brauchbar für die konformative Stabilisierung von  $\alpha$ -helikalen Peptiden (**19**; Abbildung 8a).<sup>[199]</sup> Die Linkerlänge kann



**Abbildung 8.** Thiol- und Lactam-basierte verbrückte  $\alpha$ -helikale Peptide: a) Disulfidverbrückung von D- und L-Cystein an Position  $i, i+3$  (**19**), *m*-Xylo-Verbrückte L-Cysteine an Position  $i, i+4$  (**20**), Diaryl-verbrücktes D-Cystein und L-Cystein an Position  $i, i+7$  (**21**). b) Azobenzol-basierte Verbrückte L-Cysteine an Position  $i, i+7$  (**22**). c) Lactamverbrückung zwischen Asparaginsäure und Lysin an Position  $i, i+4$  (**23**).

unter Umständen den Anteil helikaler Bereiche und die Zielproteinerkennung beeinflussen. Längere Disulfidverbrückungen wurden durch den Einsatz von Homocystein erhalten,<sup>[200]</sup> allerdings sind S-S-Brücken unter den reduktiven Bedingungen im Zytosol eukaryotischer Zellen labil und wurden daher durch stabilere Thioetherreste ersetzt. Auch hier kann statt Cystein Homocystein eingesetzt werden, um die Linkerlänge der Disulfidverbrückung beizubehalten.<sup>[201]</sup> Unter allen proteinogenen Aminosäuren zeichnet sich Cystein durch eine einzigartige Reaktivität aus, die es ermöglicht, Elektrophile zu gestalten, die selektiv mit Thiolseitenketten reagieren. Eine Reihe biselektrophiler Verbindungen wurde genutzt, um zwei passend ausgerichtete Cysteine zu verbrücken und dadurch die helikale Konformation zu stabilisieren. Biselektrophile Mono- und Diaryllinker wurden für Klasse-A-Peptidmimetika mit erhöhtem  $\alpha$ -helikalem Charakter eingesetzt. Circular dichroismus (CD)- und-NMR-Spektroskopieuntersuchungen haben gezeigt, dass verbrückte Peptide mit L-Cysteinen an Positionen  $i$  und  $i+4$  und einem ri-

gidien Linker, wie *m*-Xylo, die ausgeprägte  $\alpha$ -Helizität aufweisen (**20**; Abbildung 8a).<sup>[202]</sup> Längere Verbrückungen, z. B. ausgehend von Bis(arylmethylenbromiden), erzielten die besten Resultate für Peptide mit D-Cystein in Position  $i$  und L-Cystein an  $i+7$  (**21**; Abbildung 8a). Diese verbrückten Peptide zeigen eine erhöhte Zellpermeabilität und wurden als PPI-Inhibitoren eingesetzt.<sup>[203–205]</sup> Perfluorierte Aryllinker werden ebenfalls für die Stabilisierung von  $\alpha$ -Helices genutzt und zeichnen sich zusätzlich durch eine erhöhte Proteaseresistenz und zelluläre Aufnahme aus.<sup>[206]</sup> Schaltbare Azobenzolgerüste stellen besondere Thiol-basierte Verbrückungen dar (**22**; Abbildung 8b).<sup>[207–213]</sup> Die Photoisomerisierung zwischen dem *cis*- und *trans*-Isomer des Azobenzolrests ermöglicht es, den helikalen Charakter des Peptids zu steuern. Die Azobenzolverbrückung wurde bisher als Bis(iodacetamid) oder Bis(chloracetamid) eingeführt, das mit einem Cystein in Position  $i$  und  $i+7$  oder  $i$  und  $i+11$  reagieren kann. In der  $i, i+7$ -Anordnung ist die  $\alpha$ -helikale Konformation mit dem *cis*-Azobenzolrest ausgeprägter, wohingegen die *trans*-Konfiguration in der  $i, i+11$ -Verbrückung zu einer erhöhten  $\alpha$ -Helizität führt.<sup>[214]</sup> Azobenzol-verbrückte Peptide wurden bereits als schaltbare PPI-Inhibitoren eingesetzt.<sup>[214]</sup>

### 2.3.1.2. Lactamverbrückung

Zeitgleich zu den Disulfid-verbrückten Peptiden wurde berichtet, dass eine Amidbindung zwischen Lysin und Asparaginsäure an Positionen  $i$  bzw.  $i+4$   $\alpha$ -Helizität induzieren kann (**23**; Abbildung 8c).<sup>[190]</sup> Weiterhin ist die Reaktion zwischen zwei Glutaminsäuren an  $i$  und  $i+7$  mit einem Diaminofunktionalisierten Baustein möglich, wodurch zwei Amidbindungen innerhalb einer Verbrückung entstehen.<sup>[215,216]</sup> Potente PPI-Inhibitoren wurden durch die Einführung zweier benachbarter Lactamverbrückungen erhalten.<sup>[217]</sup> Ein ähnlicher Ansatz setzt zwei Lactamverbrückungen über Kreuz ein, wodurch Peptide mit hohem helikalem Anteil entstehen.<sup>[218]</sup>

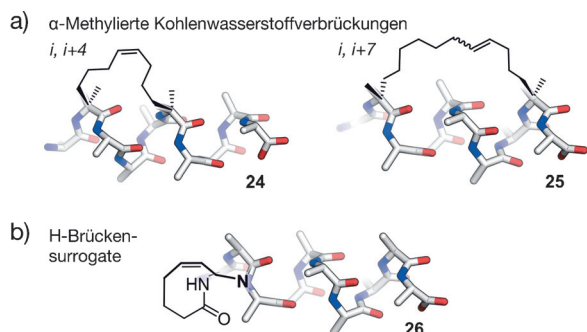
### 2.3.1.3. Triazolverbrückungen

[1,2,3]-Triazole werden über die Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-[3+2]-Cycloaddition, auch bekannt als Klick-Reaktion, generiert und sind wertvolle Strukturen in der organischen Chemie und Wirkstoffentwicklung.<sup>[219,220]</sup> Der Austausch der Lactamverbrückung gegen einen [1,2,3]-Triazolring führt zu Peptiden, die einen ähnlichen  $\alpha$ -helikalen Anteil haben.<sup>[221]</sup> Um diesen Anteil zu verstärken, wurden zwei Triazolverbrückungen eingebaut, was zusätzlich in einer höheren Affinität und Proteasestabilität des Peptids resultierte.<sup>[222]</sup> Des Weiteren können Peptide, die durch zwei Azidogruppen an den Positionen  $i$  und  $i+7$  modifiziert sind, mit einem Linker, der zwei Alkinreste trägt, in einer „Doppel-Klick“-Reaktion reagieren. Diese Reaktion ermöglicht eine vielseitige Einführung zusätzlich funktionalisierter Linker.<sup>[223,224]</sup> Durch die Befestigung von Argininresten an den aromatischen Linker konnte ein modifiziertes Peptid mit verbesserter zellulärer Aufnahme generiert werden.<sup>[225,226]</sup>



2.3.1.4.  $\alpha$ -Methylierte Kohlenwasserstoffverbrückungen

Verdine und Mitarbeiter führten die Hydrocarbon-Peptide-Stapling-Technik ein (Abbildung 9a).<sup>[192]</sup> Sie kombiniert



**Abbildung 9.** RCM-verbrückte  $\alpha$ -helikale Peptide: a) Stapled-Peptide: verbrückte  $\alpha$ -methylierte Bausteine an Position  $i, i+4$  (**24**) und  $i, i+7$  (**25**); b) H-Brückensurrogate: kovalenter Austausch der H-Brücke zwischen der N-terminalen Aminosäure ( $i$ ) und der Aminosäure an Position  $i+3$  (**26**).

zwei Ansätze zur Stabilisierung von  $\alpha$ -Helices: 1) die Methylierung von  $\alpha$ -Kohlenstoffatomen und 2) die Einführung kovalenter Seitenketten-Seitenketten-Verbrückungen. Bei der Synthese von so genannten Stapled-Peptiden werden während der Festphasenpeptidsynthese  $\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -alkenyl-aminosäuren eingebaut. In Analogie zu den schon beschriebenen Homoserin-*O*-allylethern<sup>[227,228]</sup> werden auch diese modifizierten Aminosäuren über Ringschlussmetathese (RCM) verbrückt. Es wurde beobachtet, dass eine minimale Verbrückungslänge für einen hohen RCM-Umsatz notwendig ist und dass nicht alle makrocyclischen Peptide eine erhöhte  $\alpha$ -Helizität aufweisen. Die besten Resultate wurden mit Modifikationen an Positionen  $i$  und  $i+4$  oder  $i$  und  $i+7$  erzielt. Für Stapled-Peptide, die eine Helixkehre überspannen, werden zwei *S*-konfigurierte nichtnatürliche Aminosäuren an den Positionen  $i$  und  $i+4$  über einen C<sub>8</sub>-Linker verbunden (**24**). Die Umfassung zweier Helixkehren wird durch den Einsatz eines *R*-konfigurierten Bausteins an Position  $i$  und eines *S*-konfigurierten an  $i+7$  erreicht (**25**), wobei ein C<sub>11</sub>-Linker verwendet werden muss.<sup>[192]</sup> Des Weiteren wurden  $i, i+3$ -Stapled-Peptide mit einer *R*-konfigurierten Aminosäure an Position  $i$  und einer *S*-konfigurierten an  $i+3$  mit einem C<sub>8</sub>- oder C<sub>6</sub>-Linker beschrieben<sup>[229,230]</sup> und kürzlich auch als PPI-Inhibitoren eingesetzt.<sup>[87,231]</sup> Eine Erweiterung der Verbrückungstechnologie wird erreicht, indem zwei isolierte Kohlenwasserstoffverbrückungen gleichzeitig eingebaut werden.<sup>[232]</sup> Durch zwei Verbrückungen, die über einen zentralen Spiroring verbunden sind, können so genannte Stitched-Peptide aufgebaut werden.<sup>[233]</sup> Gegenüber konventionell verbrückten Peptiden sind Stitched-Peptide chemisch und proteolytisch stabiler und zeigen eine erhöhte Zellpermeabilität, allerdings wurden sie bisher noch nicht für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren eingesetzt. Im Allgemeinen haben Stapled-Peptide einen höheren  $\alpha$ -helikalen Anteil, eine verbesserte Proteasestabilität und in vielen Fällen eine höhere Zellpermeabilität als ihre natürlichen Vorläufer.<sup>[234–237]</sup> In einigen Fällen ist jedoch eine umfangreiche Sequenzoptimierung nötig, um eine effiziente Zellpermeabilität

zu gewährleisten.<sup>[234,238]</sup> Wegen der Robustheit der RCM-Reaktion<sup>[239]</sup> und der verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften der Stapled-Peptide wurde diese Technik vielfach für die Stabilisierung von  $\alpha$ -helikalen Peptiden und die Entwicklung von PPI-Inhibitoren angewendet.

## 2.3.2. N-Terminale Kappe

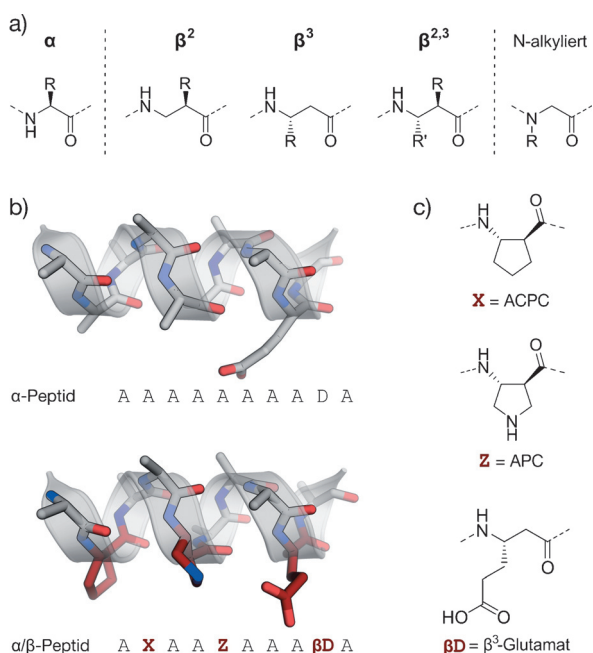
Aus einer Strukturdatenanalyse geht hervor, dass sich Proteinreste, die H-Brücken eingehen können, mit erhöhter Wahrscheinlichkeit am N-terminalen Ende einer  $\alpha$ -Helix befinden. Eine Erklärung dafür sind Helix-fördernde Seitenketten-Rückgrat-Interaktionen.<sup>[85,86,240]</sup> Zum Beispiel bilden Aspartat oder Asparagin, die sich am äußersten N-terminalen Ende einer  $\alpha$ -Helix ( $i$ ) befinden, oft eine H-Brücke zum Rückgratamid an Position  $i+2$ . Die Einführung von artifiziellen N-terminalen Kappungsmotiven, so genannten N-Caps, kann für die Initiierung der  $\alpha$ -Helixbildung genutzt werden. Da die Initiierung der Helixbildung der energetisch ungünstigste Schritt ist, sind N-Caps in der Lage, mehrere Kehren einer  $\alpha$ -Helix zu stabilisieren.<sup>[241]</sup> Die erfolgreichsten N-Caps für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren sind H-Brückensurrogate (HBSs), in denen die H-Brücke zwischen der N-terminalen Aminosäure ( $i$ ) und dem Amidproton an Position  $i+3$  gegen einen kovalenten Linker ausgetauscht wird. Unter diversen Linker-Typen bilden Hydrazon-, Thioether- und Kohlenwasserstoffverbrückungen (**26**; Abbildung 9b) die prominentesten Beispiele.<sup>[241–243]</sup> Der Einbau der letztgenannten führt zu Peptiden mit erhöhter Bioverfügbarkeit und Affinität zum Zielprotein und ermöglicht eine Stabilisierung, ohne dabei eine Aminosäureseitenkette zu opfern.<sup>[244–246]</sup> Dies ist vor allem dann wichtig, wenn alle Aminosäurereste an der Erkennung des Zielproteins beteiligt sind.<sup>[247]</sup>

## 2.3.3. Foldamere

Foldamere sind nichtnatürliche oligomere Strukturen mit vorhersehbaren Faltungseigenschaften.<sup>[248–252]</sup> Innerhalb der Foldamere bilden  $\beta$ -Peptide, Peptoide, Hybride und eine Mischung aus  $\alpha$ -Peptiden und Peptoiden mögliche Strukturgerüste für die Entwicklung von Inhibitoren Helix-vermittelter PPIs. Foldamere vereinen die Faltungseigenschaften von  $\alpha$ -helikalen Peptiden mit proteolytischer<sup>[253]</sup> und metabolischer Stabilität (Abbildung 10).<sup>[254]</sup>

2.3.3.1.  $\beta$ -Peptide

$\beta$ -Peptide sind die bestuntersuchten Foldamere mit detailliert charakterisierten Faltungseigenschaften.<sup>[255,256]</sup> Sie werden durch Kupplung von  $\beta$ -Aminosäuren synthetisiert, die eine zusätzliche Rückgratmethylengruppe tragen. Es gibt folgende  $\beta$ -Aminosäuretypen:  $\beta^2$ - oder  $\beta^3$ -Bausteine, die eine Seitenkette entweder an C<sub>2</sub> oder C<sub>3</sub> haben, und  $\beta^{2,3}$ -Bausteine, die an beiden Kohlenstoffatomen substituiert sind.  $\beta$ -Peptide können mehrere helikale Konformationen einnehmen, z.B. die 14-Helix (3<sub>14</sub>-Helix) oder 12-Helix (2.5<sub>12</sub>-Helix). 14-Helices bestehen aus  $\beta^3$ -Aminosäuren und werden durch 14-gliedrige Ringe stabilisiert, die durch H-Brücken zwischen



**Abbildung 10.** Foldamere: a)  $\alpha$ -Peptide,  $\beta$ -Peptide und Peptoide (N-alkyliert); b)  $\alpha$ -Peptid und  $\alpha/\beta$ -Peptid in Stabdarstellung (Cartoondarstellung der Helix ist transparent).  $\beta$ -Aminosäuren sind rot hervorgehoben; c) Häufig verwendete  $\beta$ -Aminosäuren in  $\alpha/\beta$ -Peptiden (ACPC: *trans*-2-Aminocyclopentancarbonsäure, APC: *trans*-3-Aminopyrrolidin-4-carbonsäure,  $\beta$ D:  $\beta^3$ -Glutamat als Beispiel für  $\beta^3$ -Aminosäuren).

den Amidprotonen an Position  $i$  und den Carbonylsauerstoffatomen an Position  $i+2$  entstehen, wodurch drei Reste eine Kehre bilden. Die 14-Helix hat die für  $\alpha$ -Helices typische linkshändige Chiralität, aber einen entgegengesetzten Gesamtmakrodipol. Die Seitenketten sind auf insgesamt drei Seiten der Helix ausgerichtet. Die 12-Helix ist durch H-Brücken zwischen dem Carbonylsauerstoffatom an Position  $i$  und dem Amidproton an  $i+3$  stabilisiert, wodurch auf eine Kehre 2,5 Reste kommen. Die Orientierung des Makrodipols entspricht der einer  $\alpha$ -Helix. In organischen Lösungsmitteln haben  $\beta$ -Peptide eine höhere Tendenz, Helices zu bilden, als die entsprechenden  $\alpha$ -Peptide; in wässrigen Lösungen allerdings scheint es genau umgekehrt zu sein. Um eine korrekte Faltung auch in wässrigen Lösungen zu erreichen, wurden verschiedene Ansätze entwickelt: der Einbau von cyclischen  $\beta$ -Aminosäuren,<sup>[248,257]</sup> intramolekularen Salzbrücken ( $\beta^3$ -Glu/ $\beta^3$ -Lys und  $\beta^3$ -Glu/ $\beta^3$ -Orn),<sup>[258–260]</sup>  $\gamma$ -verzweigten  $\beta^3$ -Aminosäuren am ersten Seitenketten-Kohlenstoffatom oder Kohlenwasserstoff- bzw. Dietherverbrückungen<sup>[261,262]</sup> sowie Stabilisierung des Helixmakrodipols.<sup>[263]</sup>

Durch den Einbau von cyclischen  $\beta$ -Aminosäuren mit unterschiedlichen sterischen Ansprüchen ist es möglich, einen gewissen Helixtyp zu begünstigen. Der sechsgliedrige ACHC-Baustein bevorzugt die Bildung einer 14-Helix, wohingegen die fünfgliedrige ACPC-Einheit die 12-Helix begünstigt (ACHC = *trans*-2-Aminocyclohexancarbonsäure, ACPC = *trans*-2-Aminocyclopentancarbonsäure). Wie bei den  $\alpha$ -Peptiden ist ein großer Nachteil der  $\beta$ -Peptide deren schlechte Zellpermeabilität. Die Einführung von kationischen Bereichen sowie Kohlenwasserstoff- oder Dietherbrücken kann

dabei zu einer Verbesserung der zellulären Aufnahme führen.<sup>[262]</sup>

### 2.3.3.2. $\alpha/\beta$ -Peptide

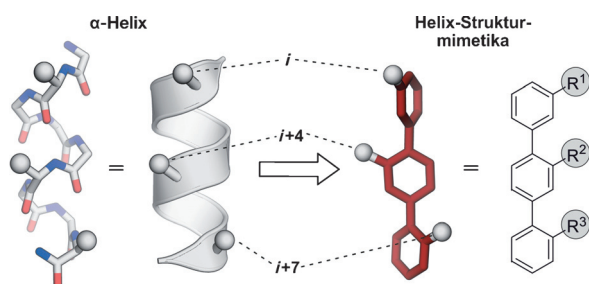
Die Kombination aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Aminosäuren führt zu einem breiten Spektrum an heterogenen Foldameren mit unterschiedlichen, modulierbaren Faltungseigenschaften.<sup>[264–266]</sup> Folglich wurden  $\alpha/\beta$ -Peptide eingesetzt, um eine simultane Verbesserung der  $\alpha$ -Helixnachahmung und Proteaseresistenz zu erlangen.<sup>[267]</sup> Dabei werden  $\alpha$ -Aminosäuren für die Oberflächenerkennung genutzt, während  $\beta$ -Aminosäuren (hauptsächlich rigide cyclische  $\beta$ -Aminosäuren und  $\beta^3$ -Glu- $\beta^3$ -Lys-Paare für intramolekulare Salzbrücken) eingesetzt werden, um die helikale Konformation zu unterstützen.<sup>[268]</sup> Für die Bildung einer stabilen Helix werden weniger Reste benötigt als bei  $\alpha$ -Peptiden.<sup>[269]</sup> Während acyclische  $\beta^3$ -Aminosäuren und  $\beta$ -verzweigte  $\alpha$ -Aminosäuren die Helizität absenken, führen  $\alpha,\alpha$ -disubstituierte Reste zu verbesserten Faltungseigenschaften.<sup>[270]</sup> Die Kombination aus  $\alpha/\beta$ - und  $\alpha$ -Peptiden und der Einbau von Mustern wie „ $\alpha\beta\alpha\alpha\beta$ “ oder „ $\alpha\alpha\alpha\beta$ “ sind nützliche Ansätze für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren.

