

# Allgemeiner Teil

## 1. Allgemeines

### 1.1 Einleitung

Proteine und Peptide gehören zu den wichtigsten Naturstoffklassen überhaupt und zählen in chemischer Hinsicht mit zu den am besten untersuchten Stoffklassen. Die Übergänge zwischen diesen Verbindungsklassen sind fließend.<sup>1</sup> Während den Proteinen vor allem biokatalytische Aufgaben sowie solche als wichtige Gewebebestandteile zukommen, erfüllen Peptide wichtige Funktionen als Neurotransmitter, Neuromodulatoren und Hormone im Organismus. Durch Bindung an membrangebundene Rezeptoren und dadurch vermittelte zellphysiologische Folgeaktionen kontrollieren Peptide eine Vielzahl vitaler Prozesse wie Schmerzempfinden, Blutdruck, Schlaf, Atmung, Reproduktion, Immunabwehr, Verhalten, Elektrolythaushalt und vieles mehr. Dies verdeutlicht das große pharmazeutische Interesse an dieser Verbindungsklasse.

Als Nachteile der nativen Peptide sind die geringe metabolische Stabilität gegenüber Peptidasen, die unzureichende Bioverfügbarkeit und die Fähigkeit ihre Wirkung in mehreren Zellarten und Organsystemen zu entfalten zu nennen. Da sich die guten Wirkstoffe als schlechte Arzneimittel erwiesen, sollte dieser Nachteil durch die Entwicklung von Peptidmimetika behoben werden können.

### 1.2 Entwicklung von Peptidmimetica<sup>2</sup>

Als Peptidmimetica werden Verbindungen bezeichnet, welche die Struktur von Peptiden nachahmen und als Liganden in der Lage sind, die biologische Aktivität auf Rezeptor-/Enzymebene zu imitieren (Agonist) oder zu blockieren (Antagonist). Zusätzlich sollen dabei die Bioverfügbarkeit und metabolische Stabilität verbessert werden. Die Art der Mimetisierung kann von der leicht veränderten Ausgangsstruktur bis zum reinen Nichtpeptid reichen.

---

<sup>1</sup> Die formale Grenze zwischen Peptid und Protein liegt bei 50 Aminosäurebausteinen, während in der älteren Literatur der Übergang oft bei 100 Aminosäureeinheiten definiert wird.

<sup>2</sup> a) A. Adang, P. Hermkens, J. Linders, H. Ottenheijm, C. van Staveren *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, 113, 63-78; b) A. Giannis, T. Kolter *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1303-1326.

Im Prinzip bieten sich folgende Möglichkeiten zur Mimetisierung einer Peptidstruktur an:

- ◆ Verwendung von *D* - statt *L* -Aminosäuren
- ◆ Modifizierung der Seitenkette von Aminosäuren
- ◆ Veränderung der Peptidhauptkette
- ◆ Cyclisierung zur Konformationsstabilisierung
- ◆ Verwendung von Templaten, die eine bestimmte Sekundärstruktur erzwingen

Während die proteolytische Stabilität eines Peptids durch Austausch von *L* - gegen *D* -Aminosäuren gesteigert werden kann, führt die Modifikation der Seitenketten einer der Aminosäuren oft zu einer Verbesserung der Bindungseigenschaften des gesamten Peptids.

Bei der Veränderung des Peptidrückgrates erfolgt in der Regel ein Austausch einer Amidgruppe gegen amidähnliche Gruppierungen von denen die häufigsten Modifikationen in der *Tabelle 1* zusammen gefaßt sind.<sup>3</sup> Durch diese Maßnahmen lassen sich ebenso Bindungsaffinität als auch metabolische Stabilität des nativen Peptids beeinflussen.

Durch die Cyclisierung eines linearen Peptids wird dessen Flexibilität und damit dessen globale Konformation festgelegt. Bei Fixierung der biologisch aktiven Konformation wird die Affinität des Peptids zu Rezeptor erhöht, da die Entropieabnahme bei der Bindung kleiner ist als bei der Bindung eines flexiblen, linearen Peptids. Zu diesem Zweck werden Aminosäureseitenketten, die nicht an der Rezeptorerkennung beteiligt sind miteinander oder mit dem Peptidgerüst verknüpft.<sup>4</sup>

Die Sekundärstruktur des Peptids spielt eine entscheidene Rolle für die molekulare Erkennung des Rezeptors. Neben  $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt sind Turns als Wendepunkte in der Peptidkette wichtige Konformationselemente. Der Ersatz dieser Struktureinheiten durch einen Baustein, welcher nach dem Einfügen in ein Peptid eine definierte Sekundärstruktur stabilisiert, hat zum Konzept des Sekundärstrukturmimeticum geführt.<sup>5</sup>

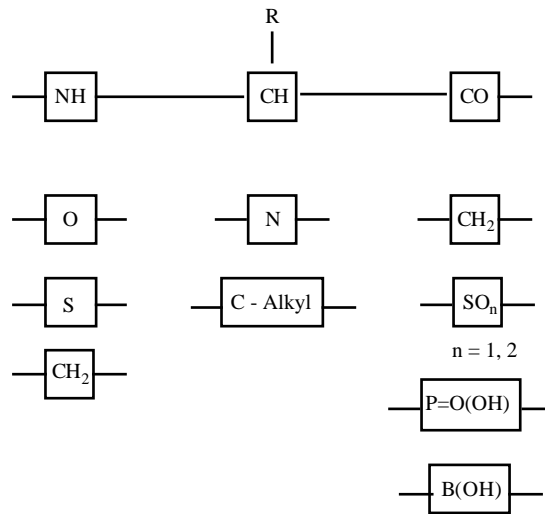
---

<sup>3</sup> J. Gante *Angew. Chem.* **1994**, 106, 1780-1802.

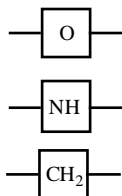
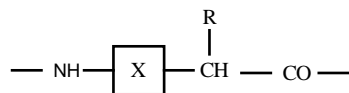
<sup>4</sup> a) C. Toniolo *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, 35, 287-300; b) H. Kessler *Angew. Chem.* **1982**, 94, 509-520; c) C.M Deber, V. Madison, E.R Blout *Acc. Chem. Res.* **1979**, 9, 106-113.

<sup>5</sup> a) R. Liskamp *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, 113, 001-019; b) G. Olson, D. Bolin, M. Bonner, M. Bös, C. Cook, D. Fry, B. Graves, M. Hatada, D. Hill, M. Kahn, V. Madison, V. Rusiecki, R. Sarabu, J. Sepinwall, G. Vincent, M. Voss *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 3039-3049; (c) M. Kahn *Synlett*, **1993**, 821-826.

