

Peptidmimetica – maßgeschneiderte Enzyminhibitoren

Joachim Gante*

Professor Hans Joachim Langmann zum 70. Geburtstag gewidmet

Peptide und Proteine – die Übergänge zwischen diesen Verbindungsklassen sind fließend – sind in vielerlei Hinsicht essentielle Bestandteile von Organismen. Während den Proteinen vor allem biokatalytische Aufgaben sowie solche als wichtige Gewebebestandteile zukommen, haben die Peptide vor allem als Hormone, Neurotransmitter und Neuromodulatoren eine wichtige Funktion im Organismus. Schon seit langem bedient man sich in der medizinischen Chemie der Peptide und ihrer Analoga als Arzneimittel zur Therapie pathologischer Zustände, die zumeist durch eine Störung des Wechselspiels zwischen

Botenstoffen oder Enzymsubstraten einerseits sowie ihren Adressaten – den Rezeptoren und Enzymen – andererseits gekennzeichnet sind. Die Entwicklung geht dabei aus biochemischen und biophysikalischen Gründen immer mehr in die Richtung chemischer „Trojanischer Pferde“, der Peptidmimetica. Dabei steigen die Erfolgsaussichten für die Wirksamkeit dieser Verbindungen in der Regel mit dem Ausmaß des Täuschungseffekts, d.h. proportional zur Wandlung eines Peptids zum Nichtpeptid. Rationales Design ist zu einem Schlagwort geworden, das gerade für die Konzeption von Peptidmimetica aktuel-

le Gültigkeit erlangt hat. Neue Computerprogramme leisten dabei eine unverzichtbare hilfreiche Arbeit. Bei allem Fortschritt ist man vom Endziel, dem De-novo-Design von Peptidmimetica, noch weit entfernt. Das rationale Design macht jedoch deutliche Fortschritte, und im Hinblick auf das Ganze kann man schon jetzt sagen: Der Peptidchemie insgesamt haben die Peptidmimetica bisher zu einem enormen Auftrieb verholfen. Das dürfte sich fortsetzen, so daß die Peptidchemie der Zukunft von einer Art symbiotischer Allianz aus Peptiden und Nichtpeptiden geprägt sein könnte!

1. Einleitung

Peptidmimetica^[1] haben in den letzten Jahrzehnten eine immense Bedeutung für Organiker und Chemiker in der medizinischen Forschung erlangt. Im biologisch-chemischen und pharmazeutischen Bereich bieten sie interessante Vorteile gegenüber den physiologisch aktiven Peptiden, die als natürliche Wirkstoffe von immenser Bedeutung für den Organismus sind. Die Verstärkung der Wirksamkeit, die Erhöhung der Selektivität zur Verminderung von Nebenwirkungen, die Schaffung oraler Bioverfügbarkeit sowie die Verlängerung der Wirkungsdauer durch Verhinderung des enzymatischen Abbaus im Organismus sind für die Entwicklung von Peptidmimetica von wesentlicher Bedeutung^[2].

Mit Hilfe computergraphischer Methoden, moderner NMR-Techniken sowie der Kristallstrukturanalyse lassen sich gezielt maßgeschneiderte Wirkstoffe konstruieren (Drug Design) und synthetisieren, deren Strukturvielfalt vom leicht veränderten Peptid bis zum reinen Nichtpeptid reicht. Dabei führt das

„Fischen“ in Peptidbibliotheken^[3] sowie das Auffinden völlig neuer nichtpeptidischer Strukturen im empirischen Massenscreening oft zu neuen Leitstrukturen, von denen ausgehend durch Strukturvariation die gewünschten Wirkeigenschaften optimiert werden können.

Die Synthese solcher Verbindungen kann das ganze Instrumentarium der Organischen Chemie erfordern. Die moderne Peptidchemie – zu der auch die Mimetica zählen – lebt also nur noch zum Teil von ihren traditionellen Synthesetechniken.

Die Entwicklung von Peptidmimetica basiert im wesentlichen auf der Kenntnis der konformativen, topochemischen und elektronischen Gegebenheiten des nativen Peptidwirkstoffs sowie der seiner Adresse, d.h. des Rezeptors oder der Bindungsstelle eines Enzyms, mit denen er interagiert. Das Design von Peptidmimetica als potentielle Wirkstoffe sollte insbesondere auf zwei Strukturgegebenheiten ausgerichtet sein: 1. eine günstige Paßform (Gesamtkonformation), wenn notwendig durch den Einbau versteifender Elemente stabilisiert, im Hinblick auf die entsprechende komplementäre räumliche Situation am Wirkort; 2. die Platzierung bestimmter Strukturelemente (z.B. funktioneller Gruppen, polarer und hydrophober Bereiche) an definierten Stellen, um erwünschte Wechselwirkungen (z.B. Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische oder hydrophobe Wechselwirkungen) zu ermöglichen.

[*] Prof. Dr. J. Gante
E. Merck
Präklinische Pharmaforschung, Medizinische Chemie
D-64271 Darmstadt
Telefax: Int. + 6151/72-2000

Bei der Enzyminhibition beispielsweise setzen beide Strukturbedingungen die Kenntnis der entsprechenden sterischen Gegebenheiten des Enzym-Substrat-Komplexes sowie des Katalysenmechanismus, d.h. der Arbeitsweise des Enzyms voraus. Letzteres gibt, als Voraussetzung für ein gezieltes Vorgehen, unter anderem darüber Auskunft, welche Reaktanten an welcher Stelle des Komplexes an einer Reaktion beteiligt sind. Außerdem spielt die Kenntnis der bioaktiven Konformation eines Wirkstoffs beim Drug Design eine herausragende Rolle. Neben spektroskopischen Methoden (NMR) und der Kristallstrukturanalyse ist das Molecular Modeling ein wichtiges Hilfsmittel bei solchen Untersuchungen.

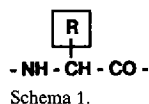
Aufgabe dieser Übersicht soll es sein, Grundsätzliches und Zusammenhänge der soeben geschilderten Art näher zu verdeutlichen. Die immense Fülle des vorliegenden Materials gebietet eine Beschränkung auf wenige charakteristische und wesentliche Beispiele. Nach der Behandlung allgemeiner Struktur- und Syntheseaspekte sollen hier insbesondere aktuelle Anwendungsbeispiele für Peptidmimetica aus dem Bereich der – therapeutisch relevanten – Enzyminhibition vorgestellt werden. Die Beeinflussung von Rezeptoren durch solche Wirkstoffe (z.B. CCK-Antagonisten, Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten) ist in einer erst kürzlich in dieser Zeitschrift erschienenen Übersicht eingehend behandelt worden^[2b].

2. Möglichkeiten zur Modifizierung der Peptidstruktur

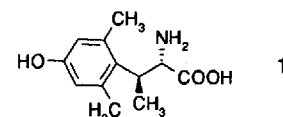
Strukturell stehen grundsätzlich die im folgenden diskutierten Möglichkeiten zur Mimetisierung eines Peptids zur Verfügung. Das Ergebnis der Mimetisierung kann von der leicht veränderten Ausgangsstruktur bis zum reinen Nichtpeptid reichen.

2.1. Modifizierungen in der Seitenkette von Aminosäureresten

Zu den Modifizierungen in der Seitenkette von Aminosäuren zählt der schon lange praktizierte Austausch von natürlichen gegen nichtnatürliche Seitenketten sowie der Austausch von L- gegen D-Aminosäuren (Schema 1). Ein jüngeres Beispiel zeigt, daß diese Analogisierungsart noch immer aktuell ist: Eine durch Methylierung in 2',6'- und



β -Position modifizierte Tyrosinseitenkette führt zur Einschränkung der Rotation um die C $^{\beta}$ -C $^{\gamma}$ -Bindung und kann damit zur Begünstigung bioaktiver Konformationen beitragen (1)^[4].

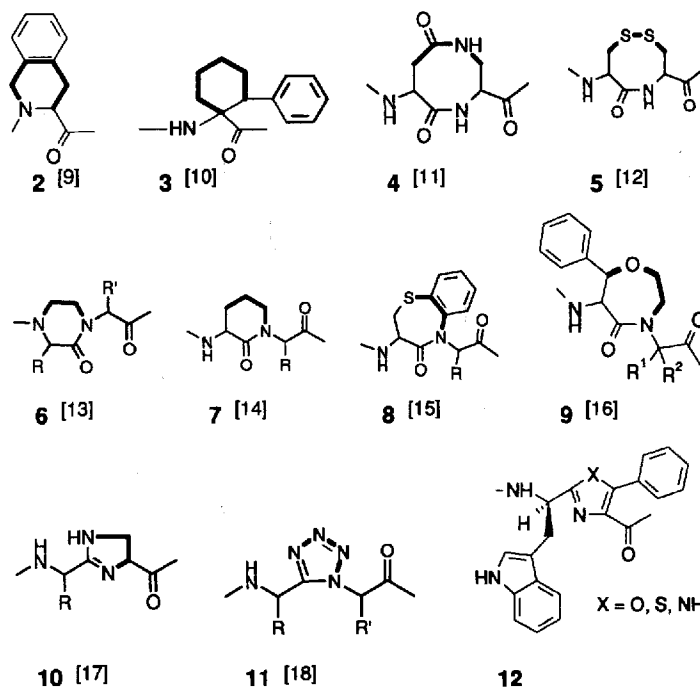


2.2. Modifizierungen am Peptidrückgrat

Mit der Modifizierung des Peptidrückgrats ist der zumeist isostere oder isoelektronische Austausch von Einheiten der Peptidkette sowie das Einfügen zusätzlicher Kettenglieder gemeint^[2e]. Die häufigsten Modifizierungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

2.3. Konformationsstabilisierende Cyclen (Überbrückung)

Die Konformation von Peptiden kann durch den Einbau unterschiedlich langer, versteifender Brücken zwischen Teilen des



Schema 2. Überbrückungen bei Peptidmimetica.



Joachim Gante, 1933 in Berlin geboren, studierte Chemie an der Freien Universität Berlin. Nach der Promotion und Habilitation – beides mit Arbeiten über das neue Peptid-analoge System der Azapeptide – wechselte er 1968 nach Darmstadt zur Firma E. Merck, wo er sich seit längerem innerhalb der Pharmaforschung mit dem Thema Peptidmimetica als pharmazeutisch relevante Wirkstoffe befaßt. Desgleichen wurden methodisch grundlegende Arbeiten zur Peptidsynthese von ihm durchgeführt. An der Technischen Hochschule Darmstadt hat er eine außerplanmäßige Professur für Organische Chemie inne und vertritt dort in der Lehre das Gebiet Peptidchemie.

Tabelle 1. Die häufigsten Modifizierungen am Peptidrückgrat.

Austausch einzelner Kettenglieder		
—NH—	—CH— (R)	—CO—
—O— (Depsi)	—N— (Aza)	—CS— (Thio)
—S—	—C-Alkyl—	$\text{—CH}_2\text{—}$ (reduziert)
$\text{—(CO)—CH}_2\text{—}$ (Ketomethylen)	—BH— (Bora [5])	$\text{—SO}_n\text{—}$ (n=1,2) [6]
		—P=O(OH)— [7]
		—B(OH)— [8]
Verlängerung der Peptidkette	zweifacher Austausch an der Peptidbindung	
—NH—X—CH—CO— (R)	—CO—NH—	
—O—	—NH—CO— (Retro-Inverso)	
—NH—	$\text{—CH(OH)—CH}_2\text{—}$ (Hydroxyethylen)	
$\text{—CH}_2\text{—}$	—CH=CH— (E-Alken)	
	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$ (Carba)	
	$\text{—P=O(OH)—CH}_2\text{—}$	

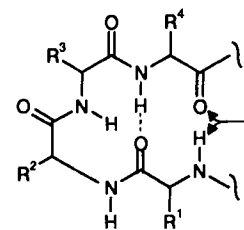
Moleküls stabilisiert oder fixiert werden (Schema 2)^[2b]. Die Überbrückung kann innerhalb eines Aminosäurerests vorliegen, wie bei 2 und 3, oder mehrere Aminosäurereste umfassen, wobei in diesem Fall meistens zwei Aminosäurereste betroffen sind (Dipeptid-Analoga). Sie kann die verschiedensten Verknüpfungspunkte haben und sich auf unterschiedliche Bereiche des Rückgrats erstrecken. Dabei kann der Brückenschlag von Seitenkette zu Seitenkette (4 und 5), von Rückgrat zu Rückgrat (6) oder von der Seitenkette zum Rückgrat (7–9) erfolgen. Darüber hinaus kann eine vollständige oder sogar ausschließliche Einbeziehung der Peptidbindung in den Cyclus vorliegen (10 und 11).

Zu den die Peptidbindung einbeziehenden Mimetica sind auch Peptidazole wie 12 zu rechnen, über die vor kurzem eine interessante Arbeit erschienen ist^[19]. Hexapeptid-Analoga mit einer dieser Einheiten zeigen eine bis zu zehnfach höhere Substanz-P-antagonistische Wirkung als das Peptid-Original.

2.4. Induktion und Stabilisierung von Sekundärstrukturen (β - und γ -Schleifen, α -Helices)

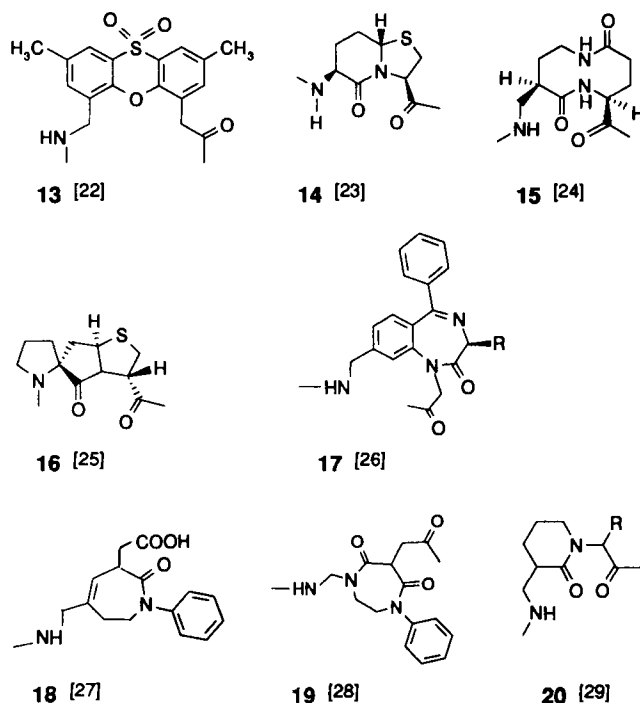
Das Einfrieren peptidischer Sekundärstrukturen durch Mimetisierung ist ein wichtiges Hilfsmittel in der Wirkstoff-Forschung. Man erhofft sich hiermit die Fixierung bioaktiver Konformationen, sofern sie durch solche Strukturelemente wesentlich geprägt sind.

Neben α -Helix- und Faltblattstrukturen sind die Schleifen (turns oder loops) als Wendepunkte in der Peptidkette wichtige Konformationsbauelemente für Peptide und Proteine^[20]. Der offenbar wichtigste Wendepunkt, die β -Schleife, wird aus vier Aminosäuren gebildet. Ihre Stabilisierung erfolgt durch eine Wasserstoffbrücke zwischen der Carbonylgruppe der ersten Aminosäure und der NH-Gruppe der vierten Aminosäure (Schema 3). Eine zweite Wasserstoffbrückenbindung kann zur weiteren Stabilisierung der β -Schleife beitragen. Eine γ -Schleife wird in ähnlicher Weise aus drei Aminosäuren gebildet.



Schema 3. Struktur einer typischen β -Schleife.

Wenige Beispiele aus der immensen Fülle des bereits in neueren Übersichten^[2a,b, 21] zusammengefaßten Materials sollen zeigen, daß die Strukturmerkmale von noch erkennbaren Peptidketten bis zu völlig nichtpeptidischen Komponenten reichen (13–20 in Schema 4).

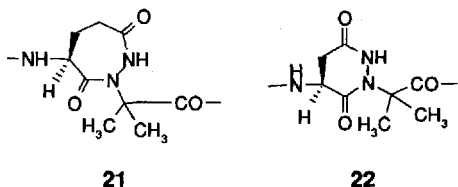


Schema 4. Charakteristische β - (13–17) und γ -Schleifenmimetica (18–20).

Während mit 13 beispielsweise zwei antiparallele Peptidketten erzeugt werden^[22a], können mit dem gleichen tricyclischen Grundgerüst durch Änderung der Ankergruppen neuerdings

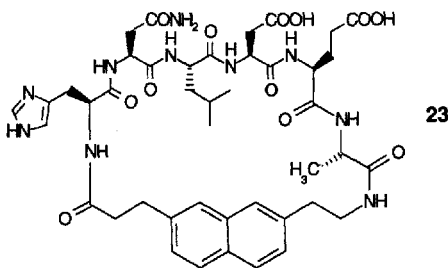
auch β -Faltblattmimetica mit entsprechenden parallel verlaufenden Ketten aufgebaut werden^[22b].

Kürzlich wurde über α -Helix-Induktoren vom Typ cyclischer Hydrazide wie **21** und **22** (Schema 5) berichtet^[30]. Außerdem wurde ein neues Ω -Schleifenmimeticum beschrieben^[31]. Als Ω -Schleifen werden konformativ stabilisierte, größere Kurven ei-



Schema 5. α -Helix-Induktoren.

ner Peptidkette bezeichnet, an der 6–16 Aminosäurereste beteiligt sind. Das Ω -Schleifenmimeticum **23** imitiert die Sequenz 41–48 im Interleukin-1 α , einem wichtigen Mediator immunologischer und entzündlicher Prozesse^[32].

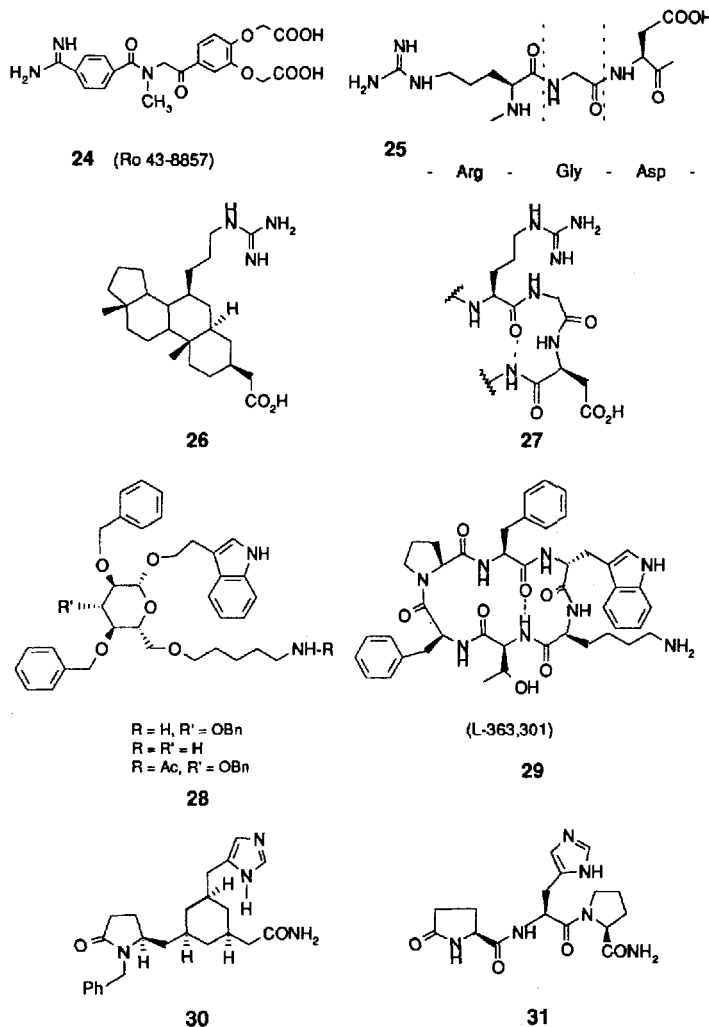


Ω -Schleifen kommen in vielen Proteinen vor, können dort β -Stränge miteinander verbinden und sind in der Regel fest an der Proteinoberfläche verankert. Man vermutet, daß sie unter anderem eine wichtige Rolle bei der biologischen Erkennung spielen. Man hat nachgewiesen, daß Ω -Schleifen durch Komplexbildung auch an der Inhibierung von Trypsin beteiligt sind^[33].

2.5. Gerüstmimetica

Bei Gerüstmimetica (scaffold mimetics) sind an einem meist völlig artfremden Rückgrat die für die Effektivität an der Zielstruktur erforderlichen Seitenkettenelemente des Peptid-Originals verankert. Solche Verbindungen erscheinen im Hinblick auf die Generierung einer oralen Bioverfügbarkeit – ein schwerwiegendes generelles Problem bei Peptiden – besonders interessant. So ist es nur folgerichtig, bevorzugt Grundkörper oder Strukturelemente aus dem Bereich der Naturstoffe und der bewährten Pharmazeutica zu verwenden, deren orale Resorbierbarkeit bekannt ist. Wichtig bei solchen Verbindungen ist außerdem die relative Starrheit ihrer Konformation, die oft ein Zusammenfallen (hydrophobic collapse)^[34] der Struktur zu einer inaktiven Konformation (siehe Abschnitt 6) verhindert.

In Schema 6 ist eine Reihe wichtiger Gerüstmimetica und ihrer Peptid-Originale wiedergegeben. Verbindung **24** ist als Mimeticum des Sequenzabschnitts Arg-Gly-Asp (RGD) **25** des Fibri-



Schema 6. Charakteristische Gerüstmimetica (links) und ihre Peptid-Originale (rechts).

nogens ein potenter Adhäsionsrezeptor(GpIIb/IIIa)-Antagonist (Hemmung der Thrombocytenaggregation) mit den für die Wirksamkeit wichtigen Endgruppen (Amidin-, Carboxysubstituent) in der richtigen Position^[35].

Während in **24** das Grundgerüst noch peptidische Züge aufweist, liegt in Verbindung **26** ein typisches Gerüstmimeticum vor, dessen Steroidgerüst die entsprechenden Gruppen trägt. Tatsächlich hat sie eine – wenn auch schwache – GpIIb/IIIa-antagonistische Wirkung^[36]. Wie aus Schema 6 ersichtlich, vermag das Mimeticum eine offenbar wirksamkeitsrelevante β -Schleife im Bereich der RGD-Sequenz **27** zu imitieren.