### 2.3.3.3. Peptoide

Peptoide sind aus  $\alpha$ -Aminosäuren aufgebaut, die ihre Seitenketten am Amidstickstoff- statt am  $\alpha$ -Kohlenstoffatom tragen.<sup>[271–273]</sup> Diese Foldamere ermöglichen ein hohes Maß an Diversität, sind gegenüber Proteasen hoch resistent und zeigen eine verbesserte Zellpermeabilität. Peptoide können auch chirale Helices ähnlich zur Typ-I-Polyprolinhelix bilden.<sup>[274]</sup> Die Amidbindungen nehmen eine *cis*-Geometrie ein, und der Makrodipol ist  $\alpha$ -helikalen Peptiden entgegengesetzt orientiert. Die Gegenwart chiraler Seitenketten kann die helikale Konformation unterstützen. Bei Peptoiden wird die helikale Struktur üblicherweise nicht von H-Brücken stabilisiert, wodurch sie in diversen Lösungsmitteln und pH-Bereichen beständig ist. Die Kombination aus  $\alpha$ -Aminosäuren und Peptoidmonomeren erbrachte bereits potente PPI-Inhibitoren.<sup>[275,276]</sup>

### 2.3.3.4. Helix-Strukturmimetika

Während Foldamere noch einen Peptidcharakter aufweisen, schlugen Hamilton et al. ein komplett anderes Strukturgerüst für die Nachahmung von  $\alpha$ -Helices vor. Sie beschrieben den Austausch des gesamten Peptidrückgrats durch eine stabförmige, niedermolekulare Struktur, die die Seitenkettenprojektion von Resten mit einem relativen Abstand von  $i$ ,  $i+4$  (oder  $i+3$ ) und  $i+7$  nachahmt (Abbildung 11).<sup>[277]</sup> Ziel war es, die Oberfläche einer  $\alpha$ -Helix akkurat nachzuahmen, von einer modularen und divergenten Synthese zu profitieren und verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften zu erlangen (z.B. Proteaseresistenz, orale Verfügbarkeit). Das erste entsprechende Mimetikum basierte auf einem funktionalisierten Terphenylgerüst (Abbildung 11, rechts). Später wurden weitere Strukturgerüste untersucht; diese können je nach Beschaffenheit ihrer konformativen

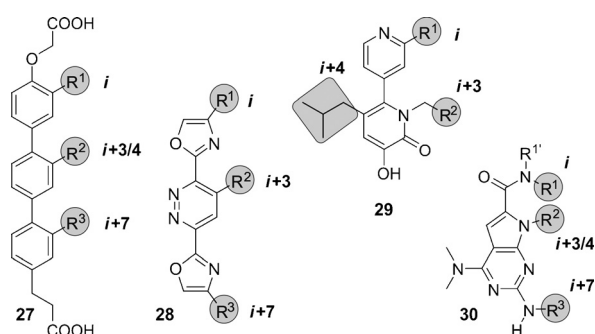


**Abbildung 11.** Konzept von  $\alpha$ -Helix-Strukturmimetika (Klasse C). Links: Stab- und Cartoondarstellung einer  $\alpha$ -Helix. Die Seitenketten  $i$ ,  $i+4$  und  $i+7$  sind als Sphären dargestellt. Rechts: Stabdarstellung und chemische Struktur eines Terphenyl-Strukturmimetikums. Die Substituenten  $R^1$ ,  $R^2$  und  $R^3$  ahmen die dreidimensionale Projektion der Seitenketten  $i$ ,  $i+4$  und  $i+7$  einer  $\alpha$ -Helix nach.

Rigidität in folgende Gruppen eingeteilt werden: sterisch gesteuerte, H-Brücken-gesteuerte und kovalent eingeschränkte Strukturgerüste. Natürlich ist auch eine Kombination dieser Ansätze möglich. Für eine allgemeine Übersicht zu  $\alpha$ -Helix-Strukturmimetika verweisen wir auf die einschlägige Literatur.<sup>[278,279]</sup> Wir widmen uns in den folgenden Abschnitten den Strukturen, die für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren verwendet wurden.

#### 2.3.4.1. Sterisch gesteuerte Strukturgerüste

Im Terphenylgerüst **27** wird einerseits die Coplanarität der Phenylringe durch Konjugation der aromatischen Ringe favorisiert; andererseits bewirken sterische Wechselwirkungen der *ortho*-Substituenten eine Verdrehung der Ringe zueinander (Abbildung 12).<sup>[277]</sup> Diese gestaffelte Konformation ahmt zwei Kehren einer  $\alpha$ -Helix nach. Terphenyl-basierte Inhibitoren wurden für eine Reihe von PPIs entwickelt. Allerdings sind diese niedermolekularen Strukturen konformativ sehr heterogen und nur unter hohem Synthesaufwand zugänglich.<sup>[280,281]</sup> Hinzu kommt, dass Terphenyle sehr hydrophob und schlecht wasserlöslich sind. Um diesen negativen Eigenschaften entgegenzuwirken, wurden die aromatischen Ringe durch fünf- und sechsgliedrige Heterocyclusen

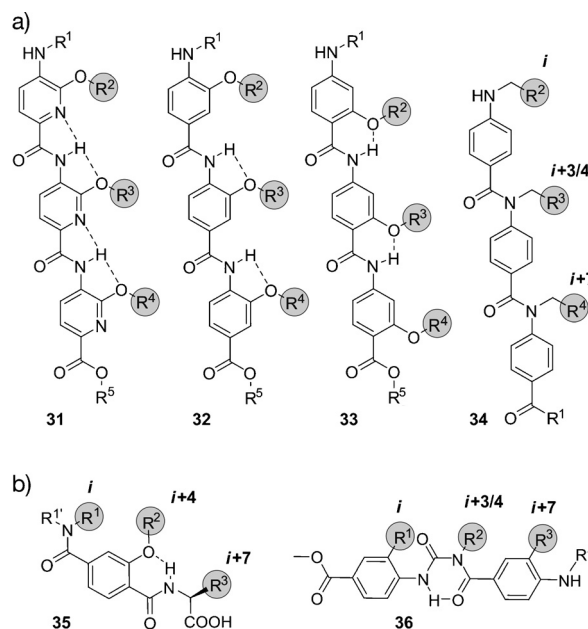


**Abbildung 12.** Chemische Strukturen der sterisch gesteuerten  $\alpha$ -Helix-Strukturmimetika: Terphenyl- (**27**), heterocyclische (**28** und **29**) und Pyrrolopyrimidin-Strukturgerüste (**30**). Die grau hervorgehobenen Substituenten ahmen die Seitenketten einer  $\alpha$ -Helix an den Positionen  $i$ ,  $i+3/4$  und  $i+7$  nach.

ersetzt (Abbildung 12). Die resultierenden amphiphilen, heterocyclischen Strukturgerüste (**28**) sind polarer, weil sich die Heteroatome auf einer Molekülseite akkumulieren und die andere Seite für intermolekulare Wechselwirkungen genutzt wird.<sup>[282–285]</sup> Wie bei den Terphenylen bestimmen sterische Faktoren die räumliche Anordnung des Gerüsts. Des Weiteren wurden Strukturgerüste mit neuen Anordnungen der Substituenten entwickelt. Hamilton et al. haben z. B. eine Reihe Pyridylpyridon-abgeleiteter Verbindungen (**29**) entwickelt, welche die Positionen  $i$ ,  $i+3$  und  $i+4$  einer  $\alpha$ -Helix nachahmen. Die Mimikry der bioaktiven Konformation des LXXLL-Motivs, das vom Coaktivatorprotein des Estrogenrezeptors stammt, konnte durch Röntgenstrukturanalyse bestätigt werden.<sup>[286]</sup> Diese Strukturgerüste wurden erstmals auch für die Inhibition hydrophiler PPIs genutzt.<sup>[287]</sup> Später entwickelten Lim und Mitarbeiter Pyrrolopyrimidine (**30**);<sup>[288]</sup> diese haben ein rigideres Gerüst mit einer hetero-bicyclischen Struktur, welche die Orientierung der Reste  $i$ ,  $i+3$  (oder  $i+4$ ) und  $i+7$  einer  $\alpha$ -Helix nachahmt (Abbildung 12). Die unkomplizierte Festphasensynthese ermöglichte die Synthese ganzer Bibliotheken, und es konnte gezeigt werden, dass diese wasserlöslichen Verbindungen auch zellpermeabel sind.

#### 2.3.4.2. H-Brücken-gesteuerte Strukturgerüste

Oligoamide (**31–34**) sind leicht durch Festphasensynthese zugänglich (Abbildung 13a), sodass die Seitenketten leicht variiert und Bibliotheken erstellt werden können.<sup>[289]</sup> Die intramolekularen H-Brücken stellen sicher, dass die Substituenten auf einer Seite der Verbindung ausgerichtet sind, was die Helixnachahmung ermöglicht. Oligoamide können in vier



**Abbildung 13.** Chemische Strukturen H-Brücke-gesteuerter  $\alpha$ -Helixmimetika: Oligopicolinamid oder Trispyridylamid (**31**), 3-O-alkyliertes (**32**), 2-O-alkyliertes (**33**), N-alkyliertes Oligobenzamid (**34**), Terephthalamid (**35**) und Benzoylharnstoff (**36**). Die grau hervorgehobenen Substituenten ahmen die  $i$ -,  $i+3/4$ - und  $i+7$ -Seitenketten einer  $\alpha$ -Helix nach.



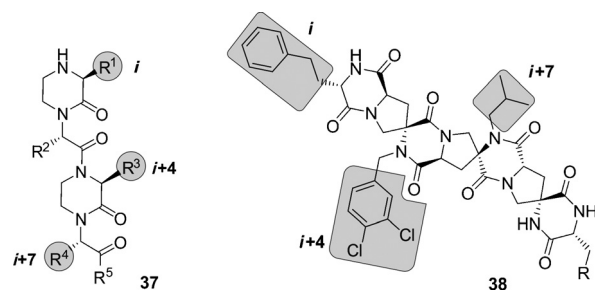
Subklassen aufgeteilt werden: die Oligopicolinamide oder Trispyridylamide (**31**),<sup>[289]</sup> die 3-O-alkylierten Oligobenzamide (**32**),<sup>[290–292]</sup> die 2-O-alkylierten Oligobenzamide (**33**)<sup>[293]</sup> und die N-alkylierten Oligobenzamide (**34**).<sup>[294,295]</sup> Strukturuntersuchungen bestätigen, dass das Trispyridylamidgerüst **31** durch zwei um das Amidproton zentrierte H-Brücken verfestigt ist (Abbildung 13). Interessanterweise erzeugen diese H-Brücken eine deutliche Strukturspannung, wodurch die Krümmung des Strukturgerüsts und eine ekliptische Konformation der *i*-, *i*+4- (oder *i*+3-) und *i*+7-Seitenketten verursacht wird. Da es bei den O-alkylierten Oligobenzamiden (**32** und **33**) nur eine H-Brücke gibt, sind sie flexibler und weniger gekrümmt. Die Kombination aus Pyridin- und Phenylringen ermöglicht eine Justierung der Rückgratkrümmung,<sup>[296]</sup> wobei dies auch durch Veränderung des Substitutionsmusters am aromatischen Ring möglich ist. Folglich sind 2-O-alkylierte Oligobenzamide (**33**) weniger gekrümmt als 3-O-alkylierte (**32**). Gegenüber den Trispyridylamiden erhöht ein Gemisch aus Pyridin und Phenylringen die Hydrophobie und Flexibilität des Gerüsts, was eine stärker gestaffelte Substituentenanordnung und letztlich potentere PPI-Inhibition ermöglicht. N-Alkylierte Oligoamide (**34**) sind bisher die strukturell einfachsten Oligoamide. Versuche, die Seite des Strukturgerüsts zu funktionalisieren, die nicht für die Erkennung benötigt wird, wurden von Wilson und Mitarbeitern unternommen.<sup>[297,298]</sup> Allerdings bewirkte eine Verbesserung der Löslichkeit gleichzeitig eine Absenkung der Inhibitoraktivität. Ein dimeres Mimetikum aus N-alkylierten Oligoamiden, das keine positive Kooperativität aufweist, wurde durch Klick-Chemie zugänglich gemacht.<sup>[299]</sup> Die Signifikanz stereogener Substituenten wird durch die Arbeiten von Wilson et al. deutlich, die kürzlich ein Hybridmimetikum beschrieben, das Monomere der 2-O-, 3-O-, und N-alkylierten Oligoamide und  $\alpha$ -Aminosäuren kombiniert.<sup>[300]</sup> Oligoamid-basierte Strukturgerüste wurden bereits als PPI-Inhibitoren beschrieben. So stellten DeGrado et al. ein Thioester-substituiertes Arylamidgerüst,<sup>[301]</sup> Hamiltons Gruppe ein Biphenyl-4,4'-dicarboxamidgerüst<sup>[302]</sup> sowie Boger und Whitby eine vereinfachte Version des 3-O-alkylierten Oligobenzamids vor,<sup>[303]</sup> wodurch die Synthese großer Substanzbibliotheken für ein Screening von PPI-Inhibitoren möglich ist. Generell scheinen Oligoamide weniger wirksame PPI-Inhibitoren zu liefern als das Terphenyl-Strukturgerüst, allerdings sind sie leichter zugänglich und modifizierbar.

Terephthalamide (**35**; Abbildung 13b) sind rigide und wasserlösliche Helixmimetika, die leichter synthetisierbar als Terphenyle sind.<sup>[304]</sup> Der eingeschränkte Rotationsfreiheitsgrad um die Amidbindungen und die intramolekulare H-Brücke ordnen die funktionellen Gruppen wie die *i*-, *i*+4- und *i*+7-Reste einer  $\alpha$ -Helix an. Unter den Terephthalamiden wurden, ähnlich wie bei den Terphenylen, wirksame PPI-Inhibitoren gefunden, allerdings mit einem Löslichkeits- und Synthesevorteil. Bei  $\alpha$ -Helix-vermittelten PPIs gehen die kritischen Wechselwirkungen häufig über die drei Seitenketten hinaus, die normalerweise von nichtpeptidischen PPI-Inhibitoren nachgeahmt werden (*i*, *i*+4 und *i*+7). Wasserlösliche Benzoylharnstoffe (**36**) sind vielversprechende Mimetika, weil das Strukturgerüst mühelos und fortlaufend verlängert werden kann (Abbildung 13b) und hoch asym-

metrische Substitutionen ermöglicht.<sup>[305]</sup> Dabei sind die aromatischen Ringe des Terphenylgerüsts durch sechsgliedrige, H-Brücken-vermittelte Ringe ersetzt. Dies führt zu einer erhöhten Hydrophilie, einer gewissen Rigidität und einer gestaffelten Anordnung der Substituenten. Die modulare Synthese amphiphiler Benzoylharnstoffe, die simultan die *i*-, *i*+1, *i*+4-, *i*+6- und *i*+8- oder die *i*-, *i*+1-, *i*+4-, *i*+7- und *i*+8-Positionen einer  $\alpha$ -Helix nachahmen, wurde beschrieben.<sup>[306]</sup> Benzoylharnstoffe können damit zwei  $\alpha$ -helikale Kehren einer  $\alpha$ -Helix nachahmen. Ihre Fähigkeiten als PPI-Inhibitoren wurden bisher noch nicht getestet.

### 2.3.4.3. Kovalent eingeschränkte Strukturgerüste

Oligooxopiperazine (OHMs, **37**) wurden erstmals von Arora und Tošovská beschrieben (Abbildung 14).<sup>[307]</sup> Promi-



**Abbildung 14.** Chemische Strukturen kovalent eingeschränkter  $\alpha$ -Helix-Strukturmimetika: Oligooxopiperazin (**37**) und Spirologomer (**38**). Die grau hervorgehobenen Substituenten ahmen die *i*-, *i*+3/4- und *i*+7-Seitenketten einer  $\alpha$ -Helix nach.

nente Eigenschaften dieses Aminosäure-abgeleiteten Gerüsts sind die Abwesenheit aromatischer Ringe und das chirale Rückgrat. Strukturuntersuchungen bestätigen die Nachahmung der *i*-, *i*+4- und *i*+7-Substituenten einer  $\alpha$ -Helix, wenn die Amide die bevorzugte *trans*-Konformation einnehmen. Ein Oxopiperazindimer hat ungefähr die Länge einer achtmeren  $\alpha$ -Helix und hat eine wohldefinierte Struktur, die stark von der Cyclisierung des Peptidrückrats unterstützt wird. Die Chiralität kann die Vororganisation dabei weiter fördern und ist damit eine wertvolle Eigenschaft dieses Gerüsts. Spirologomere (**38**) sind ebenfalls chirale, kovalent eingeschränkte Strukturgerüste (Abbildung 14).<sup>[308]</sup> Dabei bestimmen die einzelnen Spiromonomere die dreidimensionale Struktur und die Ausrichtung der Substituenten. Bei der Synthese werden zuerst in der so genannten Anordnungsphase die Bis(aminosäuren) an der Festphase gekuppelt. In der Verfestigungsphase werden die Diketopiperazinringe geschlossen, um das finale, rigide Gerüst zu bilden.<sup>[309,310]</sup> Für stark eingeschränkte Diketopiperazine (mit fünf oder sechs Substituenten) wurde eine Reaktion entwickelt, die mit der Festphasensynthese kompatibel ist.<sup>[310]</sup> Konfokale Mikroskopie zeigte eine gute Zellpermeabilität des Strukturgerüsts durch passive Diffusion.<sup>[311]</sup> Des Weiteren konnte mit den Spirologomeren die Annahme, dass chirale Strukturen eine höhere Inhibitoraktivität zur Folge haben, bestätigt werden. Als letztes Beispiel sind die von Zhang et al. be-

schriebenen Strukturmimetika auf Basis von Cross-Acridin zu nennen. Diese sind am Terminus funktionalisiert und ahmen dadurch die  $i$ -,  $i+3$ -,  $i+5$ - und  $i+7$ -Seitenketten einer  $\alpha$ -Helix nach. Die Struktur ist achiral und aromatisch. In diesem Fall wird die nachahmende Wirkung durch die Gegenwart von Doppel- oder Amidbindungen und die starke Rigidität des multicyclischen Strukturgerüsts unterstützt.<sup>[312]</sup>

### 3. Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren

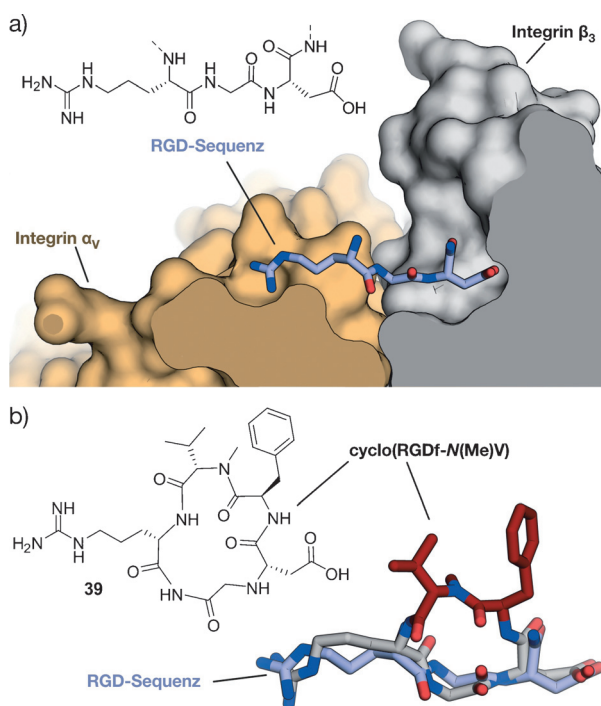
Peptid-inspirierte PPI-Inhibitoren wurden für verschiedene Zielproteine generiert. Einige Proteine haben sich im Laufe der Zeit zu Modellsystemen entwickelt, an denen die Eigenschaften von Peptidmimetika getestet werden konnten. Dazu gehören z.B. die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs), die Apoptoseregulatoren MDM2/MDMX und die BCL-2-Proteinfamilie. In Abschnitt 3 diskutieren wir die neuesten Entwicklungen der Mimetika der Klassen A–C für diese Modellsysteme und weitere Proteine, einschließlich den kleinen GTPasen, Transkriptions- und Enzymregulatoren sowie pathogenen Proteinen.

#### 3.1. Transmembranrezeptoren

Transmembranrezeptoren sind wichtige Signalvermittler zwischen extra- und intrazellulären Ereignissen. Ihre Fehlfunktion wird mit pathogenen Zuständen, wie metabolischen Störungen oder Krebs, in Verbindung gebracht.<sup>[313–316]</sup> Rezeptoren reagieren auf die Bindung von Effektoren, die niedermolekulare Verbindungen, Peptidhormone oder auch Proteinliganden sein können. Für manche Signalnetzwerke ist die Bindung eines zusätzlichen Cofaktors notwendig. Einige peptidstämmige PPI-Inhibitoren wurden für die Bindung bestimmter Rezeptoren entwickelt; dazu gehören z.B. helikale  $\beta$ -Peptide, die die Wechselwirkung zwischen dem Scavengerrezeptor B und dem High-Density-Lipoprotein inhibieren,<sup>[317]</sup> oder  $\alpha/\beta$ -Peptide, die die Rezeptorbindungsstelle des Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF) binden.<sup>[90]</sup> Eine Hyperaktivität der Epidermal-Growth-Factor-Rezeptor (EGFR)-Tyrosinkinase wird bei der Entstehung und Progression verschiedener Krebsarten beobachtet.<sup>[314]</sup> EGFR-Inhibitoren binden entweder die extrazelluläre Rezeptorbindungsstelle<sup>[318]</sup> und die intrazelluläre Adenosintriphosphat-Bindungsstelle,<sup>[314,319]</sup> oder sie behindern die Wechselwirkung zwischen EGFR und dem Cofaktor Grb2 (Growth factor receptor-bound protein 2).<sup>[320]</sup> Ein für die Rezeptoraktivität entscheidender Schritt ist die Dimerisierung, die über eine Coiled-Coil-Struktur vermittelt wird.<sup>[321]</sup> Schepartz und Mitarbeiter konnten diese Dimerisierung mit Stapled-Peptiden inhibieren<sup>[322]</sup> und eine Aktivität in zellbasierten Assays nachweisen.<sup>[323]</sup> In diesen Assays zeigen die entsprechenden Peptide mit offenen Verbrückungen, d.h. zwei Olefinseitenketten, interessanterweise eine ähnliche Aktivität.<sup>[324]</sup> Kürzlich wurde von einem weiteren Inhibitor der EGFR-Dimerisierung berichtet, der aus einem nichthelikalen Peptid mit einer Triazolylverbrückung besteht.<sup>[157]</sup>

GPCRs sind eine große Familie von Transmembranrezeptoren, die durch eine Vielzahl unterschiedlicher Liganden, darunter auch Peptidhormone, aktiviert werden können. Inhibitoren der Peptidligand-Rezeptor-Wechselwirkung, die thematisch hier nicht abgehandelt werden können, sind in einem Übersichtsartikel von Fairlie und Mitarbeitern zusammengefasst.<sup>[70]</sup> Die Ähnlichkeit der Wechselwirkungen von Rezeptoren mit Peptiden und Proteinen lässt darauf schließen, dass die grundlegenden Konzepte der Hemmung von Peptid-Rezeptor-Wechselwirkungen auch für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren gelten könnten. Beispielsweise wurden Benzodiazepine in Angiotensin II eingebaut, da die bioaktive Konformation von Angiotensin II eine  $\beta$ -Kehre enthält. Das finale Peptidmimetikum zeigte eine Affinität zu AT1- und AT2-Rezeptoren.<sup>[325]</sup> In einem weiteren Beispiel wurde ein Agonist des Somatostatinrezeptors entwickelt, indem auf einem Glucosegerüst Somatostatinseitenketten in einer  $\beta$ -Kehrenkonformation angeordnet wurden.<sup>[77]</sup> Eine *trans*-Pyrollidin-3,4-dicarboxamid-Strukturbibliothek brachte hochaffine Liganden des humanen Opioidrezeptors hervor.<sup>[83]</sup> *trans*-Pyrollidin-3,4-dicarboxamid und das Glucosegrundgerüst entsprechen Kehren-Strukturmimetika (Klasse C).<sup>[83]</sup> GPCR-Proteineffektoren, wie der Melanocortinrezeptor (MCR), interagieren mit Agouti (ASP) und dem Agouti-verwandtem Protein (AGRP). Die NMR-Struktur der C-terminalen Bindungsstelle enthüllt einen Cysteinknoten, der drei kritische Reste in einer Kehrenstruktur anordnet.<sup>[326,327]</sup> Das isolierte Bindungsmotiv kann chemisch durch den Einbau einer Lactam- statt Disulfidverbrückung stabilisiert werden.<sup>[328]</sup> Andere GPCRs erkennen ihre Bindungspartner über helikale Interaktionsdomänen. Im Falle des vasoaktiven, intestinalen Peptidrezeptors 2 (VPAC<sub>2</sub>) zeigte ein Stapled-Peptid eine erhöhte Wirksamkeit,<sup>[329]</sup> wohingegen helikale  $\alpha/\beta$ -Peptide die Interaktion zwischen Parathormon und dem Parathormon-assoziiertem Peptidrezeptor inhibieren.<sup>[330]</sup>

In Wirbeltieren sind Integrine für die Interaktion der extrazellulären Matrixproteine mit der Zelloberfläche und für die Zell-Zell-Adhäsion wichtig. Die Fehlregulation bestimmter Integrinrezeptoren wird mit einigen Erkrankungen, darunter Krebs, assoziiert.<sup>[313]</sup> Integrine sind aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Untereinheit aufgebaut und viele erkennen ihre Bindungspartner über eine Arg-Gly-Asp(RGD)-Sequenz (Abbildung 15a).<sup>[331]</sup> Um konformative Einschränkungen einzubauen, führten Kessler und Mitarbeiter RGD-Sequenzen in cyclische Pentapeptide ein, wodurch sich deren Aktivität und Bioverfügbarkeit erhöhten.<sup>[52,332]</sup> Die weitere Optimierung mittels NMR-Spektroskopie-basierter Strukturuntersuchungen führte zur Identifikation des makrocyclischen Inhibitors cyclo(RGDfV) oder Cilengitide.<sup>[333]</sup> Interessanterweise ist das D-Phenylalanin (f) an weiteren hydrophoben Kontakten zum Zielprotein beteiligt und trägt zugleich zur konformativen Einschränkung des Makrocyclus bei. Die Valinseitenkette zeigt keine direkten Wechselwirkungen,<sup>[334]</sup> was den Austausch gegen ein Lysin und weitere anschließende Modifikationen ermöglichte.<sup>[335]</sup> Andere Veränderungen, wie die Substitution der Amidbindungen durch Thioamide, die Retroinversion<sup>[336]</sup> oder die Einführung einer Kehren-induzierenden Aminosäure oder eines Kehrenmimetikums,<sup>[334,337]</sup> führen zu einer reduzierten Affinität infolge der veränderten



**Abbildung 15.** RGD-Integrin-Wechselwirkung: a) Kristallstruktur der RGD-Sequenz aus Fibronectin, das an die  $\alpha_v$ - (orange) und  $\beta_3$ -Untereinheit (grau) des Integrinrezeptors bindet (PDB-Code: 4MMX); b) Chemische Struktur des cyclischen Pentapeptids cyclo(RGDf-N(Me)V) (f = D-Phenylalanin) und die mit Fibronectin RGD (grau) überlagerten Kristallstrukturen (grau/rot, PDB-Code: 1L5G)<sup>[341, 342]</sup> (rot = konformativ einschränkende Aminosäuren).

