

28. Konformationsanalysen von Modell-Tripeptiden: Der Einfluss von α,α -disubstituierten α -Aminosäuren auf die Sekundärstruktur

Teil I

NMR- und CD-Untersuchungen

von Peter Wipf¹⁾ und Heinz Heimgartner*

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstr. 190, CH-8057 Zürich

(2.XI.87)

Conformational Analysis of Tripeptide Models:

The Influence of α,α -disubstituted α -Amino Acids on the Secondary Structure. NMR and CD Investigations

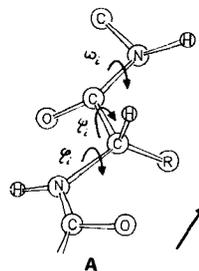
The conformational properties of α,α -disubstituted α -amino acids are discussed on the basis of NMR, CD, X-ray, and molecular-mechanics studies on tripeptide models **1**. It is shown that different disubstituted amino acids do not exert the same influence on secondary-structure formation. Thus, the choice of substituents allows the construction and stabilisation of different conformations of oligopeptide chains.

1. Einleitung. – Die Beziehungen zwischen Sequenz, Struktur und Funktion sind besonders bei Peptiden und Proteinen ein zentrales Forschungsthema. Obwohl es vielversprechende semiempirische Ansätze gibt, ist man von der Entschlüsselung des Faltungscodes der Polypeptid-Ketten noch weit entfernt [1]. Offensichtlich nehmen Sekundärstrukturen bei der Ausbildung der dreidimensionalen Architektur von Proteinen eine Schlüsselstellung ein: Helices und β -Strukturen dirigieren als Nucleationszentren den Faltungsweg und sind Ursache für die überraschend kleine Zahl unterschiedlicher Faltungstopologien [2]. Die Bildung dieser Sekundärstrukturen lässt sich durch Konformationsanalysen an Modell-Peptiden direkt untersuchen.

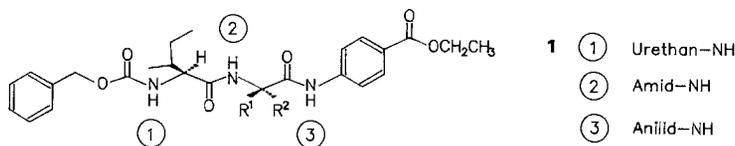
Ramachandran et al. [3] [4] demonstrierten auf der Basis von 'hard-sphere'-Modellen, dass viele φ/ψ -Kombinationen²⁾ zu sterischen Hinderungen innerhalb von Dipeptid-Einheiten führen. Die *Ramachandran*-Diagramme (= φ/ψ -Diagramme) stellen die erlaubten Werte von ψ graphisch als Funktion der entsprechenden φ -Werte des Aminosäure-Restes dar.

¹⁾ Teil der Dissertation von P. W., Universität Zürich, 1987.

²⁾ Die Konformation des Peptid-Rückgrates wird durch die Geometrie der Amid-Bindung und die Diederwinkel φ und ψ für den i -ten Aminosäure-Rest charakterisiert [4] (für die gezeichnete Konformation **A** gilt nach Definition [5] $\varphi_i = \psi_i = \omega_i = 180^\circ$).



Bei α,α -disubstituierten α -Aminosäuren schränkt die doppelte Substitution an C(2) die konformationelle Freiheit stark ein (s. [6–11] und dort zit. Lit.). Während die konformationell erlaubten Bereiche für einen Alanin-Rest noch *ca.* 15% der Gesamtfläche des *Ramachandran*-Diagramms ausmachen, liegen sie beim 2-Aminoisobuttersäure-Rest (Aib) unter 0,5% [12]. Aib ist der am besten untersuchte Vertreter dieser Klasse von Aminosäuren [5] [13] [14]. Über die strukturellen Modifikationen, die durch den Austausch von proteinogenen Aminosäuren durch andere α,α -disubstituierte α -Aminosäuren induziert werden, ist nur wenig bekannt (vgl. [8] [9]).