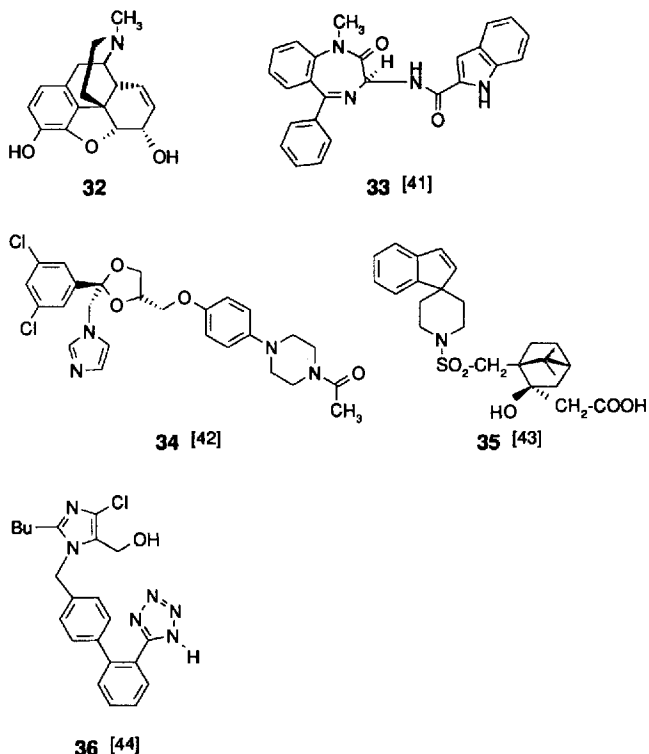
β -D-Glucose dient als Gerüst für Mimetica wie **28** des schon länger bekannten, an den Somatostatinrezeptor bindenden, cyclischen Hexapeptids **29**^[37].

Bemerkenswert an diesen β -Schleifen-imitierenden Mimetica ist, daß sie je nach Konzentration agonistisch oder antagonistisch auf den Rezeptor wirken können. Die Acetylierung führt erstaunlicherweise unter „Umpolung“ zu einem selektiven Substanz-P(SP)-Antagonisten, dem ersten neutralen Effektor dieser Art überhaupt^[38].

Ein wirksames Analogon des tripeptidischen Thyreotropin-Releasing-Hormon (TRH) **31** ist **30**^[39].

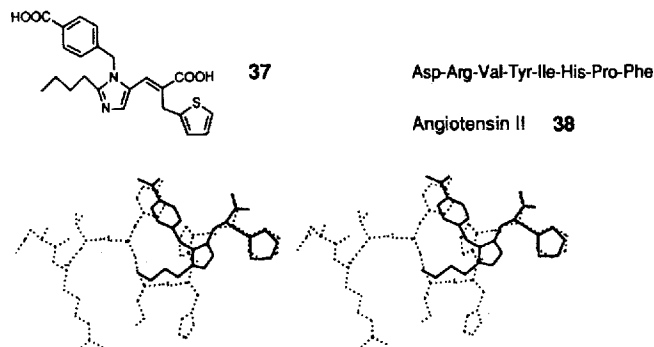
2.6. Nichtpeptidische Mimetica

Diese zumeist im Zufallsscreening großer Substanzpools, zu denen auch Kulturfiltrate von Mikroorganismen und Pilzmetaboliten zählen, entdeckten Verbindungen gehören den unterschiedlichsten Substanzklassen der Organischen Chemie an und haben keine offensichtliche Strukturbeziehung zu den natürlichen peptidischen Liganden. Für diese Gruppe von Peptidmimetica wurde der Terminus Limetics (aus ligand mimetics zusammengesetzt) geprägt^[40]. Die Vielseitigkeit der Strukturen kommt in den Verbindungen 32–36 zum Ausdruck (Schema 7).



Schema 7. Peptidmimetica mit vollständig nichtpeptidischen Strukturen: Das Analgetikum Morphin 32, der CCK-Antagonist 33, das Antimykotikum Ketoconazol 34, der Oxytocin-Antagonist 35 und der Angiotensin-II-Antagonist DuP 753 36.

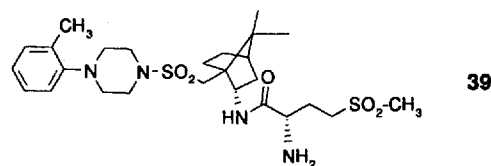
In der Reihe der Angiotensin-II-Antagonisten vom Typ DuP 753 36 wurde ein sehr erfolgreiches Drug Design mit Hilfe von Molecular Modeling durchgeführt^[45]. Dabei wurde die hochwirksame Struktur 37 aus einer Reihe ähnlicher Verbindungen durch Überlagerung mit der vermutlichen bioaktiven Konformation des Angiotensin II (A II) 38 systematisch herausoptimiert (Schema 8). Aus der vorgeschlagenen Überlagerung ergab sich unter anderem, daß die Butylgruppe von 37 räumlich der Ile⁵-Seitenkette von 38 entspricht. Die N-C-N-Einheit des Imidazolrings sowie die Acrylat-Doppelbindung in 37 imitierten Peptidbindungen, während die Thienylgruppe die Stelle des Phe⁸-Phenylrings einnimmt. Dieser Heterocyclus bewirkt gegenüber dem entsprechenden Mimeticum mit Phenylring eine Verhundertfachung der Bindungsstärke sowie eine Erhöhung der Wirksamkeit nach oraler Applikation. In neuerer Zeit wurde – auf den soeben geschilderten Daten aufbauend – ein verfeinertes Angiotensin-II-Modell entwickelt, das eine vergrößerte Kon-



Schema 8. Überlagerung der berechneten Konformation von 37 mit der von Angiotensin II 38.

gruenz auch strukturell stärker unterschiedlicher A-II-Antagonisten aufweist^[46].

Die Weiterentwicklung der Oxytocin-Antagonisten vom Typ der Verbindung 35 (siehe Schema 7) ergab die Verbindung 39 mit einem IC₅₀-Wert kleiner 10 nM^[47].



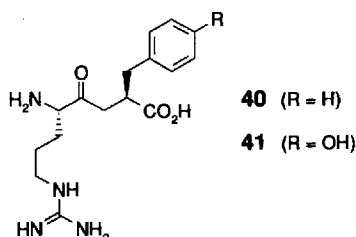
3. Synthesebeispiele

Die Synthese von Peptidmimetica gestaltet sich mit steigendem Mimetisierungsgrad gegenüber der Peptidherstellung häufig wesentlich aufwendiger. Zum einen ist die Kettenverlängerung in der Regel nicht so einfach wie die bei den Peptiden, zum anderen kann man hier nicht aus dem chiralen Pool optisch aktiver Aminosäuren schöpfen, sondern muß eine den Peptid-Originalen entsprechende definierte Stereochemie erst aufbauen. Bei der großen Strukturvielfalt der Peptidmimetica ist das gesamte Instrumentarium der Organischen Chemie gefordert! Die Synthesemöglichkeiten seien anhand einiger weniger Beispiele aus dem Bereich der Rückgrat-modifizierten Peptide dargelegt.

3.1. Carbapeptide

Eine der häufigst bearbeiteten Substanzklassen bei Rückgrat-modifizierten Peptiden sind die Carbapeptide. Im engeren Sinne sind dies Peptide, deren NH-Einheit in der Amidbindung gegen eine CH₂-Gruppe ausgetauscht wurde (Ketomethylen $\psi(\text{COCH}_2)$), im weiteren Sinne sind auch die Modifizierungen Hydroxyethylen ($\psi(\text{CHOHCH}_2)$) und $\psi(\text{CH}_2\text{CH}_2)$ (siehe Tabelle 1) dazuzurechnen. Ketomethylen-^[48] und Hydroxyethylenpeptid-Analoga^[49] spielen besonders in der Chemie der Enzyminhibitoren eine Rolle^[50], wobei Substanzen mit letzterer Dipeptid-analoger Gruppierung zu den wirksamsten Inhibitoren des Renins^[51] und der HIV-1-Protease^[52] (siehe Abschnitt 5.2.1 bzw. 5.5) zählen.

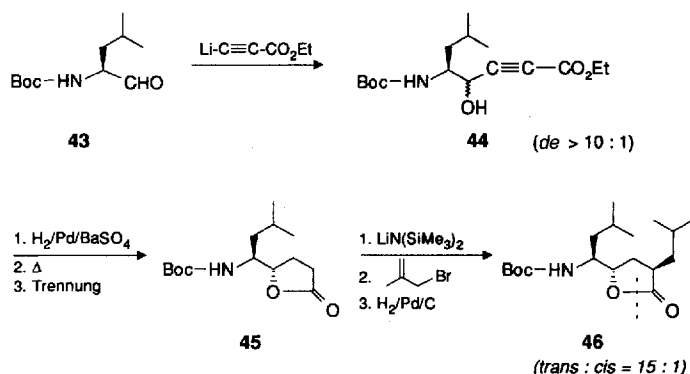
Ketomethylen-Analoga hat man erstaunlicherweise sogar in der Natur gefunden. So wurden von Umezawa et al. potente Hemmer der Arginylaminopeptidase, die Arphamenine A **40** und B **41**, sowie weitere Stereoisomere aus *Chromobacterium*



violaceum isoliert, strukturell aufgeklärt und neuerdings auch synthetisiert^[53]. Sie sind von großem therapeutischem Interesse, z.B. als Immunmodulatoren, Opioidpeptid-Abbauhemmer und Carcinostatica^[54].

Die Synthesemöglichkeiten für $\psi(\text{CHOHCH}_2)$ -Dipeptid-Analoga sind in einer neueren Übersicht beschrieben worden^[49]. Beim Aufbau der in α -Stellung substituierten Hydroxyethylen-Dipeptid-Einheit **42** kommt es vor allem auf die Schaffung einer einheitlichen Stereochemie an allen drei Stereozentren an. Die Ausgangsverbindung ist ein enantiomerenreines Aminosäurederivat (aus dem chiralen Pool), so daß die Stereoselektivität der Reaktion vorprogrammiert ist^[49, 55].

Eine relativ elegante Synthese (Schema 9) geht vom Boc-geschützten Aminoaldehyd **43** aus, setzt diesen mit Lithiumpropionsäureester zu **44** um, hydriert (Bildung des Lactons **45**), metalliert, alkyliert mit Methallylbromid und hydriert zum α -substituierten Lacton **46**^[56]. Dieses läßt sich mit Nucleophilen (OH^- , NHR) zum linearen Peptid-Analogon öffnen.

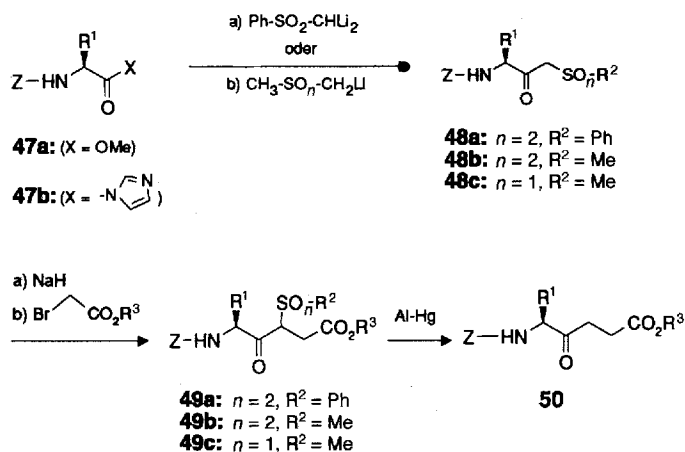


Schema 9. Aufbau von Hydroxyethylen-Dipeptideinheiten nach Fray et al. [56]. Boc = *tert*-Butoxycarbonyl.

In einer neueren Synthese, die ebenfalls Aldehyde als Edukte verwendet, allerdings nur zu α -unsubstituierten Produkten führt, werden titanierte Propionsäureester als Homo-enolat-Komponenten eingesetzt^[57].

Interessante neue Aspekte der Synthese von Ketomethylen-peptid-Analoga haben sich in letzter Zeit durch Verwendung von β -Ketosulfonen **48a, b** und -sulfoxiden **48c** ergeben, die

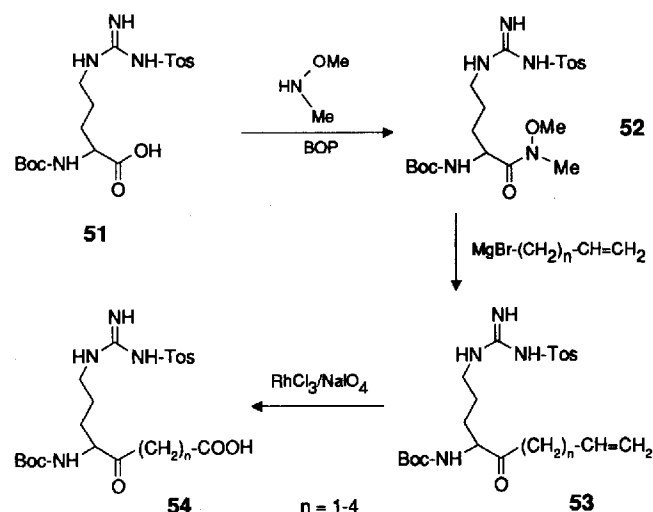
durch Umsetzung geschützter Aminosäureester und -imidazolidine **47** mit lithiiertem Methylphenylsulfon^[58] bzw. Dimethylsulfon und Dimethylsulfoxid^[59] erhalten werden (Schema 10). Aus den Verbindungen **48** lassen sich durch Metallierung und Umsetzung mit Bromessigester zu **49** mit nachfolgender reduktiver Entschwefelung die entsprechenden Carbaglycyl-Dipeptid-Analoga **50** herstellen.



Schema 10. Aufbau von Ketomethylen-Dipeptideinheiten nach Lygo [58] und Gante et al. [59]. Als Schutzgruppe wird entweder Benzyloxycarbonyl (Z) oder der Boc-Rest eingesetzt.

Es konnte gezeigt werden^[59], daß mit verzweigten α -Brom-carbonsäureestern ein α -Substituent eingeführt werden kann. Verwendet man aus dem chiralen Pool der Aminosäuren leicht zugängliche enantiomerenreine Halogenverbindungen, sollten die stereoisomerenreinen Analoga nahezu aller natürlichen Aminosäuren zugänglich sein. Darüber hinaus sind mit dieser neuen Methode auch $\psi(\text{CH}_2\text{CH}_2)$ - und $\psi(\text{CH}=\text{CH})$ -Dipeptid-Analoga erhältlich^[58].

Ein anderes Vorgehen ermöglicht die Synthese der Ketomethylen-Analoga von Arginyldipeptidderivaten, die sich als hochwirksame und proteaseresistente Thrombininhibitoren (siehe Abschnitt 5.3) herausgestellt haben^[60] (Schema 11). Das

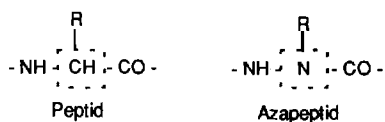


Schema 11. Aufbau von Ketomethylen-Analoga von Arginyldipeptidderivaten nach DiMaio et al. [60]. Tos = Tosyl.

aus der geschützten Aminosäure **51** hergestellte *N,O*-Dimethylhydroxamsäure-Derivat **52**^[61] wird in einer Grignard-Reaktion in **53** und in der anschließenden Sharpless-Oxidation^[62] in die gewünschten Carbonsäuren **54** überführt. Kürzlich wurde über eine verbesserte Synthese der Vorstufen für Arginyldipeptidmetica mit Hilfe von *N*- α -Boc-Arg-Z₂ berichtet^[63].

3.2. Azapeptide

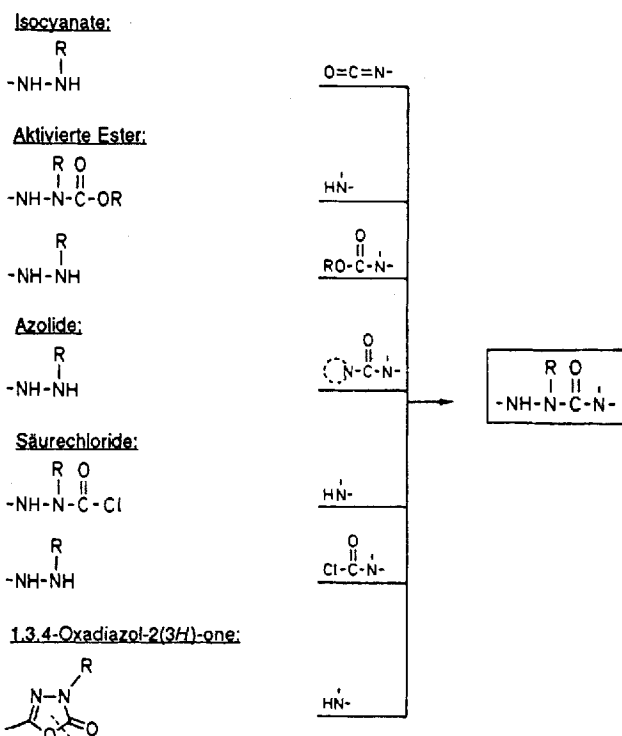
Eine inzwischen in der pharmazeutischen Chemie zu Bedeutung gekommene Klasse Rückgrat-modifizierter Peptide sind Azapeptide^[64]. Bei diesen Peptid-Analoga ist die α -CH-Gruppe eines oder mehrerer Aminosäurereste in einer Peptidkette isoelektronisch unter Erhalt der Seitenkette durch ein N-Atom ersetzt (Schema 12).



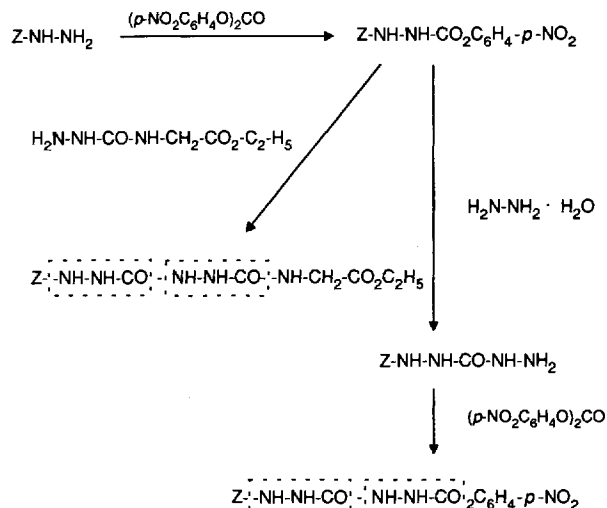
Schema 12. Durch den isoelektronischen Austausch der α -CH-Einheit in einer Peptidkette gegen ein N-Atom entstehen Azapeptide.

Da N-N(R)-CO-Einheiten in der Regel (Ausnahme: C-terminale Azaaminosäurereste) Bestandteil substituiert Semi-carbazine sind, ist der Aufbau von Azapeptiden sehr einfach aus substituierten Hydrazinen oder Hydraziden durch Anfügung einer Aminocarbonylgruppe zu bewerkstelligen. Welche Möglichkeiten zur Herstellung von Azaaminosäureresten bestehen^[64], ist schematisch in Schema 13 gezeigt.

Azapeptide können auch durch die beliebige Direktverknüpfung von Azaaminosäureresten synthetisiert werden, so daß mit repetitiven Synthesesequenzen – wie in Schema 14 am Beispiel



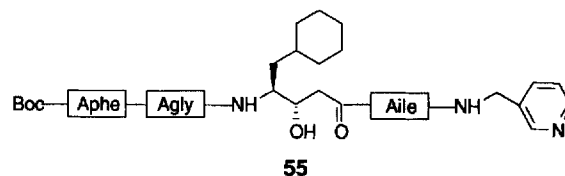
Schema 13. Mögliche Strategien zur Azapeptidsynthese.



Schema 14. Direktverknüpfung von Azaaminosäureresten.

C-terminal aktivierter Ester^[65] gezeigt – grundsätzlich jedes „reine“ Azapeptid zugänglich sein sollte.

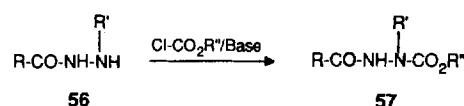
Kürzlich wurde das erste derartige Analogon einer biologisch aktiven Substanz, nämlich **55** in Schema 15, vorgestellt, bei dem alle Azareste mit der Nitrophenylester-Methode aufgebaut wurden^[66]. Im Gegensatz zum Peptid-Original, einem hochwirksamen Reninhemmer^[68], und den schon früher synthetisierten Präparaten, die jeweils nur einen Azaaminosäurerest enthalten (Aphe^[69], Agly^[70] und Aile^[71]-Rest), zeigt dieses All-Azapeptid **55** – wahrscheinlich aus konformativen Gründen – keine hemmende Wirkung gegenüber dem Renin.



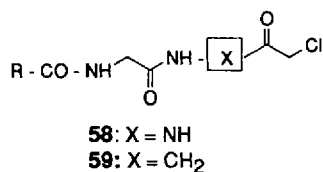
Schema 15. Der durch ein vorangestelltes A erweiterte Dreibuchstabencode von Aminosäuren bezeichnet die entsprechenden Azaaminosäuren [67].

Daß länger-kettige Azapeptide auch durch Festphasensynthesen zugänglich sind, konnten Gray et al. mit dem Einbau von Azaglutaminresten in Polyproteinsequenzen des Poliovirus und Adenovirus demonstrieren^[72]. C-terminale Azaaminosäurereste **57** sind aus den Hydraziden **56** und Chlorkohlensäureestern leicht zugänglich^[64b, 65, 67, 73] (Schema 16).

Solche Azapeptide sind hochinteressante und therapeutisch relevante Inhibitoren von Serin- und Cysteinproteasen^[67]. Das



Schema 16. Aufbau C-terminaler Azaaminosäurereste. R = Aminosäure- oder Peptidrest, R' = H, Alkyl, Benzyl, R'' = Alkyl, Aryl.



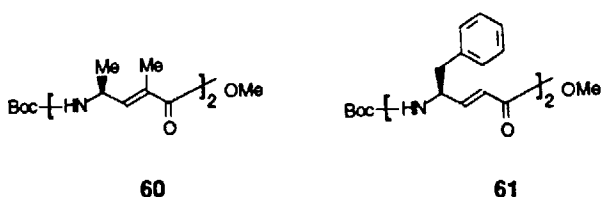
gleiche gilt für die Aza-Analoga **58** der Aminosäure-(chloromethyl)ketone **59**, die analog den Azaestern **57** durch einfache Hydrazinacylierung herstellbar sind^[74].