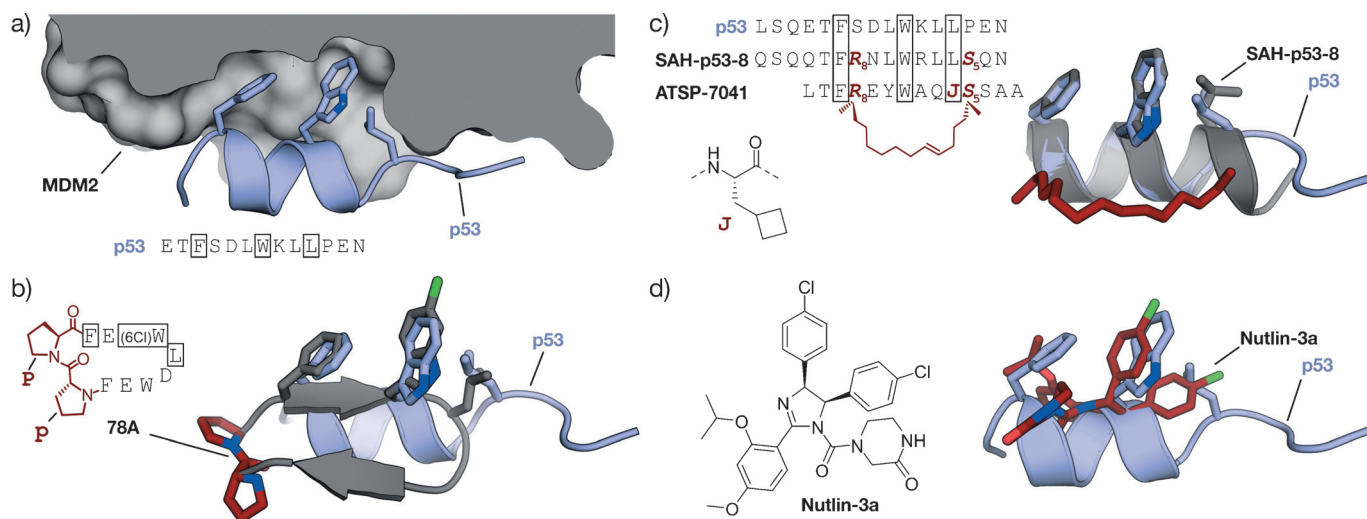
Konformation. Die N-Methylierung des Valins zu cyclo(RGDf-N(Me)V) kombiniert eine hohe Rezeptoraffinität und -selektivität mit verbesserter Biostabilität und oraler Verfügbarkeit (Abbildung 15b).<sup>[67]</sup> Alternativ kann die RGD-

Sequenz auch in so genannte „Cysteinleiter“-Peptide eingebaut werden.<sup>[46]</sup> Diese natürlich vorkommenden cyclischen Peptide beherbergen mehrere, parallel angeordnete Disulfidbrücken. Integrinrezeptoren können auch die LDV-Kehrenstruktur erkennen.<sup>[338]</sup> Basierend auf dieser kurzen Sequenz wurden cyclische Peptide entwickelt, die BTD ( $\beta$ -Kehrendipeptid) als Kehren-induzierendes Element enthalten.<sup>[339]</sup> Andere sind durch eine Rückgratcyclisierung der drei Aminosäuren langen Kehre gekennzeichnet, wodurch die Seitenkettenanordnung unverändert bleibt.<sup>[340]</sup>

### 3.2. Apoptoseregulation

#### 3.2.1. MDM2 und MDMX

MDM2 und MDMX (auch bekannt als MDM4 und HDM4/HDMX) inhibieren den Tumorsuppressor p53. Als Reaktion auf zellulären Stress vermittelt der Transkriptionsfaktor p53 die Expression von Genen, die an Schutzmechanismen, wie DNA-Reparatur, Zellzyklusarrest und Apoptose, beteiligt sind.<sup>[343, 344]</sup> Die Bindung von MDM2 und MDMX an die N-terminale Transaktivierungsdomäne von p53 blockiert diese Beschützerfunktion entweder, indem sie die Ubiquitylierung und anschließende Degradation durch das Proteasom einleitet,<sup>[345]</sup> oder durch direkte Antagonisierung.<sup>[346]</sup> Da MDM2 und MDMX in vielen Krebsarten hochreguliert sind, ist ihre Wechselwirkung mit p53 ein primäres Ziel bei der Bekämpfung von Krebserkrankungen. Die Kristallstrukturen eines Komplexes zwischen MDM2 und der p53-Transaktivierungsdomäne offenbaren eine  $\alpha$ -helikale Konformation der p53-Interaktionsdomäne (Abbildung 16a).<sup>[347]</sup> Zu den p53-Hot-Spots gehören Phe19, Trp23 und Leu26.<sup>[347]</sup> Diese und kristallographische Daten des ähnlich angeordneten p53-MDMX-Komplexes<sup>[348]</sup> wurden als Startpunkt für eine Entwicklung entsprechender PPI-Inhibitoren genutzt. Hierfür wurden auch Startsequenzen verwendet, die aus Phagen-



**Abbildung 16.** MDM2-p53-Wechselwirkung: a) Kristallstruktur von MDM2 (grau) mit der p53-Transaktivierungsdomäne (blau; PDB-Code: 1YCR).<sup>[347]</sup> b) Überlagerte Kristallstrukturen von p53 (blau; PDB-Code: 1YCR) und des cyclischen  $\beta$ -Haarnadelpeptids 78A (grau/rot; PDB-Code: 2AXI). Die D-Pro-L-Pro(p-P)-Verbrückung ist rot hervorgehoben.<sup>[113]</sup> c) Sequenzen der Stapled-Peptide (links). Überlagerte Kristallstrukturen (rechts) von p53 (blau; PDB-Code: 1YCR) und SAH-p53-8 (grau/rot, PDB-Code: 3V3B). Die Verbrückung ist rot hervorgehoben. (Die Seitenketten der eingezeichneten Aminosäuren sind in der Stabdarstellung gezeigt.)<sup>[355]</sup> d) Überlagerte Kristallstrukturen von p53 (blau; PDB-Code: 1YCR) und Nutlin-3a (rot; PDB-Code: 4HG7).<sup>[356]</sup> Alle überlagerten Kristallstrukturen wurden aus Strukturen der Komplexe mit MDM2 oder MDMX entnommen.



Display-Selektionen gewonnen wurden. Die daraus resultierenden Peptide pDi<sup>[349]</sup> und PMI<sup>[350]</sup> zeigen eine duale inhibitorische Wirkung für die p53-MDM2- und p53-MDMX-Wechselwirkung, was für eine effiziente Antikrebsaktivität wünschenswert ist. Alternativ lieferte eine Kombination aus Spiegelbild-Phagen-Display-Technik und nativer chemischer Ligation proteolytisch stabile D-Peptidinhibitoren der p53-MDM2-Wechselwirkung; allerdings sind diese Peptide nur unzureichend zellpermeabel.<sup>[351–353]</sup> Auch die mRNA-Display-Technik hat das Screening größerer Peptidbibliotheken ermöglicht,<sup>[354]</sup> jedoch sind diese Peptide oft proteolytisch instabil und zellundurchlässig.

Derartige peptidische Binder bildeten jedoch die Grundlage für die Entwicklung von Peptidmimetika. Ein älteres Beispiel eines Klasse-A-Mimetikums, das HDM2 in vitro im nanomolaren Bereich bindet, besteht aus einem modifizierten Octapeptid mit vier nichtnatürlichen Aminosäuren.<sup>[357–359]</sup> Dieses Peptid fördert die Akkumulation von p53 in Krebszellen, wodurch der Zelltod durch Apoptose eingeleitet wird.<sup>[360]</sup> Auch hier sind die Nachteile eine geringe Zellpermeabilität und Proteaseresistenz. Später gelang es Robinson und Mitarbeitern, die kritischen Reste der p53-Helix auf eine cyclische  $\beta$ -Haarnadel zu übertragen. Eine Rückgratmakrocyclisierung und der Einbau einer D-Pro-L-Pro(p-P)-Kehre wurden genutzt, um die  $\beta$ -Faltblattstruktur zu stabilisieren. Das modifizierte Peptid zeigte eine gute Affinität zu HDM2.<sup>[114]</sup> Die Sequenzoptimierung durch den Einsatz nichtnatürlicher Aminosäuren führte zu Klasse-B-Mimetika mit verbesserten Affinitäten (Abbildung 16b).<sup>[115]</sup> Dieser innovative Ansatz brachte eine der wenigen stabilisierten  $\beta$ -Faltblattstrukturen hervor, die als PPI-Inhibitor genutzt wurden, und veranschaulicht eindrucksvoll die Austauschbarkeit von Sekundärstrukturen.

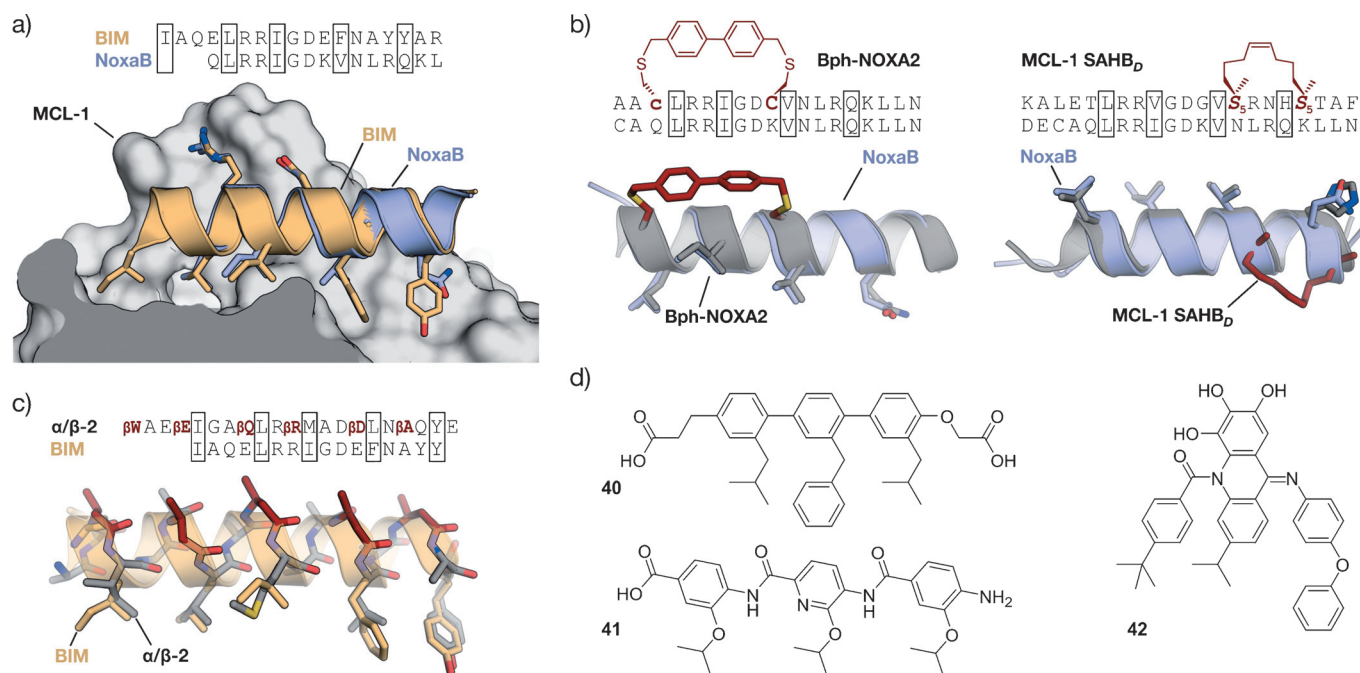
Um die Limitationen bezüglich Zellpermeabilität und Proteasestabilität zu überwinden, wurden Thiol- und Triazolverbrückungen sowie die Hydrocarbon-Peptide-Stapling-Technik für die Entwicklung von Klasse-A-Helixmimetika untersucht. Der Einbau einer Bisarylverbrückung in Position  $i$  und  $i + 7$  der pDi-Sequenz führte zu Peptiden mit moderat erhöhter  $\alpha$ -Helizität und Bioverfügbarkeit, aber einem prominenten Anstieg der Zellgängigkeit. Eine D,L-Dicystein-verknüpfte 6,6'-Bis(brommethyl)-3,3'-bipyridin(Bpy)-Verbrückung trägt durch zusätzliche Kontakte zu MDMX zur Bindungsaffinität bei.<sup>[203]</sup> Eine Verbrückung, die auf der photoinduzierten 1,3-dipolaren Cycloaddition basiert, brachte Peptide mit hoher Affinität zu MDM2 und MDMX hervor. Durch den Einbau positiv geladener Aminosäuren wurde die Zellgängigkeit verbessert, und die duale Inhibition konnte in Zellen nachgewiesen werden.<sup>[361]</sup> Im Vergleich zum Wildtyp-Peptid haben die modifizierten Peptide eine ähnliche Affinität, aber eine verbesserte Proteaseresistenz. Die Inkorporation von Arg-Resten in den Linker führte zu zellgängigen Peptiden.<sup>[225,226]</sup> Alternativ brachten auch HBS-stabilisierte Helices<sup>[362]</sup> and Metallopeptide<sup>[194]</sup> MDM2-Binder hervor.

Eine Reihe  $\alpha$ -helikaler, p53-abgeleiteter Stapled-Peptide (SAH-p53; Abbildung 16c) mit Verbrückungen an  $i$  und  $i + 7$  zeigten eine höhere  $\alpha$ -Helizität, MDM2-Bindungsaffinität und Proteaseresistenz als das Startpeptid. Das Ersetzen ne-

gativ geladener Aminosäuren führte zu zellpermeablen Klasse-A-Mimetika mit In-vivo-Aktivität.<sup>[363,364]</sup> Kristallstrukturen zeigen, dass die Kohlenwasserstoffverbrückung direkt an der MDM2-Bindung teilnimmt, was die deutliche Affinitätssteigerung durch das Hydrocarbon Peptide Stapling erklärt.<sup>[355]</sup> Andere Stapled-Peptide, die als Dualinhibitoren von MDM2 und MDMX fungieren, tragen eine Reihe modifizierter Seitenketten.<sup>[365]</sup> Vor kurzem berichtete beispielsweise Aileron Therapeutics von Stapled-Peptiden, die auf dem pDi-Peptid basieren. Kandidaten wie ATSP-7041 zeigten eine hohe Selektivität und Affinität für MDMX und MDM2 bei zusätzlich verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften. Ein Kandidat dieser Serie befindet sich zurzeit in klinischen Studien.<sup>[365]</sup> ATSP-Peptide binden an mutierte Formen von MDM2, die nicht für niedermolekulare p53-MDM2-Inhibitoren der Nutlinfamilie zugänglich sind (Abbildung 16c).<sup>[238,366]</sup> Nutline sind Klasse-D-Peptidmimetika, die die p53-MDM2-Wechselwirkung inhibieren können.<sup>[367]</sup> Hochdurchsatzscreenings mit Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen erbrachten die ursprüngliche Leitstrukturen, aus denen die Nutline entwickelt wurden, die mit hoher Affinität die p53-Bindungsstelle von MDM2 binden. Das rigide Strukturgerüst ermöglicht eine effiziente Nachahmung der für die Bindung wichtigen Substituentenanordnung (Abbildung 16d). Einige Mitglieder der Nutlinfamilie induzieren einen p53-abhängigen Zellzyklusarrest und Apoptose in Krebszellen und inhibieren sogar Tumorwachstum in Xenograft-Modellen.<sup>[368]</sup>

Foldamere sind validierte Strukturgerüste für die Entwicklung von Klasse-B-Mimetika und erwiesen sich auch für die p53-MDM2-Inhibition als nützlich. Die Reste, die den größten Beitrag zur p53-MDM2-Wechselwirkung leisten (Phe19, Trp23 und Leu26), wurden in die Erkennungsseite eines 14-Helix- $\beta$ -Peptids integriert. Die helikale Struktur wurde mit dem elektrostatischen Makrodipolansatz eingeschränkt, wodurch mikromolare Binder generiert wurden.<sup>[369–371]</sup> Diverse Methoden und verbesserte Verfahren für die Synthese und Evaluierung MDM2-bindender  $\beta$ -Peptide wurden beschrieben.<sup>[372,373]</sup> Die verhältnismäßig schlechte Bindungsaffinität lässt jedoch darauf schließen, dass die 14-Helix die p53-MDM2-Wechselwirkung nicht ausreichend abbildet. Eine moderate Verbesserung der biologischen Aktivität konnte durch die Einbindung nichtnatürlicher Seitenketten erreicht werden.<sup>[374,375]</sup> Die Zellpermeabilität wurde durch Konjugation mit zellgängigen Peptiden<sup>[376]</sup> oder den Einbau von  $\beta$ -Homoargininen<sup>[377]</sup> oder Seitenketten-Seitenketten-Verbrückungen verbessert.<sup>[262]</sup> HBS- $\alpha$ / $\beta$ -Peptide, die das Muster  $\alpha\alpha\alpha\beta$  tragen und deren Hot-Spots  $\alpha$ -Aminosäuren sind, brachten affine und konformativ rigidere MDM2-Binder hervor.<sup>[378]</sup> Außerdem wurden auch achirale Peptoide mit hoher Flexibilität entworfen, die die p53-MDM2-Wechselwirkung moderat inhibieren.<sup>[379]</sup>

Strukturmetika (Klasse C) wurden erst kürzlich für die Inhibition der p53-MDM2-Wechselwirkung verwendet. Dabei fungierten Terphenyle (**27**) mit aliphatischen Gruppen an den Termini und großen aromatischen Gruppen im Zentrum als Mimetika der p53-Peptidsequenz. Diese Mimetika zeigen gute MDM2-Affinitäten und -Selektivitäten<sup>[380]</sup> und sowie Aktivität in zellbasierten Assays.<sup>[381]</sup> Zellgängige Pyr-



**Abbildung 17.** PPIs der BCL-2-Proteinfamilie: a) überlagerte Kristallstrukturen von BIM (orange; PDB-Code: 2NL9) und NoxaB (blau; PDB-Code: 2NLA) in Komplex mit MCL-1.<sup>[386]</sup> b) Überlagerte Kristallstrukturen von NoxaB (blau; PDB-Code: 2NLA) mit (links) dem Bisaryl-verbrückten Peptid Bph-Noxa2 (grau; PDB-Code: 4g35, c = D-Cystein)<sup>[204]</sup> und (rechts) dem Stapled-Peptid MCL-1 SAHB<sub>D</sub> (grau; PDB-Code: 3MK8).<sup>[387]</sup> Die Verbrückungen sind rot hervorgehoben. (Die Seitenketten der eingerahmten Aminosäuren sind in der Stabdarstellung gezeigt.) c) Überlagerte Kristallstrukturen von BIM (orange; PDB-Code: 2NL9) und α/β-Peptid α/β-2 (grau/rot; PDB-Code: 4BPI).<sup>[388]</sup> β-Aminosäuren sind rot hervorgehoben (βE, βQ, βR, βD und βA sind β<sup>3</sup>-Aminosäuren, die E, Q, R, D bzw. A entsprechen). d) Strukturmetika des helikalen MCL-1-Bindungspeptids.<sup>[312, 389, 390]</sup>

rolopyrimidine (**30**) wurden ebenfalls für die Inhibition der p53-MDM2- und p53-MDMX-Wechselwirkung genutzt und förderten die p53-abhängige Apoptose in kultivierten Krebszellen.<sup>[288]</sup> Wenngleich weniger wirksam, inhibieren H-Brücken-gesteuerte 3-O-alkylierte (**32**),<sup>[297, 382]</sup> 2-O-alkylierte (**33**)<sup>[293]</sup> und N-alkylierte Oligobenzamide (**34**)<sup>[294, 298, 299]</sup> sowie Hybride<sup>[300]</sup> den p53-HMD2-Komplex in vitro. Kovalent eingeschränkte OHMs (**37**) konnten ebenfalls MDM2 in vitro binden,<sup>[383]</sup> und die Spirologomere (**38**) stören den p53-HMD2-Komplex und lösen überraschenderweise eine HMD2-Akkumulation in Zellen aus, wahrscheinlich durch Behinderung des proteolytischen Abbaus.<sup>[311]</sup>

### 3.2.2. BCL-2-Proteinfamilie

Die BCL-2-Proteinfamilie ist entscheidend an der Regulation der Apoptose beteiligt. Sowohl pro-apoptotische (z.B. BAK, BAX, BID, BIM, NOXA, HRK, PUMA, BAD) als auch anti-apoptotische Mitglieder (z.B. BCL-xL, BCL-2, BCL-w, MCL-1, A1) sind Teil eines komplexen PPI-Netzwerks.<sup>[384, 385]</sup> Wechselwirkungen zwischen Proteinen dieser beiden Klassen sind an der Erkennung zellulären Stresses und der Modulation apoptotischer Signalwege beteiligt. Pro-apoptotische Proteine werden unterteilt in Effektoren, direkte Aktivatoren und Derepressoren oder Sensibilisatoren. Effektoren (z.B. BAK, BAX) und anti-apoptotische Proteine haben vier BCL-2-Homologiedomänen (BH1-BH4) mit einem gemeinsamen Faltungsmotiv, wodurch die hydrophobe so genannte BC-Tasche entsteht. Diese vermittelt die Bindung an einen α-helikalen Teil von BH3-only-Proteinen, zu denen sowohl direkte Aktivatoren (BID, BIM, PUMA) als

auch Derepressoren/Sensibilisatoren (BAD, NOXA, HRK) zählen. An der Wechselwirkung sind hoch konservierte hydrophobe und polare Reste beteiligt (Abbildung 17a). Die nötige Selektivität, um die Interaktionen innerhalb der BCL-2-Proteinfamilie genau abzustimmen, wird durch Variationen in der BH3-Sequenz gewährleistet.<sup>[384, 385]</sup> Mitglieder der BCL-2-Proteinfamilie gelten als hochinteressante Zielproteine in der Wirkstoffentwicklung, und ihre Modulation wurde durch unterschiedliche Ansätze erreicht. Relevante PPIs zwischen BCL-2-Mitgliedern wurden beispielsweise durch Klasse-A-Helixmimetika inhibiert, die Thiol- oder Kohlenwasserstoffverbrückungen aufweisen oder H-Brückensurrogate enthalten. Des Weiteren wurden Klasse-B-Helixmimetika, wie α/β-Peptide, sowie sterisch und H-Brücken-gesteuerte Klasse-C-Mimetika als Inhibitoren entwickelt.