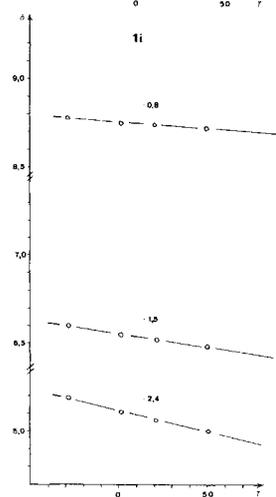
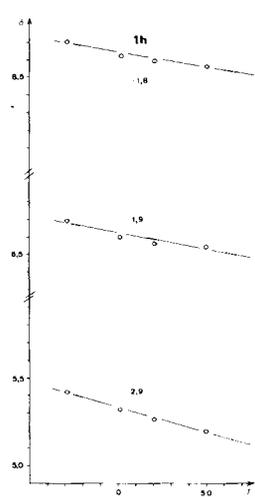
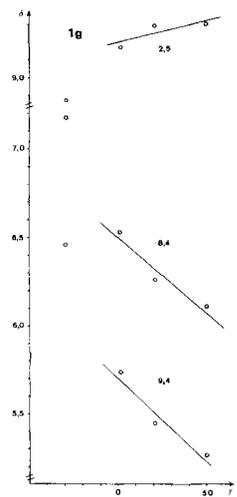
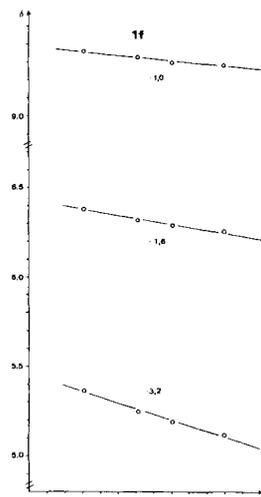
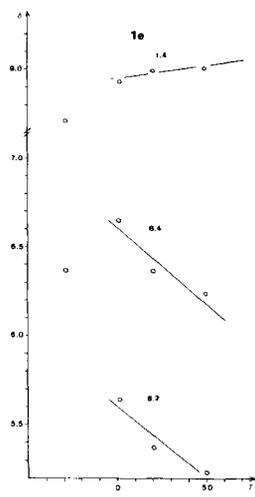
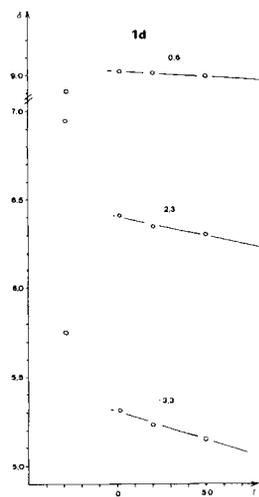
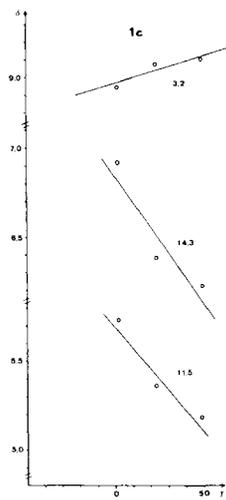
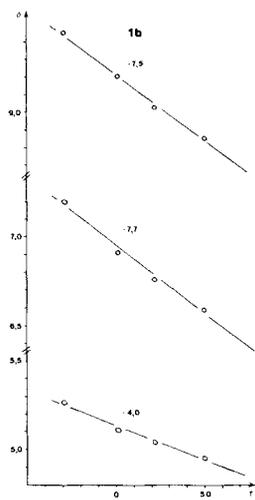
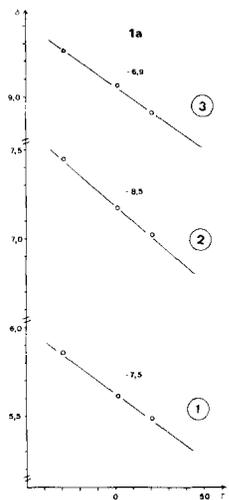
	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	1i	1k	1l	1m	1n	1o	
R ¹	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃ CH ₂	CH ₃	(CH ₃) ₂ CH	Pr	CH ₃	Bz		–(CH ₂) ₃ –	–(CH ₂) ₄ –	–(CH ₂) ₅ –	–(CH ₂) ₆ –
R ²	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃ CH ₂	CH ₃	(CH ₃) ₂ CH	CH ₃	Pr	Bz	CH ₃					

Mit den Modell-Tripeptiden **1** [15], die sich jeweils nur in der Art der disubstituierten Aminosäure unterscheiden und die mittels der Azirin/Oxazolone-Methode [15] [16] leicht zugänglich sind, bot sich die Möglichkeit, die konformationellen Einflüsse einer Reihe verschiedener Substituenten R¹ und R² miteinander zu vergleichen. Der 4-Aminobenzoesäure-Rest (Benzocain) in **1** (vgl. [15]) entspricht näherungsweise einem starren Glycylglycin-Segment [17] und übernimmt in den Modell-Peptiden im wesentlichen die Funktion eines H-Donors für die potentielle Ausbildung einer intramolekularen H-Brücke. Die Urethan-Schutzgruppe von **1** ersetzt als möglicher H-Brücken-Akzeptor die Carboxylgruppe einer weiteren Aminosäure. So werden die konformationellen Eigenschaften von **1** weitgehend durch die Dipeptid-Einheit Ile-Gly(2,2-Dialkyl) im Innern des Moleküls bestimmt.

An Methoden zur Aufklärung der Konformation der Modell-Peptide **1** wurden ¹H-NMR, Zirkulardichroismus (CD), Röntgenstrukturanalysen sowie Konformationsenergie-Berechnungen mit *Allinger's* MMP2 [18] [19] eingesetzt (vgl. [20–23]). Im vorliegenden Teil sind die Ergebnisse der ¹H-NMR- und CD-Messungen zusammengestellt, im nachstehenden Teil II [24] diejenigen der Röntgenstrukturanalyse und der Konformationsenergie-Berechnungen.

2. NH-Temperaturkoeffizienten. – Erste wichtige Hinweise auf die dreidimensionale Struktur von Oligopeptiden erhält man aus der Orientierung der Amid-Bindungen, die in der Regel durch H-Brücken (intra- oder intermolekulare und solche zum Lösungsmittel) festgelegt wird. Aus der Temperatur-Abhängigkeit der NH-Resonanzen im ¹H-NMR-Spektrum lässt sich ermitteln, ob die Amid-H-Atome an einer intramolekularen H-Brücke beteiligt sind, da solche Amid-NH (s. Formel **1**) eine kleinere Temperatur-Abhängigkeit der chemischen Verschiebung zeigen [25] [26] (vgl. z. B. auch [27]).