4. Neuere Modifizierungsprinzipien

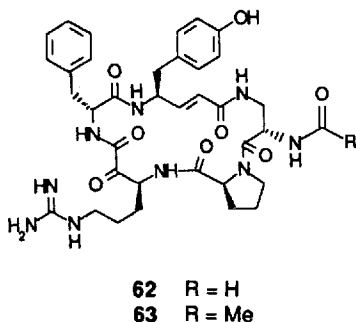
Als neuere Entwicklungsrichtungen bei Peptidmimetica mit höchst interessanten Anwendungsaspekten, insbesondere bei Rückgrat-modifizierten Peptiden, sind der Einsatz vinyloger Aminosäuren als Bausteine, spezieller Oligopyrrolinone sowie das neuartige Prinzip der Peptoide hervorzuheben.

4.1. Vinylogpeptide

Vinylogpeptide – keine eigentlichen Peptidisostere und konzeptionell mit der Hexose-DNA verwandt – können Sekundärstrukturen ähnlich denen der Peptide bilden, was sie unter anderem als potentielle Rezeptor- und Enzymliganden interessant macht. So zeigt die Kristallstrukturanalyse von **60**, das α -Methylgruppen enthält, eine Sekundärstruktur mit antiparalleler β -Faltblattstruktur, während **61** die entsprechende Parallelstruktur aufweist^[75].



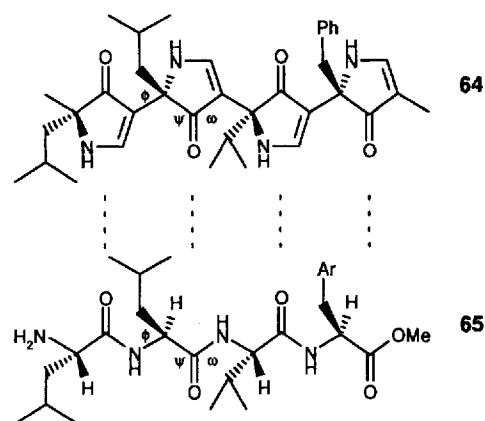
Erstaunlicherweise finden sich derartige Peptid-Analoga sogar in der Natur. Im Meeresschwamm *Theonella* kommen cyclische peptidische Strukturen – Cyclotheonamid A **62** und B **63** – mit vinylogem Tyrosin und einer weiteren ungewöhnlichen Amino-



säure, dem α -Ketoarginin, vor^[76]. Diese Naturstoffe inhibieren Thrombin, ein wichtiges Enzym der Blutkoagulations-Kaskade, und sind somit als potentielle Antithrombotica für die medizinische Chemie von Interesse (siehe Abschnitt 5.3).

4.2. Oligopyrrolinone

Beobachtungen zur Relevanz von β -Strang-Konformationen für die Bindung von Inhibitoren an proteolytische Enzyme führten kürzlich unter Einbeziehung des Molecular Modeling zur Konzeption eines neuartigen peptidmimetischen Systems, bei dem ein stark modifiziertes Rückgrat in cyclische, wiederum aminosäurevinyloge Strukturen integriert wird^[77], so daß Oligopyrrolinone resultieren. Schema 17 zeigt den Kettenabschnitt **64** einer derartigen Verbindung im Vergleich zu einer Tetrapeptideinheit aus Pferde-Angiotensinogen **65**, für das eine parallele β -Faltblattstruktur im kristallinen Zustand nachgewiesen wurde.

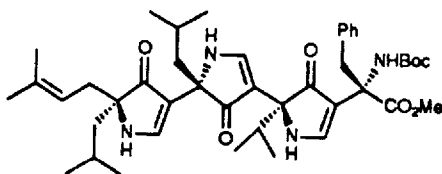


Schema 17. Strukturvergleich zwischen dem Oligopyrrolinon **64** und dem Peptid **65**. Ar = Aryl.

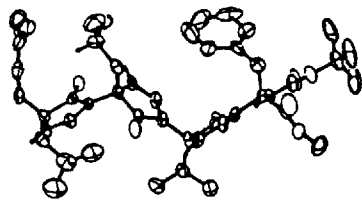
Das Mimeticum hat alle für die Bildung einer analogen Sekundärstruktur erforderlichen Merkmale: Nicht nur die Diederwinkel ϕ , φ und ω sowie die Ausrichtung der Seitenketten sind völlig adäquat, sondern auch die Strukturvoraussetzungen für die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen sind gegeben, wie sie für den Aufbau von β -Strang-Konformationen notwendig sind.

Obwohl die Kette völlig atypisch ist und die einzelnen Aminosäurereste senkrecht zur Kette stehen, entspricht die Orientierung der Amin- und Carbonylgruppen im Vinylogpeptid fast exakt der des Peptids. Ferner sind die Pyrrolinon-NH-Gruppen, obwohl nicht zum Rückgrat gehörend, als vinyloge Einheiten hinsichtlich ihrer Basizität der des Amidstickstoffatoms vergleichbar, so daß sie ebenfalls durch intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbildung zur Stabilisierung der β -Konformationen beitragen sollten.

Die Ergebnisse der Modelluntersuchungen konnten durch Synthese der Verbindung **66** (Schema 18) weitgehend bestätigt werden. Die Kristallstrukturen von **65** und **66** belegen die räumliche Überlappung von Seitenketten und Carbonylgruppen. Ferner zeigen sie die Bildung einer antiparallelen β -Faltblattstruktur bei **66**, wodurch eindrucksvoll demonstriert wird, daß die Pyrrolinon-N-Atome als H-Bindungsdonoren zwischen den Strängen der gewünschten β -Konformation fungieren.



66

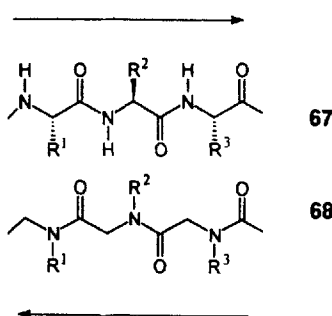


Schema 18. Formelbild und Struktur im Kristall von 66, einer Oligopyrrolinoneinheit.

Die Synthese dieser Peptidmimetica ist insofern von besonderer Relevanz, als sie den iterativen Aufbau der Kette durch eine stets sich wiederholende Reaktionssequenz ermöglicht.

4.3. Peptide

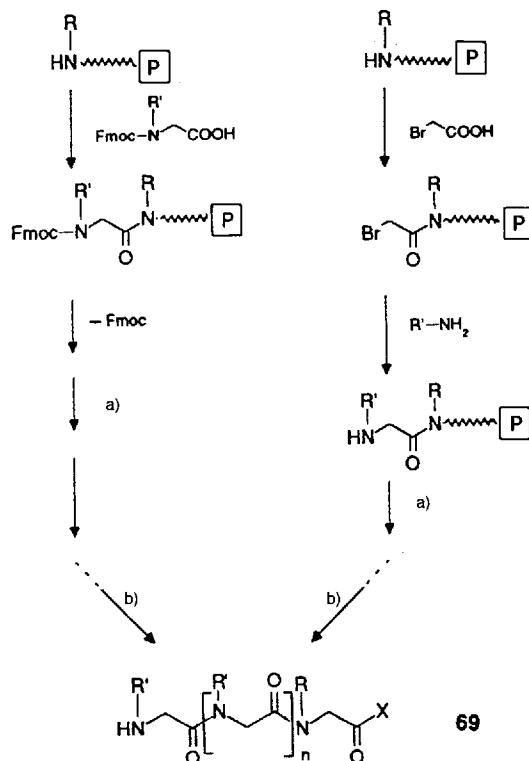
Hochinteressante Aspekte bietet das in der letzten Zeit publizierte neue Konzept der peptidanalogen Oligomere, der Peptide^[78]. Hierbei handelt es sich um peptidartig verknüpfte N-alkylierte Glycine, bei denen durchgehend ein formaler Austausch der α -CHR- durch NR-Gruppen (Azaprinzip) und umgekehrt der NH- (der Peptidbindung) durch CH_2 -Einheiten (Carbaprinzip) vorgenommen wurde. Die Positionen der Seitenketten und Carbonylgruppen der Original-Peptidkette 67 verändern sich



Schema 19. Vergleich der Kettensegmente von Peptidketten 67 und Peptidketten 68.

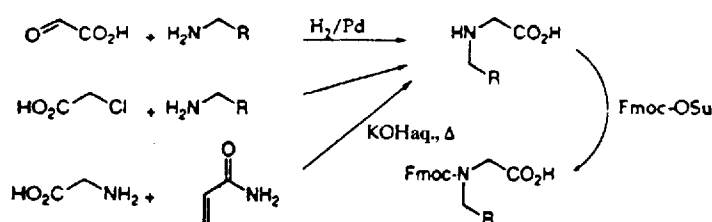
dabei nicht, wie beim Vergleich mit der Peptidkette 68 ersichtlich ist (Schema 19). Die Aminosäuresequenzen von Peptoiden und Peptiden sind gegenläufig ausgerichtet. Insofern erinnert dieses Prinzip an die schon länger bekannten Retro - inverso - Peptidmimetica, über die kürzlich eine ausführliche Übersicht erschienen ist^[79]. Da die den normalen Aminosäuren entsprechenden Seitenketten an die N-Atome gebunden sind und nur CH_2 -Gruppen (statt NH) auftreten, sind Peptoide natürlich nicht mehr chiral. Die meisten dieser Peptoidamino-säuren konnten bisher synthetisiert werden, die Oligomere lassen sich mit beliebiger Kettenlänge aus den entsprechenden Monomeren analog den Peptiden nach der Festphasenmethode am Rink-Amidharz^[80] herstellen. Dabei werden entweder die an der Aminogruppe und Seitenkettenfunktion geschützten (beispielsweise mit 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) oder *t*Bu) N-Alkylglycine – automatisch oder manuell – an die Polymer-NHR-Gruppen mit den Kupplungsreagentien PyBOP (Benzo-

triazol-1-yloxy-tris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat) oder PyBrOP (Brom-tris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat) gekoppelt und verlängert^[78a] oder neuerdings die entsprechenden polymeren Bromacetylverbindungen (Submonomer-Festphasensynthese) mit den jeweiligen Aminen repetitiv zu 69 umgesetzt^[78b] (Schema 20). Durch das neue Verfahren erübrigt sich die NH_2 -Schutzgruppe sowie die vorherige



Schema 20. Festphasensynthesen von Peptoiden. R = R' = H oder geschützte Seitenkette; X = NH_2 , OH; $n \leq 23$; P = Polymerharz. a) Die Reaktionsschritte werden n -mal wiederholt; b) das Peptoid wird entschützt und vom Harz abgespalten.

Herstellung des Monomers da die Untereinheiten direkt am Harz erzeugt werden. Die geschützten monomeren Glycine sind leicht erhältlich (Schema 21).



Schema 21. Aufbau von Peptoidmonomeren [78a]. Der Rest R ist jeweils geschützt.

Konformationsuntersuchungen (Ramachandran-Plot^[81], Molecular Modeling) zeigen, daß Peptoide konformativ viel flexibler sind als Peptide. Das Fehlen von CO-HN-Wasserstoffbrücken (keine NH-Gruppen in der Kette!) hat natürlich Einfluß auf die Sekundärstrukturen. Wie Versuche zeigen, sind Peptoide durch die wichtigen proteolytischen Enzyme Papain, Chymo-

trypsin und Thermolysin nicht abbaubar, was im Hinblick auf die Entwicklung oral wirksamer Pharmazeutika von großer Wichtigkeit ist.

Erste Untersuchungen zeigten, daß Peptide biologisch aktiver Peptide als Enzymhemmer gleich wirksam wie die Peptid-Originalen sein können. So hat die Wirkungsstärke der Analoga von Ac-Trp-Arg-Tyr-OMe (Inhibitionskonstante $K_i = 100 \mu\text{M}$) einem α -Amylaseinhibitor, die gleiche Größenordnung wie die der nativen Verbindung, wobei die Wirksamkeit der Retro-Sequenz Ac-Nhtyr-Narg-Nhtp-NH₂ ($K_i = 200 \mu\text{M}$) deutlich besser ist als die der „Vorwärts“-Sequenz Ac-Nhtp-Narg-Nhtyr-NH₂ ($K_i = 350 \mu\text{M}$)^[*].

Ein anderes Beispiel: Die analoge Peptoidsequenz des die 3C-Protease des Hepatitis-A-Virus inhibierenden Peptids Ac-Glu-Leu-Ala-Thr-Gln-Ser-Phe-Ser-NH₂ zeigt eine Inhibition nur bei der Retro-Sequenz, die etwa gleich stark wie beim Peptid-Original ist. Interessant im Hinblick auf die AIDS-Problematik dürfte auch der Befund sein, daß Peptoid-Analoga von Peptidsequenzen aus HIV-Tat-Protein ebenfalls an TAR-RNA binden.

Der größte Wert der Peptide liegt vielleicht jedoch in der Möglichkeit, wie bei den Peptiden in automatisierten multiplen Synthesen Peptidbibliotheken, die das Auffinden neuer nicht-peptidischer Leitstrukturen in einem Simultan-Screening ermöglichen sollten, aufzubauen.

5. Enzyminhibition durch Peptidmimetica

5.1. Einleitung

Enzyminhibition^[82] ist – wie eingangs schon erwähnt – neben der Interaktion mit Rezeptoren^[2b] ein weiter und hochaktueller Anwendungsbereich für Peptidmimetica. Hier sind es naturgemäß die Proteasen^[83], die aufgrund der sequentiellen Struktur ihrer Substrate ein lohnendes „Betätigungsfeld“ für Peptid-Analoga darstellen. Proteasen sind essentiell für den Ablauf biologischer Vorgänge, wobei ihre Funktion sehr mannigfaltig ist. So gibt es Proteasen, die Peptidhormone und Neuromodulatoren aus inaktiven Precursor-Molekülen freisetzen können (z.B. Renin, ACE (Agiotensin Converting Enzyme)), solche, die andere Enzyme (z.B. Gerinnungsfaktoren) aktivieren, und andere Peptidasen (z.B. Enkephalinase), die biologische Antworten durch Abbau des entsprechenden Messenger-Peptids unterbinden.

Es verwundert nicht, daß solche Enzyme zur Aufrechterhaltung der optimalen Funktion von endogenen Proteaseinhibitoren reguliert werden^[84]. Es ist leicht einzusehen, daß man mit von außen zugeführten (exogenen) Inhibitoren solcher Enzyme unter Umständen in den Fällen korrigierend eingreifen kann, in denen das biologische Gleichgewicht pathologisch gestört ist. Ziel der Konzeption solcher Inhibitoren ist eine möglichst starke (reversible oder irreversible) Bindung an das Enzym in Konkurrenz mit dem natürlichen Substrat. Die Wirkung eines Inhibitors beruht auf der mehr oder weniger stark ausgeprägten Verdrängung des Substrats von der Bindungsstelle.

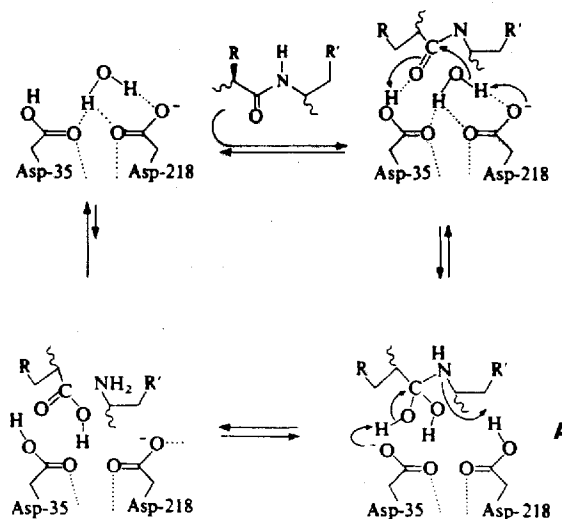
[*] Peptoid-Nomenklatur: Vor dem Dreibuchstabencode von Aminosäuren wird bei den entsprechenden Peptoiden ein N gesetzt oder Nh, wenn es sich um das (Seitenketten-)Homologe handelt.

Für das Design von effektiven Peptidmimetica dieser Art ist oft die Kenntnis der Arbeitsweise eines Enzyms von großer Relevanz, weshalb hier die Klassifizierung der Proteasen in bezug auf den Reaktionsmechanismus kurz erläutert werden soll. Die Proteasen sind unter diesem Aspekt in vier Gruppen (mit Beispielen zugehöriger Enzyme) einteilbar^[82b] (Tabelle 2): Serinproteasen nutzen die Hydroxygruppe in der Seitenkette

Tabelle 2. Klassifizierung der Proteasen anhand ihres Reaktionsmechanismus und ihrer zugehörigen Enzyme.

1. <i>Serinproteasen</i> Chymotrypsin Kalikrein Elastase Plasmin Subtilisin Thrombin Trypsin	2. <i>Cysteinproteasen</i> Kathepsine B, C, HL Papain
3. <i>Aspartylproteasen</i> HIV-Protease Kathepsin D, E Pepsin Rcnin	4. <i>Metalloproteasen</i> ACE Collagenase Enkephalinase

eines Serinrests an der Bindungsstelle als Nucleophil^[85]. Cysteinproteasen enthalten eine Cystein-SH-Gruppe in Nachbarschaft zu einem Histidin-Imidazolring als mechanistisch wichtiges Element der Bindungsstelle^[86]. Aspartylproteasen nutzen die β -Carboxygruppe zweier Asparaginsäurereste im katalytischen Zentrum unter Bildung eines tetraedrischen Übergangszustands zwischen einem Wassermolekül und der hydrolytisch zu spaltenden Peptidbindung^[87] (Schema 22). Auch bei Metallo-



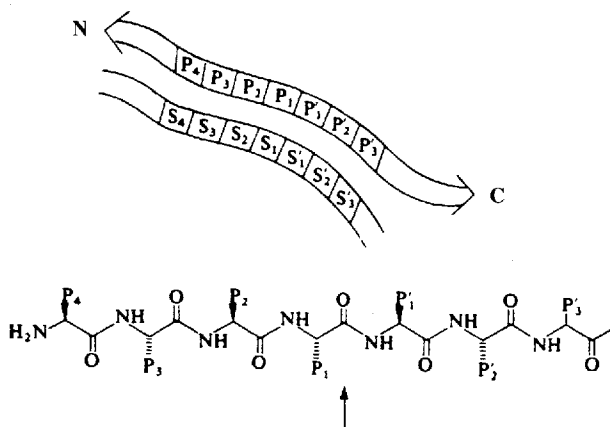
Schema 22. Mechanismus der Katalyse durch Aspartylproteasen. A bezeichnet den tetraedrischen Übergangszustand.

proteasen mit einem Zn-Ion in der Bindungsstelle wird ein tetraedrischer Übergangszustand durchlaufen. Das Zn-Ion komplexiert einerseits ein Wassermolekül, andererseits aktiviert es als Lewis-Säure die zu spaltende NH-CO-Bindung^[88].

Proteasen werden auch nach ihrer Substratspezifität unterschieden, d. h. nach ihrer Fähigkeit, benachbarte Peptidbindun-

gen von bestimmten Aminosäuren oder solche innerhalb charakteristischer Aminosäuresequenzen zu erkennen und zu spalten^[82b]. Dafür existieren Erkennungsstellen (recognition sites) im Enzym, denen bestimmte Positionen auf der Substrat- oder Inhibitorseite gegenüberstehen.

Zur Charakterisierung der Spaltstelle eines Substrats nummeriert man die Aminosäuresequenzen gemäß einem Vorschlag von Schechter und Berger^[89] hiervon ausgehend fortlaufend sowohl zum N-Terminus als auch zum C-Terminus hin. Die Spaltstelle wird demgemäß als die P_1 - P'_1 -Position bezeichnet, der auf der Enzymseite die entsprechende S_1 - S'_1 -Position gegenübersteht (Schema 23).



Schema 23. Nomenklatur der Spezifität von Proteasen nach Schechter und Berger [89]. Die Aminosäurereste des Substrats werden mit P oder P' bezeichnet, die entsprechenden des Enzyms mit S bzw. S'. Der Pfeil kennzeichnet die Spaltstelle, den Ausgangspunkt für die Numerierung der Sequenz. N steht für den N-Terminus, C für den C-Terminus des Substrats.

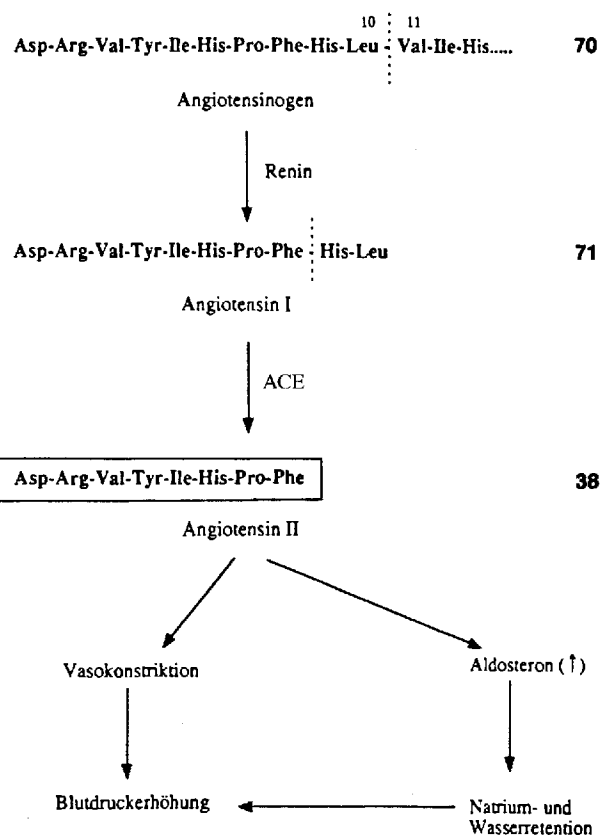
5.2. Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Systems

Eine der wichtigsten therapeutischen Eingriffsmöglichkeiten für Enzymhemmer besteht in der Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Systems (RAS). Diesem Verbindungskomplex sind die Renininhibitoren^[90] sowie die Hemmer des Angiotensin Converting Enzyme (ACE)^[91] zuzuordnen.

Das RAS ist durch eine Abfolge enzymatischer Reaktionen gekennzeichnet, an deren Ende die Freisetzung des stark blutdrucksteigernden Octapeptids Angiotensin II (A II) **38** steht, und die therapeutischen Ansätze zielen letztendlich auf eine Senkung des A-II-Spiegels ab, um die Verminderung eines A-II-abhängigen, pathologisch erhöhten Blutdrucks auf den Normalwert zu erreichen. Dieses Ziel kann – wie aus Schema 24 ersichtlich ist – durch Eingriff an unterschiedlichen Stellen erreicht werden.