Um einen selektiven MCL-1-Binder zu generieren, wurde ein NOXA-abgeleitetes Peptid durch eine Bisarylverbrückung zwischen D-Cys (c) in Position *i* und L-Cys in *i* + 7 stabilisiert. Die Kristallstruktur des Komplexes zeigt eine intramolekular Edge-to-Face-π-π-Wechselwirkung zwischen der Arylverbrückung und dem MCL-1-Peptid (Abbildung 17b).<sup>[204]</sup> Basierend auf dieser Kristallstruktur wurden weitere Modifikationen für eine Aktivitätssteigerung vorgenommen. Die Hydrophobie wurde durch den Austausch nichtwechselwirkender, geladener Aminosäuren gegen Ala und durch N-Methylierungen am Rückgrat erhöht. Eine Vielzahl an „stabilisierten α-Helices der BCL-2-Domäne“ (SAHBs) wurde mit der Hydrocarbon-Peptid-Stapling-Technik synthetisiert. Die Einführung einer Kohlenwasserstoffverbrückung erhöhte die Helizität, Proteasestabilität und Zellgängigkeit dieser BH3-abgeleiteten Peptide, allerdings

konnten diese nur einige der PPIs zwischen Proteinen der BCL-2-Familie inhibieren. Eine SAHB der BH3-Domäne des BID-Proteins induziert die Apoptose in Leukämiezellen *in vitro* und *in vivo*.<sup>[391]</sup> Ein MCL-1-abgeleitetes SAHB inhibiert die Bildung des BAK-MCL-1-Komplexes, wodurch der Zelltod durch Caspase-abhängige Apoptose induziert wird. In der Kristallstruktur dieses Stapled-Peptids im Komplex mit MCL-1 wird deutlich, dass die Verbrückung direkt an der Bindung beteiligt ist (Abbildung 17b). Um wirksame PPI-Inhibitoren zu generieren, musste dafür eine Reihe von Stapled-Peptiden synthetisiert werden.<sup>[387]</sup> SAHBs wurden auch dazu genutzt, die zelluläre Regulation der BCL-2-Proteinfamilie besser zu verstehen.<sup>[392,393]</sup> H-Brückensurrogate wurden für die Stabilisierung der BAK BH3-Helix verwendet, wodurch die Helizität und Proteasestabilität zwar erhöht wurden, aber die Bindungsaffinität verringert wurde. Eine anschließende Sequenzoptimierung führte schließlich zu einem Peptid mit erhöhter Bindungsaffinität.<sup>[394]</sup>

Klasse-B-Peptidmimetika fungierten ebenfalls als Hemmer von PPIs zwischen BCL-2-Proteinen. Reine  $\beta$ -Peptide eigneten sich zwar nicht, aber heterogene (z.B.  $\alpha/\beta$  Peptide) und chimäre Foldamere (z.B.  $\alpha/\beta + \alpha$ ) brachten die erwünschten Inhibitoren hervor. Das  $\alpha\alpha\beta\alpha\alpha\beta$ -Rückgrat wurde auf das PUMA-BH3-abgeleitete Peptid angewendet, um Foldamere mit hohen Bindungsaffinitäten zu BCL-xL und MCL-1 zu generieren.<sup>[395]</sup> Weitere Liganden dieser Proteine wurden durch die Nachahmung der BIM-BH3-Helix mit dem  $\alpha\alpha\alpha\beta$ -Muster hergestellt.<sup>[396]</sup> Interessanterweise hängt in beiden Fällen die Selektivität stark von der Anzahl und Position der  $\alpha$ -zu- $\beta^3$ -Substitutionen ab. Ein chimäres Peptid ( $\alpha/\beta + \alpha$ ) mit einem 6-meren  $\alpha$ -Peptid am C-Terminus und einem 9-meren  $\alpha/\beta$ -Peptid am N-Terminus zeigt eine zehnfach höhere Affinität als das natürliche BAK-16-mer und konnte die Bildung des BAK-BCL-xL-Komplexes wirksam inhibieren.<sup>[397]</sup> Das N-terminale Fragment besteht aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Aminosäuren im 1:1-Wechsel und stellt eine neue helikale Anordnung namens 14/15-Helix dar.<sup>[269]</sup> Eine Erhöhung der Proteasestabilität und Selektivität innerhalb der BCL-2-Mitglieder und eine Cytochrom-c-Freisetzung konnten ebenfalls gezeigt werden. Weiterführende Optimierungen führten zu Foldameren mit verbesserter Proteasestabilität, aber vernachlässigbarer Zellpermeabilität.<sup>[398,399]</sup>

Als Prototypen der Klasse-C-Helixmimetika fungierten Terphenyle für die Anordnung der Hot-Spot-Reste helikaler BH3-Peptide.<sup>[400,401]</sup> Einige der resultierenden Terphenyle (**40**) unterbinden die Wechselwirkung von BCL-xL, BCL-2 und MCL-1 mit BAX bzw. BAK oder mit BIM bzw. BAD in kultivierten Zellen. Diese Inhibition leitet eine Caspase-abhängige Apoptose ein.<sup>[389]</sup> Einige Pyridazin-haltige heterocyclische Strukturgerüste<sup>[402]</sup> sowie H-Brücken-gesteuerte Mimetika, wie Trispyridylamide,<sup>[289]</sup> Benzoylharnstoffe<sup>[305,403]</sup> und Biphenyle,<sup>[302]</sup> inhibierten ebenfalls die Bildung des BAK-BCL-xL-Komplexes *in vitro*. Die Untersuchung verschiedener Oligoamidstrukturgerüste ergab, dass Verbindungen mit einem höheren Phenylringanteil gegenüber dem Pyridinringanteil wirksamere Inhibitoren des Komplexes ergeben, wahrscheinlich bedingt durch ihre höhere Hydrophobie und Flexibilität. Dieser Trend überträgt sich jedoch nicht auf zellbasierte Experimente, da hier auch die Zellpermea-

bilität und Selektivität entscheidende Beiträge liefern.<sup>[404]</sup> Eine dieser Verbindungen (**41**) wurde eingehender untersucht, und es wurde festgestellt, dass die Unterbindung der BAK-BCL-xL- und BAK-MCL-1-Komplexbildung in Krebszelllinien Apoptose induziert und in der Lage ist, das Tumorstadium in einem Mausmodell zu inhibieren.<sup>[390]</sup> Auch Terephthalamide sind in der Lage, die BAK-BCL-xL-Komplexbildung in humanen Zellkulturen zu unterbinden.<sup>[304,405]</sup> NMR-Spektroskopie und computergestützte Studien bestätigten eine Bindung an die Interaktionsstelle des BAK-BH3-Peptides. Außerdem wurden BIM-MCL-1- und BIM-BCL-2-PPIs mit Cross-Acridin-Gerüsten (**42**) adressiert.<sup>[312]</sup>

### 3.3. Kleine GTPasen

Als schalterartige Proteine haben kleine GTPasen zwei bestimmte Konformationen, die durch ihre Bindung an Guanosindiphosphat (GDP) oder -triphosphat (GTP) definiert sind.<sup>[406]</sup> Die Bindung an GTP bewirkt die Einstellung der aktiven Konformation, wodurch die Interaktion mit Effektorproteinen möglich wird, was nachgeschaltete Signalprozesse ermöglicht. Die Nukleotidbindung wird wiederum durch PPIs reguliert: Mit dem Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor (GEF) wird der GDP/GTP-Austausch vermittelt, und mit GTPase-aktivierten Proteinen wird die Hydrolyse des gebundenen GTPs gefördert. Eine Fehlfunktion der GTPase-Regulation wird mit einer Vielzahl an Erkrankungen, im Besonderen mit der Entstehung von Krebs, in Verbindung gebracht. Ein wichtiges Beispiel ist das proto-Onkogen Ras, das seinen Namen einer Unterfamilie verwandter Proteine verleiht, z.B. Rab (Ras-verwandt im Gehirn) und Rho (Ras-Homologie).<sup>[407]</sup> Da sehr viele PPIs an der Regulation kleiner GTPasen und der Signalweiterleitung beteiligt sind, gestaltet sich die Suche nach geeigneten Inhibitoren sehr schwierig.<sup>[408]</sup> Ein erfolgreiches Beispiel ist die Nutzung einer HBS-stabilisierten  $\alpha$ -Helix aus einem GEF-Protein von Ras (Sos). Das modifizierte Peptid HBS3 bindet GDP-gebundenes Ras mit mikromolarer Affinität und inhibiert den Nukleotidaustausch durch Sos *in vitro* und in Zellkultur.<sup>[409]</sup> Die Hydrocarbon-Peptide-Stapling-Technik wurde genutzt, um die  $\alpha$ -Helix des Rab6-interagierenden Proteins (ein Effektor der Rab-GTPasen) zu stabilisieren. Das *i,i* + 4-Stapled-Peptid StRIP3 bindet die aktive Form von Rab8a im mikromolaren Bereich und konnte mit der Effektorbindung *in vitro* konkurrieren.<sup>[407]</sup> Zusätzlich zu diesen Klasse-A-Mimetika berichteten Hamilton und Mitarbeiter von Klasse-C-Mimetika. Diese sind auf einem 5-6-5-Imidazol-Phenyl-Triazol-Strukturgerüst aufgebaut und zielen auf Cdc42-Bindung ab. Cdc42 ist ein Mitglied der Rho-GTPase-Familie. Durch die Mimikry dreier Aminosäuren (Leu, Lys, Gln) des GEF-Proteins Dbs ist das Molekül in der Lage, den Dbs-geförderten Nukleotidaustausch *in vitro* zu inhibieren ( $IC_{50} = 67 \mu M$ ).<sup>[287]</sup>

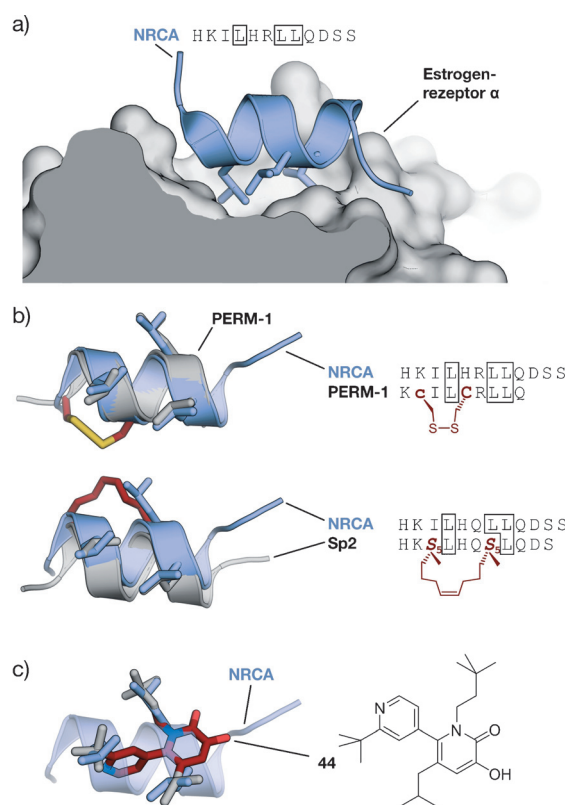


### 3.4. Transkriptionsregulation

Wegen der häufigen PPI-Beteiligung an der Regulation der Transkription ist die selektive Modulierung dieses Vorgangs durch synthetische Verbindungen sehr anspruchsvoll. Paradebeispiele sind embryonale Signalwege, wie die NOTCH-, Wnt- und Hedgehog-Signalkaskaden. Eine Hyperaktivierung solcher Signalwege wird mit verschiedenen Krebsarten in Verbindung gebracht.<sup>[410]</sup> Ein bahnbrechendes Beispiel für die direkte Inhibition eines Transkriptionsfaktorkomplexes durch Peptidmimetika wurde von den Gruppen um Verdine und Bradner vorgestellt.<sup>[411]</sup> Sie beschreiben die Entwicklung eines Hydrocarbon-Stapled-Peptids für die Inhibition des NOTCH-Signalwegs. Die Aktivierung der NOTCH-Zielgene wird durch die Bindung von Proteinliganden an die NOTCH-Transmembranrezeptoren ermöglicht, wodurch der proteolytische Abbau der intrazellulären Domäne von NOTCH (ICN) ausgelöst wird.<sup>[412]</sup> Daraufhin translokalisiert die ICN in den Nukleus, wo sie durch Bildung eines trimeren Komplexes mit dem DNA-gebundenen Transkriptionsfaktor CSL und dem Koaktivatorprotein der Mastermind-like (MAML)-Familie die Transkription initiiert. Das *i,i*+4-Stapled-Peptid SAHM1 basiert auf der  $\alpha$ -helikalen Bindungsdomäne von MAML und bewirkt eine effiziente Inhibition der Trimerbildung *in vitro* sowie eine robuste Zellgängigkeit.<sup>[411]</sup> Zellbasierte Assays bestätigen die Inhibition der NOTCH-abhängigen Genexpression. In einem Mausmodell der T-Zell-Akuten Lymphatischen Leukämie zeigte eine SAHM1-Behandlung spezifische antiproliferative Effekte.<sup>[411]</sup> Hydrocarbon-Stapled-Peptide wurden auch auf die Wnt-Signalkaskade gerichtet.<sup>[222, 234, 235, 413, 414]</sup> Der kanonische Wnt-Signalweg wird durch die Bindung extrazellulärer Wnt-Proteinliganden an einen Rezeptorkomplex aktiviert. Dadurch kommt es zur intrazellulären Inhibition eines Multiproteinzerstörungskomplexes, der aus Proteinen wie Axin und Proteinkinasen besteht. In Abwesenheit des Wnt-Liganden ist dieser Komplex für den Abbau des Proteins  $\beta$ -Catenin verantwortlich. Die Inhibition des Zerstörungskomplexes in Gegenwart des Wnt-Liganden verursacht eine Akkumulation des  $\beta$ -Catenins und dessen Translokation in den Nukleus. Dort bindet es an Transkriptionsfaktoren der LEF/TCF-Familie und an Koaktivatoren, wie das B-Zell-CLL/Lymphom-9-Protein (BCL9), wodurch die Transkription von Wnt-Zielgenen aktiviert wird.<sup>[410]</sup> Eine direkte Bindung von  $\beta$ -Catenin ist ein seit langem bestehendes Ziel in der Wirkstoffentwicklung.<sup>[413]</sup> Basierend auf den  $\alpha$ -helikalen  $\beta$ -Catenin-Bindungssepitopen von Axin und BCL9 wurden die *i,i*+4-Stapled-Peptide StAx-35R<sup>[234]</sup> und SAH-BCL9<sub>B</sub><sup>[414]</sup> entwickelt. StAx-35R verhindert die Komplexbildung zwischen  $\beta$ -Catenin und LEF/TCF-Transkriptionsfaktoren und inhibiert die Zielgene, die unter der Kontrolle des kanonischen Wnt-Signalwegs stehen, in zellbasierten Assays.<sup>[234]</sup> Es wurde gezeigt, dass die korrekte subzelluläre Lokalisierung für die effiziente Inhibition der Signalkaskade essenziell ist.<sup>[235]</sup> Andererseits erwies sich SAH-BCL9<sub>B</sub> als wirksamer Inhibitor der Wechselwirkung zwischen  $\beta$ -Catenin und BCL9, wodurch ein Teil der Wnt-Zielgene, die das Stammzell-ähnliche Verhalten in einigen Krebsarten kontrollieren sollen, gehemmt werden. In einem Xenograft-Modell der Maus reduziert

SAH-BCL9<sub>B</sub> das Tumorstadium, die Metastasierung und Invasion.<sup>[414]</sup> Stapled-Peptide wurden ebenfalls genutzt, um andere Aspekte der Genexpression zu modulieren. Der Komplex zwischen EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) und EED (embryonic ectoderm development and suppressor of zeste 12 homolog) ist entscheidend für die Methylierung von Histonen und wurde durch ein EZH2-abgeleitetes Stapled-Peptid inhibiert.<sup>[415]</sup> Des Weiteren sind Protein-Protein-Komplexe am DNA-Verteidigungsmechanismus<sup>[416]</sup> und an der Regulation der mRNA-Transkription beteiligt und konnten durch Stapled-Peptide gehemmt werden.<sup>[87]</sup>

Estrogenrezeptoren sind Transkriptionsfaktoren, die durch Steroidhormone aktiviert und durch Koaktivatorproteine zusätzlich reguliert werden. Ihre Hyperaktivität wird mit verschiedenen Krankheiten, aber vor allem mit der Krebsentstehung in Verbindung gebracht.<sup>[417]</sup> Koaktivatorproteine binden den Rezeptor über eine so genannte nukleare Rezeptorbox (NR-box), die im gebundenen Zustand aus einem  $\alpha$ -helikalen LXXLL-Motiv besteht (Abbildung 18a). Ältere Ansätze für die Stabilisierung des Bindungsmotivs in



**Abbildung 18.** Estrogenrezeptor(ER)-Koaktivator-Wechselwirkung: a) An ER $\alpha$  gebundenes Koaktivatorpeptid NRCA (grau; PDB-Code: 2QGT). b) Oben: überlagerte Kristallstrukturen von NRCA (blau; PDB-Code: 2QGT) und Disulfid-verbrücktem PERM-1 (grau; PDB-Code: 1PCG) (links). Cys und D-Cys (c) sind rot und das Disulfid gelb hervorgehoben; Sequenzen der verbrückten Peptide (rechts). Unten: überlagerte Kristallstrukturen von NRCA (blau; PDB-Code: 2QGT) und Stapled-Peptid Sp2 (grau; PDB-Code: 2YJA) (links). Die Verbrückung ist rot hervorgehoben. Sequenzen der Stapled-Peptide (rechts). Die Seitenketten der eingerahmten Aminosäuren sind in der Stabdarstellung gezeigt. c) Überlagerte Kristallstrukturen von NRCA (blau; PDB-Code: 2QGT) und 44 (grau/rot; CCDC: 636896).

der aktiven Konformation nutzen die Verbrückung von Seitenketten über Disulfide (PERM-1; Abbildung 18b), Lactame oder Thioether.<sup>[199–201]</sup> Ein Lactam-verbrücktes Peptid wurde zusätzlich durch nichtnatürliche Aminosäuren modifiziert, wodurch die Selektivität zwischen Rezeptorsubtypen erhöht werden konnte.<sup>[418]</sup> Beruhend auf der Kristallstruktur des ER $\alpha$ -gebundenen Nukleärer-Rezeptor-Coaktivator-(NRCA)-Peptids 2 (Abbildung 18a) wurden *i,i* + 4-Stapled-Peptide entwickelt. Eine Serie von Peptiden mit variierenden Verbrückungspositionen wurde eingehender untersucht.<sup>[419]</sup> Es zeigten sich dabei signifikante Unterschiede der Bindungsmodi, Affinitäten und Selektivitäten. Insbesondere konnte eines der entscheidenden Leu durch einen Baustein ersetzt werden, der an der Makrocyclisierung beteiligt ist (Sp2; Abbildung 18b). In diesem Fall ist die hydrophobe Verbrückung an der Bindung beteiligt, während der Rest des stabilisierten Peptids gut mit dem Wildtyp übereinstimmt.<sup>[419]</sup> Hamilton und Mitarbeiter führten ein Strukturmimetikum anlehnend an Pyridylpyridonderivate mit Substitutionen an den 2-Pyridyl- und 1,5-Pyridonpositionen (z. B. **44**) ein. Diese Verbindungen konkurrieren mit der natürlichen Bindungssequenz *in vitro*. Die Kristallstruktur des ungebundenen **44** offenbart eine gute Übereinstimmung der hydrophoben Reste mit den Leu-Seitenketten des helikalen LXXLL-Motivs (Abbildung 18c).<sup>[286]</sup>

Die Interaktion zwischen Hypoxie-induzierenden Transkriptionsfaktoren (HIFs) und den p300/CBP-Coaktivatorproteinen ist eine weitere PPI, die mit dem Auftreten von Krebs in Verbindung gebracht wird. HIFs werden bei zellulärem Sauerstoffmangel aktiviert. In Krebszellen kann die Wechselwirkung mit Coaktivatoren von HIFs die Expression von Genen auslösen, die die Invasion, Angiogenese und einen modifizierten Metabolismus fördern.<sup>[420]</sup> Die Wechselwirkung zwischen HIF-1 $\alpha$  und p300/CBP wird durch zwei kurze  $\alpha$ -Helices in HIF-1 $\alpha$  vermittelt. Basierend auf diesen Peptidsequenzen entwickelten Arora und Mitarbeiter verschiedene Peptidmimetika. Anfangs handelte es sich um H-Brückensurrogate (**26**), die wirksam die Komplexbildung hemmen.<sup>[246,421]</sup> Die stabilisierten Peptide zeigten eine inhibitorische Wirksamkeit in Krebszell-basierten Assays und in murinen Tumor-Xenograft-Modellen. Des Weiteren testeten sie Klasse-C-Peptidmimetika auf ihre Fähigkeit, die HIF-1 $\alpha$ -p300/CBP-Wechselwirkung zu hemmen.<sup>[383,422,423]</sup> Aromatische Oligoamide (**32** und **34**) wurden genutzt, um die drei aliphatischen Seitenketten der HIF-1 $\alpha$ -Sequenz anzuordnen, und zeigten eine inhibitorische Wirkung *in vitro*.<sup>[423]</sup> Oligo-oxopiperazin-Helixmimetika (OHMs, **37**) ermöglichten die erwünschte Anordnung aliphatischer und polarer Reste.<sup>[383,422]</sup> Das resultierende Klasse-C-Mimetikum OHM-1 konkurriert nicht nur mit der HIF-1 $\alpha$ -Bindung *in vitro*, sondern reduziert zusätzlich die Expression Hypoxie-induzierter Gene in zellbasierten Assays und ist in murinen Tumor-Xenograft-Modellen aktiv. Diese bemerkenswerten Resultate unterstreichen das Potenzial der auf dem Oligo-oxopiperazin-Strukturgerüst basierenden  $\alpha$ -Helixmimetika.