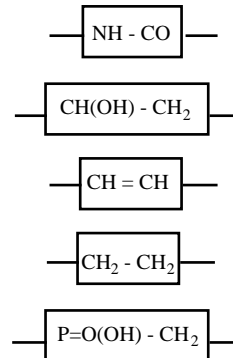
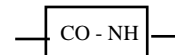
## Austausch einzelner Kettenglieder



## Verlängerung der Peptidkette



## zweifacher Austausch an der Peptidbindung

Tabelle 1. Die häufigsten Modifizierungen am Peptidrückgrat. <sup>3</sup>

## 1.3 Peptidkonformation

Die Wechselwirkung von Peptidliganden mit Proteinrezeptoren bzw. Enzymen spielt eine entscheidene Rolle in der Regulation von biologischen Prozessen, wobei der Peptidgeometrie eine besondere Bedeutung zu kommt. Unter physiologischen Bedingungen steht ein Peptid in einem dynamischen Konformationsgleichgewicht das abhängig von Temperatur und pH-Wert ist. Dies führt dazu, daß die entscheidende biologische Reaktivkonformation nur zu einem

geringen Prozentsatz vorliegt. Diese Situation stellt sich besonders bei kleinen, linearen Peptiden z.B. Peptidhormonen ein. Verursacht wird diese Flexibilität durch die Rotation einzelner Bindungen der beteiligten Aminosäurereste, deren aneinandergereihte Abfolge das Peptidrückgrat bilden. Beschrieben wird die Geometrie des Peptidrückgrats durch die Torsionswinkel *phi* ( $\phi$ ), *psi* ( $\psi$ ) und den *omega* ( $\omega$ ) der Peptidbindung (Abbildung 1).

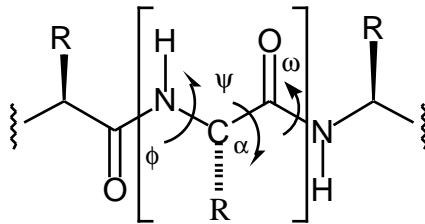


Abbildung 1: Anordnung eines beliebigen Aminosäurebausteins Xaa in der Peptidkette mit entsprechenden Torsionswinkeln  $\phi$ ,  $\psi$  und  $\omega$

Da die Peptidbindung auf Grund der Resonanzstabilisierung einen partiellen Doppelbindungscharakter besitzt existieren zwei mögliche Rotationsisomere: Die *trans* ( $\omega = 180^\circ$ ) oder *cis* ( $\omega = 0^\circ$ ) konfigurierte Peptidbindung. Die energetisch begünstigte *trans* Peptidbindung findet man in allen Peptiden, die kein Prolin enthalten (vgl. Abschnitt 1.5). Generell bewirkt die planare Anordnung der vier Atome in der Peptidgruppe eine gleichzeitige planare Anordnung der beiden flankierenden C $\alpha$ -Atome, sodaß die sechs Atome in einer Ebene zu liegen kommen und so eine partielle Starrheit der gesamten Peptidketten resultiert. Die Peptidbindung beschränkt somit die Zahl der möglichen Konformationen einer Polypeptidkette.<sup>6</sup>

Zur Charakterisierung der Konformation des Peptidrückgrats genügt daher in erster Näherung die Bestimmung der beiden Torsionswinkel  $\phi$  und  $\psi$  des jeweiligen Aminosäurerestes. Der Winkel  $\phi$ , der die Rotation entlang der N-C $\alpha$  Bindung beschreibt wird durch ein System von vier kovalent verknüpften Atomen C(O)-N-C $\alpha$ -C(O) definiert. Analog definiert das System N-C $\alpha$ -C(O)-N den Winkel  $\psi$ , welcher die Rotation um die C $\alpha$ -C(O) Bindung beschreibt. Obwohl für die beiden Winkel  $\phi$  und  $\psi$  eine große Zahl möglicher Kombinationen existieren, führt die Größe, Polarität und Ladung der Seitenkette am C $\alpha$ -Atom zu einer weiteren Einschränkung der Rotationsfreiheitsgrade. Jedoch existieren, wie Modellrechnungen von *Ramachandran*<sup>7</sup> zeigen, für jeden Aminosäurerest in einem Peptid bevorzugte Winkelkombinationen von  $\phi$  und  $\psi$ . Diese Vorzugskonformationen verhelfen dem Peptid zur Ausbildung favorisierter Sekundärstrukturen wie  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt und Turns.

<sup>6</sup> L. Pauling, R. B. Corey *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1951**, 37, 729-740.

<sup>7</sup> G. N. Ramachandran *Adv. Protein Chem.* **1968**, 23, 283.

## 1.4 Topologie von Turnstrukturen

Unter einem Turn versteht man eine globale Richtungsänderung der Peptidkette um  $180^\circ$  unter Beteiligung von vier Aminosäuren beim  $\beta$ -Turn<sup>8</sup> (*Abbildung 2*) und drei beim  $\gamma$ -Turn (*Abbildung 3*), wobei die beteiligten Aminosäuren entsprechend ihrer Position von  $i$  bis  $i+3$  bzw. von  $i$  bis  $i+2$  durchnummeriert werden. Dabei wird der  $\beta$ -Turn über eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonylsauerstoff C=O in der Position  $i$  und dem Amidproton NH des Aminosäurerestes in der Position  $i+3$  stabilisiert. Dies gilt analog für den  $\gamma$ -Turn zwischen den Positionen  $i$  und  $i+2$ . Auf Grund verschieden möglicher Winkelkombinationen an den Positionen  $i+1$  und  $i+2$  des  $\beta$ -Turns und damit unterschiedlicher Energie-minima wird dieser in sechs Typenklassen unterteilt: I, II und III bzw. durch Invertierung der Torsionswinkel in I', II' und III'.<sup>9</sup>

Diese idealen Winkelkombinationen, erstmalig von *Venkatachalam*<sup>10</sup> beschrieben, wurden allerdings selten bei den in Folge durchgeführten Konformationsanalysen in Peptiden und Proteinen beobachtet. Daher wurden bei der Anwendung dieser strengen Kriterien eine Reihe von Ergänzungen eingeführt: so dürfen drei von vier Torsionswinkel um bis zu  $30^\circ$  und ein Winkel um bis zu  $45^\circ$  von dem Idealwert abweichen. Zusätzlich wurde die ursprüngliche Definition eines  $\beta$ -Turns dahin gehend ergänzt, daß für ein Vorliegen eines  $\beta$ -Turns der Abstand zwischen den Aminosäureresten in der Position  $C_{\alpha i}$  und  $C_{\alpha i+3}$  kleiner als  $7\text{\AA}$ <sup>11</sup> sein muß und die vier involvierten Aminosäurereste nicht Bestandteil einer Helixkonformation sein dürfen.<sup>12</sup>

Die Winkelkombinationen für dem  $\beta$ -III bzw.  $\beta$ -III' Typ fehlen daher in der aktuellen Definition, da dieser Turn den Anfang einer  $3_{10}$ -Helix beschreibt. Des weiteren wurde die Klassifizierung von  $\beta$ -Turns um vier weitere Typen (IV, V, VI, VII)<sup>12</sup> erweitert. Zusätzlich wird die Existenz eines  $\beta$ -Turn-VIII<sup>13</sup> diskutiert.

---

<sup>8</sup> weitere Bezeichnungen in der englischsprachigen Literatur:  $\beta$ -bend, hairpin bend, corner,  $\beta$ -loop, 1-4 bend, chain reversal, reverse turn, U-bend, 1,4 turn,  $\beta$ -twist, tight turn; Bezeichnungen in deutschsprachigen Quellen:  $\beta$ -Schleife, Schleifenstrukturen, Wendung.

<sup>9</sup> a) J. A. Smith, L. G. Pease *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, 8, 314-398; b) G. D. Rose, L. M. Gierash, J. A. Smith *Adv. Prot. Chem.* **1985**, 37, 1-109.

<sup>10</sup> C. M. Venkatachalam *Biopolymers* **1968**, 6, 1425-1436.

<sup>11</sup> Abweichend von dieser Randbedingung beträgt der Abstand mit Wasserstoffbrückenbindung 3.5 - 4 $\text{\AA}$ .