Zunächst wird das globuläre Protein Angiotensinogen **70** zwischen den Aminosäureresten Leu¹⁰-Val¹¹ vom hauptsächlich in der Niere vorkommenden Renin, einer Aspartylprotease, zum biologisch inaktiven Decapeptid Angiotensin I (A I) **71** gespalten. Durch Hemmung dieses Enzyms kann man also schon an dieser Stelle der Kaskade die Bildung von **38** im gewünschten Sinne beeinflussen.

In der zweiten Stufe wird A I **71** vom Enzym ACE, einer Metalloprotease, unter Abspaltung eines Dipeptids zu Angio-



Schema 24. RAS-Kaskade: Freisetzung und physiologische Wirkungen von Angiotensin II **38**.

tensin II **38** gespalten. Hier liegt der Angriffspunkt der ACE-Hemmer zur Senkung des A-II-Spiegels.

Eine grundsätzlich andere Möglichkeit der A-II-Beeinflussung besteht in der Blockade des A-II-Rezeptors durch A-II-Antagonisten, d.h. es wird hierbei nicht auf die A-II-Genese eingewirkt (siehe Abschnitt 2.6).

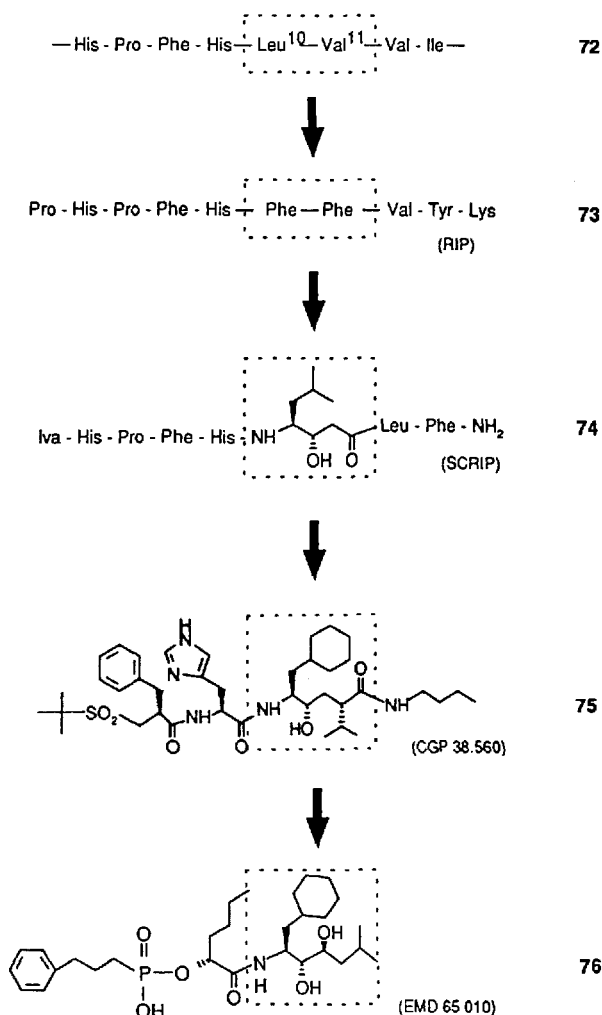
5.2.1. Renininhibitoren

Ausgehend vom natürlichen Substrat Angiotensinogen **70** läßt sich bei den Renininhibitoren tendenziell eine kontinuierliche Entwicklung vom reinen Peptid zum „ausgeprägten“ Peptidmimetikum anhand markanter Struktureinheiten aufzeigen, wie es in Schema 25 dargestellt ist.

Die Strukturen in Schema 25 zeigen exemplarisch die Entwicklungslinie von **73** (RIP = Renin Inhibiting Peptide)^[92], einem Analogon des Substrats Angiotensinogen, bis zu einem Übergangszustands-Analogon **76**^[93], dem kaum noch das Peptid anzusehen ist.

Entscheidend für die inhibierende Wirkung von Verbindung **73** ist der Austausch der Leu-Val-Einheit in P_1 - P'_1 -Position eines Human-Angiotensinogen-Fragments **72** durch Phe-Phe, wodurch das Octapeptid durch Renin nicht mehr gespalten werden kann.

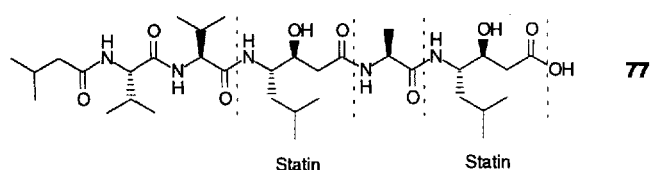
Eine erhebliche Steigerung der Wirksamkeit der Reninhemmer konnte durch Anwendung des Übergangszustands-Analogieprinzips^[94] erreicht werden. Bei solchen Analoga wurde in der P_1 - P'_1 -Position anstelle der zwei Aminosäuren eine Dipeptid-analoge Einheit eingeführt, die als Ersatz der Carbonylgruppe



Schema 25. Entwicklung von Reninhemmern.

der Amidbindung im Zentrum eine sp^3 -Hydroxymethylengruppe aufweist wie **74** (SCRIP = Statine Containing Renin Inhibiting Peptide)^[95]. Diese imitiert damit den tetraedrischen Übergangszustand bei der Hydrolyse des natürlichen Substrats (siehe Schema 22).

Den Anstoß für die Verwendung solcher Reste hat die Beobachtung von Umezawa et al.^[96] gegeben, daß ein aus Kulturfiltraten von Mikroorganismen isolierter peptidischer Aspartylproteaschemmer, das Pepstatin **77**, aufgrund der in ihm ent-



haltenen γ -Amino- β -hydroxycarbonsäure Statin eine am Mechanismus angreifende Wirkungsweise hat. Es resultiert dadurch eine wesentlich festere Bindung an das Enzym, und die Persistenz des Inhibitors an der Bindungsstelle wird durch seine enzymatische Inertheit erheblich gesteigert.

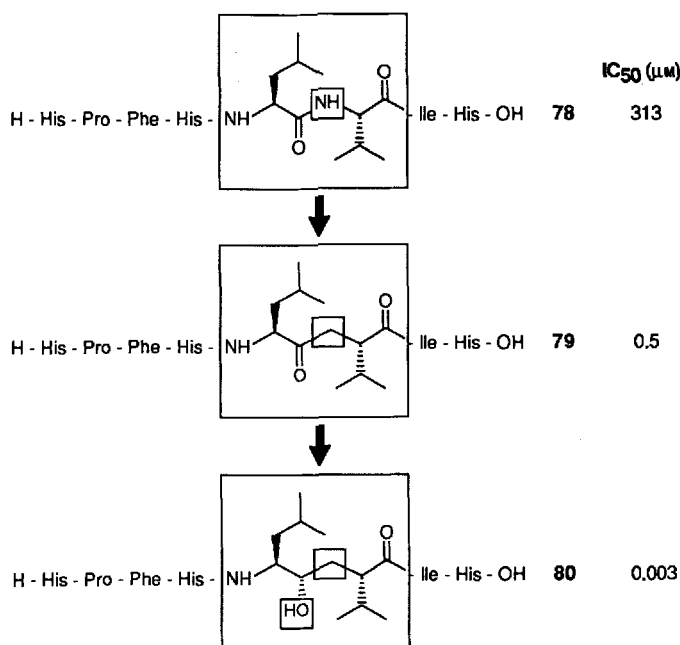
Solche Dipeptid-analogen Einheiten können, wie in **75**, auch noch ein zusätzliches C-Atom im Rückgrat enthalten (Hy-

droxyethylen-Typ, siehe Abschnitt 3.1) und damit wieder die Kettenlänge eines Dipeptids aufweisen^[97].

Aus den Strukturen in Schema 25 ist außerdem ersichtlich, daß die Zahl der Aminosäurereste im Molekül erheblich reduziert werden kann, ohne daß die hohe Hemmaktivität dieser Verbindungen – die IC_{50} -Werte liegen sämtlich im nanomolaren Bereich – dadurch beeinträchtigt wird. Von der damit verbundenen Reduzierung des Peptidcharakters und des Molekulargewichts erhofft man sich eine Steigerung der oralen Bioverfügbarkeit der Renininhibitoren, die bislang noch unbefriedigend ist.

Eine Weiterentwicklung in diese Richtung ist die Verwendung von C-terminalen Dihydroxykomponenten wie in Verbindung **76** als mimetischer Ersatz für die bisherige Peptidbindung in diesem Molekülbereich^[93]. Auch am N-Terminus ist – wie aus den Strukturen in Schema 25 ersichtlich – die Verwendung von Komponenten möglich, die nur noch durch die Rückgratlänge und die Seitenkette an die ursprüngliche Aminosäure erinnern (**75**) oder völlig atypische Komponenten, wie in **76**, haben. Neben den gezeigten Strukturen ist eine Fülle ähnlicher Verbindungen entwickelt worden^[98], die zum Teil eine deutliche orale Bioverfügbarkeit aufweisen.

Was Mimetisierung – und zwar eine nur punktuell am Rückgrat durchgeführte – hinsichtlich einer Wirksamkeitssteigerung einbringen kann, läßt sich schließlich sehr gut an einem Reninhemmer vom Carba-Typ demonstrieren^[94] (Schema 26). Beim



Schema 26. Auswirkungen der Mimetisierung (Carba-Typ) auf die Aktivität eines Reninhemmers.

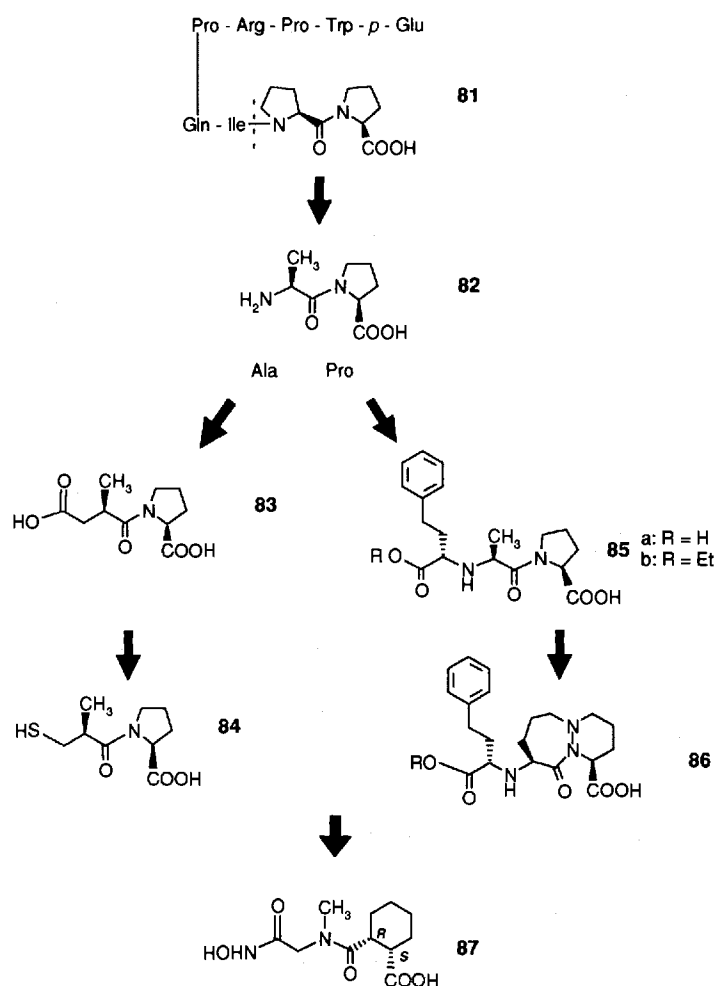
Übergang von einem rein peptidischen Inhibitor **78** zum Carba-peptid **79** tritt eine ca. 600fache, bei weiterer Variation zum Dihydrocarbapeptid **80** eine erneute ca. 170fache Wirksamkeitssteigerung auf.

Bei beiden Modifizierungen kann sehr anschaulich der biochemische Angriffspunkt nachgewiesen werden: Bei **79** verhindert die gegenüber dem Peptid-Original **78** fehlende Spaltbar-

keit der isosteren Ersatz-Peptidbindung eine Freigabe der Bindungsstelle durch wegdiffundierende Spaltprodukte, wie sie beim natürlichen Substrat stattfindet. Beim Übergang zur Verbindung **80** kommt nun noch der Übergangszustands-Effekt hinzu, der durch zusätzliche Wechselwirkungen eine noch festere Bindung an das Enzym bewirkt.

5.2.2. ACE-Hemmer

Ausgangspunkt bei Mimetica für Hemmer des Angiotensin Converting Enzyme (ACE), einer Metalloprotease mit einem Zn-Ion in der Bindungsstelle, ist das Nonapeptid Teprotide **81** (Schema 27). Es zeigte sich, daß diese aus Schlangengift isolierte

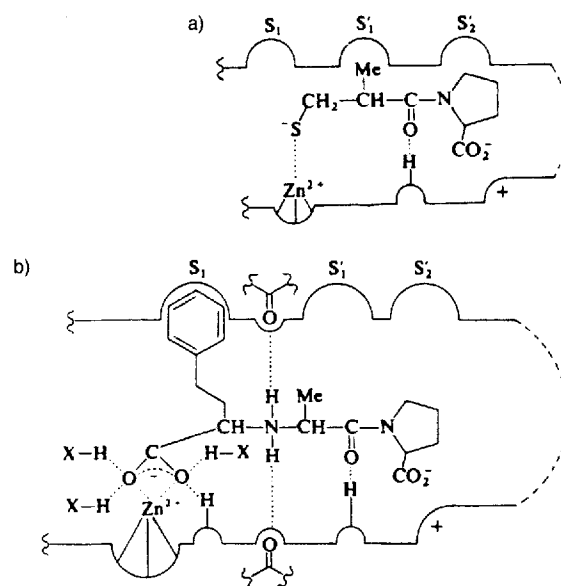


Schema 27. Entwicklung von ACE-Hemmern.

Substanz die an ihr festgestellte Bradykinin-potenzierende Eigenschaft der Hemmung des ACE verdankt^[99]. Später wurde festgestellt, daß schon die abgewandelte C-terminale Teilsequenz Ala-Pro **82** – wenn auch sehr schwach – das ACE hemmt. Ferner wurde angesichts der seinerzeit bekannten Hemmwirkung von Benzylbernsteinsäure^[100] auf die mit dem ACE mechanistisch eng verwandte Carboxypeptidase A (CPA) das α -Methylsuccinylprolin **83**^[101] synthetisiert, wobei erwartet wurde, daß die Carboxygruppe an das Zn-Ion koordiniert und so die Enzymbindung verstärkt wird. Tatsächlich erwies sich **83**

als 100mal wirksamer als **82**. Die Einführung der noch stärker Zn-koordinierenden Mercaptogruppe anstelle des Carboxylrests führte schließlich zum noch einmal 1000fach wirksameren Captopril **84**, einem ACE-Hemmer, der sich als oral wirksamer Blutdrucksenker und Präparat gegen Herzinsuffizienz seit Jahren sehr erfolgreich auf dem Markt befindet^[101].

Ein anderer Entwicklungsweg, bei dem auch der Alaninrest aus Ala-Pro **82** beibehalten wurde, führte zum Enalapril **85**, einem ebenfalls sehr erfolgreichen, blutdrucksenkenden Pharmakon^[102]. Als entscheidend für die gute Enzymbindung wird hier – neben der zusätzlichen Carboxygruppe – die Phenylethyl-Seitenkette angesehen, die im Vergleich zu **84** eine zusätzliche hydrophobe Wechselwirkung mit der S_1 -Einheit des Enzyms einzugehen vermag (Schema 28). Aus Schema 28 b ist darüber hinaus ersichtlich, daß wie beim Captopril eine kationische Gruppe des Prolinrests eine Ionenbindung mit der Carboxygruppe des Prolinrests eingeht, ein Donor-H-Atom des Enzyms an die Carbonylgruppe des Alanins und die N-Carboxyalkylgruppe an das Zn-Ion des Enzyms bindet.



Schema 28. Bindende Wechselwirkungen zwischen der Bindungsstelle von ACE und Captopril **84** (a) [103] bzw. Enalapril **85** (b) [102a, 104].

Übrigens ist nur der Ethylester **85b** für die orale Anwendung geeignet, da die freie Säure **85a** nicht resorbiert wird^[82b]. Erst im Organismus – sozusagen vor Ort – wird der Ester enzymatisch zur aktiven Säureform gespalten und stellt somit ein Prodrug dar.

Die Weiterentwicklung dieses Prinzips führte schließlich zum Cilazapril **86**^[103], einer Verbindung mit sehr hohem Mimetisierungsgrad.

Eine völlig neue Klasse von ACE-Inhibitoren, bei der erstmalig (unbewußt?) das Peptoid-Prinzip bei einer bewährten Wirkstoffgruppe angewendet wurde, wurde kürzlich beschrieben^[106]. Diese Strukturen zeichnen sich durch 1,2-Cycloalkandicarbonsäure-Reste als Prolinäquivalente aus, deren eine Carboxygruppe amidartig mit einer Aminoalkylgruppe verknüpft ist, die den Zn-chelatisierenden Substituenten in Form

einer Mercapto-, Carboxy- oder Hydroxamsäuregruppe trägt (88).



Während für die Wirksamkeit solcher Verbindungen die 2*R*-Konfiguration unverzichtbar ist, ist in 1-Position sowohl die *S*- als auch die *R*-Konfiguration zulässig. Das steht im Widerspruch zu den klassischen ACE-Hemmern, bei denen die *S*-Konfiguration an der C-terminalen Carboxygruppe erforderlich ist.

Als wirksamstes Produkt mit einem IC_{50} -Wert von 7 nM – und damit dem Captopril vergleichbar – hat sich die Hydroxamsäure **87** (1*S*,2*R*-*cis*-Form, siehe Schema 27) herausgestellt^[106]. Sie ist in vitro und in vivo bei verschiedenen Tierespezies wirksam und wird als extrem gering toxisch bezeichnet. Das Präparat befindet sich in der klinischen Prüfung. Sowohl von Captopril als auch von Enalaprilat ist inzwischen eine Vielzahl von hochpotenten Analoga unter Variation aller Molekülbereiche synthetisiert worden^[107].

5.3. Thrombininhibitoren

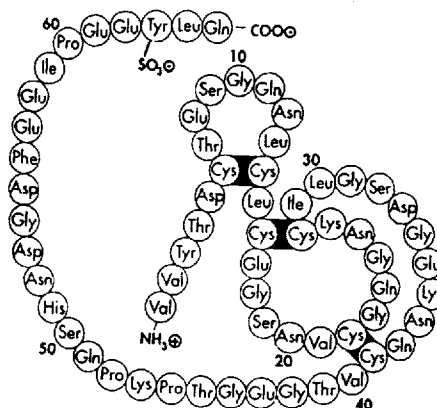
Thrombin, eine dem Trypsin ähnliche Serinprotease, ist ein Schlüsselenzym im Koagulationssystem^[108]. Es wirkt auf vielfältige Weise koagulationsfördernd, hauptsächlich durch Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin, aber auch durch Aktivierung der Faktoren V, VIII und XIII sowie durch Aktivierung des Proteins C mit Hilfe von Thrombomodulin an der Oberfläche von Endothelzellen^[109]. Thrombin induziert ferner die Plättchenaggregation und fördert die Endothelzellen-Proliferation, die Freisetzung des Plasminogenaktivators sowie Kontraktion und Dilatation der Gefäßwand^[110].

Aufgrund dieser Aktivitäten von Thrombin sollte seine gezielte Hemmung eine wirksame Kontrolle pathophysiologischer Zustände wie Thrombose und Arteriosklerose sowie eine Herzinfarktprophylaxe ermöglichen.

Die Möglichkeiten der Thrombinhemmung, auch durch nichtpeptidische Strukturen, sind vielfältig. Beispielsweise wird dieses Enzym durch Heparin, ein Gemisch sulfatierter Polysaccharide, inhibiert. Heparin wirkt indirekt durch Beeinflussung aktivitätsregulierender Faktoren auf das Enzym^[111]. Ebenfalls indirekt wird Thrombin durch Vitamin-K-Antagonisten wie Warfarin gehemmt^[112].

Da solche Präparate – vorwiegend aufgrund mangelnder Spezifität – gravierende Nebenwirkungen zeigen, war man frühzeitig an der Entwicklung spezifischerer und direkt wirkender Thrombininhibitoren interessiert. Dazu gehören das Hirudin **89** – ein aus dem Blutegel (*Hirudo medicinalis*) isoliertes Polypeptid mit 65 Aminosäureresten (Schema 29) sowie daraus entwickelte Analoga^[113].

Hirudin bildet einen nichtkovalenten Komplex von sehr hoher Affinität mit Thrombin und schirmt durch Bindung an unterschiedliche Fixierungspunkte dieses Enzyms den Zutritt von



Schema 29. Struktur von Hirudin **89**.