In *Fig. 1* sind die aus Messungen bei –30°, 0°, RT. und 50° berechneten NH-Temperaturkoeffizienten der Modell-Tripeptide **1** zusammengestellt. Grosse Werte ($d\delta/dT$)



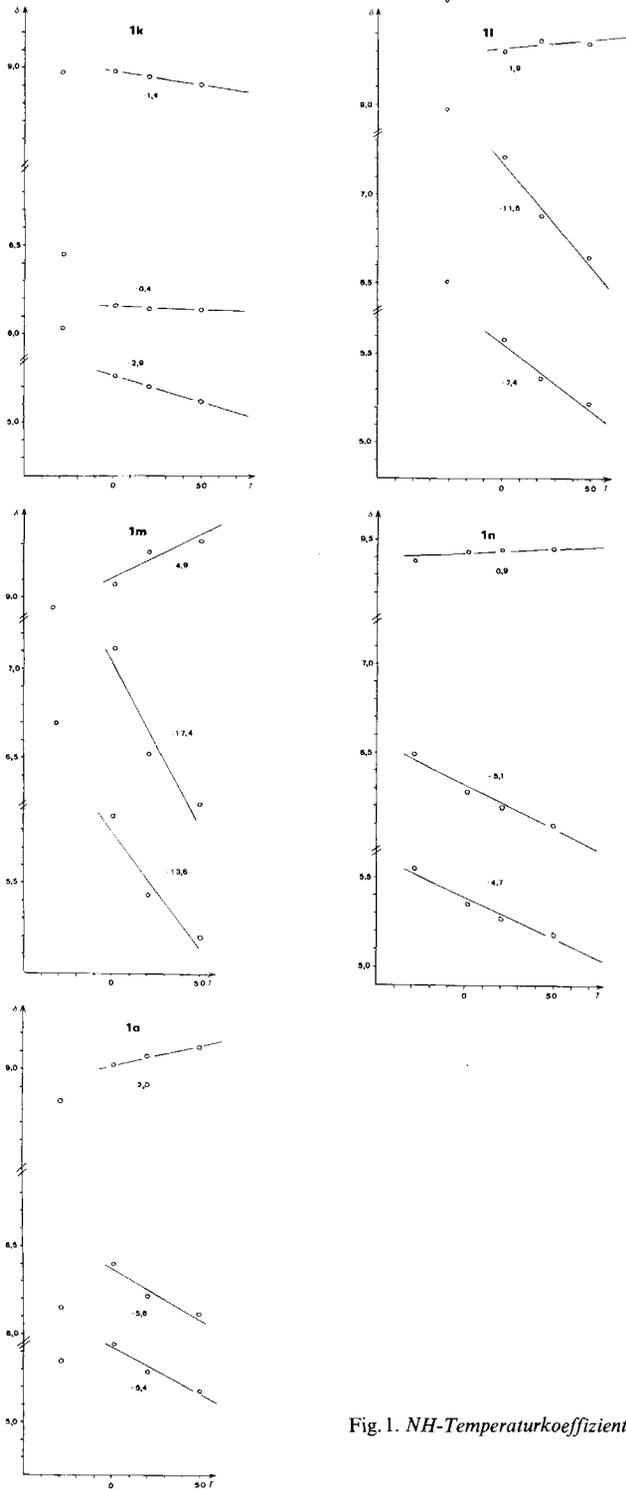


Fig. 1. NH-Temperaturkoeffizienten [ppm]/° $\times 10^3$] der Peptide **1** in $CDCl_3$

$dT > 6 \times 10^{-3}$ ppm/°) zeigen ein Lösungsmittel-exponiertes H-Atom, kleine ($d\delta/dT < 2 \times 10^{-3}$ ppm/°) ein intramolekular gebundenes an (vgl. [28] und dort zit. Lit.).

Drei äquivalent Lösungsmittel-exponierte NH zeigen die beiden aus proteinogenen Aminosäuren aufgebauten Z-Ile-Gly-Benzocain (**1a**) und Boc-Ile-Ala-Benzocain (**1b**). Bei Z-Ile-Val(2-Me)-Benzocain (**1f**) und Z-Ile-Phe(2-Me)-Benzocain (**1i**) ist das Anilid-NH mit einem Temperaturkoeffizienten von $-1,0$ bzw. $-0,8 \times 10^{-3}$ ppm/° deutlich an einer intramolekularen H-Brücke beteiligt. Das Amid-NH dieser Verbindungen weist jeweils ebenfalls einen relativ kleinen T -Koeffizienten auf ($-1,6$ bzw. $-1,5 \times 10^{-3}$ ppm/°), doch ist dies möglicherweise auf die sterische Abschirmung durch die beiden Substituenten R^1 und R^2 , die die Bildung intermolekularer H-Brücken erschwert, zurückzuführen. Das Urethan-NH dagegen ist mit Werten von $-3,2$ bzw. $-2,4 \times 10^{-3}$ ppm/° in beiden Fällen deutlich Lösungsmittel-exponiert. Auch das Z-Ile-Iva-Benzocain (**1d**) mit einem Anilid-NH-Temperaturkoeffizienten von $-0,6 \times 10^{-3}$ ppm/° kann noch zu dieser Gruppe gezählt werden, doch treten hier beim Übergang von 0 nach -30° bereits nicht-lineare Verschiebungen auf, die sich auf das Ausfrieren von konformationellen Gleichgewichten und/oder auf intermolekulare Aggregation zurückführen lassen.