<sup>12</sup> P. N. Lewis, F. A. Momany, H. A. Schellman *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, 303, 211-229.

<sup>13</sup> C. M. Wilmot, J. M. Thornton *J. Mol. Biol.* **1988**, 203, 221-232.

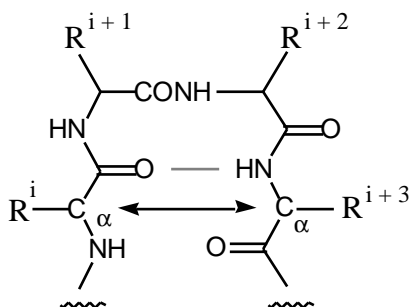


Abbildung 2 : Nomenklatur der Aminosäurepositionen zur Kennzeichnung von  $\beta$ -Turns

Allerdings handelt es sich bei diesen Klassifizierungen des  $\beta$ -Turns, mit Ausnahme der Varianten  $\beta$ -VI und  $\beta$ -VIII, um ausgesprochene Spezialfälle, deren Winkelkombinationen sich gegebenenfalls mit denen der klassischen Turn-Typen beschreiben lassen. Besonders erwähnt sei der  $\beta$ -VI-Typ, der dadurch charakterisiert ist, daß in der Turnposition  $i+2$  die Aminosäure Prolin mit einer *cis*-Peptidbindung in Erscheinung tritt. Da dieser Typ je nach Winkelkombination eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung aus- bzw. nicht ausbildet, wird dieser  $\beta$ -Turn zusätzlich in die beiden Suptypen  $\beta$ -VIa und  $\beta$ -VIb unterschieden. Über die gebräuchlichen klassischen  $\beta$ -Turn Typen und die dazu gehörigen Winkelkombinationen gibt die *Tabelle 2* zusammenfassend Auskunft.<sup>14</sup>

Entgegen der ursprünglichen Definition von *Venkatachalam* werden  $\beta$ -Turns, wie bereits erwähnt, nicht zwangsläufig durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert. Daher wurde für den Fall des Fehlens einer stabilisierenden intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung die Bezeichnung "open turn" eingeführt.<sup>15</sup> Von den in Peptiden und Proteinen gefundenen  $\beta$ -Turns werden ca. 60% durch eine derartige intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert.<sup>16</sup> Im Gegensatz dazu steht der  $\gamma$ -Turn, welcher generell durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert wird und daher nur beim Fehlen konkurrierender Wasserstoffbrückenbindungen aus gebildet werden kann.<sup>9</sup>

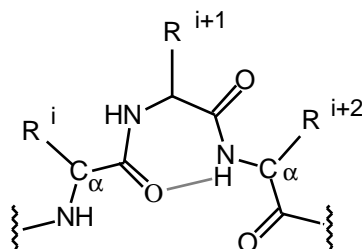


Abbildung 3 : Nomenklatur der Aminosäurepositionen zur Kennzeichnung von  $\gamma$ -Turns

<sup>14</sup> J. S. Richardson *Adv. Prot. Chem.* **1981**, 34, 167-339.

<sup>15</sup> J. L. Crawford, W. N. Lipscomp, C. G. Schellman *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1973**, 70, 538-542.

<sup>16</sup> J. B. Ball, P. F. Alewood *J. Mol. Recog.* **1990**, 3, 55-64.

| Turn        | $\phi_{i+1}$ | $\psi_{i+1}$ | $\phi_{i+2}$ | $\psi_{i+2}$ |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| $\beta I$   | -60          | -30          | -90          | 0            |
| $\beta I'$  | 60           | 30           | 90           | 0            |
| $\beta II$  | -60          | 120          | 80           | 0            |
| $\beta II'$ | 60           | -120         | -80          | 0            |
| $\beta VIa$ | -60          | 120          | -90          | 0            |
| $\beta VIb$ | -120         | 120          | -60          | 150          |

Tabelle 2 : Torsionswinkel (in Grad) von Aminosäurebausteinen in Position i+1 und i+2 zur Beschreibung von klassischen  $\beta$ -Turnkonformationen <sup>14</sup>

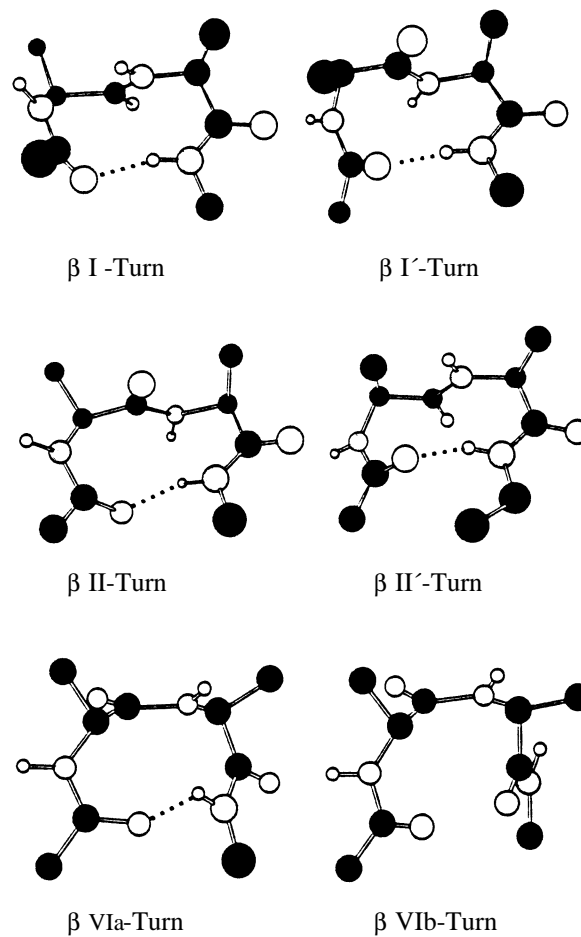


Abbildung 4 : Darstellung klassischer  $\beta$ -Turn Varianten <sup>17</sup>

<sup>17</sup> H. D. Jakubke *Peptide: Chemie und Biologie* Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford 1996.

Beim Vergleich von Konformationsanalysen zahlreicher Peptide und Proteine sind weitere allgemeine Strukturmerkmale erkennbar:<sup>9</sup>