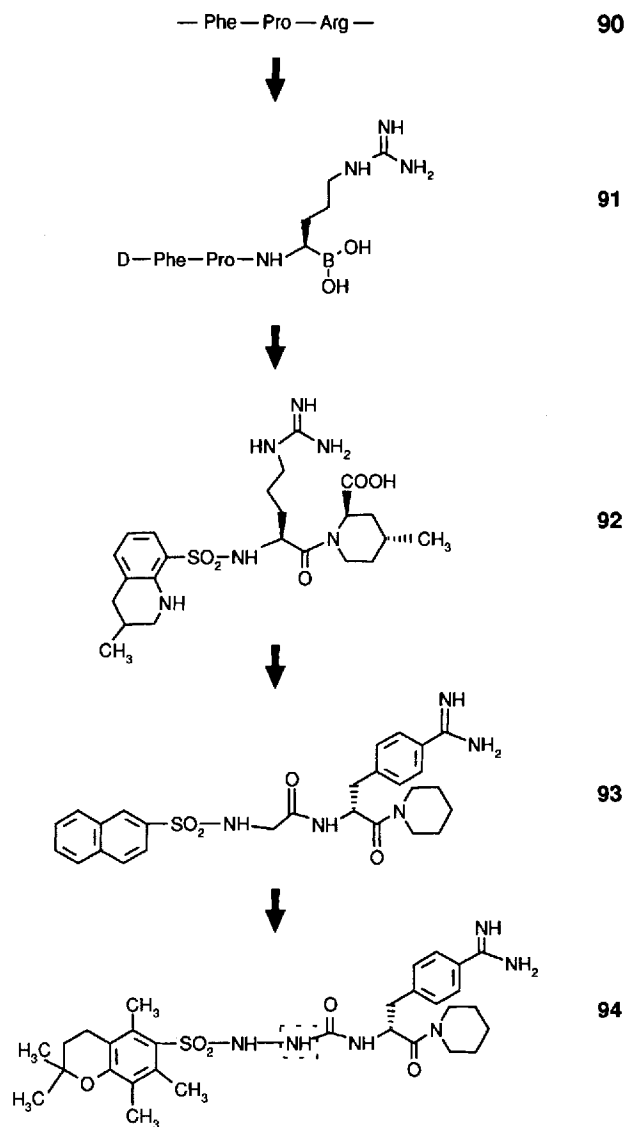
Substratmolekülen sterisch ab^[114]. Mit einer Inhibitionskonstante K_i von 20 fM ist Hirudin der stärkste bisher bekannte Thrombininhibitor^[115]. War **89** lange Zeit nur mühsam und in kleinen Mengen erhältlich, so kann man es inzwischen biotechnologisch durch Expression in Hefe oder *E. coli* in großen Mengen und hoher Reinheit gewinnen. Dem auf diese Weise hergestellten rec-Hirudin fehlt zwar die Sulfatgruppe am Tyr⁶³-Rest, aber das beeinträchtigt die Aktivität nur wenig. Das Ciba-Geigy-Präparat CGP 39393 ist mit einem K_i -Wert von 230 fM äußerst wirksam und befindet sich in fortgeschrittener klinischer Prüfung^[116].

Auch Hirudinfragmente haben sich als wirksam herausgestellt, so z.B. die 10–12er-Peptide des C-Terminus^[117]. Auf die Thrombininhibition durch die Naturstoffe Cyclotheonamid A und B **62** bzw. **63**^[176] wurde bereits hingewiesen (siehe Abschnitt 4.1).

Die Entwicklung einer äußerst interessanten Reihe von Peptidmimetica zur Beeinflussung der Thrombinaktivität setzt bei Substrat-Analoga an. Dieses sind Inhibitoren, die anstelle des Thrombinsubstrats Fibrinogen die Bindungsstelle besetzen und so die normale Funktion des Enzyms hemmen. Diese Substanzklasse leitet sich von der Fibrinogen-Teilsequenz Phe-Pro-Arg **90** (Schema 30) ab, die sich vor der zu spaltenden Peptidbindung befindet^[118]. Die hier sehr gut zu demonstrierende Entwicklung vom Peptid bis zum „kompletten“ Peptidmimetikum, das keine natürliche Aminosäure mehr enthält, sei an den Strukturen in Schema 30 gezeigt.

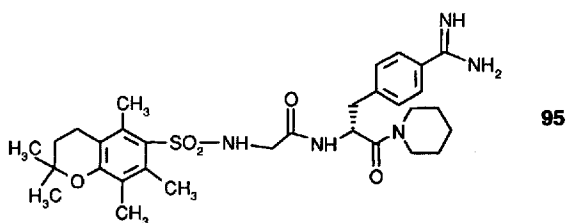
Der Austausch der Aminosäure Phe gegen D-Phe sowie ein zusätzlicher Austausch der Carboxygruppe des Arg-Rests ergaben neben dem entsprechenden Chlormethylketon^[119], Aldehyd^[120] und Nitril^[121] als effektivste Verbindung schließlich das Boroargininderivat **91** mit extrem hoher Wirksamkeit ($K_i = 3.6 \text{ pM}$)^[122]. Man hat festgestellt, daß diese Verbindung den tetraedrischen Übergangszustand der katalysierten Reaktion imitiert^[123]. Kürzlich wurde nachgewiesen, daß das *N*-Acetyl-derivat von **91** in vivo wirksam ist und sowohl die venöse als auch die arterielle Thrombose beeinflusst^[124].

Der nächste Mimetisierungsschritt führte zum hochwirksamen Sulfonamiderivat **92** (Argatroban, MD 805), basierend auf der Beobachtung, daß schon der einfache Tosylargininmethylester thrombininhibierend wirkt^[125]. Der Ersatz von Arginin durch die nicht natürliche Aminosäure *p*-Amidinophenylalanin und die Einfügung eines Glycinrests in das Molekül



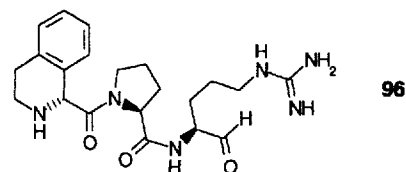
Schema 30. Entwicklung von Thrombininhibitoren.

fürten unter anderem zur Verbindung **93**^[126] (NAPAP), bei der die nichtnatürliche D-Konfiguration des abgewandelten Phenylalaninrests um den Faktor 1000 wirksamer ist als die des L-Isomers^[127]. Schlußpunkt dieser Reihe ist Verbindung **94**^[128], das Azaglycin-Analogon der hochwirksamen Verbindung **95**^[129],



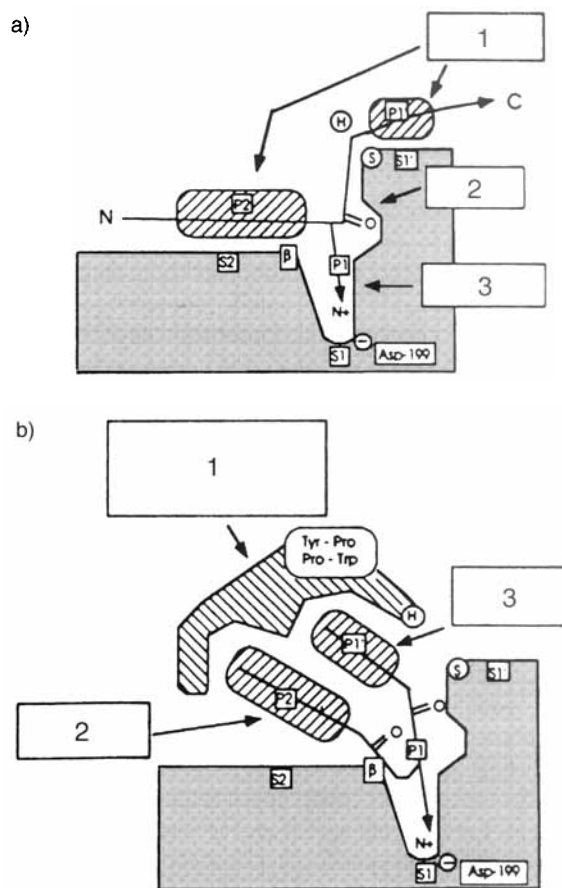
einer Weiterentwicklung des NAPAP-Prinzips. Für **94** wird eine erhebliche Wirksamkeitssteigerung beschrieben. Außerdem sind solche Azapetide resistent gegenüber dem enzymatischen Abbau, so daß zusätzlich zur Wirksamkeitssteigerung eine erhöhte Stabilität im Organismus zu erwarten ist.

Als Weiterentwicklungen der geschilderten Prinzipien zu Verbindungen mit verbesserten Eigenschaften sind der Austausch von D-Phe gegen die entsprechende versteifte Aminosäure D-Tic (Tetrahydroisochinolincarbonsäure) beim Tripeptidalddehyd-Typ **96**^[130] sowie Kombinationen mit dem Hirudinmotiv



(Hirulog 1 und Hirulog 4) zu erwähnen, bei denen D-Phe-Pro-Arg über unterschiedlich lange Spacer aus Glycinresten mit der Hirudinsequenz 53–64 verknüpft ist^[131]. Der Ersatz des Spacers durch eine variable Zahl von ω-Aminopentenoylresten in dieser Reihe führt zu Produkten mit erheblich höherer Wirksamkeit^[132]. Weitere neuere Variationen verwenden Ketomethylenarginyl-Dipeptidreste^[133] sowie Diphenylmethylreste anstelle der Phe-Seitenkette^[134].

Die Art der Bindung der Thrombininhibitoren an das Enzym ist schon immer Gegenstand eingehender Untersuchungen ge-



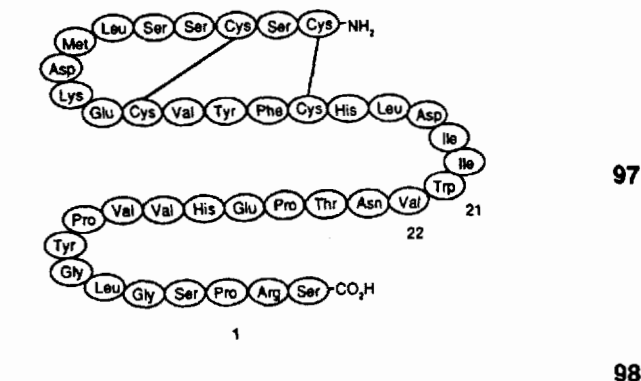
Schema 31. a) Bindung eines Substrats an eine Trypsin-artige Serinprotease. 1: hydrophobe Gruppen, 2: Tasche für Oxygruppe, 3: Erkennungstasche. C: C-Terminus, N: N-Terminus, H: His⁴³, S: Ser²⁰⁵, β: β-Autolysestelle. b) Hydrophobes Zusammenbrechen bei der Inhibitorbindung an Thrombin. 1: zusätzliche Schleife der Reste 47–50 mit zwei Taschen, und zwar der P-Tasche (proximal zu Ser²⁰⁵) und der D-Tasche (distal zu Ser²⁰⁵). Diese Schleife ist im Trypsin nicht vorhanden. 2: hydrophobe Gruppe in der D-Tasche, 3: hydrophobe Gruppe in der P-Tasche.

wesen. Neuerdings konnte festgestellt werden, daß bisher außer acht gelassene intramolekulare, hydrophobe Wechselwirkungen für Inhibitoren des Argatroban- und NAPAP-Typs für die Bindung sehr wichtig sein können.

War man bisher davon ausgegangen, daß die Thrombininhibitoren generell in gleicher Weise binden wie das Substrat (substrate-like)^[135], so wurde bei Kristallstrukturuntersuchungen eine davon abweichende Bindungsweise für Inhibitoren der genannten Typen (inhibitor-like) festgestellt^[127, 136]. Die bioaktiven Konformationen weisen danach hydrophobe Wechselwirkungen zwischen der Tetrahydrochinolyl- und Piperidingruppe im Argatroban **92** bzw. zwischen der Naphthyl- und Piperidin-Gruppe im NAPAP **93** auf (Schema 31) und unterliegen damit einem hydrophoben Zusammenbruch (hydrophobic collapse; Erklärung siehe Abschnitt 6). Die hydrophoben Reste interagieren, wie Schema 31 zeigt, ausschließlich mit den hydrophoben Taschen, die von den Aminosäureresten 47–50 des Enzyms (Tyr-Pro-Pro-Trp) gebildet werden.

5.4. ECE-Hemmer

Große Aktualität hat in der letzten Zeit der Einsatz von Inhibitoren des Endothelin Converting Enzyme (ECE) als therapeutisches Prinzip im Kreislaufbereich erlangt. Endothelin-1 (ET-1) ist ein aus Endothelzellen isolierbares 21er-Peptid mit zwei Disulfidbrücken, **98**, das stark gefäßverengende und blutdrucksteigernde Wirkung hat. **98** wird aus einem Vorläuferpeptid, dem Big ET-1 **97** mit 38 Aminosäuren, durch eine ECE-vermittelte hydrolytische Spaltung der Trp²¹-Val²²-Bindung freigesetzt (Schema 32)^[137].

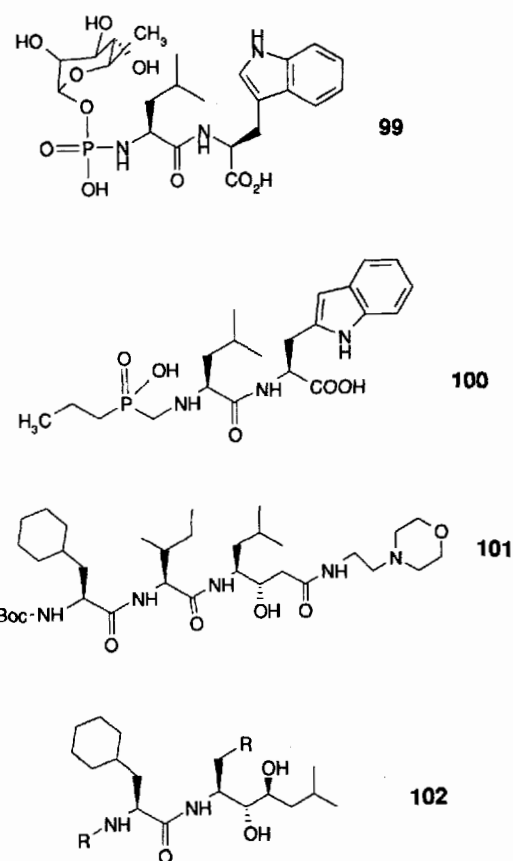


Schema 32. Big-Endothelin-1 **97** und Endothelin-1 **98**.

Endothelin existiert in mehreren Isoformen ET-1 **98**, ET-2 und ET-3, wobei **98** eine herausragende Rolle beim Menschen zuzukommen scheint. Alle pharmakologischen Untersuchungen haben deshalb bevorzugt diese Isoform zum Gegenstand. Erhöhte ET-Spiegel scheinen bei pathophysiologischen Zuständen wie Bluthochdruck^[138], akutem Nierenversagen^[139] sowie

bei coronarem und cerebralem Vasospasmus^[140] eine wichtige Rolle zu spielen, so daß die Senkung überhöhter ET-Spiegel – erreicht durch Hemmung seiner enzymatischen Freisetzung – als Therapieziel attraktiv erscheint. Parallele Bemühungen mit dem gleichen Ziel beziehen sich auf die Blockade des Endothelin-Rezeptors mit entsprechenden Antagonisten^[12b].

Der Aufbau und die Struktur des ECE ist noch weitgehend ungeklärt, so daß Konzeption und Synthese von Inhibitoren erst am Anfang stehen. ECE wird einerseits von Inhibitoren der Metalloprotease Neutrale Endopeptidase (NEP), beispielsweise Phosphoramidon **99**^[141] und einfacheren Analoga wie **100**^[142a], sowie von den Chelatbildnern EDTA und *o*-Phenanthrolin gehemmt, was darauf hindeutet, daß ECE eine Metalloprotease ist^[142b] (Schema 33).



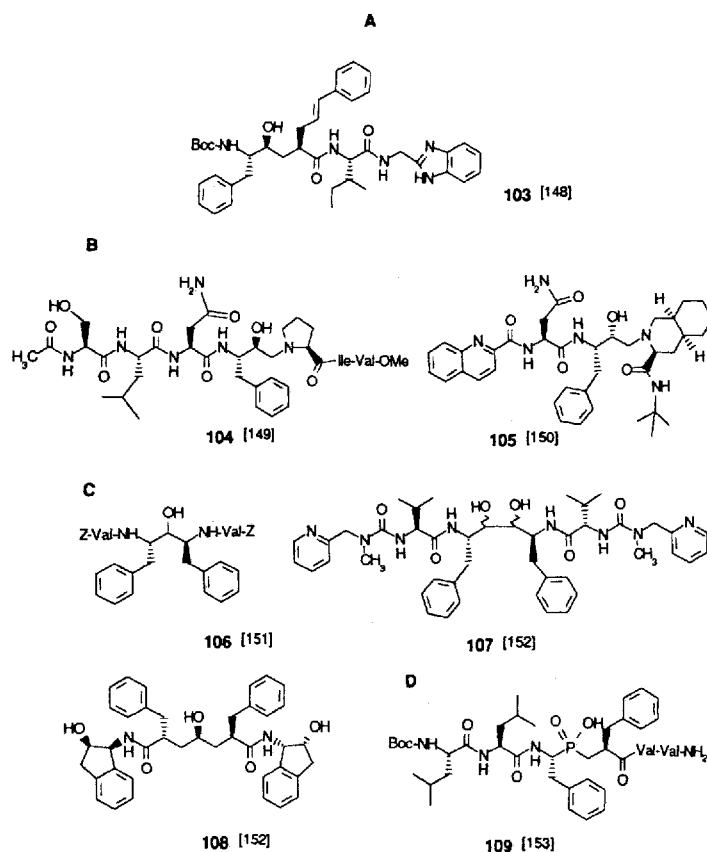
Schema 33. ECE-Inhibitoren. **102**: R = 1-Naphthyl, $K_i = 2.3 \times 10^{-8}$ M; R = 2-Naphthyl, $K_i = 3.1 \times 10^{-9}$ M.

Andererseits gibt es Hinweise darauf, daß die ECE-Aktivität möglicherweise von den Aspartylproteasen Cathepsin D und/oder Cathepsin E hervorgerufen wird^[143]. Ein weiterer Hinweis auf eine Aspartylprotease findet sich in dem neueren Befund, daß eine aus der Lunge der Ratte isolierte Enzymaktivität sehr effektiv von Pepstatin **77**, einem potenten Pepsininhibitor, gehemmt wird^[144]. Dies war der Anlaß, von Reninhemmern bekannte Strukturprinzipien von Übergangszustands-Analoga (siehe Abschnitt 5.2.1) für die ECE-Hemmung zu optimieren. Dabei resultierten zwei Gruppen von Inhibitoren vom Statin-**101** und Diol-Typ **102**^[144], die zum Teil gegenüber Renin und Cathepsin D eine hohe ECE-Spezifität aufweisen.

5.5. Inhibitoren weiterer Proteasen

Neben den ausführlich behandelten Inhibitoren therapeutisch relevanter Enzyme sollten einige aktuelle Entwicklungen auf diesem Gebiet kurze Erwähnung finden.

Inhibitoren der HIV-1-Protease sind neben grundsätzlich anderen Behandlungsansätzen^[145] zu einem interessanten Angriffspunkt in der AIDS-Therapie geworden^[2c, 146]. Diese für die Replikation des Virus essentielle Aspartylprotease ist für das proteolytische Prozessieren (processing) der gag- und gag-pol-Polypeptide zu infektiösen Virionen verantwortlich^[147]. Die HIV-1-Protease ist als Aspartylprotease grundsätzlich der Beeinflussung durch Substanzen vom Renin-Hemmer-Typ mit Statin- oder Hydroxyethylamineinheiten (siehe 103 in Schema 34)



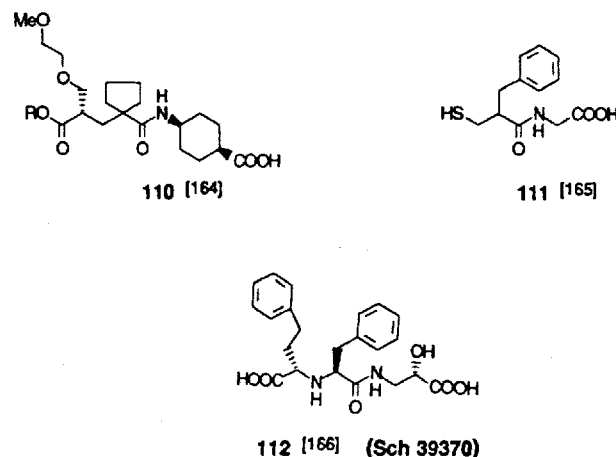
Schema 34. Inhibitoren der HIV-1-Protease. A: Renin-Hemmer-Typ (103); B: Hydroxyethylamin-Typ (104, 105); C: C₂-(pseudo)symmetrischer Typ (106–108); D: Phosphinsäure-Typ (109).

zugänglich^[148]. Weitere hochwirksame Inhibitoren gehören zum Hydroxyethylamin-Typ (104 und 105)^[149, 150]. Neuere Entwicklungen basieren auf der Beobachtung, daß die HIV-1-Protease als C₂-symmetrisches Homodimer kristallisiert, bei dem jede Kette je einen für die Katalyse wichtigen Aspartatrest beisteuert^[151]. Hierauf basierend wurden verschiedenartige Inhibitoren synthetisiert, deren Peptidbindung durch C₂-symmetrische und C₂-pseudosymmetrische Bausteine ersetzt wurde (106–108)^[151a, 152].

Als äußerst wirksam haben sich auch Phosphinsäurederivate wie 109 herausgestellt, deren zentrale CHOH-Gruppe durch ei-

ne isostere Einheit ausgetauscht ist^[153]. Weiterentwicklungen der hier geschilderten Prinzipien sind in der neueren Literatur beschrieben^[154–161].

Steigendes Interesse besteht neuerdings an den Inhibitoren der Neutralen Endopeptidase (NEP), einer Zn-Metalloprotease. Sie spielt im physiologischen Geschehen eine Doppelrolle: Im Zentralnervensystem inaktiviert sie die Enkephaline, endogene Opioidpeptide^[162], während das Atriale Natriuretische Peptid (ANP), ein vom Herzvorhofgewebe sezernierter peptidischer Vasodilatator mit blutdruckregulierender Funktion^[163], von der NEP proteolytisch abgebaut wird. Die Hemmung dieses Enzyms kann sowohl der Schmerzminderung als auch der Senkung zu hohen Blutdrucks dienen. Es verwundert nicht, daß die bisher entwickelten Inhibitoren dieser Metalloprotease strukturell den Hemmern des ACE gleichen, das derselben Proteaseklasse angehört. Charakteristische, als ANP-Abbauhemmer bevorzugt für die Kreislaufindikation bearbeitete Strukturen sind Candoxatril 110^[164], Thiorphan (111)^[165] und Sch 39370 (112)^[166] (Schema 35). Neuere Entwicklungen, zumeist Analoga der hier gezeigten Strukturen, finden sich in der jüngeren Literatur^[167–170].

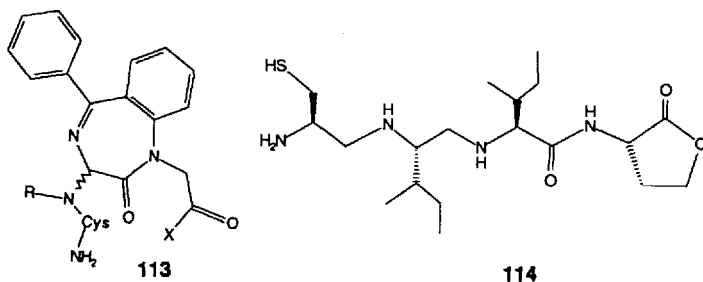


Schema 35. ANP-Abbauhemmer. Candoxatril: 110, R = 5-Indanyl; Candoxatrilat: 110, R = H.