Sehr deutlich sind diese nicht-linearen Resonanz-Verschiebungen bei einer weiteren Gruppe von Tripeptiden, nämlich Z-Ile-Aib-Benzocain (**1c**), Z-Ile-D-Val(2-Me)-Benzocain (**1g**), Z-Ile-D-Iva-Benzocain (**1e**), Z-Ile-Acb-Benzocain (**1l**), Z-Ile-Acp-Benzocain (**1m**) und Z-Ile-Acs-Benzocain (**1o**). Die $d\delta/dT$ -Werte der Anilid-NH innerhalb dieser Gruppe schwanken von $1,4$ bis $4,9 \times 10^{-3}$, die Werte der Amid-NH von $-17,4$ bis $-5,6 \times 10^{-3}$ und diejenigen der Urethan-NH von $-13,6$ bis $-5,4 \times 10^{-3}$ ppm/°. Auch Z-Ile-Ach-Benzocain (**1n**) mit $d\delta/dT$ von $0,9$, $-5,1$ und $-4,7 \times 10^{-3}$ ppm/° lässt sich noch am Rande zu dieser Gruppe zählen, wobei der Wert $0,9 \times 10^{-3}$ ppm/° auf die Ausbildung einer intramolekularen Brücke zum Anilid-NH hindeutet.

Bei Z-Ile-Gly(2,2-Pr₂)-Benzocain (**1h**) treten nur noch minime Unterschiede bei den Temperaturkoeffizienten der verschiedenen NH auf ($-1,8$, $-1,9$ und $-2,9 \times 10^{-3}$ ppm/°). Diesen Hang zur Äquivalenz der Amid-Protonen teilt in geringerem Masse auch das Z-Ile-D-Phe(2-Me)-Benzocain (**1k**) ($-1,4$, $-0,4$ und $-2,9 \times 10^{-3}$ ppm/°). Mit einem Wert von $-0,4 \times 10^{-3}$ ppm/° scheint hier besonders das Amid-NH intramolekular gebunden zu sein, jedoch treten bei tieferer Temperatur wiederum nicht-lineare Resonanz-Verschiebungen auf.

3. CD-Spektren. – Weitere Information über die Sekundärstruktur von Oligopeptiden kann den CD-Spektren entnommen werden. Sowohl die ($\pi \rightarrow \pi^*$)- als auch die ($n \rightarrow \pi^*$)-Absorption des Peptid-Chromophors (bei *ca.* 190 bzw. 224 nm) führt bei chiraler Anordnung mehrerer dieser Chromophore zueinander durch Addition der Cotton-Effekte zu typischen CD-Exciton-Banden. So weist jede der Sekundärstrukturen eine charakteristische 'Standard-CD-Kurve' auf [20] [29] [30]. Im Falle der Modellpeptide **1** lieferte der Vergleich des Zirkulardichroismus bereits recht konkrete Hinweise auf die dreidimensionale Struktur (Tabelle, Fig. 2).

Wie man von einem aus natürlichten Aminosäuren aufgebauten Peptid von so kurzer Sequenz erwartet, ist das CD-Spektrum von Z-Ile-Gly-Benzocain (**1a**) bzw. Boc-Ile-Ala-Benzocain (**1b**) ziemlich flach und unstrukturiert, was auf eine grössere Zahl von in Lösung nebeneinander vorliegenden Konformationen mit annähernd gleicher Energie hindeutet.

