5 Zusammenfassung

Ausgehend von dem CD4-bindenden Dekapeptid NMWQKVGTPL **2** wurden in dieser Arbeit peptidomimetische Strukturen entworfen, synthetisiert und analysiert, die deutlich bessere pharmakologische Eigenschaften als die Leitstruktur besitzen. Die dargestellten Peptidomimetika weisen bessere Dissoziationskonstanten, höhere Proteolysestabilität sowie ein geringeres Molekulargewicht auf.

Zunächst wurde überprüft, ob das Programm Flexidock in der Lage ist, die Bindung von Peptiden und Peptidomimetika an CD4 korrekt vorherzusagen. Dazu wurde ein *in silico* Alanin-Scan durchgeführt, bei dem jede Aminosäure des NMWQKVGTPL **2** nacheinander durch Alanin ersetzt und die neue Bindungsenergie bestimmt wurde. Die Aussagen über an der Bindung beteiligte Aminosäuren und unbeteiligte Aminosäuren deckten sich dabei mit den Ergebnissen eines STD-NMR *epitope mappings*. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurde ein Templat entworfen, in dem nichtbindende Strukturen entfernt, die bindenden Teile des Peptids erhalten oder konservativ ersetzt, sowie peptidomimetische Ersetzungen eingeführt wurden. Die Peptidomimetika haben mit MG = ~ 800 g/mol eine deutlich geringere Molmasse als das Leitpeptid (1200 g/mol) und sie zeigen im Modelling eine deutlich bessere Bindung zum CD4.

Der erfolgreiche Synthesezugang zu diesen Verbindungen lief zum Teil an der festen Phase, zum Teil in Lösung ab. Zunächst wurde an einen Aminoalkohol, der an ein 2'-Chlorotritylharz gebunden war, mit einer Fmoc-Peptidsynthese eine Reihe von Amidbindungen geknüpft. Anschließend wurde von der festen Phase abgespalten, wobei die Seitenkettenschutzgruppen erhalten blieben. Die primäre Hydroxylfunktion konnte dann selektiv unter Kupfer(I)-Katalyse mit Isocyanaten zum Carbamat umgesetzt werden. Anschließend wurden die restlichen Schutzgruppen abgespalten und das Produkt per RP-HPLC gereinigt. Die zwei ersten synthetisierten Liganden **I** und **II** zeigten mit K_D-Werten von 40 und 20 µM (SPR) bzw. von ca. 31 und 45 µM mit STD-NMR im Gegensatz zu einem K_D = 6 mM der Leitstruktur eine deutlich bessere Bindung zum CD4 als das ursprüngliche

Peptid. Sie haben eine 4-5 mal höhere Proteolysestabilität in einem Pronaseverdau. Das STD-NMR *epitope mapping* zeigte zudem, dass die Peptidomimetika einen vergleichbaren Bindungsmodus zum CD4 wie das Dekapeptid besitzen.

Die Synthesestrategie erlaubt den einfachen Zugang zu weiteren Verbindungen. Um Substanzen mit noch besserer Bindungsaffinität zu erhalten sowie Struktur-Aktivititäts-Beziehungen zu finden, wurden 16 Peptidomimetika mit Ersetzungen einzelner Bausteine parallel synthetisiert. Sie wurden mit MALDI-TOF und 2D-NMR-Experimenten vollständig charakterisiert und mit SPR auf ihre Bindungseigenschaften untersucht. Dabei wurden Verbindungen mit K_D-Werten von 6 bis 146 µM gefunden. Die beste Verbindung (Ligand **IV**) bindet also 1000 mal besser als die Leitstruktur. In einer weiteren Parallelsynthese wurden fünf Peptidomimetika hergestellt, die vorher als günstig identifizierte Bausteine miteinander verknüpfen sollte. Es wurden Verbindungen mit K_D-Werten von 11 bis 120 µM erhalten (SPR). Die Verknüpfung günstiger Bausteine führte also nicht zu einer weiteren Verbesserung der Dissoziationskonstanten.

Die Peptidomimetika mit einer Prolinoleinheit zeigen ein Gleichgewicht zwischen den *cis*- und *trans*-Konformeren an der Threonin-Prolinol-Amidbindung. Modelling und analytische Daten zeigen, dass die *trans*-Konformation stabiler ist und auch besser an CD4 bindet. Eine Stabilisierung dieser *trans*-Konformation wäre ein wichtiger Schritt in der weiteren Entwicklung dieser Substanzklasse.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der von Flexidock berechneten Bindungsenergie und den im SPR bestimmten Dissoziationskonstanten konnte nicht nachgewiesen werden, obwohl ein Trend erkennbar ist.

Die Bedeutung einer im GP120 dem bindenden Dekapeptid räumlich benachbarten Glycosylierungsstelle wurde in dieser Arbeit mit *molecular modelling* näher untersucht, da die Synthese der Glycopeptidmimetika erfolglos blieb. Obwohl der Kohlenhydratrest keinen direkten Kontakt zum CD4 eingehen kann, zeigen alle Peptide und Peptidomimetika, die an einer vergleichbaren Stelle eine Glycosylierung aufweisen, einen besseren Kontakt als die nichtglycosylierten Vergleichssubstanzen. Die glycosylierten Substanzen haben intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen, die anscheinend die bindende Konformation energetisch bevorzugen.