- ◆ Die Chiralität der beteiligten Aminosäuren in der Position  $i+1$  und  $i+2$  bestimmen beim  $\beta$ -Turn dessen Typenzuordnung. Dabei führen die Kombinationen  $L - L$  zum Typ  $\beta$ -I,  $D - D$  zum Typ  $\beta$ -I',  $L - D$  zum Typ  $\beta$ -II und  $D - L$  zum Typ  $\beta$ -II';
- ◆ Die direkte Abhängigkeit der Typenzuordnung von der Stereochemie spiegelt sich auch in der Verteilung der einzelnen klassischen  $\beta$ -Turnvarianten wieder: 42%  $\beta$ -I, 3%  $\beta$ -I', 15%  $\beta$ -II und 5%  $\beta$ -II'.<sup>18</sup> Der Rest verteilt sich auf übrige  $\beta$ -Turnstrukturen. Der generelle Anteil der  $\beta$ -Turnstrukturen an Peptiden und Proteinen beläuft sich auf ca. 25%.
- ◆ Turns besitzen eine quasi cyclische Struktur. Die Seitenketten der Aminosäuren in den Positionen  $i+1$  und  $i+2$  können sich somit äquatorial oder axial bezüglich der Turn-Bindungsebene orientieren. Generell nehmen beim  $\beta$ -Turn die Seitenketten der Aminosäuren der Position  $i+1$  eine equatoriale und in der Position  $i+2$  eine axiale Anordnung ein. Dabei kommen in Abhängigkeit von der Klassifizierung die Seitenketten oberhalb (+) oder unterhalb (-) der Turnebene zum stehen:  $\beta$ -I (+),  $\beta$ -I' (-),  $\beta$ -II (-),  $\beta$ -II' (+). Beim  $\gamma$ -Turn ordnet sich die Seitenkette in der Position  $i+1$  generell äquatorial an.
- ◆ Die Aminosäure Prolin ist am Aufbau fast aller Turns beteiligt, sie befindet sich meist in der Position  $i+2$ . Ebenfalls häufig am Aufbau von Turns beteiligt ist die achirale Aminosäure Glycin, die jede Position innerhalb eines Turns besetzen kann. Bedingt durch den fehlenden Substituenten und der damit verbundenen Flexibilität ist Glycin in der Lage Konformationen zu stabilisieren, die ansonsten entweder nur durch  $L$ - oder  $D$ -Konfigurierte Aminosäuren an den entsprechenden Turnpositionen ausgebildet werden können.<sup>19</sup> Die Position  $i+2$  wird dagegen oft von Asparagin oder auch Serin, beides Aminosäuren mit polaren Seitenketten, besetzt. Häufig ist die Position  $i$ , der Anfang eines Turns, von Aspartat und die Position  $i+3$  von Tryptophan besetzt.

### 1.5 Biochemische Relevanz von Turnstrukturen

Die Lokalisierung von Turns an der Oberfläche von Proteinen sowie an exponierter Stelle innerhalb von Peptidstrukturen in Kombination mit dem häufigen Auftreten von Aminosäureresten mit polaren Seitenfunktionen in diesem Strukturelement führen dazu, daß den diversen Turnstrukturen bei der Vermittlung von biologischen Prozessen eine Schlüsselrolle zu kommt.<sup>9</sup>

---

<sup>18</sup> E. G Hutchison, J. M. Thornton *Protein Sci.* **1994**, 3, 2207-2216.

<sup>19</sup> Glycin wird daher auch als "Pseudo  $D$ -Aminosäure " bezeichnet.



Durch die Wechselwirkung der stark polaren Turneinheit des Liganden mit dem Zielrezeptor bzw. Enzym wird in der Regel eine Kaskade von biochemischen Prozessen induziert, die letztlich in einem biologischen Effekt münden. Beispielhaft dafür steht die Signaltransduktion von G-Protein gekoppelten Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Mittels dieser komplexen Schaltstelle erfolgt u.a. die durch Peptidhormone vermittelte Informationsübertragung zur Steuerung von Zellvorgängen.

Daneben werden über die Signaltransduktionskaskaden Zell-Zell und Zell-Matrix Wechselwirkungen vermittelt. Eine besondere Stellung fällt dabei den Integrinen zu, einer Klasse von Oberflächenrezeptoren die in eine Reihe von Subtypen unterteilt werden. Die diversen Subtypen sind an unterschiedlichen biologischen Prozessen und somit an deren pathogenen Veränderungen wie z.B. der Blutgerinnung, der Osteoporose und der Tumorbildung beteiligt. Die Wechselwirkung der Adhäsionsrezeptoren mit extrazellulären Matrixproteinen erfolgt häufig über ein zentrales Zellerkennungsmotiv, der Arg-Gly-Asp (kurz RGD)-Sequenz, die auch als universelle Zellerkennungssequenz bezeichnet wird. Die RGD-Sequenz wird dabei häufig durch benachbarte Turnsequenzen in ihrer Wirkkonformation stabilisiert.<sup>20</sup>

Weitere durch Turns vermittelte Erkennungsprozesse sind unter anderem von großer Bedeutung in der post-translationalen Modifizierung durch Phosphorylierung<sup>21</sup> und Glycosidierung<sup>22</sup> von Proteinen. Die für die Immunabwehr nötige Wechselwirkung von Antigen/Antikörper verläuft ebenfalls häufig über  $\beta$ -Turnkonformationen.<sup>23</sup>

## 1.6 Prolin: Ein Sonderstatus

Prolin unterscheidet sich von den übrigen 19 proteinogenen Aminosäuren dadurch, daß es die einzige natürliche sekundäre Aminosäure darstellt (*Abbildung 5*). Formal kann Prolin als  $\alpha$ -Aminosäure betrachtet werden, bei der die Seitenkette mit der Aminofunktion verbunden ist. Dieses Strukturmerkmal hat einen einzigartigen Effekt auf dessen konformativen Eigenschaften.

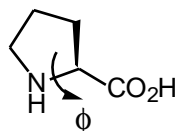


Abbildung 5 : L-Prolin

<sup>20</sup> R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1440-1456.

<sup>21</sup> a) J. Reed, V. Kinzel, H.C. Cheng, D. A. Walsh *Biochemistry*, **1987**, 26, 7641; b) D. A. Tinker, E. A. Krebs, I. A. Feltham, S. K. Atta-Poku, V.S. Ananthanarayanan *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 5024.

<sup>22</sup> B. Imperiali, K. L. Shannon, K. W. Rickert *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 7942-7944

<sup>23</sup> J. M. Rini, U. Schulze-Gahmen, I. A. Wilson *Science* **1992**, 255, 959.

So ist der Torsionswinkel  $\phi$  als Bestandteil eines fünfgliedrigen Cyclus mit  $-65^\circ \pm 15^\circ$ <sup>4a</sup> annäherungsweise konformativ fixiert. Dies hat zur Folge, daß Prolin in Kombination mit der fehlenden N-H Donatoreigenschaft, keine Möglichkeit zur Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung besitzt und keine  $\alpha$ -helicalen Strukturen zu stabilisieren vermag. Andererseits wird Prolin durch diese konformative Restriktion in die Lage versetzt diverse  $\beta$ -Turn Varianten zu stabilisieren.

Im Hinblick auf die Situation der Peptidbindung dem Prolin eine weitere Sonderrolle zu: Bedingt durch den partiellen Doppelbindungscharakter der Peptidbindung wird die Bildung von *cis/trans*-Isomeren ermöglicht. Bei sekundären Amidbindungen aus primären Aminosäuren wird fast ausschließlich das energetisch günstigere *trans*-Isomere gebildet, wie die Differenz der Freien Energie von *cis* und *trans* Amidisomeren zeigt ( $\Delta G^\circ = 2.6 \text{ kcal/mol}$ )<sup>24</sup>. Dabei ist die Energiedifferenz mit zwischen dem *cis* und *trans* Isomer im Fall einer Amidbindung (Xaa-Pro) deutlich geringer ( $\Delta G^\circ = 0.5 \text{ kcal/mol}$ )<sup>25</sup> (Abbildung 6).