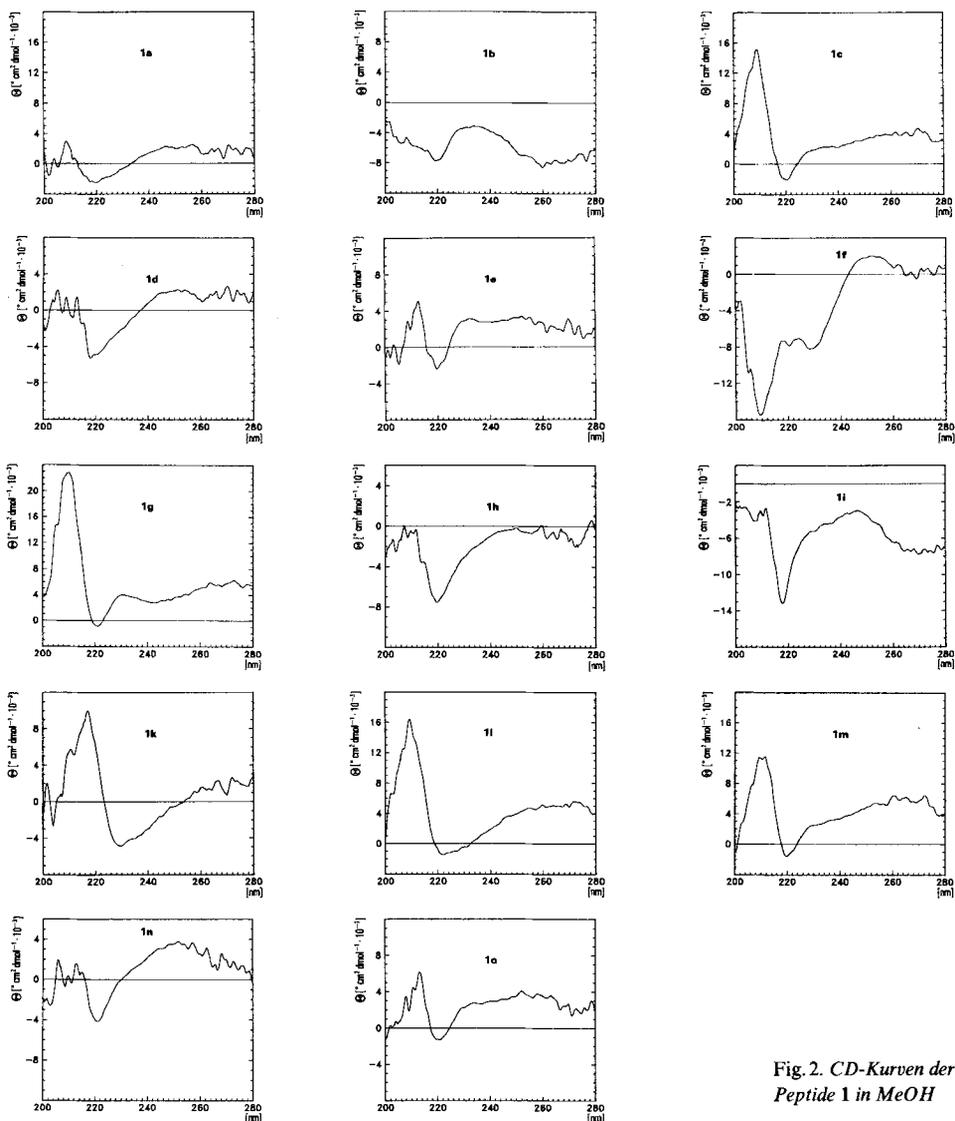


Fig. 2. CD-Kurven der Peptide 1 in MeOH

Anders liegen die Verhältnisse beim Z-Ile-Val(2-Me)-Benzocain (**1f**): das CD zeigt hier eine deutliche Strukturierung mit Minima bei 209, 221 und 228 nm. Solche Spektren findet man bei Oligo- und Polypeptiden mit einer 3_{10} -Helix [31–35]), ein Strukturtyp der sehr nahe bei der α -Helix liegt [36]. Dieser Strukturtyp ist bei längeren Aib-haltigen Peptiden häufig anzutreffen (s. z. B. [37]). Erstaunlich ist, dass **1f**, das ja nur einen Ausschnitt aus einer 3_{10} -Helix, einen sog. ‘type-III β -turn’ [38], aufweisen kann, trotz der kurzen Sequenz schon einen so ausgeprägt strukturierten Cotton-Effekt zeigt, wofür

Tabelle. CD-Parameter von **1** in MeOH bzw. Trifluoroethanol

Peptid	MeOH		Trifluoroethanol	
	λ [nm]	$[\theta]_T \times 10^{-3a)}$	λ [nm]	$[\theta]_T \times 10^{-3a)}$
1a	208	2,9	210	4,6
	220	-2,5	220	-0,9
1b	219	-7,7	210	-6,8
1c	209	15,1	208	9,8
	220	-2,1	218	0,8
1d	218	-5,2	223	-2,5
1e	213	5,1	209	15,2
	220	-2,4	229	4,8
1f	209	-15,5	209	-11,4
	221	-7,5	220	-5,6
	228	-8,1	225	-6,6
1g	210	22,8	207	29,3
	221	-0,8	220	2,0
1h	220	-7,6	219	-3,1
1i	218	-13,1	227	-14,5
1k	217	10,1	213	12,5
1l	209	16,4	212	6,4
	222	-1,7	221	-0,7
1m	211	11,6	208	10,1
	220	-1,5	218	0,5
1n	221	-4,1	206	10,3
1o	213	6,1	208	9,4
	220	-1,3		

a) $[\theta]_T$ = totale molare Elliptizität [$^\circ\text{cm}^2/\text{dmol}$].

normalerweise eine Kettenlänge von mindestens 7–9 Aminosäure-Resten notwendig ist [32] [38].

Die Zuordnung eines 'type-III β -turns' zu **1f** wird auch durch den Nachweis einer (4 \rightarrow 1) H-Brücke bei den NH-Temperaturkoeffizienten bestätigt.

Die CD-Spektren von Z-Ile-Iva-Benzocain (**1d**), Z-Ile-Phe(2-Me)-Benzocain (**1i**), Z-Ile-Gly(2,2-Pr₂)-Benzocain (**1h**) und Z-Ile-Ach-Benzocain (**1n**) zeigen eine einzige Bande bei 218–221 nm mit totalen molaren Elliptizitäten von -4,1 bis $-13,1 \times 10^3 \text{ }^\circ\text{cm}^2/\text{dmol}$. Diese Kurvenart könnte aus einer Mischung von β -Struktur und nicht-periodischen ('random') Anteilen oder mit dem Vorliegen eines 'type-I β -turns' erklärt werden. Zumindest bei **1h** sind auch bei den NH-Temperaturkoeffizienten Anzeichen für eine β -Struktur vorhanden.