### 3.5. Enzymregulation

In medizinisch-chemischen Ansätzen werden Enzyme hauptsächlich durch die Bindung niedermolekularer Substanzen an das aktive Zentrum oder an die Cofaktorbindungsstelle inhibiert. Die Regulation der Enzymfunktion in Zellen geschieht allerdings häufig über PPIs, was den Einsatz von Peptidmimetika nahelegt. Oft sind konservierte Protein-domänen, wie SRC Homology 3 (SH3), PDZ und WW, an diesen regulatorischen PPIs beteiligt.<sup>[424]</sup> Diese Domänen erkennen bestimmte Peptidabschnitte innerhalb flexibler Regionen ihres Proteinbindungspartners. SH3-Domänen binden z. B. an PXXP-Sequenzen, wobei X eine variable Aminosäure darstellt, die eine Spezifität für die Subtypen ermöglicht.<sup>[424]</sup> Es wurde gezeigt, dass SH3-Domänen Proline aufgrund der N-Substitution und nicht aufgrund ihrer cyclischen oder sperrigen Eigenschaften erkennen. Folglich führte der Einbau N-alkylierter Reste zu Peptoid-Peptid-Hybriden, die sich als wirksame und hochselektive Liganden der SH3-Domänen herausstellten.<sup>[275]</sup> Die subzelluläre Lokalisierung der Proteinkinase A (PKA), ein Schlüsselprotein bei der Regulation der von cyclischem AMP abhängigen Signalwege, wird durch die A-Kinase-Anchoring-Proteine (AKAPs) bestimmt. Diese PPIs werden über helikale Peptidstrukturen vermittelt und wurden als Startpunkt für die Entwicklung von Stapled-Peptiden verwendet. Diese Klasse-A-Mimetika zeigen eine hohe proteolytische Stabilität, gute Zellgängigkeit und Isoformspezifität, die es ermöglicht, *in vitro* und in kultivierten Zellen die PKA-RII-AKAP-Komplexbildung selektiv zu inhibieren.<sup>[425]</sup> Piperidin-Piperidinon-basierte Verbindungen (**18**) wurden als Strukturmimetika des  $\beta$ -Strangs genutzt, der an der Homodimerisierung von  $\alpha$ -Antithrombin beteiligt ist.<sup>[426]</sup> Diese Klasse-C-Mimetika sind in der Lage, die Dimerisierung zu hemmen, wodurch die Oligomerisierung von  $\alpha$ -Antithrombin katalysiert wird.

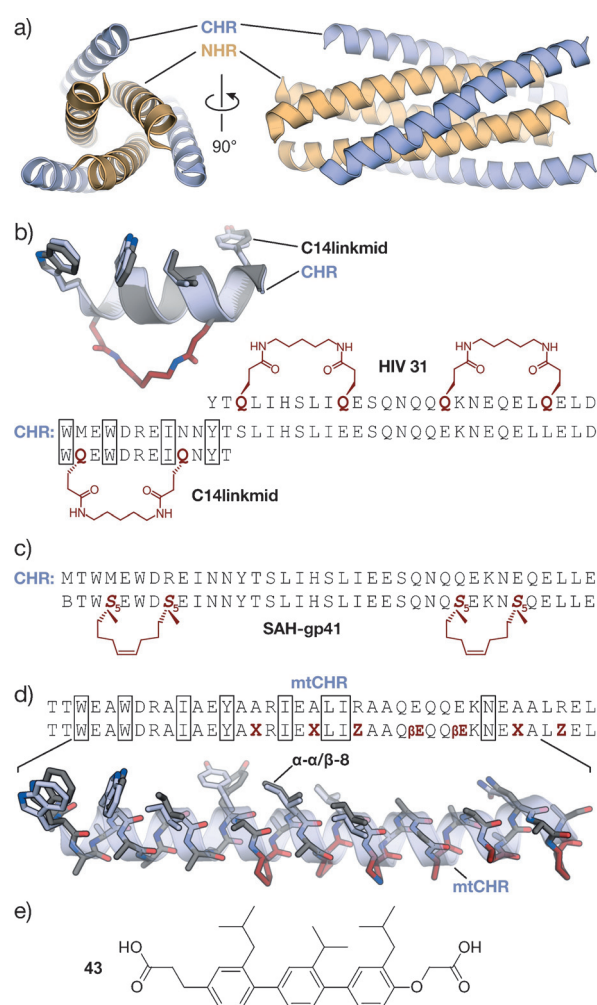
### 3.6. Pathogene Zielproteine

Infektionskrankheiten sind die zweithäufigste Todesursache weltweit.<sup>[427]</sup> Sie werden durch pathogene Mikroorganismen, wie Viren, Bakterien, Pilze oder Parasiten, verursacht. Der Lebenszyklus dieser Krankheitserreger ist von vielen PPIs abhängig, die für essenzielle Funktionen, wie die Wirtserkennung, Reproduktion oder Abwehrmechanismen, wichtig sind. Daher ist die Entwicklung von Verbindungen, die pathogene PPIs selektiv inhibieren, eine vielversprechende Strategie. Eine Vielzahl von strukturbasierten Entwicklungsstrategien wurde genutzt, um PPI-Inhibitoren zu generieren, die bestimmte Aspekte der viralen oder bakteriellen Infektion bekämpfen. Das humane Immundefizienzvirus (HIV) ist ein Primärziel für die Anwendung einer Reihe von Peptid-abgeleiteter PPI-Inhibitoren, wobei der Fokus auf der Virusassemblierung und dem Eintritt in die Wirtszelle liegt. Ein Schlüsselprozess der HIV-Infektion ist die Anordnung beider „immature-like viral particles“ und, nach dem proteolytischen Abbau, der „mature viral capsids“. Phagen-Display-Screenings lieferten eine helikale Peptidsequenz (CAI), die die Anordnung dieser Partikel *in vitro* hemmt,

ohne dabei ausreichende Zellgängigkeit zu zeigen.<sup>[429]</sup> Die Hydrocarbon-Peptide-Stapling-Technik führte zum Stapled-Peptid NYAD-1, das einen erhöhten  $\alpha$ -helikalen Anteil und eine erhöhte Bindungsaffinität *in vitro* hat. NYAD-1 ist zwar zellpermeabel und inhibiert die HIV-Infektion in zellbasierten Assays,<sup>[430]</sup> allerdings wurden für NYAD-1 und dessen Analoga eine schlechte Löslichkeit und eine Tendenz zur Aggregation festgestellt.<sup>[431]</sup>

Glykoprotein 41 (gp41) ist ein HIV-Transmembranprotein, das für die Fusion der Virushülle und der Membran der Wirtszelle verantwortlich ist. Der Fusionsprozess besteht aus der Einfügung des N-terminalen „coiled coil“ von gp41 in die Wirtszelle, gefolgt von einer Strukturumlagerung, die zur Bildung des so genannten „six  $\alpha$ -helix bundle“ führt. Diese Umlagerung bringt die Virushülle und die Wirtsmembran in unmittelbare Nachbarschaft zueinander und mündet in der Virusfusion.<sup>[432]</sup> Das „six  $\alpha$ -helix bundle“ (Abbildung 19a) besteht aus drei inneren  $\alpha$ -Helices, die vom N-terminalen Heptad-Repeat des gp41 (NHR, orange) stammen, und drei äußeren  $\alpha$ -Helices des C-terminalen Heptad-Repeat (CHR, blau; Abbildung 19). Der FDA-zugelassene Wirkstoff Enfuvirtide ist ein CHR-abgeleitetes, unmodifiziertes und 36 Aminosäuren langes Peptid.<sup>[433]</sup> Enfuvirtide zeigt die allgemeine Anwendbarkeit von Peptiden als antivirale Wirkstoffe und stimulierte die Entwicklung von Klasse-A-Helix-mimetika. Eine Reihe CHR-abgeleiteter Peptide wurde durch die Einführung einer (z. B. HIV-C14linkmid)<sup>[216]</sup> oder zweier Lactamverbrückungen (z. B. HIV31; Abbildung 19b) generiert.<sup>[434]</sup> In zellbasierten Assays zeigen die aktivsten Peptide dieser Reihe inhibitorische Aktivitäten gegen eine virale Infektion im mikromolaren Bereich. Die CHR-Sequenz fungierte auch für HBS-Peptide als Templat. Nachdem ihre Löslichkeit durch den Austausch nichtwechselwirkender Aminosäuren durch basische oder saure Reste verbessert worden war, zeigten sie eine mikromolare Inhibition der Zellfusion.<sup>[435]</sup> Die Peptidsequenz von Enfuvirtide wurde als Startpunkt für die Entwicklung von Stapled-Peptiden mit zwei Kohlenwasserstoffverbrückungen genutzt. Diese Double-Stapled-Version von Enfuvirtide (SAH-gp41; Abbildung 19c) hat gegenüber dem unmodifizierten Peptid einen erhöhten  $\alpha$ -helikalen Charakter sowie eine erhöhte Proteasestabilität, orale Bioverfügbarkeit und inhibitorische Aktivität bezüglich der HIV-1-Fusion.<sup>[232]</sup>

Kurze  $\beta$ -Peptide, die hydrophobe Reste des CHR-Peptids enthalten, wurden ebenfalls für die Inhibition der Six-Helix-Bundle-Bildung hergestellt. Diese Klasse-B-Mimetika nehmen eine 14-Helix-Konformation ein, die durch elektrostatische Makrodipolstabilisierung und Salzbrücken zwischen den auf einer Seite der Helix befindlichen Ornithin- und den Glutaminsäure-Seitenketten unterstützt wird.<sup>[436]</sup> Eine verbesserte Inhibition der Bundle-Bildung konnte durch die Optimierung des zentralen Tryptophans erreicht werden.<sup>[437]</sup> Die Entwicklung langer, CHR-abgeleiteter, heterogener  $\alpha/\beta$ -Peptide mündete in helikale Foldamere. Das  $\alpha\beta\alpha\alpha\beta$ -Muster führte zu Foldameren, in denen sich alle  $\beta$ -Reste auf der Lösungsmittel-ausgesetzten Helixseite befinden.<sup>[438]</sup> Die große Anzahl an  $\beta$ -Aminosäuren macht diese Foldamere vergleichsweise flexibel, wodurch sie deutlich an inhibitorischer Aktivität verlieren. Chimäre Peptide, die einen aus  $\alpha$ -



**Abbildung 19.** „Six helix bundle“ der gp-41 CHR- und NHR-Helices: a) Kristallstruktur des „six helix bundle“ mit drei CHR- (blau) und drei NHR-Helices (orange) (PDB-Code: 1AIK).<sup>[432]</sup> b) Zwei Beispiele für Lactam-verbrückte, stabilisierte CHR-abgeleitete  $\alpha$ -Helices: HIV 31<sup>[434]</sup> und C14linkmid einschließlich der überlagerten Kristallstrukturen des entsprechenden CHR-Fragments (blau; PDB-Code: 1AIK) und C14linkmid (grau; PDB-Code: 1GZL).<sup>[216]</sup> Die Amidverbrückung ist rot hervorgehoben. c) Sequenz des CHR-abgeleiteten Double-Stapled-Peptids SAH-gp41.<sup>[232]</sup> d) Chimäres Peptid  $\alpha$ - $\alpha/\beta$ -8, abgeleitet von einer mutierten CHR-Form (mtCHR). Überlagerte Kristallstrukturen von mtCHR (blau; PDB-Code: 3F4Y) und  $\alpha$ - $\alpha/\beta$ -8 (grau; PDB-Code: 3G7A).<sup>[439]</sup>  $\beta$ -Aminosäuren sind rot hervorgehoben (X = AXPC, Z = APC,  $\beta$ E =  $\beta^3$ -Glutamat). e) CHR-abgeleitetes Terphenyl-Strukturmimetikum.<sup>[280]</sup> (Die Seitenketten der eingerahmten Aminosäuren sind in der Stabdarstellung gezeigt.)

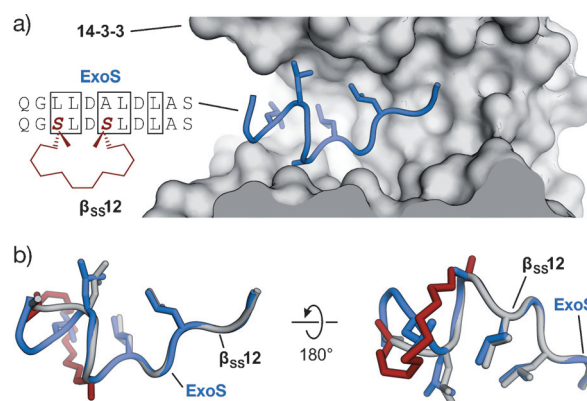
Aminosäuren bestehenden Abschnitt mit einer  $\alpha/\beta$ -Region kombinieren, zeigten eine verbesserte Bindung zum NHR, allerdings wieder eine verminderte Proteasestabilität. Ein Austausch der einfachen  $\beta$ -Aminosäuren gegen cyclische erhöhte den helikalen Anteil und führte zu erhöhter Proteasestabilität, Bindungsaffinität und antiviraler Aktivität ( $\alpha$ - $\alpha/\beta$ -8; Abbildung 19d).<sup>[439]</sup> Des Weiteren wurde gezeigt, dass der Einbau von benachbarten sauren und basischen  $\beta$ -Aminosäuren den helikalen Charakter erhöhen kann.<sup>[440]</sup> Auch Strukturmetika (Klasse C) wurden entwickelt. Dazu gehören Terphenyle mit lipophilen Substituenten (**43**), die für



die Bindung der NHR-Peptide entwickelt wurden und die Bundle-Bildung und Zellfusion in zellbasierten Assays inhibieren.<sup>[280]</sup> Chemokinrezeptor-Subtyp CXCR4 ist ein humaner GPCR und einer der wichtigsten Korezeptoren, die am Eintritt von HIV in die Wirtszelle beteiligt sind.<sup>[441]</sup> Natürliche Disulfid-verbrückte  $\beta$ -Haarnadeln der Tachyplesinfamilie und ihre zahlreichen Analoga zählen zu den ersten Inhibitoren des CXCR4-vermittelten HIV-Eintritts.<sup>[137–140]</sup> Die Vereinfachung dieser  $\beta$ -Haarnadelstrukturen lieferte sehr aktive Rückgrat-cyclisierte Pentapeptide,<sup>[141]</sup> die durch den Einbau von Peptidmonomeren für eine erhöhte konformative Einschränkung noch verbessert werden konnten.<sup>[276]</sup>

Der Fusionsmechanismus bei HIV ist hoch konserviert unter verwandten Viren, einschließlich des Respiratory-Syncytial-Virus (RSV). Das F1-Glykoprotein ist das für die RSV-Wirtszellen-Fusion verantwortliche Transmembranprotein. In Analogie zu den Anti-HIV-Strategien wurde auch der RSC-Eintritt in die Wirtszelle durch Peptide blockiert, die von der HRC-Region des F1-Glykoproteins stammen. Diese  $\alpha$ -helikalen Peptide wurden mit zwei Lactamverbrückungen stabilisiert und zeigen eine inhibitorische Wirkung gegen die RSV-Fusion.<sup>[217,442]</sup> Auf ähnliche Weise führten Double-stapled-Peptide zu einer Inhibition der RSV-Infektion. Bemerkenswerterweise ermöglichte die intranasale Verabreichung dieser Peptide und Konjugation mit Nanopartikeln eine In-vivo-Aktivität.<sup>[443]</sup> Der Eintritt des Hepatitis-C-Virus (HCV) in die Wirtszelle verläuft teilweise über die Wechselwirkung zwischen dem Glykoprotein E2 der Virushülle und dem humanen CD81-Rezeptor.<sup>[444,445]</sup> Eine der beiden extrazellulären Schleifen von CD81 fungierte als Templat für die Entwicklung linearer Peptide, die schwache Hemmung der CD81-HCVE2-Wechselwirkung bewirken.<sup>[446]</sup> Eine  $i,i+7$ -Stapled-Version dieses Peptids zeigte einen erhöhten  $\alpha$ -helikalen Anteil, eine verbesserte Proteasestabilität und eine signifikant erhöhte Inhibition des HCV-Eintritts.<sup>[447]</sup>

Das Gram-negative Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* injiziert Virulenzfaktoren in die Wirtszelle, um so bestimmte Signalwege zu manipulieren. Einer dieser Faktoren ist das Protein Exoenzym S (ExoS), dass in der Wirtszelle einen Komplex mit dem humanen Adapterprotein 14-3-3 bildet. Diese PPI ist dabei die Voraussetzung für einige der pathogenen Wirkungen von ExoS und wird zwischen einer 11-meren Peptidsequenz von ExoS und der globulären Domäne von 14-3-3 gebildet (Abbildung 20a). Im gebundenen Zustand nimmt die kurze 14-3-3-Erkennungssequenz von ExoS eine Konformation aus verschiedenen überlappenden Kehlen ein, wobei fünf hydrophobe Reste intensiven Kontakt mit einem lipophilen Bereich auf 14-3-3 eingehen.<sup>[448]</sup> Basierend auf dieser Sequenz wurde eine Reihe von cyclischen Peptiden entworfen, bei denen zwei dieser hydrophoben Reste durch eine Kohlenwasserstoffverbrückung ersetzt wurden.<sup>[92]</sup> Gegenüber der Startsequenz zeigte das Peptid mit der höchsten Affinität zu 14-3-3 ( $\beta_{ss12}$ ; Abbildung 20a) eine 20-fach verbesserte Bindung. Die Kristallstruktur von  $\beta_{ss12}$  in Komplex mit 14-3-3 belegt, dass die Konfiguration des Rückgrats sehr gut mit der des Ausgangspeptides überlagert (Abbildung 20b). Es wurde weiterhin gezeigt, dass  $\beta_{ss12}$  in der Lage ist, die Interaktion zwischen 14-3-3 und einem Fragment von ExoS in vitro zu inhibieren. Damit ist dies der erste PPI-



**Abbildung 20.** 14-3-3-ExoS-Wechselwirkung: a) Kristallstruktur der 14-3-3-Bindungssequenz von Exoenzym S (ExoS, blau) im Komplex mit 14-3-3 (grau; PDB-Code: 4N7G). Sequenzen von ExoS und dem zugehörigen cyclischen Peptidinhibitor  $\beta_{ss12}$  sind gezeigt. (Die Seitenketten der eingerahmten Aminosäuren sind in der Stabdarstellung gezeigt.) b) Überlagerte Strukturen von ExoS (blau; PDB-Code: 4N7G) und cyclischem Peptid  $\beta_{ss12}$  (grau; PDB-Code: 4N84). Die Verbrückungen sind rot hervorgehoben.<sup>[92]</sup>

Inhibitor, der durch eine rationale Stabilisierung eines Kehrenmotivs generiert wurde.