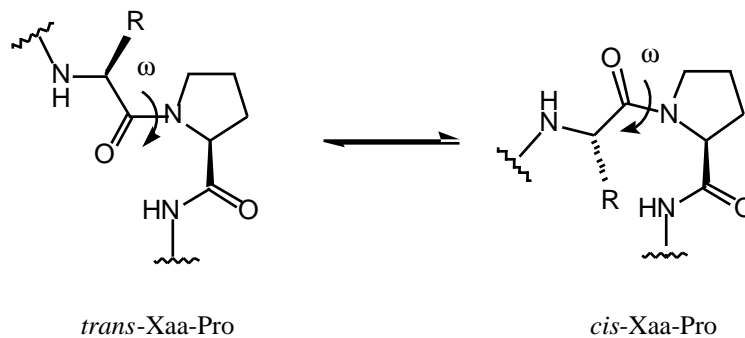


Abbildung 6 : *cis / trans* Isomerie der Amidbindung

Die *cis/trans*-Isomerisierung der Peptidbindung, welche innerhalb der Peptidkette vor dem Prolinrest lokalisiert ist, ist allerdings kinetisch gehemmt ( $\Delta G^\ddagger = 18\text{-}21 \text{ kcal/mol}$ )<sup>26</sup> und erfolgt *in-vitro* mit einer Halbwertszeit von wenigen Sekunden bis zu 15 Minuten. Dagegen wird *in-vivo* die Isomerisierung durch Peptidyl-Prolyl *cis/trans* Isomerasen (PPIasen) katalysiert.<sup>27</sup> Der geringe energetische Vorteil der *trans*-Peptidbindung im Fall des peptidgebundenen Prolins hat zur Folge, daß unter physiologischen Bedingungen ein signifikanter Anteil (in kleinen Peptiden bis zu 30%)<sup>28</sup> als *cis*-Isomer vorliegt.

<sup>24</sup> (1 kal = 4.184 J)

<sup>25</sup> D. E. Steward, A. Sarkar, J.E. Wampler *J. Mol. Biol.* **1990**, 214, 253-260.

<sup>26</sup> E. S. Eberhard, S.N. Loh, A.P. Hill, R.T. Raines *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5437- 5439.

<sup>27</sup> G. Fischer *Angew. Chem.* **1994**, 106, 1479-1501.

<sup>28</sup> a) C. Grathwal, K. Wüthrich, *Biopolymers* **1981**, 20, 2623-2633; b) N. H. Cheng, F.A. Bovey, *Ibit*, **1977**, 16, 1465-1472; c) C. Grathwal, K. Wüthrich, *Ibit*, **1976**, 165, 2043-2057; d) C. Grathwal, K. Wüthrich, *Ibit*, **1976**, 165, 2025- 2041.

PPIasen sind die ersten bekannten Enzyme, welche auf die Katalyse von Konformationsänderungen spezialisiert sind und einen entscheidenden Beitrag zur Proteinfaltung leisten.<sup>29</sup> Sie sind ubiquitär und wahrscheinlich spezifisch für prolinhaltige Peptide und Proteine. Diese Enzymklasse katalysiert somit auch die Bildung der  $\beta$ -Turn-Typen VIa und VIb (siehe Seite 4). Dieser Turn-Typ wird häufig in Peptiden und Proteinen mit einer ihm typischen Sequenz Xaa(Ar)-Pro-Xaa(Ar) gefunden, bei dem das Prolin im Peptidrückgrat sandwichartig von zwei Aminosäureresten mit Arylseitenketten flankiert wird.<sup>30</sup> Unter anderem wurden  $\beta$ -Turn VI Konformationen bei Peptidhormonen in Lösung nachgewiesen.<sup>31</sup>

### 1.7 Motivation

Auf die verschiedenen  $\beta$ -Turnvarianten als häufig auftretendes Motiv in biologisch aktiven Peptiden und Proteinen wurde in den voran gestellten Abschnitten bereits hingewiesen. Wie aber kann dieses Motiv durch synthetische Analoga imitiert und die mögliche Wirkkonformation von Peptiden stabilisiert werden ?

Die Erforschung von Superantagonisten für das LHRH ist eng mit dieser Fragestellung verknüpft. Bei dem Dekapeptid LHRH (Lutenizing Hormon-Releasing Hormon, synonym mit GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon) und mit Gonadoliberilin ) handelt es sich um ein geschlechtsunspezifisches Hormon des Hypothalamus mit zentraler Bedeutung für die Neuroendokrinologie.

Es wird pulsatil in die Blutbahn sekretiert und stimuliert über den Hypophysenvorderlappen die Freisetzung der ebenfalls geschlechtsunspezifischen Glycoproteide LH (Lutropin) und FSH (Follitropin), welche die Bildung und Ausschüttung der Sexualhormone in Testes und Eierstöcken steuern. Durch die Konzentration der Sexualhormone wird andererseits die Freisetzung des LHRH gesteuert. Eine Erhöhung des Hormonspiegels führt so zu einer negativen Rückkopplung im Hypothalamus, in dessen Folge die Bildung von LH und FSH verhindert wird und dadurch die Konzentration der Sexualhormone verringert.

---

<sup>29</sup> F. X. Schmid, L. M. Mayr, M. Mücke, E. R. Schönbrunner *Adv. Protein Chem.* **1993**, 44, 25- 66.

<sup>30</sup> a) J. Yao, R. Brusweiler, H.J. Dyson, P. E. Wright *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 12051- 12052;

b) J. Yao, V.A. Fehrer, B.F. Espejo, M.T. Reymond, H.J. Dyson, P.E. Wright *J. Mol. Biol.*, **1994**, 243, 736- 753.

<sup>31</sup> a) D.S. Eggelstone, P.W. Baures, C.E. Peishoff, K.D.Kopple *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4410- 4416;

b) R. M. Freidinger, D. S. Perlow, W. C. Randell, R. Saperstein, B. H. Arison, D. F. Veber  
*Int. J. Pept. Protein Res.* **1984**, 23, 142- 150.

Auf dieser Grundlage kann der Hormonregelkreis gezielt beeinflusst werden. Durch Einsatz von synthetischen Superantagonisten des LHRH, daß am Beginn der Hormonkaskade steht und im Nanogrammbereich wirksam ist, besteht die Möglichkeit der Therapie von Geschlechtshormonen abhängigen Erkrankungen. Zu den therapeutischen Anwendungen gehören neben der Wiederherstellung der Fruchtbarkeit bei infertilen Männern und Frauen mit gestörter endogener LHRH-Sekretion vor allem die hormonabhängigen Tumorerkrankungen wie Mamma-, Prostatacarzinom und Endometriose, bei denen die Sexualhormone als Wachstumsfaktoren wirken.

Bei der Hormontherapie der Tumorerkrankungen mit LHRH-Agonisten tritt nach anfänglich verstärkter Sekretion von Steroidhormonen und einer kurzfristigen Verschlechterung des Krankheitsbildes eine Rezeptorverarmung oder "Down"-Regulierung in den Hypophysenvorderlappen ein. Im Ergebnis führt dies zur effizienten, reversiblen Unterdrückung der Freisetzung von Steroid-Sexualhormonen. Der Nachteil der Antagonistentherapie, die kurzfristige Verschlechterung des Krankheitsbildes, hat die Entwicklung von LHRH-Antagonisten angestoßen, d.h eine "Down"-Regulierung zu erzielen ohne initialen Stimulus der Hormonsekretion.<sup>32</sup>

Als ein Meilenstein in der Entwicklung von Peptidmimetika gilt in diesem Zusammenhang die Arbeit von *Freidinger et al.*<sup>33</sup>, der zeigen konnte, daß eine  $\beta$ -II'-Turn-Konformation des LHRH nach Substitution einer nativen Dipeptidsequenz durch ein  $\gamma$ -Lactam-Dipeptid **1** stabilisiert werden kann.