Die Verbindungen Z-Ile-Aib-Benzocain (**1c**), Z-Ile-D-Val(2-Me)-Benzocain (**1g**), Z-Ile-Acb-Benzocain (**1l**) und Z-Ile-Acp-Benzocain (**1m**) weisen ein charakteristisch einheitliches Spektrum mit einem Maximum bei 209–211 nm und einem nur schwach ausgeprägten Minimum bei 220–222 nm auf, was bei mehreren Arten von ' β -turns' auftreten kann [20]. Bei Z-Ile-D-Phe(2-Me)-Benzocain (**1k**), Z-Ile-Acs-Benzocain (**1o**) und Z-Ile-D-Iva-Benzocain (**1e**) scheint sich diesem Strukturtyp ein zunehmender Anteil nicht-periodischer Struktur zu überlagern.

Beim Übergang von MeOH, das eher die Ausbildung von β -Faltblattstruktur unterstützt, zum eher ' β -turn'-unterstützenden CF₃COOH [39] bleibt das CD-Spektrum von **1f**, **1c**, **1g**, **1l** und **1m** im wesentlichen unverändert; **1d**, **1h** und **1i** gehen in eine eher

ungeordnete Struktur über und bei **1k**, **1e**, **1n** und **1o** verstärkt sich das für die Ausbildung eines ' β -turns' irgendeines Typs charakteristische [20] [30] Maximum bei *ca.* 210 nm.

4. Diskussion. – Aufgrund der an den Modell-Tripeptiden **1** durchgeführten Konformationsanalysen (unter Einbezug der Resultate³⁾ der Röntgenstrukturanalyse von **1f** und der Konformationsenergie-Berechnungen von **1a**, **1c**, **1f**, **1g** und **1h**) können folgende Schlüsse gezogen werden:

a) Die untersuchten α,α -disubstituierten α -Aminosäuren üben zumindest in kurzen Oligopeptiden einen charakteristischen Einfluss auf die Sekundärstruktur aus.

b) Dieser konformationelle Einfluss lässt sich in Typ und in Ausgeprägtheit durch die Auswahl der Substituenten an C(2) der disubstituierten Aminosäure stark variieren. Es ist also nicht möglich, in erster Näherung [11] allen disubstituierten Aminosäuren die gleichen konformationellen Eigenschaften wie dem einfachsten und bekanntesten Vertreter, dem Aib, zuzuordnen.

c) Den stärksten konformationellen Einfluss beobachtet man bei der Vergrößerung einer der beiden Substituenten an C(2), besonders deutlich bei der Verzweigung einer Seitenkette in β -Position, wie dies bei den L- und D-Val(2Me)-Derivaten **1f** und **1g** der Fall ist. Dabei werden gewinkelte Strukturen stabilisiert, deren Typ von der Konfiguration an C(2) abhängig ist. Die (*S*)-Konfiguration (in Kombination mit einer natürlichen L-Aminosäure) induziert die Ausbildung eines 'type-III β -turns' (eines Ausschnitts aus einer 3_{10} -Helix), die (*R*)-Konfiguration die Ausbildung eines leicht verzerrten 'type-II β -turns', der auch beim Aib in kurzen Peptiden mit relativ kleinem Aib-Anteil vorherrscht⁴⁾.

d) Bei einer linearen Verlängerung der Seitenketten (d. h. keine Verzweigung in β -Stellung, vgl. **1d/1e**, **1h**) werden die gewinkelten Geometrien zunehmend destabilisiert und die gestreckten stabilisiert. In der Übergangsphase beobachtet man als Folge dieser Entwicklung eine Abschwächung des bestimmenden konformationellen Einflusses der disubstituierten Aminosäure auf das Peptid-Rückgrat.

e) Bei den cyclischen Vertretern **1l-o** üben 4- und 5-Ring ähnliche konformationelle Einflüsse wie Aib aus. Mit zunehmender Ringgröße (6-, 7-Ring) beobachtet man die gleiche Tendenz wie beim linearen Wachstum der Seitenketten, d. h. eine zunehmende Stabilisierung von gestreckten Strukturen.

5. Ausblick. – Die Flexibilität von kleinen, biologisch aktiven Peptiden, die normalerweise in Lösung eine grössere Anzahl von Konformationen annehmen, erschwert die Suche nach 'aktiven Konformationen', die von den physiologischen Rezeptoren erkannt werden [40]. Die Einführung von α,α -disubstituierten α -Aminosäuren reduziert die Flexibilität des Peptid-Rückgrates, so dass genauere Aussagen zur aktiven Konformation eines Peptides an der Rezeptor-Bindungsstelle möglich werden sollten (vgl. auch [41–44]).

Neben der Erforschung der Beziehungen zwischen Struktur, Konformation und biologischer Aktivität gehört die Konstruktion von künstlichen Proteinen mit massgeschneiderten physikalisch-chemischen Eigenschaften zu den ehrgeizigsten Projekten der

³⁾ S. nachstehende Arbeit [24].

⁴⁾ Dabei spielt auch die Position der disubstituierten Aminosäuren innerhalb der Sequenz und die Länge des Peptides eine Rolle; ab einer Kettenlänge von 7–9 Aminosäure-Resten bilden Aib-haltige Peptide deutlich helicale Strukturen (α - oder 3_{10} -Helices) aus [30]. Ein möglicher Schluss daraus ist, dass zumindest beim Aib der Übergang 'type-II β -turn' \rightarrow α -Helix durch die disubstituierte Aminosäure erleichtert wird.