## 4. Zusammenfassung

Die Entwicklung von Liganden, die selektiv ein bestimmtes Zielprotein binden, ist mitunter ein sehr anspruchsvolles Unterfangen. Liefert das Screening großer Substanzbibliotheken mit biochemischen oder zellbasierten Assays eine Startstruktur, kann diese durch einen iterativen Prozess optimiert werden. Die Identifikation selektiver PPI-Inhibitoren aus klassischen niedermolekularen Substanzbibliotheken stellt sich allerdings als besonders anspruchsvoll heraus, da Protein-Protein-Interaktionsflächen grundlegend andere Strukturanforderungen stellen. Ein alternativer Ansatz für die rationale Entwicklung von Inhibitoren nutzt als Startpunkt peptidbindende Epitope aus Protein-Protein-Komplexen. Die in der Proteindatenbank gespeicherte, enorme Strukturinformation<sup>[186]</sup> bietet dabei eine wertvolle Quelle für die strukturbasierte Entwicklung neuer Liganden. Kurze, unmodifizierte Peptide haben wegen ihrer Flexibilität im ungebundenen Zustand oft eine verringerte Affinität zum Zielprotein sowie eine geringe Proteasestabilität und Zellpermeabilität. Des Weiteren kann die Strukturumgebung eines Bindungsepitops (z.B. eingebettet in einer globulären Domäne oder einer flexiblen Region) die Bindungseigenschaften eines isolierten Peptids beeinflussen. Durch Nachahmung der bioaktiven Konformation eines Peptidabschnitts können Peptidmimetika mit verbesserten Bindungsaffinitäten und Bioverfügbarkeiten erhalten werden. Dieser Aufsatz bietet einen umfangreichen Überblick über strukturbasierte Ansätze für die Entwicklung von Peptidmimetika als PPI-Inhibitoren. Jegliche Art sekundärer Strukturelemente – Kehlen,  $\beta$ -Faltblätter oder Helices – wurde als PPI-Erkennungsmotiv identifiziert,<sup>[36]</sup> sodass ihre Nachahmung für die Entwicklung von PPI-Inhibition genutzt werden könnte. In-

teressanterweise scheint die räumliche Gesamtanordnung der Sekundärstrukturelemente an PPI-Flächen limitiert zu sein,<sup>[449]</sup> wodurch nur bestimmte Sekundärstrukturmetika für verschiedene Zielproteine genutzt werden können. Die Bindungsspezifität wird über die entsprechenden Seitenketten-nachahmenden Substituenten bestimmt. Für repetitive Sekundärstrukturen, besonders für  $\alpha$ -Helices, wurde diese Herangehensweise erfolgreich umgesetzt. Einen allgemeingültigen Ansatz für die Nachahmung von irregulären Kehrstrukturen gibt es bisher jedoch noch nicht.<sup>[450]</sup>

Die Nachbildung der bioaktiven Konformation eines peptidbindenden Epitops ist die erste Hürde bei der Entwicklung von Peptidmetika. Die zweite ist es, diese Inhibitoren mit geeigneten pharmakokinetischen Eigenschaften auszustatten. Dabei ist es anspruchsvoll, eine Balance zwischen beiden Anforderungen zu finden. Zum Beispiel fördert eine geringe Abweichung von der Struktur des Ausgangs-peptids zwar die Bindungseigenschaften, erschwert jedoch die Sicherstellung einer guten Bioverfügbarkeit. Im Gegenzug liefern niedermolekulare Strukturgerüste wirkstoffähnliche Eigenschaften, eignen sich jedoch schlechter für die Bindung weitläufiger Proteinoberflächen. Natürlich wird die rationale Entwicklung von Peptidmetika umso schwieriger, je weiter man sich von der Originalstruktur entfernt. Um den Abstraktionsgrad vom Mutterpeptid zu verdeutlichen und eine klare Zuordnung der verschiedenen Ansätze zu ermöglichen, führen wir hier eine neue Klassifizierung für Peptidmetika ein. Klasse-A-Mimetika umfassen konformativ eingeschränkte Peptide mit moderaten Modifikationen. Sie stellen die Peptidmetika mit der stärksten Ähnlichkeit zum Ausgangs-peptid dar. Für alle Sekundärstrukturelemente wurde dabei die Makrocyclisierung als einschränkendes Element genutzt. Besonders für  $\alpha$ -Helices wurden zahlreiche Verbrückungsarchitekturen entwickelt. Von diesen brachten bisher die Stapled-Peptide die meisten biologisch aktiven Metika hervor. Jüngste Vergleichsstudien lassen darauf schließen, dass auch andere Cyclisierungsansätze helikale Klasse-A-Mimetika mit vergleichbaren Verbesserungen der Bindungseigenschaften hervorbringen können.<sup>[329,451,452]</sup> Allerdings muss die Auswirkung dieser Verbrückungsstrategien auf die Bioverfügbarkeit des resultierenden Metikums noch im Detail untersucht werden. Weiterführende Modifikationen von Klasse-A-Mimetika oder die Nutzung von Foldameren führen zu Klasse-B-Mimetika, die besonders stabil gegen proteolytischen Abbau sind. Wegen der recht starken Veränderung relativ zum Mutterpeptid haben Foldamere oft reduzierte inhibitorische Aktivitäten, die jedoch durch Optimierungen wieder ausgeglichen werden können. Einige Klasse-B-Mimetika weisen zwar eine höhere Zellpermeabilität auf als ihre Peptidanaloga, jedoch fehlt eine allgemeine Untersuchung dieser Eigenschaften. Bei Klasse-C-Mimetika (Strukturmetika) ist das gesamte Peptidrückgrat durch ein niedermolekulares Strukturgerüst ersetzt. Diese grundlegende Veränderung und der Fakt, das oft nur einige der Epitopreste nachgeahmt werden, machen den Entwicklungsprozess besonders anspruchsvoll. In vielen Fällen muss durch zusätzliche Optimierung die Selektivität zum Zielprotein wiederhergestellt werden; allerdings wird dies durch den oft hohen Synthesaufwand erschwert. Nur eine sehr kleine

Anzahl an Klasse-C-PPI-Inhibitoren wurde in komplexen Krankheitsmodellen getestet, wodurch die Evaluierung der pharmakologischen Eigenschaften schwierig ist. Im PPI-Kontext basieren die meisten Klasse-C-Mimetika auf helikalen Peptiden, wohingegen es kaum geeignete Strukturmetika für  $\beta$ -Faltblatt- und Kehrstrukturen gibt. Für Kehren sind einige Klasse-A- und Klasse-C-Mimetika vorhanden, die Enzyme oder Peptid-Protein-Wechselwirkungen inhibieren können. Die dabei genutzten Ansätze sollten sich eigentlich auch auf die zukünftige Entwicklung von PPI-Inhibitoren anwenden lassen. Zuletzt könnten Klasse-D-Mimetika (mechanistische Metika), die in Screening-Ansätzen identifiziert wurden, weitere PPI-Inhibitoren liefern, da neue und strukturell diversere Substanzbibliotheken entwickelt wurden, die sich für die Bindung von weitläufigen Proteinoberflächen besser eignen.

Der Entwicklungsprozess eines Peptidmetikums umfasst normalerweise eine maßgebliche, initiale Modifikation des Peptids, das in ein Metikum der Klasse A, B oder C mündet. Meistens folgt dann eine iterative Optimierung, die eine erhöhte Affinität und Bioverfügbarkeit zum Ziel hat. Bis auf wenige Beispiele führen Modifikationen allerdings nur selten zu einem Peptidmetikum der nächsthöheren Klasse.<sup>[365]</sup> Häufig wird der zweite iterative Optimierungsschritt überhaupt nicht ausgeführt, sodass das Potenzial der meisten Peptidmetika nicht vollständig abgeschätzt werden kann. Zum Teil, besonders für Klasse-C-Mimetika, ist dies durch einen erschwerten Syntheszugang begründet. Die Vereinfachung des Optimierungsprozesses und die Übertragung bevorzugter Struktureigenschaften zwischen den Peptidmetikaklassen sind daher wünschenswert und könnten PPI-Inhibitoren mit verbesserten biologischen Aktivitäten hervorbringen. Allgemeine Schlussfolgerungen müssen jedoch mit Bedacht gezogen werden, da weder die Sekundärstrukturen noch die Peptidmetikaklassen untereinander mit der gleichen Intensität untersucht wurden. Klasse-A-Helixmetika stellen dabei mit der höchsten Anzahl an Beispielen für biologisch aktive Inhibitoren die am weitesten entwickelte Gruppe. Dies kann den Vergleich verschiedener Nachahmungsstrategien verzerren. Interessanterweise haben einige Strukturgerüste das Potenzial, mehr als eine Sekundärstruktur nachzuahmen (z. B. Helices und  $\beta$ -Haarnadeln<sup>[115]</sup> oder Helices und bestimmte Kehrstrukturen),<sup>[86]</sup> wodurch der Anwendungsbereich bereits entwickelter Peptidmetika erweitert wird.

In den letzten Jahren erfuhren peptidbasierte Wirkstoffe eine Renaissance, die durch die Genehmigung von sechs Peptidwirkstoffen im Jahr 2012 gekrönt wurde.<sup>[453]</sup> Dieser Trend ist bemerkenswert, wenn man die Limitationen unmodifizierter Peptide bedenkt, und wird zum Teil durch die Entwicklung verbesserter Wirkstofftransportsysteme getragen.<sup>[454]</sup> Peptidmetika haben das Potenzial, diesen Trend zu unterstützen. Dies erfordert jedoch ein noch besseres Verständnis der Vorteile und Limitationen der einzelnen Metika-Ansätze. Ein wichtiges Ziel ist die Entwicklung allgemeiner Prinzipien, die je nach Eigenschaften des Zielproteins angewendet werden können. Ist dies etabliert, werden die Grenzen der verschiedenen Metikaklassen immer mehr verwischen. Bisher ist die selektive Inhibition intrazellulärer

PPIs mit oral verfügbaren Peptidmimetika noch nicht gelungen und bleibt eines der ultimativen Ziele in der Wirkstoffentwicklung. Angesichts der neuesten Entwicklungen und der stetig wachsenden Kenntnisse über die Beeinflussung von Rigidität und Bioverfügbarkeit scheint dieses Ziel jedoch erreichbar zu sein.

M.P.-G., A.G. und T.N.G. danken AstraZeneca, Bayer Crop-Science, Bayer HealthCare, Boehringer Ingelheim, Merck KGaA und der Max-Planck-Gesellschaft für die Unterstützung. O.K. wurde vom BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung; Medizinische Chemie in Dortmund, Grant No. BMBF 1316053) unterstützt. T.N.G. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG; Emmy Noether-Programm GR3592/2-1) für die finanzielle Unterstützung.

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 8896–8927  
*Angew. Chem.* **2015**, *127*, 9022–9054

- [1] L. G. Milroy, T. N. Grossmann, S. Hennig, L. Brunsfeld, C. Ottmann, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4695–4748.
- [2] I. S. Moreira, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2007**, *68*, 803–812.
- [3] N. London, B. Ravet, D. Movshovitz-Attias, O. Schueler-Furman, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2010**, *78*, 3140–3149.
- [4] T. Geppert, B. Hoy, S. Wessler, G. Schneider, *Chem. Biol.* **2011**, *18*, 344–353.
- [5] L. Huang, F. Hofer, G. S. Martin, S.-H. Kim, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **1998**, *5*, 422–426.
- [6] C. Kiel, L. Serrano, C. Herrmann, *J. Mol. Biol.* **2004**, *340*, 1039–1058.
- [7] T. A. Hill, N. E. Shepherd, F. Diness, D. P. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 13020–13041; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 13234–13257.
- [8] L. Nevala, E. Giralt, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 3302–3315.
- [9] O. Sperandio, C. H. Reynès, A.-C. Camproux, B. O. Villoutreix, *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 220–229.
- [10] C. Reynès, H. Host, A.-C. Camproux, G. Laconde, F. Leroux, A. Mazars, B. Deprez, R. Fahraeus, B. O. Villoutreix, O. Sperandio, *PLoS Comput. Biol.* **2010**, *6*, e1000695.
- [11] X. Zhang, S. Betzi, X. Morelli, P. Roche, *Future Med. Chem.* **2014**, *6*, 1291–1307.
- [12] O. Koch, T. Jäger, K. Heller, P. C. Khandavalli, J. Pretzel, K. Becker, L. Flohé, P. M. Selzer, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4849–4859.
- [13] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1951**, *37*, 205–211.
- [14] L. Pauling, R. B. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1951**, *37*, 251–256.
- [15] G. N. Ramachandran, C. Ramakrishnan, V. Sasisekharan, *J. Mol. Biol.* **1963**, *7*, 95–99.
- [16] P. Y. Chou, G. D. Fasman, *J. Mol. Biol.* **1977**, *115*, 135–175.
- [17] O. Koch, G. Klebe, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2009**, *74*, 353–367.
- [18] K. N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Y. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4872–4897; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5020–5046.
- [19] A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244–1267; *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1303–1326.
- [20] A. S. Ripka, D. H. Rich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 441–452.
- [21] V. Azzarito, K. Long, N. S. Murphy, A. J. Wilson, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 161–173.
- [22] O. N. Akram, D. J. DeGraff, J. H. Sheehan, W. D. Tilley, R. J. Matusik, J.-M. Ahn, G. V. Raj, *Mol. Cancer Res.* **2014**, *12*, 967–978.
- [23] M. D. Cummings, C. Schubert, D. J. Parks, R. R. Calvo, L. V. LaFrance, J. Lattanze, K. L. Milkiewicz, T. Lu, *Chem. Biol. Drug Des.* **2006**, *67*, 201–205.
- [24] R. Kharb, M. Rana, P. C. Sharma, M. S. Yar, *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, *3*, 173–186.
- [25] M. S. Edwards, M. J. E. Sternberg, J. M. Thornton, *Protein Eng.* **1987**, *1*, 173–181.
- [26] B. Oliva, P. A. Bates, E. Querol, F. X. Avilés, M. J. E. Sternberg, *J. Mol. Biol.* **1997**, *266*, 814–830.
- [27] C. M. Venkatachalam, *Biopolymers* **1968**, *6*, 1425–1436.
- [28] K.-C. Chou, *Anal. Biochem.* **2000**, *286*, 1–16.
- [29] C. Toniolo, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, *9*, 1–44.
- [30] E. G. Hutchinson, J. M. Thornton, *Protein Sci.* **1994**, *3*, 2207–2216.
- [31] B. Dasgupta, L. Pal, G. Basu, P. Chakrabarti, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2004**, *55*, 305–315.
- [32] P. N. Lewis, F. A. Momany, H. A. Scheraga, *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *303*, 211–229.
- [33] J. S. Richardson, *Adv. Protein Chem.* **1981**, *34*, 167–339.
- [34] C. M. Wilmot, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1988**, *203*, 221–232.
- [35] M. Meissner, O. Koch, G. Klebe, G. Schneider, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2009**, *74*, 344–352.
- [36] M. Guharoy, P. Chakrabarti, *Bioinformatics* **2007**, *23*, 1909–1918.
- [37] C. Schellman in *Protein Folding* (Hrsg.: R. Jaenicke), Elsevier/North-Holland, New York, **1980**, S. 53–61.
- [38] K. Guruprasad, M. S. Prasad, G. R. Kumar, *J. Pept. Res.* **2000**, *56*, 250–263.
- [39] J. Gavenonis, B. A. Sheneman, T. R. Siegert, M. R. Eshelman, J. A. Kritzer, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 716–722.
- [40] F. Siedler, D. Quarzago, S. Rudolph-Böhner, L. Moroder, *Biopolymers* **1994**, *34*, 1563–1572.
- [41] H.-J. Musiol, F. Siedler, D. Quarzago, L. Moroder, *Biopolymers* **1994**, *34*, 1553–1562.
- [42] C. J. White, A. K. Yudin, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 509–524.
- [43] M. Pelay-Gimeno, J. Tulla-Puche, F. Albericio, *Mar. Drugs* **2013**, *11*, 1693–1717.
- [44] H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512–523; *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 509–520.
- [45] S. J. Miller, H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9606–9614.
- [46] A. C. Conibear, A. Bochen, K. J. Rosengren, P. Stupar, C. Wang, H. Kessler, D. J. Craik, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 451–459.
- [47] J. D. Hegemann, M. De Simone, M. Zimmermann, T. A. Knappe, X. Xie, F. S. Di Leva, L. Marinelli, E. Novellino, S. Zahler, H. Kessler, M. A. Marahiel, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5829–5834.
- [48] R. Katahira, M. Yamasaki, Y. Matsuda, M. Yoshida, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 121–129.
- [49] S. Chen, R. Gopalakrishnan, T. Schaer, F. Marger, R. Hovius, D. Bertrand, F. Pojer, C. Heinis, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 1009–1016.
- [50] C. Heinis, T. Rutherford, S. Freund, G. Winter, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 502–507.
- [51] H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1970**, *9*, 219–235; *Angew. Chem.* **1970**, *82*, 237–253.
- [52] M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, H. Kessler, *FEBS Lett.* **1991**, *291*, 50–54.
- [53] 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. Hornick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, *292*, 55–58.
- [54] G. Weckbecker, I. Lewis, R. Albert, H. A. Schmid, D. Hoyer, C. Bruns, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 999–1017.



- [55] B. Laufer, J. Chatterjee, A. O. Frank, H. Kessler, *J. Pept. Sci.* **2009**, 15, 141–146.
- [56] T. S. Haque, J. C. Little, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6975–6985.
- [57] I. L. Karle, S. K. Awasthi, P. Balaram, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 8189–8193.
- [58] M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, M. Aumailley, R. Timpl, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 210, 911–921.
- [59] S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 491–514.
- [60] E. Benedetti, A. Bavoso, B. Di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, C. Toniolo, G. M. Bonora, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, 79, 7951–7954.
- [61] A. Rüegger, M. Kuhn, H. Lichti, H.-R. Loosli, R. Huguenin, C. Quiquerez, A. von Wartburg, *Helv. Chim. Acta* **1976**, 59, 1075–1092.
- [62] J. Chatterjee, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 254–269; *Angew. Chem.* **2013**, 125, 268–283.
- [63] F. Piriou, K. Lintner, S. Femandjian, P. Fromageot, M. C. Khosla, R. R. Smeby, F. M. Bumpus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, 77, 82–86.
- [64] J. Chatterjee, D. Mierke, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15164–15172.
- [65] J. Chatterjee, D. F. Mierke, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 1508–1517.
- [66] Q.-G. Dong, Y. Zhang, M.-S. Wang, J. Feng, H.-H. Zhang, Y.-G. Wu, T.-J. Gu, X.-H. Yu, C.-L. Jiang, Y. Chen, W. Li, W. Kong, *Amino Acids* **2012**, 43, 2431–2441.
- [67] C. Mas-Moruno, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, 10, 753–768.
- [68] J. Spiegel, C. Mas-Moruno, H. Kessler, W. D. Lubell, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 5271–5278.
- [69] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, 23, 3–25.
- [70] G. Ruiz-Gómez, J. D. A. Tyndall, B. Pfeiffer, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2010**, 110, PR1–PR41.
- [71] U. Nagai, K. Sato, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 647–650.
- [72] S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H.-G. Lombart, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **1997**, 53, 12789–12854.
- [73] L. Halab, F. Gosselin, W. D. Lubell, *Biopolymers* **2000**, 55, 101–122.
- [74] J. Cluzeau, W. D. Lubell, *Biopolymers* **2005**, 80, 98–150.
- [75] W. C. Ripka, G. V. De Lucca, A. C. Bach II, R. S. Pottorf, J. M. Blaney, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3593–3608.
- [76] M. Hata, G. R. Marshall, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2006**, 20, 321–331.
- [77] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, C. D. Strader, A. B. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9217–9218.
- [78] A. B. Smith III, S. Sasho, B. A. Barwis, P. Sprengeler, J. Barbosa, R. Hirschmann, B. S. Cooperman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 3133–3136.
- [79] M. G. Hinds, N. G. J. Richards, J. A. Robinson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1447–1449.
- [80] H. Bittermann, P. Gmeiner, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 97–102.
- [81] H. Bittermann, F. Böckler, J. Einsiedel, P. Gmeiner, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 6315–6322.
- [82] L. Lomlim, J. Einsiedel, F. W. Heinemann, K. Meyer, P. Gmeiner, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3608–3611.
- [83] L. R. Whitby, Y. Ando, V. Setola, P. K. Vogt, B. L. Roth, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 10184–10194.
- [84] G. Müller, G. Hessler, H. Y. Decornez, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 894–896; *Angew. Chem.* **2000**, 112, 926–928.
- [85] R. Aurora, G. D. Rosee, *Protein Sci.* **1998**, 7, 21–38.
- [86] O. Koch, J. Cole, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2011**, 79, 1416–1426.
- [87] D. Lama, S. T. Quah, C. S. Verma, R. Lakshminarayanan, R. W. Beuerman, D. P. Lane, C. J. Brown, *Sci. Rep.* **2013**, 3, 3451.
- [88] Y. Isogai, G. Némethy, S. Rackovsky, S. J. Leach, H. A. Scheraga, *Biopolymers* **1980**, 19, 1183–1210.
- [89] O. Koch, J. Cole, P. Block, G. Klebe, *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, 49, 2388–2402.
- [90] H. S. Haase, K. J. Peterson-Kaufman, S. K. L. Levengood, J. W. Checco, W. L. Murphy, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 7652–7655.
- [91] W. J. Fairbrother, H. W. Christinger, A. G. Cochran, G. Fuh, C. J. Keenan, C. Quan, S. K. Shriver, J. Y. K. Tom, J. A. Wells, B. C. Cunningham, *Biochemistry* **1998**, 37, 17754–17764.
- [92] A. Glas, D. Bier, G. Hahne, C. Rademacher, C. Ottmann, T. N. Grossmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 2489–2493; *Angew. Chem.* **2014**, 126, 2522–2526.
- [93] A. Glas, T. N. Grossmann, *Synlett* **2015**, 26, 1–5.
- [94] B. L. Sibanda, J. M. Thornton, *Nature* **1985**, 316, 170–174.
- [95] K. S. Rotondi, L. M. Gierasch, *Biopolymers* **2006**, 84, 13–22.
- [96] J. P. Schneider, J. W. Kelly, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2169–2187.
- [97] J. S. Nowick, E. M. Smith, M. Pairish, *Chem. Soc. Rev.* **1996**, 25, 401–415.
- [98] J. Venkatraman, S. C. Shankaramma, P. Balaram, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3131–3152.
- [99] W. A. Loughlin, J. D. Tyndall, M. P. Glenn, T. A. Hill, D. P. Fairlie, *Chem. Rev.* **2010**, 110, PR32–PR69.
- [100] H. Kessler, M. Bernd, H. Kogler, J. Zarbock, O. W. Soerensen, G. Bodenhausen, R. R. Ernst, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6944–6952.
- [101] A. C. Gibbs, T. C. Bjorndahl, R. S. Hodges, D. S. Wishart, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1203–1213.
- [102] M. Favre, K. Moehle, L. Jiang, B. Pfeiffer, J. A. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2679–2685.
- [103] Z. Athanassiou, R. L. A. Dias, K. Moehle, N. Dobson, G. Varani, J. A. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 6906–6913.
- [104] B. Chatterjee, I. Saha, S. Raghothama, S. Aravinda, R. Rai, N. Shamala, P. Balaram, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 6192–6204.
- [105] T. S. Haque, J. C. Little, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4105–4106.
- [106] H. E. Stanger, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4236–4237.
- [107] J. D. Fisk, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 5443–5447.
- [108] J. M. Langenhan, I. A. Guzei, S. H. Gellman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2402–2405; *Angew. Chem.* **2003**, 115, 2504–2507.
- [109] L. R. Masterson, M. A. Etienne, F. Porcelli, G. Barany, R. P. Hammer, G. Veglia, *Biopolymers* **2007**, 88, 746–753.
- [110] M. Ramírez-Alvarado, F. J. Blanco, L. Serrano, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, 3, 604–612.
- [111] M. T. Pastor, M. López de La Paz, E. Lacroix, L. Serrano, E. Pérez-Payá, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 614–619.
- [112] Y. J. Chung, L. A. Christianson, H. E. Stanger, D. R. Powell, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10555–10556.
- [113] B. R. Huck, J. D. Fisk, S. H. Gellman, *Org. Lett.* **2000**, 2, 2607–2610.
- [114] R. Fasan, R. L. A. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, J. W. Vrijbloed, D. Obrecht, J. A. Robinson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 2109–2112; *Angew. Chem.* **2004**, 116, 2161–2164.
- [115] R. Fasan, R. L. Dias, K. Moehle, O. Zerbe, D. Obrecht, P. R. Mittl, M. G. Grutter, J. A. Robinson, *ChemBioChem* **2006**, 7, 515–526.
- [116] H. Diaz, J. R. Espina, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 8316–8318.
- [117] K. Y. Tsang, H. Diaz, N. Graciani, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3988–4005.