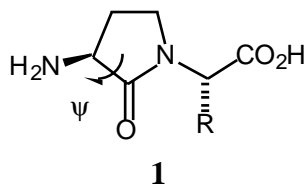


Abbildung 7:  $\gamma$ -Lactam-Dipeptid **1**

Die Substitution erfolgte in dem für das Peptid entscheidenden Sequenzbereich Tyr<sup>5</sup>-Gly<sup>6</sup>-Leu<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup>, für den im rezeptorgebundenen Zustand eine  $\beta$ -II'-Turnkonformation auf Grund von Molecular-Modelling<sup>34</sup> Daten postuliert und später durch weiter führende Konformationsanalysen auf <sup>1</sup>H-NMR-Basis<sup>35</sup> bestätigt wurden. Das  $\gamma$ -Lactam-Dipeptid **1** dient dabei als zentraler Baustein für die Positionen Glycin i+1 und Leucin i+2 des postulierten  $\beta$ -Turns.

<sup>32</sup> B. Kutscher, M. Bernd, T. Beckers, E. E. Polymeropoulos J. Endel *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2240- 2254.

<sup>33</sup> R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein *Science* **1980**, 210, 656- 658.

<sup>34</sup> F. A. Monany *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 98, 2990- 2996.

<sup>35</sup> K. D. Kopple *In Peptides: Synthesis-Structure-Funktion*, ed. D. H. Rich, E. Gross **1981**, 295- 298, Pierce Chemical Company, Rockford.

Die chemische Modifizierung des Dipeptids durch lokale Cyclisierung einer formal eingeführten Seitenkette an der Position  $C_{\alpha}$  des ersten Aminosäurerestes  $i+1$  mit dem  $N$ -Amid des nachfolgenden Restes  $i+2$  führt zu **1** mit einer konformativen Fixierung des Torsionswinkels  $\psi_{i+1}$  auf ca.  $-120^{\circ}$ . Zusätzlich wird die Peptidbindung in einer *trans*-Konfiguration fixiert. Allerdings wird die optimale Annäherung an die *trans*-Konfiguration erst erreicht, wenn der Lactam-Ring auf sieben Glieder erweitert wird.<sup>36</sup>

Das modifizierte LHRH **2** besitzt in vivo fast die 9-fache Wirkung des nativen Peptids und lieferte somit den Beweis für die Stabilisierung der bioaktiven Konformation durch ein starres  $\beta$ -Turn-Mimetikum. Gleichzeitig wurde mit dieser Arbeit der Einsatz von Lactamen als  $\beta$ -Turn-Mimetika in der Peptidchemie eingeleitet.<sup>37</sup>

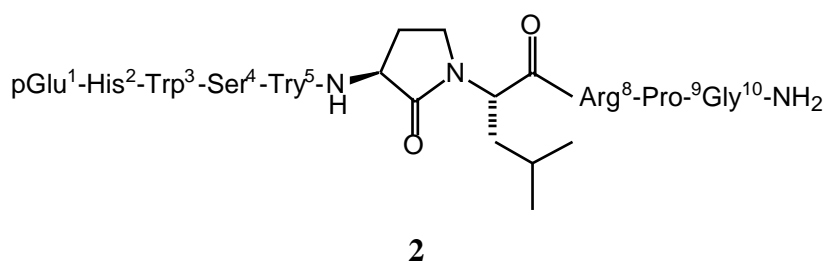


Abbildung 8 : LHRH-Antagonist **2**. Die Pos. Glycin  $i+1$  und Leucin  $i+2$  des postulierten  $\beta$ -Turns sind durch das  $\gamma$ -Lactam-Dipeptid **1** substituiert

Ein weiterer Meilenstein in der Entwicklung neuer  $\beta$ -Turn-Mimetika stellte die Synthese des BTD-Bausteins (**Bicyclic  $\beta$ -Turn Dipeptide**) **3** dar.<sup>38</sup>

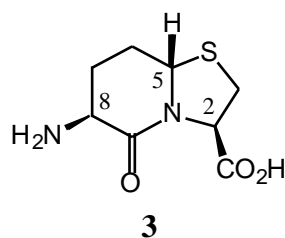


Abbildung 9 : (2*R*,5*S*,8*S*)-BTD-Baustein (**Bicyclic  $\beta$ -Turn Dipeptide**) **3**

Abgeleitet wurde die Struktur des BTD **3** aus der Sequenz des antibakteriell wirksamen Cyclopeptids Gramicidin S (GS) mit der primären Struktur: *cyclo*-(Val<sup>1,1'</sup>-Orn<sup>2,2'</sup>-Leu<sup>3,3''</sup>-D-Phe<sup>4,4'</sup>-Pro<sup>5,5''</sup>-)<sub>2</sub>.

<sup>36</sup> E. D. Thorsett, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 111, 166.

<sup>37</sup> S. Hanessian, G. McNaught-Smith, H. G. Lombart, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **1997**, 53, 12789-12854.

<sup>38</sup> U. Nagai, K. Sato *Tetrahedron Lett.* **1985**, 647- 650.

Bei GS handelt es sich um ein  $C_2$ -symmetrisches Peptid mit zwei antiparallelen  $\beta$ -Faltblattstrukturen die durch vier Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Aminosäureresten Leu und Val stabilisiert werden. Ermöglicht wird diese Stabilisierung durch zwei  $\beta$ -Turns vom Typ II' an den Enden der Faltblattkonformation mit den Sequenzen  $D\text{-Phe}^4\text{-Pro}^5$  in den zentralen Turnpositionen  $i+1$  und  $i+2$ .<sup>39</sup>

Um das GS und in seiner biologischen Reaktivkonformation zu fixieren, verfolgten Nagai und Sato eine eine zu Freidinger *et al.* analoge vorgehensweise. Die Fixierung des Peptidrückgrats im Bereich der  $\beta$ -Turnsequenz mittels formaler Anellierung der Seitenkette in der Position  $i+1$  des  $\beta$ -Turns mit dem nachfolgenden Prolinrest der Position  $i+2$  führt zum einem bicyclisches 5,6- $\gamma$ -Lactam **3** (Abbildung 10). Gegenüber dem monocyclischen System **1** besitzt das bicyclische Mimetikum **3** zwei wesentliche Unterschiede: Neben zwei konformativ fixierten Torsionswinkeln ( $\psi_{i+1} = -161^\circ$  und  $\phi_{i+2} = -69^\circ$ )<sup>40</sup> wird die Peptidbindung als Bestandteil eines  $\delta$ -Lactam besser der *trans*-Konfiguration angenähert.

Da die Autoren bei dem Versuch eine zu **3** analoge Verbindung zu synthetisieren, deren bicyclischer Grundkörper außer der Lactameinheit nur Kohlenstoffatome umfaßt, scheiterten, entwarfen sie eine Synthese für BTD **3** in Anlehnung an die Penicillin-V Synthese von Sheehan *et al.*<sup>41</sup> unter Verwendung von *L*-Glutaminsäure und *L*-Cystein als chirale Synthesebausteine (Zur Beschreibung der Synthese siehe spezieller Teil). Das Schwefelatom im Grundkörper von **3** wurde von den Autoren dabei bewußt in Kauf genommen, da keine signifikante Beeinträchtigung der gewünschten Turnkonformation zu erwarten war.