Peptid-Chemie [1] [35] [45–48]. Eine Voraussetzung dafür ist die Verfügbarkeit von Oligopeptid-Blöcken mit stabiler Sekundärstruktur als Bauelemente, die bei Bedarf mit z. B. biotechnologisch hergestellten Polypeptid-Segmenten chemisch oder enzymatisch verknüpft werden können. Dabei beschränkt sich das mögliche Einsatzgebiet von disubstituierten Aminosäuren nicht nur auf die Regulation der Helixblock-Länge sowie den Übergang von verschiedenen Sekundärstrukturbereichen. Da ein substantieller Anteil der Oberfläche von Proteinen aus 'β-turn'-bildenden Untereinheiten besteht, gilt es als sicher, dass gewisse 'β-turns' als Erkennungsmerkmale für die Auslösung von komplexen immunologischen, endokrinen und metabolischen Reaktionen dienen [20]. Auch hier lässt sich wahrscheinlich das stark 'β-turn'-induzierende Potential der α,α-disubstituierten Aminosäuren nutzbringend verwerten.

Da sich die verschiedenen disubstituierten Aminosäuren aufgrund der vorliegenden Resultate doch wesentlich in ihren konformationellen Eigenschaften unterscheiden, können sie zu wichtigen Werkzeugen beim gezielten Aufbau makromolekularer Strukturen werden. Ihr Einfluss vor allem auch bei längeren Sequenzen muss daher noch eingehender untersucht werden; die Synthese solcher Peptide mittels der Azirin/Oxazolone-Methode ist Gegenstand unserer weiteren Arbeiten.

Experimenteller Teil

Allgemeines und Synthese von 1. S. [15].

CD-Spektren: Jasco-J500-A-Zirkulardichrometer; Quarz-Zellen mit 0,1 cm Durchmesser ($c = 0,5\text{--}0,7$ mg Peptid/ml); Elliptizitäten werden als totale molare Elliptizitäten $[\theta]_T$ [$^{\circ}\text{cm}^2/\text{dmol}$] ausgedrückt.

Messung der *NH*-Temperaturkoeffizienten in CDCl_3 ($c = 0,018\text{--}0,024$ mM) bei -30° , 0° , RT. und 50° .

Abkürzungen gemäss IUPAC/IUB-Kommission [49]. Acb = 1-Aminocyclobutancarbonsäure, Ach = 1-Aminocyclohexancarbonsäure, Acp = 1-Aminocyclopentancarbonsäure, Acs = 1-Aminocycloheptancarbonsäure, Aib = 2-Methylalanin (= 2-Aminoisobuttersäure), Benzocain = 4-Aminobenzoessäure-ethylester, Boc = *tert*-Butoxycarbonyl-, Gly(2,2-Pr₂) = 2,2-Dipropylglycin, Iva = L-2-Ethylalanin (= L-Isovalin, (2*S*)-Konfiguration), D-Iva = D-2-Ethylalanin (= D-Isovalin, (2*R*)-Konfiguration), Phe(2-Me) = 2-Methyl-L-phenylalanin ((2*S*)-Konfiguration), D-Phe(2-Me) = 2-Methyl-D-phenylalanin ((2*R*)-Konfiguration), Val(2-Me) = 2-Methyl-L-valin ((2*S*)-Konfiguration), D-Val(2-Me) = 2-Methyl-D-valin ((2*R*)-Konfiguration).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Mutter, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 639.
- [2] C. Toniolo, *CRC Critical Rev. Biochem.* **1980**, *9*, 1; 'Protein Folding', Ed. R. Jaenicke, Elsevier, Amsterdam, 1980.
- [3] G. N. Ramachandran, V. Sasiskharan, *Adv. Protein Chem.* **1968**, *23*, 282; C. M. Venkatachalan, G. N. Ramachandran, *Ann. Rev. Biochem.* **1969**, *38*, 45.
- [4] G. E. Schulz, R. H. Schirmer, 'Principles of Protein Structure', Springer, New York, 1979, S. 18.
- [5] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature 1969, *Biochemistry* **1970**, *9*, 3471.
- [6] C. Toniolo, G. M. Bonora, A. Bavoso, E. Benedetti, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, *22*, 205.
- [7] Y. Paterson, S. M. Rumsey, E. Benedetti, G. Némethy, H. A. Scheraga, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2947.
- [8] E. Benedetti, C. Toniolo, P. Hardy, V. Barone, A. Bavoso, B. di Blasio, P. Grimaldi, F. Lejl, V. Pavone, C. Pedone, G. M. Bonora, I. Lingham, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 8146; G. M. Bonora, C. Toniolo, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, E. Benedetti, I. Lingham, P. Hardy, *ibid.* **1984**, *106*, 8152.
- [9] R. Bardi, A. M. Piazzesi, C. Toniolo, M. Sukumar, P. Balaram, *Biopolymers* **1986**, *25*, 1635.