Inhibitoren der Elastase, einer Serinprotease, sind für die Bekämpfung des Lungenemphysems interessant^[2c, 171]. Von der Hemmung der Collagenase, einer Metalloprotease, erhofft man sich insbesondere Arzneimittel zur Bekämpfung der rheumatoiden Arthritis, einem pathologischen Zustand, an dem dieses Enzym durch exzessive Proteolyse beteiligt ist^[82b, 172]. Inhibitoren der Peptidyl-Prolyl-*cis/trans*-Isomerasen (PPlasen), einer Gruppe von Enzymen, die bei der Proteinfaltung involviert sind und das Immungeschehen beeinflussen können, sind neuerdings ebenfalls von Interesse^[2c, 173]. Mit Inhibitoren von Cysteinproteasen, zu denen auch das Papain gehört, könnten pathologische Zustände beeinflusst werden, die durch Fehlfunktion solcher Proteasen beim Prozessieren biologisch aktiver Peptide hervorgerufen werden^[82b, 174]. Inhibitoren der die Neuropeptide Neurotensin und Neuromedin abbauenden Enzyme könnten eine effektive Schmerztherapie ermöglichen^[175].

Die Effizienz unterschiedlicher Peptidmimetisierungen läßt sich wohl an keinem Beispiel deutlicher demonstrieren als an

dem zweier kürzlich unabhängig voneinander publizierter, strukturell unterschiedlicher Verbindungen, die als Inhibitoren des Enzyms Farnesyl-Protein-Transferase (FPT) hochinteressante Möglichkeiten der Krebsbekämpfung eröffnen. Sowohl **113** mit einer neuartigen, cyclischen Dipeptid-analogen Einheit vom Benzodiazepin-Typ^[176] als auch das Tetrapeptid-analoge Lacton **114**^[177a], gekennzeichnet durch zwei reduzierte Amidbindungen am N-Terminus, vermögen sehr effektiv das Wachstum bestimmter Tumorzellarten zu hemmen (Schema 36).



Schema 36. X = Met-COOH, Ser-COOH, Leu-COOH, Met-COOMe, Met-CONH₂.

Die Substanzen sind gegen onkogene Ras-Proteine gerichtet, die entscheidend an der Entstehung der meisten menschlichen Bauchspeicheldrüsen- und Dickdarmtumoren beteiligt sind. Diese aufgrund von Punktmutationen entstehenden onkogenen Ras-Proteine bedürfen der Anknüpfung einer Farnesylgruppe an eine Cystein-SH-Gruppe der C-terminalen Tetrapeptid-Einheit des Proteins, um sich an die Innenseite der Zellmembran anheften zu können. Nur in diesem Zustand vermögen sie eine ungehemmte Zellteilung zu induzieren. Der Ansatz zur Desaktivierung solcher Proteine hat nun zum Ziel, die Übertragung des Farnesylrests durch Inhibierung der diesen Vorgang katalysierenden Farnesyl-Protein-Transferase zu verhindern^[178].

Im Gegensatz zu anderen Ansätzen dieser Art^[178, 179], unter anderem mit entsprechenden dem C-Terminus analogen Tetrapeptiden^[179, 180], können die hier vorliegenden Mimetica solcher Peptide die Zellmembran durchdringen und sind zudem wesentlich resistenter gegen abbauende Enzyme.

Es konnte gezeigt werden, daß diese Verbindungen schon in sehr geringer Konzentration die Kupplung der Farnesylgruppe an das mutierte Ras-Protein und damit dessen Anheftung an die Zellmembran verhindern, so daß tatsächlich das Zellwachstum gehemmt wird. In der Zellkultur zeigen die Substanzen große Selektivität bei äußerst geringer Toxizität.

6. Schlußbetrachtungen und Ausblick: hydrophober Zusammenbruch, De-novo-Design

Neue Impulse beim rationalen Design neuer Wirkstoffe mögen von der inzwischen gewonnenen Erkenntnis über das offenbar als recht allgemein gültig erkannte Phänomen des hydrophoben Zusammenbruchs ausgehen, auf dessen Natur und Auswirkungen hier zum Abschluß wegen seiner möglichen zukunftsweisenden Aspekte bei der Planung neuer Peptidmimetica kurz eingegangen werden soll.

Betrachtet man die Gesamtheit der Peptidmimetica-Strukturen, fällt auf, daß sie als gemeinsames Strukturmerkmal mit vielen Pharmacophoren von Arzneimitteln konformativ fixierte oder zumindest in ihrer Flexibilität eingeschränkte hydrophobe Gruppen enthalten. Diese Einschränkung der konformativen Beweglichkeit verhindert intramolekulare hydrophobe Wechselwirkungen, die in wäßriger Umgebung – d.h. also auch am Rezeptor und an der Bindungsstelle – zu einem Zusammenbruch einer bioaktiven Konformation unter Verlust der Wirksamkeit führen würde. Dieses Phänomen wird als hydrophober Zusammenbruch bezeichnet^[181].

Ihm liegt der hydrophobe Effekt^[182] zugrunde, der bei allen biologischen Prozessen eine wichtige Rolle spielt. Er besagt, daß komplexe Moleküle beim Lösen in Wasser die Tendenz zeigen, die Wechselwirkungen zwischen hydrophoben Gruppen und dem Lösungsmittel auf ein Minimum zu reduzieren. Aufgrund dieses Effekts haben sich z.B. bei Proteinen Strukturen herausgebildet, die hydrophobe Wechselwirkungen für die Bindung von Liganden an Rezeptoren nutzen. Bei den Enzymen tragen solche hydrophoben Taschen ganz wesentlich zur Fixierung von Substraten und Inhibitoren bei. Das Konstruktionsmuster der Proteine scheint ideal für die Stabilisierung solcher hydrophober Taschen, z.B. bei den Bindungsstellen von Enzymen, zu sein, und der hydrophobe Zusammenbruch in Abwesenheit des Liganden wird dadurch verhindert.

Umgekehrt erscheint auf der Seite des Liganden eine derartige Konformationsstabilisierung oft ebenfalls wünschenswert, um die für eine Interaktion mit der Bindungsstelle des Enzyms erforderliche Präsentation hydrophober Gruppen zu gewährleisten. Ohne diese beispielsweise durch versteifende Grundgerüste erreichbare Stabilisierung würde der Wirkstoff zu einer inaktiven Konformation hydrophob kollabieren.

Der hydrophobe Zusammenbruch eines Liganden kann aber auch wünschenswert sein, da in manchen Fällen nur die kollabierte Konformation bioaktiv ist. Das kann beim Cyclosporin A^[183], aber auch bei den Thrombininhibitoren (siehe Abschnitt 5.3) sehr gut gezeigt werden.

Das Design von Peptidmimetica sollte in jedem Fall berücksichtigen, ob ein hydrophober Zusammenbruch verhindert oder herbeigeführt werden soll. In der Regel wird es in Zukunft also für das Auffinden neuer peptidmimetischer Grundstrukturen wichtig sein und bleiben, nach Gerüsten (scaffolds) Ausschau zu halten, die aufgrund ihrer Starrheit einen hydrophoben Zusammenbruch essentieller Gruppen in wäßrigem Medium verhindern. Die bisher aufgefundenen Gerüste wie das Zucker- oder Steroidgrundgerüst (siehe Abschnitt 2.5) scheinen diese Bedingungen zu erfüllen.

Ein zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht erreichbares Ziel ist das De-novo-Design von Peptidmimetica. Noch werden natürliche Substrate, Inhibitoren oder eine Screening-Leitstruktur (Pflanzen- oder tierische Extrakte, Isolate aus Mikroorganismen, chemische Bibliotheken) als Ausgangspunkt einer Entwicklungssequenz benötigt. De-novo-Design aber bedeutet: Entwicklung ohne einen solchen Ausgangspunkt. Im Falle eines Inhibitors heißt das z.B., daß eine Struktur nur aufgrund der Kenntnis der Aminosäuresequenz des Enzyms oder des natürlichen Wechselwirkungspartners entworfen wird.

Die Entwicklung innerhalb der medizinischen Chemie bis zum Endpunkt des De-novo-Designs wäre sicherlich von enor-

mem praktischen Wert für dieses Forschungsgebiet. Man denke nur an den extrem hohen Forschungsaufwand bei der gegenwärtig noch vorherrschenden, zum großen Teil auf Empirie beruhenden konventionellen Vorgehensweise bei der Entwicklung eines Arzneimittels. Dieser Aufwand ist sichtbarer Ausdruck der statistischen Tatsache, daß immer noch tausende Verbindungen synthetisiert und getestet werden müssen, um einer von ihnen den Weg zur ersehnten Marktreife zu ebnet, während der Rest im Netz der strengen pharmakologischen, toxikologischen und klinischen Qualifikationsprüfungen hängenbleibt. Mit Hilfe einer De-novo-Entwicklung könnte diese Ausschußrate sicherlich außerordentlich stark reduziert werden.

Einen Schritt in diese Richtung gehen sicherlich Computerprogramme, z.B. CAVEAT^[184], die das Ziel der Berechnung neuer Wirkstoffstrukturen nur aufgrund der Kenntnis der Bindungsstelle verfolgen. Neuerdings wurde das Programm DESIGN vorgestellt^[185], mit dessen Hilfe ein Templat zur Mimetisierung des Enzyms Thiothredoxin entworfen wurde.

Ein rationales Design von Peptidmimetica ist hingegen, wie dieser Überblick aufzeigen sollte, in gewissem Umfang bereits heute möglich. Dazu leisten die verfeinerten Methoden der Konformationsanalyse (z.B. NMR-Spektroskopie, Kristallstrukturanalyse) sowie die neuen Computerprogramme einen wichtigen Beitrag. Das rationale Design hat sich schon jetzt bei dem Bemühen, Strukturen von Peptiden mit ihrem biologischen Informationsgehalt in niedermolekulare nichtpeptidische Verbindungen zu übersetzen, als sehr hilfreich erwiesen.

Aber auch die Synthesechemie hat bereits große Aufgaben bewältigt. Ohne die modernen Methoden der Organischen Chemie wäre der Aufbau komplexer Moleküle mit bestimmten funktionellen Gruppen und hydrophoben Elementen an einem nichtpeptidischen Grundgerüst sowie mit einer definierten Stereochemie wohl kaum möglich.

Ohne Zweifel bedarf es der gemeinsamen Anstrengung von Organikern und in der medizinischen Forschung arbeitenden Chemikern sowie der Hilfe vieler an der Chemie des Lebens gleichermaßen interessierter Nachbardisziplinen. Dieser Kraftakt dient schließlich dem Design von lebensverträglichen Molekülen sowie der Entwicklung des synthetischen Instrumentariums, das die Brücke zwischen spezifisch chemischen, strukturellen, konformativen, topographischen und dynamischen Gegebenheiten einerseits und der biologischen Aktivität andererseits schlägt. Bezogen auf unsere Thematik heißt das: Die Bemühungen um effektive Peptidmimetica reihen sich zwanglos in die aufgezeigte Tendenz ein, und aufgrund des bereits Erreichten sowie der begründeten Hoffnung auf weiteren Fortschritt ist auch die Realisierung der Zielvorgabe maßgeschneiderter, peptidmimetischer Enzyminhibitoren als sehr chancenreich anzusehen^[186].

Eingegangen am 6. August 1993 [A 14]

- [1] Als Peptidmimetikum wird definitionsgemäß ein Stoff bezeichnet, der eine dem Peptid-Original analoge Sekundärstruktur sowie andere Strukturmerkmale aufweist, aufgrund derer er das native Peptid von Rezeptoren oder Enzymen verdrängt und entweder die Effekte des Peptid-Originals unterdrückt (Antagonist-Inhibitor) oder dieselben Effekte wie dieses hervorruft (Agonist).
- [2] Übersichten: a) R. M. J. Liskamp, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 1; b) A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1303; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244; c) R. A. Wiley, D. H. Rich, *Med. Res. Rev.* **1993**, *13*, 327; d) G. L. Olson, D. R. Bolin, M. P. Bonner, M. Böse, C. M. Cook, D. C.

- Fry, B. J. Graves, M. Hatada, D. E. Hill, M. Kahn, V. S. Madison, V. K. Rusiecki, R. Sarabu, J. Sepinwall, G. P. Vincent, M. E. Voss, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039; e) A. F. Spatola in *Methods in Neurosciences*, Vol. 13 (Hrsg.: P. M. Conn), Academic Press, San Diego, **1993**, S. 19; f) B. A. Morgan, J. A. Gainer, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1989**, *24*, 244; g) A. F. Spatola in *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides, and Proteins*, Vol. VII, (Hrsg.: B. Weinstein), Marcel Dekker, New York, **1983**, S. 267; h) V. J. Hruby, *Biopolymers* **1993**, *33*, 1073; i) *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1994**, *42*, 164; j) M. Kahn, *Synlett* **1993**, 821; k) A. E. P. Adang, P. H. H. Hermkens, J. T. M. Linders, H. C. J. Ottenheijm, C. J. van Staveren, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 63.
- [3] a) G. Jung, A. G. Beck-Sicking, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 375; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 367; b) H. E. Radunz, *GIT Fachz. Lab.* **1992**, *36*, 869.
- [4] D. Jiao, K. C. Russell, V. J. Hruby, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3511.
- [5] a) A. Sood, C. K. Sood, B. F. Spielvogel, I. H. Hall, *Eur. J. Med. Chem.* **1990**, *25*, 301; b) A. Sood, C. K. Sood, B. F. Spielvogel, I. H. Hall, O. T. Wong, M. Mittakanti, K. Morse, *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1991**, *324*, 423; c) M. Mittakanti, D. A. Feakes, K. W. Morse, *Synthesis* **1992**, 380.
- [6] a) W. J. Moree, L. C. van Gent, G. A. van der Marel, R. M. J. Liskamp, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1133; b) D. Merricks, P. G. Sammes, E. R. Walker, K. Henrick, M. M. McPartlin, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 2169; c) W. J. Moree, G. A. van der Marel, R. M. J. Liskamp, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 409; d) *ibid.* **1992**, *33*, 3689.
- [7] a) D. A. McLeod, R. I. Binkworth, J. A. Ashley, K. D. Janda, P. Wirsching, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, *1*, 653; b) P. Coutrot, C. Grison, C. Charbonnier-Gerardin, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9841.
- [8] a) C. A. Kettner, L. Mersinger, R. Knabb, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18289; b) D. H. Kinder, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1917; c) C. A. Kettner, A. B. Shenvi, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 15106.
- [9] W. Kazmierski, V. J. Hruby, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 697.
- [10] C. C. Catiuela, M. D. Diaz de Villegas, A. Avenoza, J. M. Peregrina, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10987.
- [11] a) R. Rone, N. Manesis, M. Hassan, M. Goodman, A. T. Hagler, D. H. Kitson, V. A. Roberts, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 895; b) N. Manesis, M. Goodman, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5331; c) N. Manesis, M. Hassan, R. Glaser, M. Goodman, *Biopolymers* **1986**, *25* (Suppl.), 97.
- [12] D. K. Suumaran, M. Prorok, D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 706.
- [13] J. Di Maio, B. Bellau, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1989**, 1687.
- [14] a) R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein, *Science* **1980**, *210*, 656; b) R. M. Freidinger, D. S. Perlow, D. F. Veber, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 104; c) Z. Procházka, M. Lebl, T. Barth, J. Hlaváček, A. Trka, M. Budešínský, K. Jošt, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1984**, *49*, 642; d) R. M. Freidinger, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3631; e) T. M. Zydowsky, J. F. Dellaria, Jr., H. N. Nellans, *ibid.* **1988**, *53*, 5607; f) S. Thaisrivongs, D. T. Pals, S. R. Turner, L. T. Kroll, *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 1369; g) J. D. Aebi, D. Guillaume, B. E. Dunlap, D. H. Rich, *ibid.* **1988**, *31*, 1805; h) J. P. Wolf, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3164; i) G. Valle, M. Crisma, C. Toniolo, K.-L.-Yu, R. L. Johnson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1989**, 83; k) D. S. Garvey, P. D. May, A. M. Nadzan, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 936.
- [15] J. Gante, R. Weitzel, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 181.
- [16] T. P. Burkholder, E. W. Huber, G. A. Hynn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 231.
- [17] R. C. F. Jones, G. F. Ward, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3853.
- [18] J. Zabrocki, G. D. Smith, J. B. Dunbar, Jr., K. W. Marshall, M. Toth, G. R. Marshall, *Pept. Proc. Eur. Pept. Symp.* **20th** **1988** **1989**, 295.
- [19] T. Gordon, P. Hansen, B. Morgan, J. Singh, E. Baizman, S. Ward, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 915; siehe ferner R. Jones, G. Ward, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3858; C. I. Fincham, M. Higginbottom, D. R. Hill, D. C. Horwell, J. C. O'Toole, G. S. Ratcliffe, D. C. Rees, E. Roberts, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1472; I. Gilbert, D. C. Rees, R. S. Richardson, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2277.
- [20] a) B. Gardner, H. Nakanishi, M. Kahn, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3433; b) J. B. Ball, R. A. Hughes, P. F. Alewood, P. R. Andrews, *ibid.* **1993**, *49*, 3467.
- [21] G. Hölzemann, *Kontakte (Darmstadt)* **1991** (1), 3; *ibid.* **1991** (2), 55; b) P. D. Bailey, *Peptide Chemistry*, Wiley, New York, **1990**, S. 182.
- [22] a) M. Feigel, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 181; b) G. Wagner, M. Feigel, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 10831; c) V. Brandmeier, W. H. B. Sauer, M. Feigel, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 70.
- [23] a) K. Sato, U. Nagai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1986**, 1231; b) U. Nagai, K. Sato, R. Nakamura, R. Kato, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3577.
- [24] D. S. Kemp, W. E. Stites, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5057.
- [25] M. J. Genin, R. L. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8778.
- [26] W. C. Ripka, G. V. DeLucca, A. C. Bach II, R. S. Pottorf, J. M. Blaney, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3593, 3609.
- [27] J. F. Callahan, J. W. Bean, J. L. Burgess, D. S. Eggleston, S. M. Hwang, K. D. Kopple, P. F. Koster, A. Nichols, C. E. Peishoff, J. M. Samanen, J. A. Vasko, A. Wong, W. F. Huffman, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3970.
- [28] J. F. Callahan, K. A. Newlander, J. L. Burgess, D. S. Eggleston, A. Nichols, A. Wong, W. F. Huffman, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3479.