- [118] J. S. Nowick, N. A. Powell, E. J. Martinez, E. M. Smith, G. Noronha, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3763–3765.
- [119] J. S. Nowick, M. Abdi, K. A. Bellamo, J. A. Love, E. J. Martinez, G. Noronha, E. M. Smith, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 89–99.
- [120] J. S. Nowick, E. M. Smith, G. Noronha, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7386–7387.
- [121] A. Aemissegger, V. Kräutler, W. F. van Gunsteren, D. Hilvert, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2929–2936.
- [122] C. Bisang, L. Jiang, E. Freund, F. Emery, C. Bauch, H. Matile, G. Pluschke, J. A. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7439–7449.
- [123] V. Brandmeier, W. H. B. Sauer, M. Feigel, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 70–85.
- [124] C. P. R. Hackenberger, I. Schiffrs, J. Runsink, C. Bolm, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 739–743.
- [125] J. Manero, M. Feigel, F. Knoch, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 1579–1582.
- [126] C. L. Nesloney, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5836–5845.
- [127] D. Ranganathan, V. Haridas, S. Kurur, R. Nagaraj, E. Bikshapathy, A. C. Kunwar, A. V. S. Sarma, M. Vairamani, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 365–374.
- [128] A. S. M. Ressurreição, A. Bordessa, M. Civera, L. Belvisi, C. Gennari, U. Piarulli, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 652–660.
- [129] J. P. Schneider, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2533–2546.
- [130] N. Barooah, R. J. Sarma, J. B. Baruah, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 2942–2946.
- [131] M. Y. Ogawa, A. B. Gretchikhine, S.-D. Soni, S. M. Davis, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 6423–6424.
- [132] S. Chowdhury, G. Schatte, H.-B. Kraatz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7056–7059; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7164–7167.
- [133] M. Kruppa, C. Bonauer, V. Michlová, B. König, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5305–5308.
- [134] A. C. Laungani, J. M. Slattey, I. Krossing, B. Breit, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4488–4502.
- [135] T. Nakamura, H. Furunaka, T. Miyata, F. Tokunaga, T. Muta, S. Iwanaga, M. Niwa, T. Takao, Y. Shimonishi, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 16709–16713.
- [136] M. Masuda, H. Nakashima, T. Ueda, H. Naba, R. Ikoma, A. Otaka, Y. Terakawa, H. Tamamura, T. Ibuka, T. Murakami, Y. Koyanagi, M. Waki, A. Matsumoto, N. Yamamoto, S. Funakoshi, N. Fujii, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *189*, 845–850.
- [137] K. Kawano, T. Yoneya, T. Miyata, K. Yoshikawa, F. Tokunaga, Y. Terada, S. Iwanaga, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 15365–15367.
- [138] H. Tamamura, Y. Xu, T. Hattori, X. Zhang, R. Arakaki, K. Kanbara, A. Omagari, A. Otaka, T. Ibuka, N. Yamamoto, H. Nakashima, N. Fujii, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *253*, 877–882.
- [139] H. Tamamura, A. Omagari, S. Oishi, T. Kanamoto, N. Yamamoto, S. C. Peiper, H. Nakashima, A. Otaka, N. Fujii, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2633–2637.
- [140] H. Tamamura, M. Sugioka, Y. Odagaki, A. Omagari, Y. Kan, S. Oishi, H. Nakashima, N. Yamamoto, S. C. Peiper, N. Hamanaka, A. Otaka, N. Fujii, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 359–362.
- [141] N. Fujii, S. Oishi, K. Hiramatsu, T. Araki, S. Ueda, H. Tamamura, A. Otaka, A. Kusano, S. Terakubo, H. Nakashima, J. A. Broach, J. O. Trent, Z.-x. Wang, S. C. Peiper, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3251–3253; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3373–3375.
- [142] F. A. Syud, J. F. Espinosa, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11577–11578.
- [143] F. Freire, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7970–7972.
- [144] L. Y. Chan, V. M. Zhang, Y.-h. Huang, N. C. Waters, P. S. Bansal, D. J. Craik, N. L. Daly, *ChemBioChem* **2013**, *14*, 617–624.
- [145] R. M. Fesinmeyer, F. M. Hudson, N. H. Andersen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7238–7243.
- [146] K. A. Olsen, R. M. Fesinmeyer, J. M. Stewart, N. H. Andersen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 15483–15487.
- [147] B. M. P. Huyghues-Despointes, X. Qu, J. Tsai, J. M. Scholtz, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2006**, *63*, 1005–1017.
- [148] L. Eidenschink, B. L. Kier, K. N. L. Huggins, N. H. Andersen, *Proteins Struct. Funct. Bioinf.* **2009**, *75*, 308–322.
- [149] B. L. Kier, I. Shu, L. A. Eidenschink, N. H. Andersen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 10466–10471.
- [150] W. L. DeLano, M. H. Ultsch, A. M. de Vos, J. A. Wells, *Science* **2000**, *287*, 1279–1283.
- [151] C. M. Santiveri, E. León, M. Rico, M. A. Jiménez, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 488–499.
- [152] A. M. Almeida, R. Li, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 75–78.
- [153] O. Khakshoor, J. S. Nowick, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3000–3003.
- [154] K. Holland-Nell, M. Meldal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5204–5206; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 5310–5312.
- [155] V. Celentano, D. Diana, L. De Rosa, A. Romanelli, R. Fattorusso, L. D. D'Andrea, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 762–764.
- [156] J. H. Park, M. L. Waters, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 69–77.
- [157] L. E. Hanold, K. Oruganty, N. T. Ton, A. M. Beedle, N. Kannan, E. J. Kennedy, *PLoS One* **2015**, DOI: 10.1371/journal.pone.0118796.
- [158] R. Mahalakshmi, S. Raghothama, P. Balaram, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1125–1138.
- [159] L. Wu, D. McElheny, R. Huang, T. A. Keiderling, *Biochemistry* **2009**, *48*, 10362–10371.
- [160] C. M. Santiveri, M. A. Jiménez, *Biopolymers* **2010**, *94*, 779–790.
- [161] R. M. Hughes, M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6518–6519.
- [162] R. M. Hughes, M. L. Benshoff, M. L. Waters, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 5753–5764.
- [163] A. J. Riemen, M. L. Waters, *Biochemistry* **2009**, *48*, 1525–1531.
- [164] S. T. Phillips, M. Rezac, U. Abel, M. Kossenjans, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 58–66.
- [165] J. S. Nowick, D. L. Holmes, G. Mackin, G. Noronha, A. J. Shaka, E. M. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2764–2765.
- [166] H. Lingard, J. T. Han, A. L. Thompson, I. K. H. Leung, R. T. W. Scott, S. Thompson, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3650–3653; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3724–3727.
- [167] D. S. Kemp, B. R. Bowen, C. C. Muendel, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4650–4657.
- [168] M. C. Hammond, P. A. Bartlett, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3104–3107.
- [169] S. T. Phillips, G. Piersanti, M. R  th, N. Gubernator, B. van Lengerich, P. A. Bartlett, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4483–4485.
- [170] T. V. Khasanova, O. Khakshoor, J. S. Nowick, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5293–5296.
- [171] J. S. Nowick, J. M. Cary, J. H. Tsai, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5176–5180.
- [172] O. Khakshoor, B. Demeler, J. S. Nowick, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5558–5569.
- [173] H. Zeng, X. Yang, R. A. Flowers, B. Gong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2903–2910.
- [174] P. Rzepecki, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3016–3025.
- [175] G. A. Lengyel, R. C. Frank, W. S. Horne, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 4246–4249.
- [176] G. A. Lengyel, W. S. Horne, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15906–15913.

- [177] N. G. Angelo, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17134–17135.
- [178] P. N. Wyrembak, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4566–4567.
- [179] A. B. Smith III, A. K. Charnley, R. Hirschmann, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 180–193.
- [180] D. Xin, L. M. Perez, T. R. Ioerger, K. Burgess, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3594–3598; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3668–3672.
- [181] L. Bragg, J. C. Kendrew, M. F. Perutz, *Proc. R. Soc. London Ser. A* **1950**, *203*, 321–357.
- [182] C. Toniolo, E. Benedetti, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, *16*, 350–353.
- [183] R. B. Cooley, D. J. Arp, P. A. Karplus, *J. Mol. Biol.* **2010**, *404*, 232–246.
- [184] M. N. Fodje, S. Al-Karadaghi, *Protein Eng.* **2002**, *15*, 353–358.
- [185] D. J. Barlow, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 601–619.
- [186] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, P. E. Bourne, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235–242.
- [187] B. N. Bullock, A. L. Jochim, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14220–14223.
- [188] C. Toniolo, G. M. Bonora, A. Bavoso, E. Benedetti, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, *22*, 205–215.
- [189] S. Marqusee, R. L. Baldwin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 8898–8902.
- [190] M. Chorev, E. Roubini, R. L. McKee, S. W. Gibbons, M. E. Goldman, M. P. Caulfield, M. Rosenblatt, *Biochemistry* **1991**, *30*, 5968–5974.
- [191] D. Y. Jackson, D. S. King, J. Chmielewski, S. Singh, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9391–9392.
- [192] C. E. Schafmeister, J. Po, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5891–5892.
- [193] R. Kundu, P. R. Cushing, B. V. Popp, Y. Zhao, D. R. Madden, Z. T. Ball, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 7217–7220; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 7329–7332.
- [194] A. N. Zaykov, Z. T. Ball, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10927–10929.
- [195] M. R. Ghadiri, C. Choi, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1630–1632.
- [196] F. Ruan, Y. Chen, P. B. Hopkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9403–9404.
- [197] C. Dolain, Y. Hatakeyama, T. Sawada, S. Tashiro, M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5564–5565.
- [198] X. H. Chen, Z. Xiang, Y. S. Hu, V. K. Lacey, H. Cang, L. Wang, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 1956–1961.
- [199] 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.
- [200] A. K. Galande, K. S. Bramlett, J. O. Trent, T. P. Burris, J. L. Wittliff, A. F. Spatola, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1991–1998.
- [201] A. K. Galande, K. S. Bramlett, T. P. Burris, J. L. Wittliff, A. F. Spatola, *J. Pept. Res.* **2004**, *63*, 297–302.
- [202] H. Jo, N. Meinhardt, Y. Wu, S. Kulkarni, X. Hu, K. E. Low, P. L. Davies, W. F. DeGrado, D. C. Greenbaum, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 17704–17713.
- [203] A. Muppidi, Z. Wang, X. Li, J. Chen, Q. Lin, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9396–9398.
- [204] A. Muppidi, K. Doi, S. Edwardraja, E. J. Drake, A. M. Gulick, H. G. Wang, Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 14734–14737.
- [205] A. Muppidi, H. Zhang, F. Curreli, N. Li, A. K. Debnath, Q. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1748–1751.
- [206] A. M. Spokoyny, Y. Zou, J. J. Ling, H. Yu, Y.-S. Lin, B. L. Pentelute, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5946–5949.
- [207] G. A. Woolley, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 486–493.
- [208] D. C. Burns, F. Zhang, G. A. Woolley, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 251–258.
- [209] C. Renner, L. Moroder, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 868–878.
- [210] R. Behrendt, M. Schenk, H.-J. Musiol, L. Moroder, *J. Pept. Sci.* **1999**, *5*, 519–529.
- [211] J. R. Kumita, O. S. Smart, G. A. Woolley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3803–3808.
- [212] S. Kneissl, E. J. Loveridge, C. Williams, M. P. Crump, R. K. Allemann, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 3046–3054.
- [213] P. Wysoczanski, R. J. Mart, E. J. Loveridge, C. Williams, S. B. Whittaker, M. P. Crump, R. K. Allemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7644–7647.
- [214] L. Nevola, A. Martín-Quirós, K. Eckelt, N. Camarero, S. Tosi, A. Llobet, E. Giralt, P. Gorostiza, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 7704–7708; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 7858–7862.
- [215] J. C. Phelan, N. J. Skelton, A. C. Braisted, R. S. McDowell, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 455–460.
- [216] S. K. Sia, P. A. Carr, A. G. Cochran, V. N. Malashkevich, P. S. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 14664–14669.
- [217] R. S. Harrison, N. E. Shepherd, H. N. Hoang, G. Ruiz-Gómez, T. A. Hill, R. W. Driver, V. S. Desai, P. R. Young, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 11686–11691.
- [218] J. W. Taylor, *Biopolymers* **2002**, *66*, 49–75.
- [219] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
- [220] J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, N. J. Agard, P. V. Chang, I. A. Miller, A. Lo, J. A. Codelli, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 16793–16797.
- [221] S. Cantel, A. L. C. Isaad, M. Scrima, J. J. Levy, R. D. DiMarchi, P. Rovero, J. A. Halperin, A. M. D'Ursi, A. M. Papini, M. Chorev, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5663–5674.
- [222] S. A. Kawamoto, A. Coleska, X. Ran, H. Yi, C.-Y. Yang, S. Wang, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1137–1146.
- [223] O. Torres, D. Yüksel, M. Bernardina, K. Kumar, D. Bong, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1701–1705.
- [224] Y. H. Lau, P. de Andrade, G. J. McKenzie, A. R. Venkitaraman, D. R. Spring, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 2680–2683.
- [225] Y. H. Lau, P. de Andrade, S.-T. Quah, M. Rossmann, L. Laraia, N. Skold, T. J. Sum, P. J. E. Rowling, T. L. Joseph, C. Verma, M. Hyvonen, L. S. Itzhaki, A. R. Venkitaraman, C. J. Brown, D. P. Lane, D. R. Spring, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1804–1809.
- [226] Y. H. Lau, P. de Andrade, N. Skold, G. J. McKenzie, A. R. Venkitaraman, C. Verma, D. P. Lane, D. R. Spring, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 4074–4077.
- [227] H. E. Blackwell, R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3281–3284; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3469–3472.
- [228] 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.
- [229] Y. W. Kim, P. S. Kutchukian, G. L. Verdine, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3046–3049.
- [230] S. Y. Shim, Y. W. Kim, G. L. Verdine, *Chem. Biol. Drug Des.* **2013**, *82*, 635–642.
- [231] G. H. Bird, A. Irimia, G. Ofek, P. D. Kwong, I. A. Wilson, L. D. Walensky, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2014**, *21*, 1058–1067.
- [232] G. H. Bird, N. Madani, A. F. Perry, A. M. Princiotto, J. G. Supko, X. He, E. Gavathiotis, J. G. Sodroski, L. D. Walensky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 14093–14098.
- [233] G. J. Hilinski, Y.-W. Kim, J. Hong, P. S. Kutchukian, C. M. Crenshaw, S. S. Berkovitch, A. Chang, S. Ham, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12314–12322.
- [234] T. N. Grossmann, J. T.-H. Yeh, B. R. Bowman, Q. Chu, R. E. Moellering, G. L. Verdine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 17942–17947.
- [235] H.-K. Cui, B. Zhao, Y. Li, Y. Guo, H. Hu, L. Liu, Y.-G. Chen, *Cell Res.* **2013**, *23*, 581–584.
- [236] T. L. Sun, Y. Sun, C. C. Lee, H. W. Huang, *Biophys. J.* **2013**, *104*, 1923–1932.



- [237] Q. Chu, R. E. Moellering, G. J. Hilinski, Y.-W. Kim, T. N. Grossmann, J. T. H. Yeh, G. L. Verdine, *MedChemComm* **2015**, 6, 111–119.
- [238] 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.
- [239] Y. W. Kim, T. N. Grossmann, G. L. Verdine, *Nat. Protoc.* **2011**, 6, 761–771.
- [240] S. Penel, E. Hughes, A. J. Doig, *J. Mol. Biol.* **1999**, 287, 127–143.
- [241] A. B. Mahon, P. S. Arora, *Drug Discovery Today Technol.* **2012**, 9, e57–e62.
- [242] E. Cabezas, A. C. Satterthwait, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 3862–3875.
- [243] A. B. Mahon, P. S. Arora, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 1416–1418.
- [244] R. N. Chapman, G. Dimartino, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12252–12253.
- [245] A. Patgiri, M. Z. Menzenski, A. B. Mahon, P. S. Arora, *Nat. Protoc.* **2010**, 5, 1857–1865.
- [246] S. Kushal, B. B. Lao, L. K. Henchey, R. Dubey, H. Mesallati, N. J. Traaseth, B. Z. Olenyuk, P. S. Arora, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, 110, 15602–15607.
- [247] C. H. Douse, S. J. Maas, J. C. Thomas, J. A. Garnett, Y. Sun, E. Cota, E. W. Tate, *ACS Chem. Biol.* **2014**, 9, 2204–2209.
- [248] D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, D. R. Powell, X. Huang, J. J. Barchi, S. H. Gellman, *Nature* **1997**, 387, 381–384.
- [249] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 173–180.
- [250] D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3893–4012.
- [251] C. M. Goodman, S. Choi, S. Shandler, W. F. DeGrado, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 252–262.
- [252] T. A. Martinek, F. Fulop, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 687–702.
- [253] J. Frackenhohl, P. I. Arvidsson, J. V. Schreiber, D. Seebach, *ChemBioChem* **2001**, 2, 445–455.
- [254] H. Wiegand, B. Wirz, A. Schweitzer, G. P. Camenisch, M. I. R. Perez, G. Gross, R. Woessner, R. Voges, P. I. Arvidsson, J. Frackenhohl, D. Seebach, *Biopharm. Drug Dispos.* **2002**, 23, 251–262.
- [255] R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3219–3232.
- [256] D. Seebach, J. Gardiner, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1366–1375.
- [257] P. R. LePlae, J. D. Fisk, E. A. Porter, B. Weisblum, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6820–6821.
- [258] P. I. Arvidsson, M. Rueping, D. Seebach, *Chem. Commun.* **2001**, 649–650.
- [259] D. Seebach, J. V. Schreiber, P. I. Arvidsson, J. Frackenhohl, *Helv. Chim. Acta* **2001**, 84, 271–279.
- [260] R. P. Cheng, W. F. DeGrado, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 11564–11565.
- [261] Y. E. Bergman, M. P. Del Borgo, R. D. Gopalan, S. Jalal, S. E. Unabia, M. Ciampini, D. J. Clayton, J. M. Fletcher, R. J. Mulder, J. A. Wilce, M.-I. Aguilar, P. Perlmutter, *Org. Lett.* **2009**, 11, 4438–4440.
- [262] A. D. Bautista, J. S. Appelbaum, C. J. Craig, J. Michel, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2904–2906.
- [263] S. A. Hart, A. B. F. Bahadoor, E. E. Matthews, X. J. Qiu, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 4022–4023.
- [264] S. De Pol, C. Zorn, C. D. Klein, O. Zerbe, O. Reiser, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 511–514; *Angew. Chem.* **2004**, 116, 517–520.
- [265] G. V. M. Sharma, P. Nagendar, P. Jayaprakash, P. R. Krishna, K. V. S. Ramakrishna, A. C. Kunwar, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 5878–5882; *Angew. Chem.* **2005**, 117, 6028–6032.
- [266] M. A. Schmitt, S. H. Choi, I. A. Guzei, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 4538–4539.
- [267] L. K. Pils, O. Reiser, *Amino Acids* **2011**, 41, 709–718.
- [268] W. S. Horne, S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1399–1408.
- [269] A. Hayen, M. A. Schmitt, F. N. Ngassa, K. A. Thomasson, S. H. Gellman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 505–510; *Angew. Chem.* **2004**, 116, 511–516.
- [270] M. A. Schmitt, S. H. Choi, I. A. Guzei, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13130–13131.
- [271] R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 9367–9371.
- [272] H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 543–544; *Angew. Chem.* **1993**, 105, 572–573.
- [273] R. N. Zuckermann, *Biopolymers* **2011**, 96, 545–555.
- [274] K. Kirshenbaum, A. E. Barron, R. A. Goldsmith, P. Armand, E. K. Bradley, K. T. V. Truong, K. A. Dill, F. E. Cohen, R. N. Zuckermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 4303–4308.
- [275] J. T. Nguyen, C. W. Turck, F. E. Cohen, R. N. Zuckermann, W. A. Lim, *Science* **1998**, 282, 2088–2092.
- [276] O. Demmer, A. O. Frank, F. Hagn, M. Schottelius, L. Marinelli, S. Cosconati, R. Brack-Werner, S. Kremb, H.-J. Wester, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 8110–8113; *Angew. Chem.* **2012**, 124, 8234–8237.
- [277] B. P. Orner, J. T. Ernst, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5382–5383.
- [278] M. Lanning, S. Fletcher, *Future Med. Chem.* **2013**, 5, 2157–2174.
- [279] M. K. P. Jayatunga, S. Thompson, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 717–724.
- [280] J. T. Ernst, O. Kutzki, A. K. Debnath, S. Jiang, H. Lu, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 278–281; *Angew. Chem.* **2002**, 114, 288–291.
- [281] M. Peters, M. Trobe, H. Tan, R. Kleineweischede, R. Breinbauer, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 2442–2449.
- [282] A. Volonterio, L. Moisan, J. Rebek, *Org. Lett.* **2007**, 9, 3733–3736.
- [283] P. Maity, B. König, *Org. Lett.* **2008**, 10, 1473–1476.
- [284] L. Moisan, S. Odermatt, N. Gombosuren, A. Carella, J. Rebek, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1673–1676.
- [285] M. Peters, M. Trobe, R. Breinbauer, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 2450–2456.
- [286] J. Becerril, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4471–4473; *Angew. Chem.* **2007**, 119, 4555–4557.
- [287] C. G. Cummings, N. T. Ross, W. P. Katt, A. D. Hamilton, *Org. Lett.* **2009**, 11, 25–28.
- [288] J. H. Lee, Q. Zhang, S. Jo, S. C. Chai, M. Oh, W. Im, H. Lu, H. S. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 676–679.
- [289] J. T. Ernst, J. Becerril, H. S. Park, H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 535–539; *Angew. Chem.* **2003**, 115, 553–557.
- [290] J. Plante, F. Campbell, B. Malkova, C. Kilner, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 138–146.
- [291] T. K. Lee, J. M. Ahn, *ACS Comb. Sci.* **2011**, 13, 107–111.
- [292] N. S. Murphy, P. Prabhakaran, V. Azzarito, J. P. Plante, M. J. Hardie, C. A. Kilner, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 5546–5550.
- [293] V. Azzarito, P. Prabhakaran, A. I. Bartlett, N. S. Murphy, M. J. Hardie, C. A. Kilner, T. A. Edwards, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10, 6469–6472.
- [294] F. Campbell, J. P. Plante, T. A. Edwards, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 2344–2351.
- [295] K. Long, T. A. Edwards, A. J. Wilson, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 4034–4040.
- [296] I. Saraogi, C. D. Incarvito, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 9691–9694; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 9837–9840.
- [297] P. Prabhakaran, A. Barnard, N. S. Murphy, C. A. Kilner, T. A. Edwards, A. J. Wilson, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 3504–3512.