- [10] H. Balaram, M. Sukumar, P. Balaram, *Biopolymers* **1986**, *25*, 2209.
- [11] V. Barone, F. Lelj, A. Bavoso, B. di Blasio, P. Grimaldi, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1985**, *24*, 1759.
- [12] A. W. Burgess, S. J. Leach, *Biopolymers* **1973**, *12*, 2599.
- [13] B. V. V. Prasad, P. Balaram, *CRC Critical Rev. Biochem.* **1984**, *16*, 307.
- [14] T. Ashida, Y. Tsunogae, I. Tanaka, T. Yamane, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1987**, *43*, 212.
- [15] P. Wipf, H. Heimgartner, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 140.
- [16] P. Wipf, H. Heimgartner, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1153; P. Wipf, H. Heimgartner, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 354.
- [17] F. H. C. Stewart, *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 1629.
- [18] U. Burkert, N. L. Allinger, 'Molecular Mechanics', ACS Monograph 177, American Chemical Society, Washington D.C., 1982.
- [19] T. Clark, 'A Handbook of Computational Chemistry', Wiley, New York, 1985.
- [20] J. A. Smith, L. G. Pease, *CRC Critical Rev. Biochem.* **1980**, *8*, 315.
- [21] G. Govil, R. V. Hosur, 'Conformation of Biological Molecules', Springer, Berlin, 1982.
- [22] K. E. van Holde, 'Physical Biochemistry', Prentice Hall, New Jersey, 1971, S. 202.
- [23] G. Némethy, H. A. Scheraga, *Quart. Rev. Biophys.* **1977**, *10*, 239.
- [24] P. Wipf, R. Kunz, R. Prewo, H. Heimgartner, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 268.
- [25] F. Maser, K. Bode, V. N. R. Pillai, M. Mutter, *Adv. Polymer Sci.* **1984**, *65*, 177.
- [26] H. Kessler, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 509.
- [27] C. Toniolo, *Br. Polymer J.* **1986**, *18*, 221; C. Toniolo, E. Benedetti, C. Pedone, *Gazz. Chim. Ital.* **1986**, *116*, 355 und dort zit. Lit.
- [28] E. Giralt, M. Feliz, *Magn. Reson. Chem.* **1986**, *24*, 123.
- [29] N. Greenfield, G. D. Fasman, *Biochemistry* **1969**, *8*, 4108; R. W. Woody, in 'Peptides, Polypeptides, and Proteins', Eds. E. R. Blout, F. A. Bovey, M. Goodman und N. Lotan, Wiley, New York, 1974, S. 338.
- [30] U. Azzena, P. L. Luisi, *Biopolymers* **1986**, *25*, 555.
- [31] G. Jung, H. Brückner, H. Schmitt, in 'Structure and Activity of Natural Peptides', Eds. W. Voelter und G. Weitzel, de Gruyter, Berlin, 1981, S. 75.
- [32] H. Schmitt, W. Winter, R. Bosch, G. Jung, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1304.
- [33] E. Katz, M. Aydin, N. Lucht, W. A. König, T. Ooka, G. Jung, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 1041.
- [34] G. Jung, N. Dubischar, D. Leibfritz, *Eur. J. Biochem.* **1975**, *54*, 395; E. Benedetti, A. Bavoso, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, C. Toniolo, G. M. Bonora, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1982**, *79*, 7951.
- [35] M. Mutter, K.-H. Altmann, A. Flörsheimer, J. Herbert, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 786.
- [36] B. R. Malcolm, M. D. Walkinshaw, *Biopolymers* **1986**, *25*, 607.
- [37] C. Toniolo, G. M. Bonora, E. Benedetti, A. Bavoso, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, *22*, 1335.
- [38] E. K. S. Vijayakumar, T. S. Sudha, P. Balaram, *Biopolymers* **1984**, *23*, 877.
- [39] M. Schiffer, A. B. Edmundson, *Biophys. J.* **1967**, *7*, 121.
- [40] V. J. Hruby, in 'Perspectives in Peptide Chemistry', Eds. A. Eberle, R. Geiger und T. Wieland, Karger, Basel, 1981, S. 207.
- [41] P. M. Hardy, A. Goldsmith, R. Cotton, in 'Peptides 1984, Proceedings of the 18th European Peptide Symposium', Ed. U. Ragnarsson, Almquist und Wiksell International, Stockholm, 1984, S. 121.
- [42] M. Sukumar, P. A. Raj, P. Balaram, E. L. Becker, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1985**, *128*, 339.
- [43] M. L. Moore, G. R. Marshall, F. Stassen, J. Stefankiewicz, L. Sulat, D. Schmidt, L. Kinter, J. McDonald, D. Ashton-Shue, in 'Peptides, Structure and Function, Proceedings of the 9th American Peptide Symposium', Eds. C. M. Deber, V. J. Hruby und K. D. Kopple, Pierce, Rockford, 1985, S. 607.
- [44] M. Goodman, *Biopolymers* **1985**, *24*, 137.
- [45] G. M. Whitesides, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 617.
- [46] M. Mutter, K.-H. Altmann, K. Müller, S. Vuilleumier, Th. Vorherr, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 985.
- [47] D. Eisenberg, W. Wilcox, S. M. Eshita, P. M. Pryciak, S. P. Ho, W. F. DeGrado, *Proteins* **1986**, *1*, 16.
- [48] R. Moser, S. Klausner, Th. Leist, H. Langen, Th. Eprecht, B. Gutte, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 737.
- [49] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Pure Appl. Chem.* **1984**, *56*, 595.