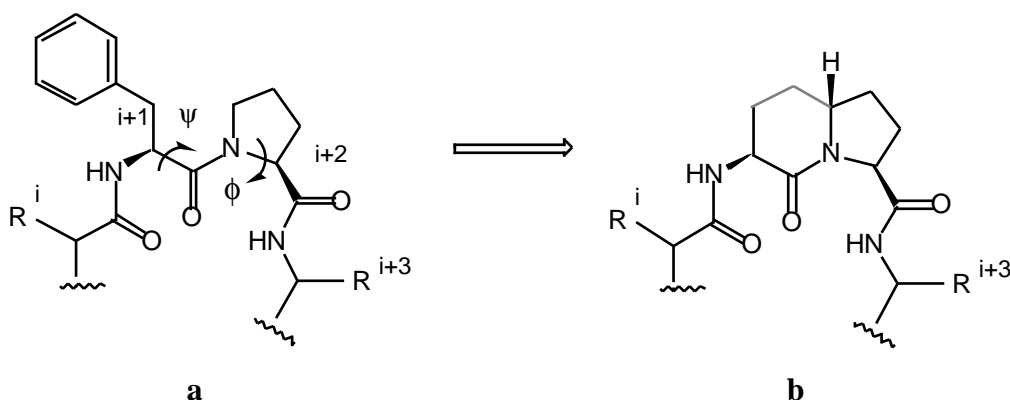


Abbildung 10: Ableitung der BTD-Struktur als  $\beta$ -Turnmimetikum **b** durch formale Anellierung der Seitenkette  $i+1$  mit der Position  $i+2$  in der zentralen Sequenz  $D\text{-Phe}^4\text{-Pro}^5$  des  $\beta$ -Turns in Gramacidin S

<sup>39</sup> T. Higashijima, T. Miyazawa, M. Kawai, U. Nagai *Biopolymers* **1986**, 25, 2295-2307.

<sup>40</sup> a) U. Nagai, K. Sato, R. Nakamura, R. Kato *Tetrahedron* **1993**, 49, 3592-3592;

b) Y. T. Osano, U. Nagai, T. Matzusaki *Analytical Science* **1989**, 5, 625-626.

<sup>41</sup> J. C. Sheehan, K. P. Logan *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 3089.

Zum Beweis wurden die Sequenz  $D\text{-Phe}^4\text{-Pro}^5$  in den beiden  $\beta$ -Turns des GS durch jeweils ein BTD **3** substituiert und das modifizierte Peptid auf seine antibiotische Aktivität getestet. Beim *in-vitro* Test zeigte das modifizierte Peptid [BTD<sup>4-5,4'-5'</sup>]-GS im Vergleich zum nativen GS eine identische Aktivität. Ein Vergleich der CD-Spektren der beiden Peptide in Wasser und Methanol lieferte ebenfalls nahezu identische Ergebnisse.<sup>42</sup>

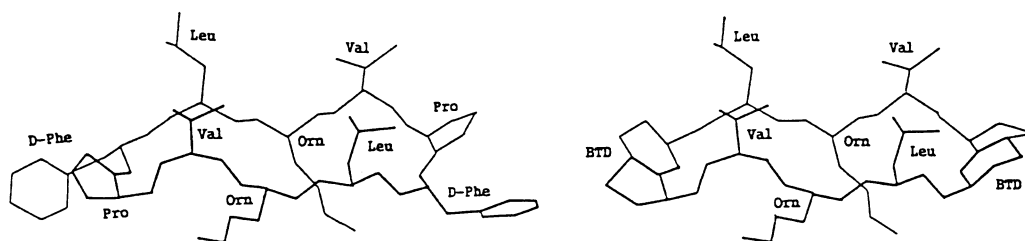


Abbildung 11: Vergleichende Darstellung der Konformation von nativen GS und [BTD<sup>4-5,4'-5'</sup>]-GS<sup>38a</sup>

Ergänzt wurden diese Arbeiten durch vergleichende NMR-Konformationsanalyse an einem GS Derivat und dem entsprechenden BTD **3** substituierten Derivat.<sup>43</sup>

Auch konnte durch Computersimulation am Beispiel des Peptids Ac-Gly-BTD-Gly-NHMe gezeigt werden, daß der BTD **3** Baustein eine nahezu ideale  $\beta$ -II'-Konformation induziert.<sup>44</sup>

Neben dem GS wurden von Nagai *et al.* noch weitere BTD **3** haltige Analoga biologisch aktiver Peptide synthetisiert. Dabei zeigte sich in Hinblick auf deren Aktivität ein völlig differenziertes Bild. Keines der synthetisierten Analoga von Enkephalin, Somatostatin, hGRF (human-growth -hormone-releasing factor) sowie LHRH wiesen eine dem jeweiligen nativen Peptid vergleich-bare biologische Aktivität auf. Das [BTD<sup>6,7</sup>]-LHRH z.B. besitzt im *in vivo* Test nur 1/10 der Aktivität des nativen LHRH.<sup>36</sup> Dagegen konnten andere Autoren mit BTD **3** weitere interessante Erfolge erzielen. So berichtet Kent *et al.* von der Synthese eines HIV-Protease Analoga. Laut dieser Autoren besitzt dieses modifizierte Protein [BTD<sup>16,17-116,117</sup>Aba<sup>67, 95, 167,195</sup>]-HIV 1 Protease eine hohe Enzymaktivität.<sup>45</sup>

<sup>42</sup> U. Nagai, K. Sato *J. Chem. Soc. Perkin. Trans I* **1986**, 1231-1234.

<sup>43</sup> A. C. Bach, J. A. Markweiler, W. C. Ripka *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, 38, 314- 323.

<sup>44</sup> G. Hölzemann *Peptide Chemistry* **1992** (Proc. 2. Japan Peptide Sympos.), 512.

<sup>45</sup> S. B. H. Kent, J. Schneider, L. Selk, D. Alewood, P. F. Alewood, L. Andrews, M. Baca, A. Jones in "Peptides 1990", E. Giralt, D. Andreu eds. ESCOM Science Publishers B.V. Leiden Niederlande (1991), 169-171

Auf der Suche nach Antagonisten zur Inhibierung der Blutplättchenaggregation berichtet eine andere Autorengruppe von der Verwendung des BTD-Diastereomeren **4** als einem Baustein zur konformativen Fixierung einer Arg-Gly-Asp (RGD)-haltigen Sequenz in einem Cyclopeptid.<sup>46</sup>

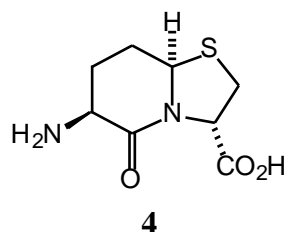


Abbildung 12: (2*S*,5*R*,8*S*)-BTD-Diastereomer **4**

Das lineare Peptid Arg-Gly-Asp-Phe (RGDF) war bis zu diesem Zeitpunkt der stärkste bekannte Inhibitor der Adenosindiphosphat vermittelten Blutplättchenaggregation. Durch die Cyclisierung mit **4** erfährt das modifizierte Peptid *cyclo*-([**4**]-RGDF-) eine Steigerung der antagonistischen Aktivität um den Faktor 10 gegenüber dem linearen Peptid. Gleichzeitig wird von einer verbesserten Wirksamkeit berichtet. Dagegen besitzt das modifizierte Peptid *cyclo*-([**3**]-RGDF-) eine um den Faktor 3 bis 4 geringere Aktivität als das lineare RGDF.