- [29] M. Sato, J. Y. H. Lee, H. Nakanishi, M. E. Johnson, R. A. Chrusciel, M. Kahn, *Biochem. Biophys. Res.* 1993, 193, 1387.
- [30] M. Kahn, M. Lee, H. Nakanishi, J. Urban, B. Gardner, *Proc. Am. Pept. Symp. 13th 1993*, im Druck; siehe auch K. Müller, D. Obrecht, A. Knierzinger, C. Stankovic, C. Spiegler, W. Bannwarth, A. Trzeciak, G. Englert, A. M. Labhardt, P. Schönholzer in *Perspectives in Medicinal Chemistry* (Hrsg.: B. Testa, W. Fuhrer, E. Kyburz, R. Giger), Helvetica Chimica Acta, Basel/VCH, Weinheim, 1993, S. 513; D. S. Kemp, T. P. Curran, W. M. Davis, J. G. Boyd, C. Muendel, *J. Org. Chem.* 1991, 56, 6672; D. S. Kemp, T. P. Curran, J. G. Boyd, T. J. Allen, *ibid.* 1991, 56, 6683.
- [31] R. Sarabu, K. Lovcy, V. S. Madison, D. C. Fry, D. W. Greeley, C. M. Cook, G. L. Olson, *Tetrahedron* 1993, 49, 3629.
- [32] C. A. Dinarello, *Adv. Immunol.* 1989, 153.
- [33] R. M. Sweet, H. T. Wright, J. Janin, C. H. Chotki, D. M. Blow, *Biochemistry* 1974, 13, 4212.
- [34] a) D. H. Rich, *Med. Res. Rev.* 1993, 13, 368; b) C. Tanford, *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley-Interscience, New York, 1980.
- [35] L. Alig, A. Edenhofer, P. Hadvary, M. Hürzeler, D. Knopp, M. Müller, B. Steiner, A. Trzeciak, T. Weller, *J. Med. Chem.* 1992, 35, 4393.
- [36] a) R. Hirschmann, P. A. Sprengeler, T. Kawasaki, J. W. Leahy, W. C. Shakespeare, A. B. Smith III, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 9699; b) *Tetrahedron* 1993, 49, 3665.
- [37] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reising, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 12550.
- [38] R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, A. B. Smith III, C. D. Strader, M. A. Cascieri, M. R. Candelore, C. Donaldson, W. Vale, L. Maechler, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 9217.
- [39] a) G. R. Marshall, *Tetrahedron* 1993, 49, 3547; b) R. Hirschmann, *Angew. Chem.* 1991, 103, 1305; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991, 30, 1278.
- [40] D. F. Veber in *Peptides: Chemistry and Biology* (Hrsg.: J. A. Smith, J. E. Rivier), Escrom, Leiden, 1992, S. 3.
- [41] B. E. Evans, M. G. Bock, K. E. Rittle, R. M. Di Pardo, W. L. Whitter, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 4918.
- [42] D. Biswanath, J. J. Plattner, E. N. Bush, H. Jae, G. Diaz, E. S. Johnson, T. J. Perun, *J. Med. Chem.* 1989, 32, 2036.
- [43] a) B. E. Evans, J. L. Leighton, K. E. Rittle, K. F. Gilbert, G. F. Lundell, N. P. Gould, D. W. Hobbs, R. M. Di Pardo, D. F. Veber, D. J. Pettibone, B. V. Clineschmidt, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *J. Med. Chem.* 1992, 35, 3919; b) B. E. Evans, G. F. Lundell, K. F. Gilbert, M. G. Bock, K. E. Rittle, L. A. Carroll, P. D. Williams, J. M. Pawluczyk, J. L. Leighton, M. B. Young, J. M. Erb, D. W. Hobbs, N. P. Gould, R. M. DiPardo, J. B. Hoffman, D. S. Perlow, W. L. Whitter, D. F. Veber, D. J. Pettibone, B. V. Clineschmidt, P. S. Anderson, R. M. Freidinger, *ibid.* 1993, 36, 3993.
- [44] J. V. Duncia, A. T. Chiu, D. J. Carini, G. B. Gregory, A. L. Johnson, W. A. Price, G. J. Wells, P. C. Wong, J. C. Calabrese, P. B. Timmermans, *J. Med. Chem.* 1990, 33, 1312.
- [45] J. Weinstock, R. M. Keenan, J. Samanen, J. Hempel, J. A. Finkelstein, R. G. Franz, D. E. Gaitanopoulos, G. R. Girard, J. G. Gleason, D. T. Hill, T. M. Morgan, C. E. Peishoff, N. Aiyar, D. P. Brooks, T. A. Fredrickson, E. H. Ohlstein, R. R. Ruffolo, Jr., E. J. Stack, A. C. Sulpizio, E. F. Weidley, R. M. Edwards, *J. Med. Chem.* 1991, 34, 1514.
- [46] J. M. Samenen, C. E. Peishoff, R. M. Keenan, J. Weinstock, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1993, 909.
- [47] P. D. Williams, P. S. Anderson, R. G. Ball, M. G. Bock, L. A. Carroll, S.-H. Lee Chiu, B. V. Clineschmidt, J. C. Culbertson, J. M. Erb, B. E. Evans, S. L. Fitzpatrick, R. M. Freidinger, M. J. Kaufman, G. F. Lundell, J. S. Murphy, K. L. Thompson, D. F. Veber, *J. Med. Chem.* 1994, 37, 565.
- [48] a) R. G. Almquist, W.-R. Chao, M. E. Ellis, H. L. Johnson, *J. Med. Chem.* 1980, 23, 1392; b) H. Ewenson, R. Laufer, M. Chorev, Z. Selinger, C. Gilon, *ibid.* 1988, 31, 416; c) R. G. Almquist, W.-R. Chao, A. K. Judd, C. Mitoma, D. J. Rossi, R. E. Panasevich, R. J. Matthews, *ibid.* 1988, 31, 561.
- [49] Übersicht: R. Henning, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 1990, 38, 460.
- [50] S. L. Harbeson, D. H. Rich, *J. Med. Chem.* 1989, 32, 1378.
- [51] P. Bühlmeier, A. Caselli, W. Fuhrer, R. Göschke, V. Rasetti, H. Rüeger, J. L. Stanton, L. Criscione, J. M. Wood, *J. Med. Chem.* 1988, 31, 1839.
- [52] G. B. Dreyer, B. W. Metcalf, T. A. Tomaszek, Jr., T. J. Carr, A. C. Chandler, L. Hyland, S. A. Fakhoury, V. W. Magaard, M. L. Moore, J. E. Strickler, C. Debouck, T. D. Meek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989, 86, 9752.
- [53] a) H. Umezawa, T. Nakamura, S. Fukatsu, T. Aoyagi, K. Tatsuka, *J. Antibiot.* 1983, 36, 1787; b) S. Ohuchi, A. Okuyama, K. Kawamura, T. Aoyagi, H. Umezawa, *Agric. Microbiol. Chem.* 1984, 48, 1661.
- [54] K. Miusa, T. Sawa, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.* 1986, 39, 734.
- [55] B. K. Evans, C. Rittle, J. Homnick, J. Springer, J. Hirshfield, D. Veber, *J. Org. Chem.* 1985, 50, 4615.
- [56] A. H. Fray, R. L. Kaye, E. F. Kleinman, *J. Org. Chem.* 1986, 51, 4828.
- [57] A. E. De Camp, A. T. Kawaguchi, R. P. Volante, I. Shinkai, *Tetrahedron Lett.* 1992, 33, 1387.
- [58] B. Lygo, *Synlett* 1992, 793.
- [59] J. Gante, U. Anlauf, R. Weitzel, *Pept. Proc. Eur. Pept. Symp. 21st 1992* 1993, 605.
- [60] a) J. Di Maio, B. Gibbs, J. Lefebvre, Y. Konishi, D. Munn, S. Y. Yue, W. Hornberger, *J. Med. Chem.* 1992, 35, 3331; J. DiMaio, F. Ni, B. Gibbs, Y. Konishi, *FEBS Lett.* 1991, 282, 47.
- [61] a) S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* 1981, 22, 3815; b) Y. A. Fehrentz, B. Castro, *Synthesis* 1983, 676.
- [62] P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martin, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* 1981, 46, 3939.
- [63] G. Guichard, J. P. Briand, M. Friede, *Pept. Res.* 1993, 6, 121.
- [64] a) Übersicht: J. Gante, *Synthesis* 1989, 405; b) A. S. Dutta, J. S. Morley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1975, 1712.
- [65] J. Gante, *Chem. Ber.* 1965, 98, 3340.
- [66] J. Gante, M. Krug, G. Lauterbach, R. Weitzel, *Proc. Am. Pept. Symp. 13th 1993* 1994, 299.
- [67] J. Magrath, R. H. Abeles, *J. Med. Chem.* 1992, 35, 4279.
- [68] P. Raddatz, A. Jonczyk, K.-O. Minck, C. J. Schmitges, J. Sombroek, *J. Med. Chem.* 1991, 34, 3267.
- [69] J. Gante, H. Kahlenberg, *Liebigs Ann. Chem.* 1989, 1085.
- [70] J. Gante, R. Weitzel, *Liebigs Ann. Chem.* 1990, 349.
- [71] J. Gante, H. Kahlenberg, *Chem. Ztg.* 1991, 115, 215.
- [72] C. J. Gray, M. Quibell, K. L. Jiang, N. Bugett, *Innovation Perspect. Solid Phase Synth. Collect. Pap. Int. Symp. 2nd 1991* 1992, 295.
- [73] J. Gray, J. C. Ireson, R. C. Parker, *Tetrahedron* 1977, 33, 739.
- [74] T. L. Graybill, M. J. Ross, B. R. Gauvin, J. S. Gregory, A. L. Harris, M. A. Ator, J. M. Rinker, R. E. Dolle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992, 2, 1375.
- [75] a) T. Kolter, A. Klein, A. Giannis, *Angew. Chem.* 1992, 104, 1394; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992, 31, 1391; b) M. Hagihara, N. J. Anthony, T. J. Stout, J. Clardy, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 6568.
- [76] a) M. Hagihara, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 6570; b) P. Wipf, H. Kim, *J. Org. Chem.* 1993, 58, 5592; c) B. E. Maryanoff, X. Qiu, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, H. R. Almond, Jr., P. Andrade-Gordon, M. N. Greco, J. A. Kauffmann, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, N. Fusetani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 90, 8048.
- [77] A. B. Smith III, T. P. Keenan, R. C. Holcomb, P. A. Sprengeler, M. C. Guzman, J. L. Wood, P. C. Carroll, R. Hirschmann, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 10672.
- [78] a) R. J. Simon, R. S. Kania, R. N. Zuckermann, V. D. Huebner, D. A. Jewell, S. Banville, S. Wang, S. Rosenberg, C. K. Marlowe, D. C. Spellmeyer, R. Tan, A. D. Frankel, D. V. Santi, F. E. Cohen, P. A. Bartlett, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, 89, 9367; b) R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 10646; c) *Chemtracts: Macromol. Chem.* 1993, 4, 80; d) H. Kessler, *Angew. Chem.* 1993, 105, 572; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993, 32, 543.
- [79] M. Chorev, M. Goodman, *Acc. Chem. Res.* 1993, 26, 266.
- [80] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* 1987, 28, 3787.
- [81] G. N. Ramachandran, V. Sasisekharan, *Adv. Protein Chem.* 1968, 23, 283.
- [82] a) M. I. Page, *Compr. Med. Chem.* 1990, 2, 61; b) D. H. Rich, *ibid.* 1990, 2, 391, 402.
- [83] Sammelbezeichnung für Enzyme, die die hydrolytische Spaltung der Peptidbindung in Proteinen und Peptiden katalysieren: *Römpp Chemie-Lexikon*, Thieme, Stuttgart, 1992, S. 3647.
- [84] Siehe Kap. 7–20 in *Proteinase-Inhibitors* (Hrsg.: A. J. Barrett, G. Salvesen), (Res. Monogr. Cell Tissue Physiol. 1986, 13, 301).
- [85] a) Übersicht: D. Banner, J. Ackermann, A. Gast, K. Gubernator, P. Hadvary, K. Hilpert, L. Labler, K. Müller, G. Schmid, T. Tschopp, H. van de Waterbeemd, B. Wirz in *Perspectives of Medicinal Chemistry* (Hrsg.: B. Testa, W. Fuhrer, E. Kyburz, R. Giger), Helvetica Chimica Acta, Basel/VCH, Weinheim, 1993, S. 27; b) J. Kraut, *Annu. Rev. Biochem.* 1977, 46, 331.
- [86] D. H. Rich, *Res. Monogr. Cell Tissue Physiol.* 1986, 12, 153.
- [87] a) D. H. Rich, *Res. Monogr. Cell Tissue Physiol.* 1986, 12, 179; b) K. Suguma, E. A. Padlan, C. W. Smith, W. D. Carlson, D. R. Davies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987, 84, 7009; c) T. Hofmann, B. M. Dunn, A. L. Fink, *Biochemistry* 1984, 23, 5253; siehe auch S. S. Abdel-Mequid, *Med. Res. Rev.* 1993, 13, 731.
- [88] D. G. Hangauer, A. F. Monzingo, B. W. Matthews, *Biochemistry* 1984, 23, 5730.
- [89] I. Schechter, A. Berger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1967, 27, 157; *ibid.* 1968, 32, 898.
- [90] Übersicht: D. H. Rich, *Compr. Med. Chem.* 1990, 2, 414.
- [91] Übersicht: D. H. Rich, *Compr. Med. Chem.* 1990, 2, 400.
- [92] a) J. Burton, R. J. Cody, Jr., J. A. Herd, E. Haber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1980, 77, 5476; b) R. J. Cody, J. Burton, G. Evin, K. Poulson, J. A. Herd, E. Haber, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980, 97, 230.
- [93] P. Raddatz, K.-O. Minck, F. Rippmann, C.-J. Schmitges, *J. Med. Chem.* 1994, 37, 486.

- [94] a) M. Szelke, D. M. Jones, B. Atrush, A. Hallett, B. J. Leckie, *Pept. Struct. Funct. Proc. Am. Pept. Symp. 8th 1983*, **1983**, 579; b) M. Tree, J. J. Brown, B. J. Leckie, A. F. Lever, P. Manhem, J. J. Morton, J. I. Robertson, M. Szelke, D. Webb, *Biochem. Soc. Trans.* **1984**, **12**, 948.
- [95] D. F. Veber, M. G. Bock, S. F. Brady, E. H. Ulm, D. W. Cochran, G. M. Smith, B. I. Lamont, R. M. Di Pardo, M. Poe, R. M. Freidinger, B. E. Evans, J. Boger, *Biochem. Soc. Trans.* **1984**, **12**, 956.
- [96] a) H. Umezawa, T. Aoyagi, H. Morishima, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1970**, **23**, 259; b) H. Umezawa, *Annu. Rev. Microbiol.* **1982**, **36**, 75.
- [97] X. Jeunemaitre, J. Menard, J. Nussberger, T. T. Guyenne, H. R. Brunner, *Am. J. Hypertens.* **1988**, **2**, 819.
- [98] a) J.-P. Clozel, W. Fischli, *Arzneim. Forsch.* **1993**, **43**, 260; b) T. Ogihara, J. Higaki, M. Nagano, K. Higashimori, K. Masuo, H. Mikami, *Hypertension* **1992**, **20**, Abstr. P16; c) W. C. Pitt, H. W. Hamilton, M. D. Taylor, M. J. Ryan, D. G. Taylor, Jr., C. J. Connolly, A. M. Doherty, S. R. Klutchko, I. Sircar, B. A. Steinbaugh, *J. Med. Chem.* **1992**, **35**, 2562; d) S. F. Martin, R. E. Austin, C. J. Valman, W. R. Baker, S. L. Condon, E. de Lara, S. H. Rosenberg, K. P. Spina, H. H. Stein, J. Cohen, *ibid.* **1992**, **35**, 1710; e) K. M. Verburg, J. S. Polakowski, P. J. Kovar, V. Klinghofer, J. L. Barlow, H. H. Stein, R. A. Manti, A. K. Fung, S. A. Boyd, W. R. Baker, H. D. Kleinert, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1993**, **21**, 149.
- [99] a) S. H. Ferreira, D. C. Bartelt, L. J. Greene, *Biochemistry* **1970**, **9**, 2583; b) S. A. Ondetti, N. J. Williams, E. F. Sabo, J. Pluscec, E. R. Weaver, O. Kocy, *ibid.* **1971**, **10**, 4033.
- [100] a) L. D. Byers, R. Wolfenden, *J. Biol. Chem.* **1972**, **247**, 606; b) L. D. Byers, R. Wolfenden, *Biochemistry* **1973**, **12**, 2070.
- [101] M. A. Ondetti, B. Rubin, D. W. Cushman, *Science* **1977**, **196**, 441.
- [102] a) M. J. Wyvratt, A. A. Patchett, *Med. Res. Rev.* **1985**, **5**, 483; b) A. A. Patchett, E. Harris, E. W. Tristram, M. J. Wyvratt, M. T. Wu, D. Taub, E. R. Peterson, T. J. Ikeler, J. ten Broeke, L. G. Payne, D. L. Ondeyka, E. D. Thorsett, W. J. Greenlee, N. S. Lohr, R. D. Hoffsommer, H. Joshua, W. V. Ruyle, J. W. Rothrock, S. D. Aster, A. L. Maycock, F. M. Robinson, R. Hirschmann, C. S. Sweet, E. H. Ulm, D. M. Gross, T. C. Vassil, C. A. Stone, *Nature (London)* **1980**, **288**, 280.
- [103] M. A. Ondetti, D. W. Cushman, *Crit. Rev. Biochem.* **1984**, **16**, 381.
- [104] A. A. Patchett, E. H. Cordes, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1985**, **57**, 1.
- [105] a) C. H. Hassall, A. Krohn, C. J. Moody, W. A. Thomas, *FEBS Lett.* **1982**, **147**, 175; b) C. H. Hassall, A. Krohn, C. J. Moody, W. A. Thomas, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1984**, 155.
- [106] L. Turbanti, G. Cerbai, C. Di Bugno, R. Giorgi, G. Garzelli, M. Criscuoli, A. R. Renzetti, A. Subissi, G. Bramante, *J. Med. Chem.* **1993**, **36**, 699.
- [107] a) D. H. Rich, *Compr. Med. Chem.* **1990**, **2**, 400 (Übersicht); b) M. A. Wyvratt, A. A. Patchett, *Med. Res. Rev.* **1985**, **5**, 483 (Übersicht); c) R. D. Carr, L. Higgs, P. G. Killingback, A. K. Nikoi, S. E. O'Connor, A. Robson, E. Wells, W. T. Simpson, *Br. J. Pharmacol.* **1990**, **100**, 83; d) T. Ando, S. Okada, I. Uchida, K. Hemmi, M. Nishikawa, Y. Tsurumi, A. Fuji, K. Yoshida, M. Okuhara, *J. Antibiot.* **1987**, **40**, 468; e) M. Shiota, H. Inoue, T. Yamamoto, Y. Kajiwara, K. Kitabatake, *Arzneim. Forsch.* **1992**, **42**, 1430; f) S. S. Ghosh, O. Said-Nejad, J. Roestamadj, S. Mobashery, *J. Med. Chem.* **1992**, **35**, 4175.
- [108] a) R. A. Wiley, D. H. Rich, *Med. Chem. Rev.* **1993**, **13**, 350; b) A. Hijikata-Okumomiya, S. Okamoto, *Semin. Thromb. Hemostasis* **1992**, **18**, 135; c) J. A. Jakubowski, G. F. Smith, D. J. Sall, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1992**, **27**, 99.
- [109] a) J. W. Fenton II, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1981**, **370**, 468; b) F. J. Walker, P. W. Sexton, C. T. Esmon, *Biochem. Biophys. Acta* **1979**, **571**, 333; c) A. Hijikata-Okumomiya, S. Okamoto, *Semin. Thromb. Hemostasis* **1992**, **18**, 135.
- [110] a) J. F. Mustard, M. A. Packham, *Pharmacol. Rev.* **1970**, **22**, 97; b) D. Gospodarowicz, K. D. Brown, C. R. Birdwell, B. R. Zetter, *J. Cell. Biol.* **1978**, **77**, 774.
- [111] L. B. Jaques, *Pharmacol. Rev.* **1980**, **31**, 99.
- [112] J. Hirsch, *Semin. Thromb. Hemostasis* **1986**, **12**, 1.
- [113] a) F. Markwardt, *Biomed. Biochim. Acta* **1985**, **44**, 1007; b) J. M. Maraganore, P. Bourdon, J. Jablonski, K. L. Ramachandran, J. W. Fenton, *Biochemistry* **1990**, **29**, 7095.
- [114] J.-Y. Chang, *Biochemistry* **1991**, **30**, 6656.
- [115] S. Stone, J. Hofsteenge, *Biochemistry* **1986**, **25**, 4622.
- [116] M. D. Talbot, *Semin. Thromb. Hemostasis* **1989**, **15**, 293.
- [117] M. D. Talbot, K. D. Butler, *Drugs News Perspect.* **1990**, **3**, 357.
- [118] G. Claeson, L. Aurell, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1981**, **370**, 798.
- [119] S. R. Hanson, L. A. Harker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, **85**, 3184.
- [120] S. Bajusz, E. Szell, D. Bagdy, E. Barbas, G. Horvath, M. Dioszegi, Z. Zittler, G. Szabo, A. Juhasz, E. Tomori, G. Szilagyi, *J. Med. Chem.* **1990**, **33**, 1729.
- [121] a) B. Kaiser, M. Richter, J. Hauptmann, F. Markwardt, *Pharmazie* **1991**, **46**, 128; b) W. Bode, J. Mayr, U. Baumann, R. Huber, S. R. Stone, J. Hofsteenge, *EMBO J.* **1989**, **8**, 3467.
- [122] C. Kettner, J. M. Mersinger, R. Knabb, *J. Biol. Chem.* **1990**, **30**, 18289.
- [123] a) W. W. Bachovchin, W. Y. Wong, S. Farr-Jones, A. B. Shenvi, C. A. Kettner, *Biochemistry* **1988**, **27**, 7689; b) R. Bone, D. Frank, C. A. Kettner, D. A. Agard, *ibid.* **1989**, **28**, 7600.
- [124] a) M. S. Lim, E. R. Johnston, C. A. Kettner, *J. Med. Chem.* **1993**, **36**, 1831; b) R. M. Knabb, C. A. Kettner, P. B. Timmermans, T. M. Reilly, *Thromb. Haemostasis* **1992**, **67**, 56.
- [125] a) S. Okamoto, A. Hijikata, R. Kikumoto, S. Tonomura, H. Hara, K. Ninomiya, A. Maruyama, M. Sugano, Y. Tamao, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, **101**, 440; b) R. Kikumoto, Y. Tamao, T. Tezuka, S. Tonomura, H. Hara, K. Ninomiya, A. Heijikata, S. Okamoto, *Biochemistry* **1984**, **23**, 85; c) M. Heras, J. H. Chesebro, M. W. Webster, J. S. Mruk, D. E. Grill, W. J. Penny, E. J. Bowie, L. Badimon, V. Fuster, *Circulation* **1990**, **82**, 1476; d) M. J. Mellott, T. M. Connolly, S. J. York, L. R. Bush, *Thromb. Haemostasis* **1990**, **64**, 526.
- [126] J. Stürzebecher, F. Markwardt, B. Voigt, G. Wagner, P. Walsmann, *Thromb. Res.* **1983**, **29**, 635.
- [127] D. W. Banner, P. Hadvary, *J. Biol. Chem.* **1991**, **266**, 20085.
- [128] W. Stüber (Behringwerke AG), EP-B 508 220, **1992**.
- [129] W. Stüber, unveröffentlicht, siehe auch Lit. [128].
- [130] R. T. Shuman, R. B. Rothenberger, C. S. Campbell, G. F. Smith, D. S. Gifford-Moore, P. D. Geselchen, *J. Med. Chem.* **1993**, **36**, 314.
- [131] J. M. Maraganore, P. Bourdon, J. Jablonski, K. L. Ramachandran, J. W. Fenton, *Biochemistry* **1990**, **29**, 7095.
- [132] J. DiMaio, B. Gibbs, D. Munn, J. Lefebvre, F. Ni, Y. Konishi, *J. Biol. Chem.* **1990**, **265**, 21698.
- [133] J. DiMaio, B. Gibbs, J. Lefebvre, Y. Konishi, D. Munn, S. Y. Yue, *J. Med. Chem.* **1992**, **35**, 3331.
- [134] L. Cheng, L. A. Goodwin, M. F. Schully, V. V. Kakkar, G. Claeson, *J. Med. Chem.* **1992**, **35**, 3364.
- [135] T. J. Owen, J. L. Krstenansky, M. J. Yates, S. J. Mao, *J. Chem. Chem.* **1988**, **31**, 1009.
- [136] W. Bode, D. Turk, J. Stürzebecher, *Eur. J. Biochem.* **1990**, **193**, 175.
- [137] a) M. Yanagisawa, H. Kurihara, S. Kimura, Y. Tomobe, M. Kobayashi, Y. Mitsui, Y. Yazaki, K. Goto, T. Masaki, *Nature (London)* **1988**, **332**, 411; b) T. J. Oppenoth, J. R. Wu-Wong, K. Shiosaki, *FASEB J.* **1992**, **6**, 2653; c) A. M. Doherty, *J. Med. Chem.* **1992**, **35**, 1493.
- [138] L. H. Mortensen, C. M. Pawlowski, N. L. Kanagy, G. D. Fink, *Hypertension* **1990**, **15**, 729.
- [139] a) P. Nambi, M. Pullen, L. C. Contino, D. P. Brooks, *Eur. J. Pharmacol.* **1990**, **187**, 113; b) Y. Shibouta, N. Suzuki, A. Shino, H. Matsumoto, Z. J. Terashita, K. Kondo, K. Nishikawa, *Life Sci.* **1990**, **46**, 1611.
- [140] a) Y. Matsumura, R. Ikegawa, Y. Suzuki, M. Takaoka, T. Uchida, H. Kido, H. Shinyama, K. Hayashi, M. Watanabe, S. Morimoto, *Life Sci.* **1991**, **49**, 841; b) T. Asano, I. Ikegawa, Y. Suzuki, S.-I. Satoh, M. Shibuya, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, **159**, 1345.
- [141] a) E. G. McMahon, M. A. Palomo, W. M. Moore, J. F. McDonald, M. K. Stern, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, **88**, 703; b) T. Fukuroda, K. Noguchi, S. Tsuchida, M. Nishikibe, F. Ikemoto, K. Okada, M. Yano, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, **172**, 390; c) Y. Tsukahara, Y. Matsumura, K. Kuninobu, T. Kojima, M. Takaoka, S. Morimoto, *Life Sci.* **1993**, **53**, 465; d) E. G. McMahon, M. A. Palomo, M. A. Brown, S. R. Bertenshaw, J. S. Carter, *Am. J. Hypertens.* **1993**, **6**, 667.
- [142] a) S. R. Bertenshaw, R. S. Rogers, M. K. Stern, B. H. Norman, W. M. Moore, G. M. Jerome, L. M. Branson, J. F. McDonald, *J. Med. Chem.* **1993**, **36**, 173; b) Übersicht: A. J. Turner, *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, **21**, 697.
- [143] a) R. Ikegawa, Y. Matsumura, M. Takaoka, S. Morimoto, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, **167**, 860; b) T. Sawamura, S. Kimura, O. Shimmi, Y. Sugida, M. Kobayashi, Y. Mitsui, M. Yanagisawa, K. Goto, J. Masaki, *ibid.* **1990**, **169**, 1138; c) T. Sawamura, O. Shimmi, N. Kishi, Y. Sugita, M. Yanagisawa, K. Goto, T. Masaki, S. Kimura, *ibid.* **1990**, **172**, 883; d) W. E. Lees, S. Kalinka, J. Meech, S. J. Capper, N. D. Cook, J. Kay, *FEBS Lett.* **1990**, **273**, 99.
- [144] K. Shiosaki, A. S. Tasker, G. M. Sullivan, B. K. Sorensen, T. W. von Geldern, J. R. Wu-Wong, C. A. Marselle, T. J. Oppenorth, *J. Med. Chem.* **1993**, **36**, 468.
- [145] a) H. Mitsuya, S. Broder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, **83**, 1911; b) H. Mitsuya, S. Broder, *Nature* **1987**, **325**, 773.
- [146] a) A. Wlodawer, J. W. Erickson, *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, **62**, 543 (Übersicht); b) J. W. Erickson, *Perspect. Drug. Discovery Des.* **1993**, **1**, 109 (Übersicht); c) J. R. Huff, *J. Med. Chem.* **1991**, **34**, 2305; d) T. D. Meek, *J. Enzyme Inhib.* **1992**, **6**, 65; e) R. M. Williams, *Biomed. Appl. Biotechnol.* **1993**, **1**, 204; f) S. K. Grant, T. D. Meek, B. W. Metcalf, S. R. Pettway, Jr., *ibid.* **1993**, **1**, 349.
- [147] a) R. A. Kramer, M. D. Schaber, A. M. Skalka, K. Ganguly, F. Wong-Staal, E. P. Reddy, *Science* **1986**, **231**, 1580; b) N. E. Kohl, E. A. Emini, W. A. Schleif, L. J. Davis, J. C. Heimbach, R. A. Dixon, E. M. Scolnick, I. S. Sigal, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, **85**, 4686.
- [148] S. J. de Solms, E. A. Giuliani, J. P. Guare, J. P. Vacca, W. M. Sanders, S. L. Graham, J. M. Wiggins, P. L. Darke, J. S. Sigal, J. A. Zugay, E. A. Emini, W. A. Schleif, J. C. Quintero, P. S. Anderson, J. R. Huff, *J. Med. Chem.* **1991**, **34**, 2852.
- [149] D. R. Rich, C. Q. Sun, J. V. Vara Prasad, A. Pathiaseril, M. V. Toth, G. R. Marshall, M. Clare, R. A. Mueller, K. Houseman, *J. Med. Chem.* **1991**, **34**, 1222.