- [298] A. Barnard, K. Long, D. J. Yeo, J. A. Miles, V. Azzarito, G. M. Burslem, P. Prabhakaran, T. A. Edwards, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6794–6799.
- [299] A. Barnard, J. A. Miles, G. M. Burslem, A. M. Barker, A. J. Wilson, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 258–264.
- [300] V. Azzarito, J. A. Miles, J. Fisher, T. A. Edwards, S. Warriner, A. Wilson, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2434–2443.
- [301] H. Yin, K. K. Frederick, D. Liu, A. J. Wand, W. F. DeGrado, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 223–225.
- [302] J. M. Rodriguez, L. Nevola, N. T. Ross, G. I. Lee, A. D. Hamilton, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 829–833.
- [303] L. R. Whitby, D. L. Boger, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1698–1709.
- [304] H. Yin, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1375–1379.
- [305] J. M. Rodriguez, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8614–8617; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8768–8771.
- [306] S. Thompson, A. D. Hamilton, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5780–5782.
- [307] P. Tošovská, P. S. Arora, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1588–1591.
- [308] C. E. Schafmeister, Z. Z. Brown, S. Gupta, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1387–1398.
- [309] Z. Z. Brown, C. E. Schafmeister, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1436–1439.
- [310] Z. Z. Brown, J. Alleva, C. E. Schafmeister, *Biopolymers* **2011**, *96*, 578–585.
- [311] Z. Z. Brown, K. Akula, A. Arzumanyan, J. Alleva, M. Jackson, E. Bichenkov, J. B. Sheffield, M. A. Feitelson, C. E. Schafmeister, *PLoS One* **2012**, *7*, e45948.
- [312] X. Li, Z. Wang, Y. Feng, T. Song, P. Su, C. Chen, G. Chai, Y. Yang, Z. Zhang, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1280–1285.
- [313] J. S. Desgrosellier, D. A. Cheresch, *Nat. Rev. Cancer* **2010**, *10*, 9–22.
- [314] Y. Yarden, G. Pines, *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12*, 553–563.
- [315] T. Schöneberg, A. Schulz, H. Biebertmann, T. Hermsdorf, H. Römler, K. Sangkuhl, *Pharmacol. Ther.* **2004**, *104*, 173–206.
- [316] G. Vassart, S. Costagliola, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2011**, *7*, 362–372.
- [317] M. Werder, H. Hauser, S. Abele, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1774–1783.
- [318] S. Li, K. R. Schmitz, P. D. Jeffrey, J. J. W. Wiltzius, P. Kussie, K. M. Ferguson, *Cancer Cell* **2005**, *7*, 301–311.
- [319] J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 28–39.
- [320] P. Furet, B. Gay, G. Caravatti, C. García-Echeverría, J. Rahuel, J. Schoepfer, H. Fretz, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3442–3449.
- [321] N. Jura, N. F. Endres, K. Engel, S. Deindl, R. Das, M. H. Lamers, D. E. Wemmer, X. Zhang, J. Kuriyan, *Cell* **2009**, *137*, 1293–1307.
- [322] J. K. L. Sinclair, E. V. Denton, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 11232–11235.
- [323] N. W. Luedtke, R. J. Dexter, D. B. Fried, A. Schepartz, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 779–784.
- [324] J. K. L. Sinclair, A. Schepartz, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 4916–4919.
- [325] U. Rosenström, C. Sköld, G. Lindeberg, M. Botros, F. Nyberg, A. Karlén, A. Hallberg, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6133–6137.
- [326] K. A. Bolin, D. J. Anderson, J. A. Trulson, D. A. Thompson, J. Wilken, S. B. Kent, I. Gantz, G. L. Millhauser, *FEBS Lett.* **1999**, *451*, 125–131.
- [327] J. C. McNulty, D. A. Thompson, K. A. Bolin, J. Wilken, G. S. Barsh, G. L. Millhauser, *Biochemistry* **2001**, *40*, 15520–15527.
- [328] 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.
- [329] F. Giordanetto, J. D. Revell, L. Knerr, M. Hostettler, A. Pautovic, C. Priest, A. Janefeldt, A. Gill, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 1163–1168.
- [330] R. W. Cheloha, A. Maeda, T. Dean, T. J. Gardella, S. H. Gellman, *Nat. Biotechnol.* **2014**, *32*, 653–655.
- [331] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature* **1984**, *309*, 30–33.
- [332] R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1374–1389; *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440–1456.
- [333] M. A. Dechantsreiter, E. Planker, B. Mathä, E. Lohof, G. Hölzemann, A. Jonccyc, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033–3040.
- [334] R. Haubner, W. Schmitt, G. Hölzemann, S. L. Goodman, A. Jonccyc, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881–7891.
- [335] R. Haubner, H.-J. Wester, U. Reuning, R. Senekowitsch-Schmidtke, B. Diefenbach, H. Kessler, G. Stöcklin, M. Schwaiger, *J. Nucl. Med.* **1999**, *40*, 1061–1071.
- [336] J. Wermuth, S. L. Goodman, A. Jonccyc, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328–1335.
- [337] E. G. von Roeder, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 687–689; *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 684–686.
- [338] E. A. Wayner, N. L. Kovach, *J. Cell Biol.* **1992**, *116*, 489–497.
- [339] P. M. Doyle, J. C. Harris, C. M. Moody, P. J. Sadler, M. Sims, J. M. Thornton, J. Uppenbrink, J. H. Viles, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1996**, *47*, 427–436.
- [340] A. J. Souers, A. A. Virgilio, S. S. Schurer, J. A. Ellman, T. P. Kogan, H. E. West, W. Ankener, P. Vanderslice, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2297–2302.
- [341] J.-P. Xiong, T. Stehle, R. Zhang, A. Joachimiak, M. Frech, S. L. Goodman, M. A. Arnaout, *Science* **2002**, *296*, 151–155.
- [342] U. K. Marelli, A. O. Frank, B. Wahl, V. La Pietra, E. Novellino, L. Marinelli, E. Herdtweck, M. Groll, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 14201–14206.
- [343] B. Vogelstein, D. Lane, A. J. Levine, *Nature* **2000**, *408*, 307–310.
- [344] P. Chène, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 102–109.
- [345] M. H. G. Kubbutat, S. N. Jones, K. H. Vousden, *Nature* **1997**, *387*, 299–303.
- [346] F. Toledo, K. A. Krummel, C. J. Lee, C.-W. Liu, L.-W. Rodewald, M. Tang, G. M. Wahl, *Cancer Cell* **2006**, *9*, 273–285.
- [347] P. H. Kussie, S. Gorina, V. Marechal, B. Elenbaas, J. Moreau, A. J. Levine, N. P. Pavletich, *Science* **1996**, *274*, 948–953.
- [348] G. M. Popowicz, A. Czarna, U. Rothweiler, A. Szwagierczak, M. Krajewski, L. Weber, T. A. Holak, *Cell Cycle* **2007**, *6*, 2386–2392.
- [349] J. Phan, Z. Li, A. Kasprzak, B. Li, S. Sebt, W. Guida, E. Schönbrunn, J. Chen, *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 2174–2183.
- [350] M. Pazgier, M. Liu, G. Zou, W. Yuan, C. Li, C. Li, J. Li, J. Monbo, D. Zella, S. G. Tarasov, W. Lu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 4665–4670.
- [351] M. Liu, M. Pazgier, C. Li, W. Yuan, C. Li, W. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3649–3652; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3731–3734.
- [352] M. Liu, C. Li, M. Pazgier, C. Li, Y. Mao, Y. Lv, B. Gu, G. Wei, W. Yuan, C. Zhan, W.-Y. Lu, W. Lu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 14321–14326.
- [353] C. Zhan, L. Zhao, X. Wei, X. Wu, X. Chen, W. Yuan, W.-Y. Lu, M. Pazgier, W. Lu, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 6237–6241.
- [354] H. Shiheido, H. Takashima, N. Doi, H. Yanagawa, *PLoS One* **2011**, *6*, e17898.
- [355] S. Baek, P. S. Kutchukian, G. L. Verdine, R. Huber, T. A. Holak, K. W. Lee, G. M. Popowicz, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 103–106.
- [356] B. Anil, C. Riedinger, J. A. Endicott, M. E. Noble, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2013**, *69*, 1358–1366.
- [357] V. Bottger, A. Bottger, S. F. Howard, S. M. Picksley, P. Chene, C. Garcia-Echeverria, H. K. Hochkeppel, D. P. Lane, *Oncogene* **1996**, *13*, 2141–2147.
- [358] C. García-Echeverría, P. Chène, M. J. J. Blommers, P. Furet, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3205–3208.

- [359] K. Sakurai, C. Schubert, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11000–11001.
- [360] P. Chène, J. Fuchs, J. Bohn, C. García-Echeverría, P. Furet, D. Fabbro, *J. Mol. Biol.* **2000**, *299*, 245–253.
- [361] M. M. Madden, A. Muppidi, Z. Li, X. Li, J. Chen, Q. Lin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1472–1475.
- [362] L. K. Henchey, J. R. Porter, I. Ghosh, P. S. Arora, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2104–2107.
- [363] F. Bernal, A. F. Tyler, S. J. Korsmeyer, L. D. Walensky, G. L. Verdine, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2456–2457.
- [364] 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.
- [365] 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.
- [366] 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.
- [367] M. Wade, Y.-C. Li, G. M. Wahl, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 83–96.
- [368] L. T. Vassilev, B. T. Vu, B. Graves, D. Carvajal, F. Podlaski, Z. Filipovic, N. Kong, U. Kammlott, C. Lukacs, C. Klein, N. Fotouhi, E. A. Liu, *Science* **2004**, *303*, 844–848.
- [369] J. A. Kritzer, J. D. Lear, M. E. Hodsdon, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9468–9469.
- [370] J. A. Kritzer, M. E. Hodsdon, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4118–4119.
- [371] J. A. Kritzer, O. M. Stephens, D. A. Guarracino, S. K. Reznik, A. Schepartz, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 11–16.
- [372] J. A. Kritzer, N. W. Luedtke, E. A. Harker, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14584–14585.
- [373] J. K. Murray, B. Farooqi, J. D. Sadowsky, M. Scalf, W. A. Freund, L. M. Smith, J. Chen, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13271–13280.
- [374] E. A. Harker, D. S. Daniels, D. A. Guarracino, A. Schepartz, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2038–2046.
- [375] J. Michel, E. A. Harker, J. Tirado-Rives, W. L. Jorgensen, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6356–6357.
- [376] M. Hintersteiner, T. Kimmerlin, G. Garavel, T. Schindler, R. Bauer, N. C. Meisner, J. M. Seifert, V. Uhl, M. Auer, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 994–998.
- [377] E. A. Harker, A. Schepartz, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 990–993.
- [378] A. Patgiri, S. T. Joy, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11495–11502.
- [379] T. Hara, S. R. Durell, M. C. Myers, D. H. Appella, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1995–2004.
- [380] H. Yin, G. I. Lee, H. S. Park, G. A. Payne, J. M. Rodriguez, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2704–2707; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2764–2767.
- [381] L. Chen, H. Yin, B. Farooqi, S. Sebt, A. D. Hamilton, J. Chen, *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 1019–1025.
- [382] J. P. Plante, T. Burnley, B. Malkova, M. E. Webb, S. L. Warriner, T. A. Edwards, A. J. Wilson, *Chem. Commun.* **2009**, 5091–5093.
- [383] B. B. Lao, K. Drew, D. A. Guarracino, T. F. Brewer, D. W. Heindel, R. Bonneau, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 7877–7888.
- [384] R. J. Youle, A. Strasser, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 47–59.
- [385] T. Moldoveanu, A. V. Follis, R. W. Kriwacki, D. R. Green, *Trends Biochem. Sci.* **2014**, *39*, 101–111.
- [386] P. E. Czabotar, E. F. Lee, M. F. van Delft, C. L. Day, B. J. Smith, D. C. S. Huang, W. D. Fairlie, M. G. Hinds, P. M. Colman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 6217–6222.
- [387] M. L. Stewart, E. Fire, A. E. Keating, L. D. Walensky, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 595–601.
- [388] B. J. Smith, E. F. Lee, J. W. Checco, M. Evangelista, S. H. Gellman, W. D. Fairlie, *ChemBioChem* **2013**, *14*, 1564–1572.
- [389] A. Kazi, J. Sun, K. Doi, S.-S. Sung, Y. Takahashi, H. Yin, J. M. Rodriguez, J. Becerril, N. Berndt, A. D. Hamilton, H.-G. Wang, S. M. Sebt, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 9382–9392.
- [390] X. Cao, J. L. Yap, M. K. Newell-Rogers, C. Peddaboina, W. Jiang, H. T. Papaconstantinou, D. Jupiter, A. Rai, K. Y. Jung, R. P. Tubin, W. Yu, K. Vanommeslaeghe, P. T. Wilder, A. D. MacKerell, Jr., S. Fletcher, R. W. Smythe, *Mol. Cancer* **2013**, *12*, 42.
- [391] 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.
- [392] 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.
- [393] E. Gavathiotis, M. Suzuki, M. L. Davis, K. Pitter, G. H. Bird, S. G. Katz, H. C. Tu, H. Kim, E. H. Cheng, N. Tjandra, L. D. Walensky, *Nature* **2008**, *455*, 1076–1081.
- [394] D. Wang, W. Liao, P. S. Arora, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6525–6529; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6683–6687.
- [395] W. S. Horne, M. D. Boersma, M. A. Windsor, S. H. Gellman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2853–2856; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 2895–2898.
- [396] M. D. Boersma, H. S. Haase, K. J. Peterson-Kaufman, E. F. Lee, O. B. Clarke, P. M. Colman, B. J. Smith, W. S. Horne, W. D. Fairlie, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 315–323.
- [397] J. D. Sadowsky, M. A. Schmitt, H.-S. Lee, N. Umezawa, S. Wang, Y. Tomita, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11966–11968.
- [398] J. D. Sadowsky, W. D. Fairlie, E. B. Hadley, H.-S. Lee, N. Umezawa, Z. Nikolovska-Coleska, S. Wang, D. C. S. Huang, Y. Tomita, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 139–154.
- [399] J. D. Sadowsky, J. K. Murray, Y. Tomita, S. H. Gellman, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 903–916.
- [400] O. Kutzki, H. S. Park, J. T. Ernst, B. P. Orner, H. Yin, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11838–11839.
- [401] H. Yin, G.-i. Lee, K. A. Sedey, O. Kutzki, H. S. Park, B. P. Orner, J. T. Ernst, H.-G. Wang, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10191–10196.
- [402] S. M. Biros, L. Moisan, E. Mann, A. Carella, D. Zhai, J. C. Reed, J. Rebek, Jr., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4641–4645.
- [403] J. M. Rodriguez, N. T. Ross, W. P. Katt, D. Dhar, G.-i. Lee, A. D. Hamilton, *ChemMedChem* **2009**, *4*, 649–656.
- [404] J. L. Yap, X. Cao, K. Vanommeslaeghe, K.-Y. Jung, C. Peddaboina, P. T. Wilder, A. Nan, A. D. MacKerell, W. R. Smythe, S. Fletcher, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 2928–2933.
- [405] H. Yin, G.-i. Lee, K. A. Sedey, J. M. Rodriguez, H.-G. Wang, S. M. Sebt, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5463–5468.
- [406] H. R. Bourne, D. A. Sanders, F. McCormick, *Nature* **1990**, *348*, 125–132.
- [407] J. Spiegel, P. M. Cromm, A. Itzen, R. S. Goody, T. N. Grossmann, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2498–2503; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 2531–2536.
- [408] J. Spiegel, P. M. Cromm, G. Zimmermann, T. N. Grossmann, H. Waldmann, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 613–622.
- [409] A. Patgiri, K. K. Yadav, P. S. Arora, D. Bar-Sagi, *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 585–587.
- [410] M. Katoh, *Stem Cell Rev.* **2007**, *3*, 30–38.



- [411] R. E. Moellering, M. Cornejo, T. N. Davis, C. Del Bianco, J. C. Aster, S. C. Blacklow, A. L. Kung, D. G. Gilliland, G. L. Verdine, J. E. Bradner, *Nature* **2009**, *462*, 182–188.
- [412] S. J. Bray, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 678–689.
- [413] G. Hahne, T. N. Grossmann, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 4020–4026.
- [414] K. Takada, D. Zhu, G. H. Bird, K. Sukhdeo, J. J. Zhao, M. Mani, M. Lemieux, D. E. Carrasco, J. Ryan, D. Horst, M. Fulciniti, N. C. Munshi, W. Xu, A. L. Kung, R. A. Shivdasani, L. D. Walensky, D. R. Carrasco, *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 148ra117.
- [415] 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.
- [416] A. O. Frank, B. Vangamudi, M. D. Feldkamp, E. M. Souza-Fagundes, J. W. Luzwick, D. Cortez, E. T. Olejniczak, A. G. Waterson, O. W. Rossanese, W. J. Chazin, S. W. Fesik, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2455–2461.
- [417] J. E. Darnell, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 740–749.
- [418] T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6852–6853.
- [419] 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.
- [420] K. Hirota, G. L. Semenza, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2006**, *59*, 15–26.
- [421] L. K. Henchey, S. Kushal, R. Dubey, R. N. Chapman, B. Z. Olenyuk, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 941–943.
- [422] B. B. Lao, I. Grishagin, H. Mesallati, T. F. Brewer, B. Z. Olenyuk, P. S. Arora, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 7531–7536.
- [423] G. M. Burslem, H. F. Kyle, A. L. Breeze, T. A. Edwards, A. Nelson, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1083–1087.
- [424] G. B. Cohen, R. Ren, D. Baltimore, *Cell* **1995**, *80*, 237–248.
- [425] Y. Wang, T. G. Ho, D. Bertinetti, M. Neddermann, E. Franz, G. C. Mo, L. P. Schendowich, A. Sukhu, R. C. Spelts, J. Zhang, F. W. Herberg, E. J. Kennedy, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 635–642.
- [426] D. Xin, A. Holzenburg, K. Burgess, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 4914–4921.
- [427] H. Lu, *BioSci. Trends* **2013**, *7*, 257–258.
- [428] K. Wiegers, G. Rutter, H. Kottler, U. Tessmer, H. Hohenberg, H. G. Krausslich, *J. Virol.* **1998**, *72*, 2846–2854.
- [429] J. Sticht, M. Humbert, S. Findlow, J. Bodem, B. Muller, U. Dietrich, J. Werner, H. G. Krausslich, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2005**, *12*, 671–677.
- [430] H. Zhang, Q. Zhao, S. Bhattacharya, A. A. Waheed, X. Tong, A. Hong, S. Heck, F. Curreli, M. Goger, D. Cowburn, E. O. Freed, A. K. Debnath, *J. Mol. Biol.* **2008**, *378*, 565–580.
- [431] S. Bhattacharya, H. Zhang, D. Cowburn, A. K. Debnath, *Biopolymers* **2012**, *97*, 253–264.
- [432] D. C. Chan, D. Fass, J. M. Berger, P. S. Kim, *Cell* **1997**, *89*, 263–273.
- [433] J. M. Kilby, S. Hopkins, T. M. Venetta, B. DiMassimo, G. A. Cloud, J. Y. Lee, L. Alldredge, E. Hunter, D. Lambert, D. Bolognesi, T. Matthews, M. R. Johnson, M. A. Nowak, G. M. Shaw, M. S. Saag, *Nat. Med.* **1998**, *4*, 1302–1307.
- [434] J. K. Judice, J. Y. Tom, W. Huang, T. Wrin, J. Vennari, C. J. Petropoulos, R. S. McDowell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 13426–13430.
- [435] D. Wang, M. Lu, P. S. Arora, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1879–1882; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1905–1908.
- [436] O. M. Stephens, S. Kim, B. D. Welch, M. E. Hodsdon, M. S. Kay, A. Schepartz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13126–13127.
- [437] A. D. Bautista, O. M. Stephens, L. Wang, R. A. Domaoal, K. S. Anderson, A. Schepartz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3736–3738.
- [438] W. S. Horne, J. L. Price, J. L. Keck, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4178–4180.
- [439] W. S. Horne, L. M. Johnson, T. J. Ketas, P. J. Klasse, M. Lu, J. P. Moore, S. H. Gellman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 14751–14756.
- [440] L. M. Johnson, D. E. Mortenson, H. G. Yun, W. S. Horne, T. J. Ketas, M. Lu, J. P. Moore, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7317–7320.
- [441] P. Gorrry, P. Ancuta, *Curr. HIV/AIDS Rep.* **2011**, *8*, 45–53.
- [442] 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.
- [443] G. H. Bird, S. Boyapalle, T. Wong, K. Opoku-Nsiah, R. Bedi, W. C. Crannell, A. F. Perry, H. Nguyen, V. Sampayo, A. Devareddy, S. Mohapatra, S. S. Mohapatra, L. D. Walensky, *J. Clin. Invest.* **2014**, *124*, 2113–2124.
- [444] P. Pileri, Y. Uematsu, S. Campagnoli, G. Galli, F. Falugi, R. Petracca, A. J. Weiner, M. Houghton, D. Rosa, G. Grandi, S. Abrignani, *Science* **1998**, *282*, 938–941.
- [445] E. Scarselli, H. Ansuini, R. Cerino, R. M. Roccasecca, S. Acali, G. Filocamo, C. Traboni, A. Nicosia, R. Cortese, A. Vitelli, *EMBO J.* **2002**, *21*, 5017–5025.
- [446] M. Dhanasekaran, P. W. Baures, O. Prakash, S. VanCompernelle, S. Todd, *J. Pept. Res.* **2003**, *61*, 80–89.
- [447] H.-K. Cui, J. Qing, Y. Guo, Y.-J. Wang, L.-J. Cui, T.-H. He, L. Zhang, L. Liu, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3547–3554.
- [448] C. Ottmann, L. Yasmin, M. Weyand, J. L. Veesenmeyer, M. H. Diaz, R. H. Palmer, M. S. Francis, A. R. Hauser, A. Wittinghofer, B. Hallberg, *EMBO J.* **2007**, *26*, 902–913.
- [449] M. Gao, J. Skolnick, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 22517–22522.
- [450] O. Koch, *Future Med. Chem.* **2011**, *3*, 699–708.
- [451] D. J. Yeo, S. L. Warriner, A. J. Wilson, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9131–9133.
- [452] A. D. de Araujo, H. N. Hoang, W. M. Kok, F. Diness, P. Gupta, T. A. Hill, R. W. Driver, D. A. Price, S. Liras, D. P. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 6965–6969; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7085–7089.
- [453] A. A. Kaspar, J. M. Reichert, *Drug Discovery Today* **2013**, *18*, 807–817.
- [454] D. Ibraheem, A. Elaissari, H. Fessi, *Int. J. Pharm.* **2014**, *477*, 578–589.

Eingegangen am 16. Dezember 2014  
Online veröffentlicht am 26. Juni 2015