In diesem Zusammenhang haben Molecular Modelingstudien am Beispiel des BTD-analogen **5** ergeben, daß alle acht Strukturisomere äußerst wirksame Peptidmimetika darstellen.

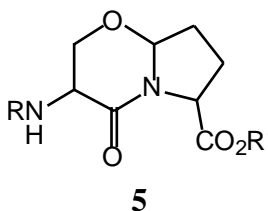


Abbildung 13: analoges-BTD **5**

Die Konformationsanalysen wurden mit jedem Strukturisomer von **5** an dem linearen Testpeptid Ac-Ala-Ser-[**5**]-Pro-Ala-NMe durchgeführt. Dabei ergaben die Rechnungen einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Stereochemie von **5** und dessen Möglichkeiten eine  $\beta$ -Turnstruktur zu induzieren.

Strukturisomere, deren Carboxyl und Aminofunktion in bezug auf den bicyclischen Grundkörper *cis* konfiguriert sind, besitzen dabei das größte Potential zur Stabilisierung einer  $\beta$ -Turnstruktur. Innerhalb dieser Gruppe, die das *RRR*-*RSR*, *SRS*- und *SSS*- Isomere umfaßt, werden dem *SSS*- und dem *RRR*-Enantiomer die größten Potentiale zugeordnet, wobei die *SSS*-Verbindung gegenüber dem Enantiomer als das leicht effektivere Mimetikum eingestuft wird.

<sup>46</sup> M. R. Foster, E. J. Hornby, S. Brown, J. Kitchin *Thrombosis Research* **1993**, 72, 231-245.

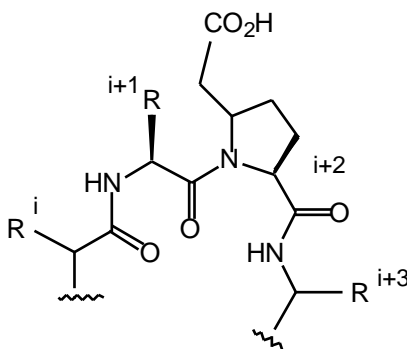


Den übrigen vier Strukturisomeren dagegen, deren Carboxyl- und Aminofunktion zueinander *trans* konfiguriert sind, wird ein großes Potential als starre, lineare Peptidmimetika zugewiesen<sup>47</sup>. Einen praktischen Beweis für das Potential dieser Isomere, als "spacer group" zu agieren, zeigt das Beispiel am Fall des **BTD 4**.

Die genannten Beispiele verdeutlichen die Schwierigkeiten bei der Entwicklung von Peptidmimetika. Erfolgt die Wechselwirkung des Peptid-/Proteinliganden mit dem Zielrezeptor über Motive, die außerhalb des Turnbereiches liegen, so kann bei Austausch des selbigen gegen ein Mimetikum mit einem positiven Befund gerechnet werden. Allerdings spielen die Torsionswinkel in den zentralen Turnbereichen und damit die Stereochemie des eingesetzten Peptidmimetikums eine gleichberechtigte Hauptrolle, wie am Beispiel des **BTD 3/4** aufgezeigt.

Erfolgt dagegen die Wechselwirkung über die Turnstruktur, so ist bei einer Substitution eher mit einem Mißerfolg zu rechnen. Dieser Umstand läßt sich möglicherweise umgehen, indem eine einzelne native Aminosäure in den Positionen *i+1* oder *i+2* des zentralen Turnsequents gegen eine modifizierte, turnstabilisierende Aminosäure ausgetauscht wird. Idealerweise bietet sich die Aminosäure Prolin mit ihren entsprechenden Eigenschaften an. In Verbindung mit polaren Substituenten ist eine Vielzahl unterschiedlicher Strukturisomere denkbar, die als fein abgestufte Sonden helfen können, ein besseres Verständnis der jeweiligen Ligand-Rezeptor-Beziehung zu ermitteln (*Abbildung 14*).

Auch wenn Turns energetisch begünstigte Konformationen darstellen, so stehen sie doch weiterhin mit anderen im dynamischen Gleichgewicht. Unter welchen Voraussetzungen sich welche Reaktivkonformation stabilisieren wird, ist kaum vorhersagbar. Durch Einschränkung der konformativen Beweglichkeit, entweder durch Einbau starrer Turnanaloge oder Cyclisierung des relevanten Peptidbereiches lassen sich mögliche Wirkkonformationen fixieren, die bei der Suche und Optimierung von neuen Leitstrukturen von großem Nutzen sind.



*Abbildung 14* :  $\beta$ -Turn mit einem unnatürlichen Prolinderivat in der Position *i+2*

<sup>47</sup> U. Slomczynska, D. K Chalmers, F. Cornille, M. L. Smythe, D. D. Beusen, G. R. Marshall  
*J. Org. Chem.* **1996**, 61, 1198-1204.

## 1.8 Aufgabenstellung

Um möglichst genaue Informationen über die Struktur-Wirkungsbeziehung von kleinen Peptiden zu erhalten, ist es äußerst ratsam von einem vielversprechenden  $\beta$ -Turnmimetikum alle Strukturisomere hinsichtlich ihrer möglichen stabilisierenden Wirkung zu testen. Eine Zielsetzung dieser Arbeit ist daher die Entwicklung einer praktikablen stereoselektiven Synthese aller acht BTD-analogen Stereoisomeren von **I**, deren bicyclischer Grundkörper neben der Lactameinheit ausschließlich Kohlenstoffatome enthält.

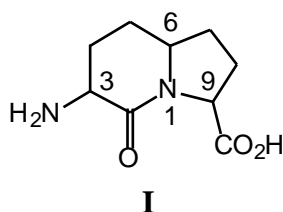


Abbildung 15: AZABIC-Baustein **I**

Diese 2-Oxo-3-(amino)-1-azabicyclo[4.3.0]nonan-9-carbonsäure **I** (im Folgenden kurz AZABIC genannt) soll den BTD eigenen Nachteil der potentiell geringen Säurelabilität ausschalten. Dadurch verbessert sich einerseits die Einsatzmöglichkeit des AZABIC in der Festphasensynthese mit deren zum Teil drastischen Reaktionsbedingungen, gleichzeitig führt die Eliminierung der N/S-Acetalstruktureinheit zu einer erhöhten metabolischen Stabilität und damit zu einer längeren *in-vivo* Halbwertszeit.

Das weitere Ziel dieser Arbeit besteht in der asymmetrischen Synthese aller Stereoisomere der unnatürlichen, trifunktionalisierten Prolinderivate **II-IV**.

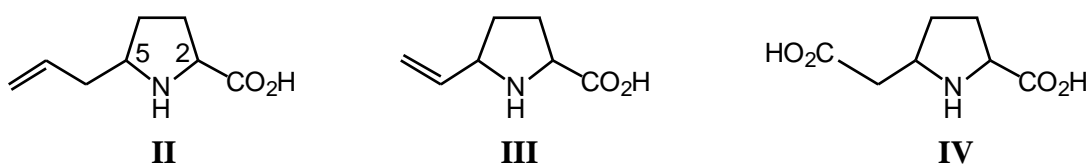


Abbildung 16: Unnatürliche Prolinderivate mit unterschiedlich funktionalisierten Substituenten in der 5-Position

Da die zu synthetisierenden Verbindungen in unserem übergeordneten Projekt "Konformativ fixierte Peptide" (darunter LHRH-analogue) zur Anwendung kommen, soll jede Verbindung in der Größenordnung von mindestens einem Gramm bereitgestellt werden.