- [150] N. A. Roberts, J. A. Martin, D. Kinchington, A. V. Broadhurst, J. C. Craig, I. B. Duncan, S. A. Galpin, B. K. Handa, J. Kay, A. Krohn, R. W. Lambert, J. H. Merrett, J. S. Mills, K. E. Parkes, S. Redshaw, A. J. Ritchie, D. L. Taylor, G. J. Thomas, P. J. Machin, *Science* **1990**, *248*, 358.
- [151] a) D. J. Kempf, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2687; b) A. Wlodawer, M. Miller, M. Jakolski, B. Sathyanarayana, E. Baldwin, I. T. Weber, L. M. Selk, L. Schneider, S. B. Kent, *Science* **1989**, *245*, 616; c) A. M. Navia, P. M. Fitzgerald, B. M. McKeever, C. T. Leu, J. C. Heimbach, W. K. Herber, J. S. Segal, P. L. Darke, *Nature* **1989**, *337*, 615; d) K. L. Yu, W. E. Harte, P. Spinazze, J. C. Martin, M. M. Mansuri, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 535.
- [152] R. Bone, J. P. Vacca, P. A. Anderson, M. K. Holloway, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9382.
- [153] a) D. Grobelny, E. M. Wondrak, R. E. Galaray, S. Oroszlan, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *169*, 1111; b) A. Peyman, K.-H. Budt, J. Spanig, D. Ruppert, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1852; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1720; c) S. S. Abdel-Meguid, B. Zhao, K. H. M. Murthy, E. Winborne, J. K. Choi, R. L. DesJarlais, M. D. Minnich, J. S. Culp, C. Debouck, *Biochemistry* **1993**, *32*, 7972.
- [154] D. H. Rich, J. V. Varas Prasad, C.-Q. Sun, J. Green, R. Mueller, K. Houseman, D. MacKenzie, M. Malkowsky, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3803.
- [155] A. Spaltenstein, J. L. Leban, E. S. Furfine, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1457.
- [156] A. K. Ghosh, W. J. Thompson, H. Y. Lee, S. P. McKee, P. M. Munson, T. T. Duong, P. L. Darke, J. A. Zugay, E. A. Emini, W. A. Schleif, J. R. Huff, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 924.
- [157] W. J. Thompson, A. K. Ghosh, M. K. Holloway, H. Y. Lee, P. M. Munson, J. E. Schwering, J. Wai, P. L. Darke, J. Zugay, E. A. Emini, W. A. Schleif, J. R. Huff, P. S. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 801.
- [158] A. K. Gosh, W. J. Thompson, S. P. McKee, T. T. Duong, T. A. Lyle, J. C. Chen, P. L. Darke, J. A. Zugay, E. A. Emini, W. A. Schleif, J. R. Huff, P. S. Anderson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 292.
- [159] H. L. Sham, D. A. Betschener, C. Zhao, N. E. Wideburg, A. Saldivar, D. J. Kempf, J. J. Plattner, D. W. Norbeck, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1052.
- [160] T. K. Sawyer, J. F. Fisher, J. B. Hester, C. W. Smith, A. G. Tomasselli, W. G. Tarpley, P. S. Burton, J. O. Hui, T. J. MacQuade, R. A. Conradi, V. S. Bradford, L. Liu, J. H. Kinner, J. Tustin, D. L. Alexander, A. W. Harrison, D. J. Emmert, D. J. Staples, L. L. Maggiora, Y. Z. Zhang, R. A. Poorman, B. M. Dunn, C. Rao, P. E. Scarborough, W. T. Lowther, C. Craik, D. DeCamp, J. Moon, W. J. Howe, R. L. Heinrichson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 819.
- [161] I. S. Thaisrivongs, S. R. Turner, J. W. Strohbach, R. E. Ten Brink, W. G. Tarpley, T. J. McQuade, R. L. Heinrichson, A. G. Tomasselli, J. O. Hui, W. J. Howe, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 941.
- [162] B. P. Roques, M. C. Fournié-Zaluski, *NIDA Res. Monogr.* **1986**, *70*, 128.
- [163] a) P. Needleman, S. P. Adams, B. R. Cole, M. G. Currie, D. M. Geller, M. L. Michener, C. B. Saper, D. Schwartz, D. G. Standaert, *Hypertension* **1985**, *7*, 469; b) A. S. Hollister, T. Inagami, *Am. J. Hypertens.* **1991**, *4*, 850; c) H. Ruskoaka, *Pharmacol. Rev.* **1992**, *44*, 479.
- [164] a) D. B. Northbridge, A. G. Jardine, C. T. Alabaster, J. McConnell, S. G. Dilly, A. G. Lever, *Lancet* **1989**, *8663*, 591; b) J. E. O'Connell, A. G. Jardine, G. Davidson, J. M. Connell, *J. Hypertens.* **1992**, *3*, 271.
- [165] a) B. P. Roques, M.-C. Fournié-Zaluski, E. Soroca, J. M. Lecompte, B. Malfroy, C. Llorens, J.-C. Schwartz, *Nature* **1980**, *288*, 286; b) C. Llorens, G. Gacel, J.-P. Swerts, R. Perdisot, M.-C. Fournié-Zaluski, J. C. Schwartz, B. P. Roques, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *96*, 1710.
- [166] E. J. Sybertz, P. J. Chiu, S. Vemulapalli, B. Pitts, C. J. Foster, R. W. Watkins, A. Barnett, M. F. Haslinger, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1989**, *250*, 624.
- [167] J. Gomez-Monterrey, S. Turcaud, E. Lucas, L. Bruetsch, B. P. Roques, M.-C. Fournié-Zaluski, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 87.
- [168] M. C. Chappell, W. R. Welches, K. B. Brosnihan, C. M. Ferrario, *Peptides* **1992**, *13*, 943.
- [169] S. M. Gardiner, P. A. Kemp, T. Bennett, *Br. J. Pharmacol.* **1992**, *106*, 180.
- [170] K. James, M. J. Palmer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 825.
- [171] a) P. D. Edwards, P. R. Bernstein, *Med. Res. Rev.* **1994**, *14*, 127; b) R. L. Stein, A. M. Strimpler, P. D. Edwards, J. J. Lewis, R. C. Manger, J. A. Schwartz, M. M. Stein, D. A. Trainor, R. A. Wildonger, M. A. Zottola, *Biochemistry* **1987**, *26*, 2682.
- [172] a) J. F. Woessner, Jr. in *Collagenases in Normal and Pathological Tissue* (Hrsg.: D. E. Wooley, J. J. Evanson), Wiley, Chichester, **1980**, S. 223; b) B. Beszant, J. Bird, L. M. Gaster, G. P. Harper, I. Hughes, E. H. Karran, R. E. Markwell, A. J. Miles-Williams, S. A. Smith, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4030; c) J. Bird, R. C. DeMello, G. P. Harper, D. J. Hunter, E. H. Karran, R. E. Markwell, A. J. Miles-Williams, S. S. Rahman, R. W. Ward, *ibid.* **1994**, *37*, 158.
- [173] a) G. Fischer, B. Wittmann-Liebold, K. Lang, T. Kieffhaber, F. X. Schmid, *Nature* **1989**, *337*, 476; b) E. R. Schoenbrunner, S. Mayer, M. Tropschug, G. Fischer, N. Takahashi, F. X. Schmid, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 3630; G. Fischer, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1479; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1415; c) D. K. Donald, M. E. Cooper, M. Furber, E. Wells, R. Hutchinson, F. M. Black, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1375; d) B. E. Bierer, P. K. Somers, T. J. Wandless, S. J. Burakoff, S. L. Schreiber, *Science* **1990**, *250*, 556.
- [174] a) R. Ando, Y. Morinaka, H. Tokuyama, M. Isaka, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1174; b) T. Murachi, *Trends Biochem. Sci.* **1983**, *8*, 295; c) A. J. Barrett, J. K. McDonald, *Mammalian Proteinases: A Glossary and Bibliography, Bd. 1*, Endopeptidases, Academic Press, New York, **1980**.
- [175] S. Doulet, I. Dubuc, M. Rodriguez, F. Vecchini, H. Fulcrand, H. Barelli, F. Checker, E. Bourdel, A. Aumelas, J. C. Lallement, P. Kitabgi, J. Costentin, J. Martinez, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1369.
- [176] G. L. James, J. L. Goldstein, M. S. Brown, T. E. Rawson, T. C. Somers, R. S. McDowell, C. W. Crowley, B. K. Lucas, A. D. Levinson, J. C. Marsters, Jr., *Science* **1993**, *260*, 1937.
- [177] a) S. L. Graham, S. J. deSolms, E. A. Giuliani, N. E. Kohl, S. D. Mosser, A. I. Oliff, D. L. Pompliano, E. Rands, M. J. Breslin, A. A. Deana, V. M. Garsky, T. H. Scholz, J. B. Gibbs, R. L. Smith, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 725; b) N. E. Kohl, S. D. Mosser, S. J. de Solms, E. A. Giuliani, D. L. Pompliano, S. L. Graham, R. L. Smith, E. M. Scolnick, A. Oliff, J. B. Gibbs, *Science* **1993**, *260*, 1934; c) siehe auch A. M. Garcia, C. Rowell, K. Ackermann, J. J. Kowalczyk, M. D. Lewis, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 18415.
- [178] a) B. M. Willmsen, K. Norris, A. G. Papageorge, N. L. Hubbert, D. R. Lowy, *EMBO J.* **1984**, *3*, 2581; b) J. F. Hancock, A. J. Magee, J. E. Childs, C. J. Marshall, *Cell* **1989**, *57*, 1167; c) J. B. Gibbs, D. L. Pompliano, S. D. Mosser, E. Rands, R. B. Lingham, S. B. Singh, E. M. Scolnick, N. E. Kohl, A. Oliff, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 7617.
- [179] a) D. L. Pompliano, E. Rands, M. D. Schaber, S. D. Mosser, N. J. Anthony, J. B. Gibbs, *Biochemistry* **1992**, *31*, 3800.
- [180] a) J. L. Goldstein, M. S. Brown, S. J. Stradley, Y. Reiss, L. M. Gierasch, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 15575; b) M. S. Brown, J. L. Goldstein, K. J. Paris, J. P. Burnier, J. C. Masters, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 8313.
- [181] D. H. Rich in *Perspectives in Medicinal Chemistry* (Hrsg.: B. Testa, W. Fuhrer, E. Kyburz, R. Giger), Helvetica Chimica Acta, Basel/VCH, Weinheim, **1993**, S. 15; siehe auch Lit. [2a], S. 268.
- [182] C. Tanford, *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley-Interscience, New York, **1980**.
- [183] a) M. Kock, H. Kessler, D. Seebach, A. Thaler, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2676; b) D. Altschuh, O. Vix, B. Rees, J.-C. Thierry, *Science* **1992**, *256*, 92.
- [184] a) J. B. Moon, J. Howe, *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **1991**, *11*, 314; b) P. A. Bartlett, G. T. Shea, S. T. Telfer, S. Waterman in *Molecular Recognition: Chemical and Biochemical Problems* (Hrsg.: S. M. Roberts), Royal Society, London, **1989**, S. 182.
- [185] S. R. Wilson, W. K. Tam, M. J. Di Grandi, W. Cui, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3655.
- [186] **Addendum:** Seit dem Einreichen des Manuskripts ist zur Thematik dieser Übersicht (bis April 1994) eine Fülle neuer Publikationen erschienen, von denen eine Auswahl – kapitelweise zugeordnet – zitiert sei:
Zu Strukturellen: a) M. Quibell, W. G. Turnell, T. Johnson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 2843; b) J. A. Robl, M. P. Cimarusti, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1393; c) N. K. Harn, S. J. Cripps, G. M. Rishton, *ibid.* **1994**, *35*, 1389; d) E. Graf von Roedern, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 684; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 687; e) J. A. Robl, M. P. Cimarusti, L. M. Simpkins, H. N. Weller, Y. Y. Pan, M. Malley, J. D. DiMarco, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2348; f) K. Burgess, K.-K. Ho, *ibid.* **1994**, *116*, 799; g) P. P. Mager, *Med. Res. Rev.* **1994**, *14*, 75 (Übersicht); h) C. Aleman, J. J. Perez, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, *43*, 258; i) M. Marraud, V. Dupont, V. Grand, S. Zerkout, A. Lecoq, G. Boussard, J. Vidal, A. Collet, A. Aubry, *Biopolymers* **1993**, *33*, 1135.
Zur ACE/NEP-Hemmung: a) J. L. Stanton, D. M. Sperbeck, A. J. Trapani, D. Cote, Y. Sakane, C. J. Berry, R. D. Ghai, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3829; b) G. A. Flynn, D. W. Beight, S. Mehdi, J. R. Koehl, E. L. Giroux, J. F. F. French, P. W. Hake, R. C. Dage, *ibid.* **1993**, *36*, 2420; c) A. Patel, H. J. Smith, R. D. E. Sewell, *Prog. Med. Chem.* **1993**, *30*, 328; d) S. DeLombaert, M. D. Erion, J. Tan, L. Blanchard, L. El-Chehab, R. D. Ghai, Y. Sakane, C. Berry, A. J. Trapani, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 498; e) J. L. Stanton, G. M. Ksander, R. deJesus, D. M. Sperbeck, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 539; f) J. French, G. A. Flynn, E. L. Giroux, S. Mehdi, B. Anderson, D. C. Beach, J. R. Koehl, R. C. Dage, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *268*, 180; g) M.-C. Fournié-Zaluski, P. Coric, S. Tucaud, N. Rousselet, W. Gonzalez, B. Barbe, I. Pham, N. Jullian, J.-B. Michel, B. P. Roques, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1070.
Zur Hemmung von Aspartylproteasen: a) S. S. Abdel-Meguid, *Med. Res. Rev.* **1993**, *13*, 731 (Übersicht).
Zur Hemmung der HIV-1-Protease: a) H. L. Sham, D. A. Betschener, C. Zhao, N. E. Wideburg, A. Saldivar, D. J. Kempf, J. J. Plattner, D. W. Norbeck, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, *13*, 1052; b) D. S. Holmes, J. R. Clemens, K. N. Cobley, D. C. Humber, J. Kitchin, D. C. Orr, P. Binakumari, I. L. Paternoster, R. Storer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 503; c) K. T. Chong, M. J. Ruwart, R. R. Hinshaw, K. F. Wilkinson, B. D. Rush, M. F. Yancey, J. W. Strobach, S. Thaisrivongs, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2575; d) D. S. Holmes, R. C. Bethell, N. Cammack, I. R. Clemens, J. Kitchin, P. McMeekin, C. L. Mo, D. C. Orr, B. Patel, *ibid.* **1993**, *36*, 3129; e) A. Wona-cott, R. Cooke, F. R. Hayes, M. M. Hann, H. Jhoti, P. McMeekin, A. Mistry, P. Murray-Rust, O. M. P. Singh, M. P. Weir, *ibid.* **1993**, *36*, 3113; f) M. Vail-lancourt, B. Vanasse, E. Cohen, G. Sauve, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*,

1169; g) K. A. Newlander, J. F. Callahan, M. L. Moore, T. A. Tomaszek, Jr., W. F. Huffman, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2321; h) H. L. Sham, D. A. Betebe-
ner, N. Wideburg, A. C. Saldivar, W. E. Kohlbrenner, A. Craig-Kennard, S.
Vasavanonda, D. J. Kempf, J. J. Clement, *FEBS Lett.* **1993**, 329 (1-2), 144;
i) A. K. Ghosh, W. J. Thompson, M. K. Holloway, S. P. McKee, T. T. Duong,
H. Y. Lee, P. M. Munson, A. M. Smith, J. M. Wai, *J. Med. Chem.* **1993**, 36,
2300; j) A. Kiriya, T. Mimoto, S. Kisanuki, Y. Kiso, K. Takada, *Biopharm.*
Drug Dispos. **1993**, 14, 697; k) M. T. Konieczny, P. H. Toma, M. Cushman, *J.*
Org. Chem. **1993**, 58, 4619; l) W. R. Baker, J. K. Pratt, *Tetrahedron* **1993**, 49,
8739; m) D. C. Humber, M. J. Bamford, R. C. Bethell, N. Cammack, K.
Cobley, D. N. Evans, N. M. Gray, M. M. Hann, D. C. Orr, J. Saunders,
B. E. V. Shenoy, R. Storer, G. G. Weingarten, P. G. Wyatt, *J. Med. Chem.*
1993, 36, 3120; n) A. B. Smith, R. Hirschmann, A. Pasternak, R. Akaishi,
M. C. Guzman, D. R. Jones, T. P. Keenan, A. P. Sprengeler, P. L. Darke,
ibid. **1994**, 37, 215; o) S. Y. S. Cho, L. N. Jungheim, A. J. Baxter, *Bioorg. Med.*
Chem. Lett. **1994**, 4, 715; p) R. E. Babine, N. Zhang, S. R. Schow, Z. Xu,
R. A. Byrn, R. C. Hastings, M. F. Semmelhack, M. M. Wick, S. S. Kerwar,

ibid. **1994**, 4, 583; q) J. P. Vacca, P. M. D. Fitzgerald, M. K. Holloway, R. W.
Hungate, K. E. Starbuck, L. J. Chen, P. L. Darkc, P. S. Anderson, J. R. Huff,
ibid. **1994**, 4, 449; r) M. V. Hosur, T. N. Bhat, D. J. Kempf, E. T. Baldwin, B.
Liu, S. Gulnik, N. E. Widebug, D. W. Norbeck, K. Appelt, J. W. Erickson, *J.*
Am. Chem. Soc. **1994**, 116, 847; s) B. Kammermeier, G. Beck, D. Jacobi, H.
Jendrilla, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 719; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33,
685; t) A. B. Smith III, R. Hirschmann, A. Pasternak, R. Akaishi, M. C.
Guzman, D. R. Jones, T. P. Keenan, P. A. Sprengeler, *J. Med. Chem.* **1994**, 37,
215.
Zur Hemmung des Thrombins: S. Okamoto, A. Hijikata-Okunomiya,
Methods Enzymol. **1993**, 222, 238 (Übersicht); b) S. R. Stone, J. M. Mara-
ganore, *ibid.* **1993**, 223, 312 (Übersicht); c) C. Tapparelli, R. Metternich, C.
Ehrhardt, N. S. Cook, *Trends Pharmacol. Sci.* **1993**, 14, 366 (Übersicht); d) C.
Thuricau, S. Simonet, J. Paladino, J.-F. Prost, T. Verbeuren, J.-L. Fauchère, *J.*
Med. Chem. **1994**, 37, 625; e) J. Oleksyszyn, B. Boduszek, C.-M. Kam, J. C.
Powers, *ibid.* **1994**, 37, 226.

... meine
ANGEWANDTE
CHEMIE
gehört zu mir !



Willy P., Doktorand,

neue Routen zur Spitzenforschung
erkundend - zuverlässige Orientierung gibt
ihm sein ganz persönliches Exemplar der
ANGEWANDTEN

Bestellen auch Sie gleich Ihr
persönliches Abonnement der Angewandten!
Anruf beim VCH-Leserservice genügt:
0 62 01/ 606-199 (Fax -117).

