연 구 동 향

변형펩타이드(Peptide Mimetics) 연구동향

최 진 호
샘표식품중앙연구소

펩타이드와 단백질은 전사, 번역, 후번역 단계에 걸친 모든 생물학적 반응을 조절한다. 그러나 분자수준에서 구조와 기능에 대한 우리의 이해는 초보적인 수준이다. 구조와 기능의 연관성에 대한 문제는 펩타이드와 단백질 자체에 대한 것과는 좀 다르다는 것을 명확히 할 필요가 있다. Multidomain을 갖는 단백질은 작고 통합적이며, 구조적으로 제한된 부분으로 쪼개는 것은 천연 단백질의 활성을 모방하여 저분자의 nonpeptide를 설계하는데 있어서 주요한 일이다. 결정적인 역할을 수행하는 domain을 모방하는 것은 특이성과 치료 효과에 있어서 자연적으로 얻어지는 단백질 물질과 비교하여 이로운 특성을 갖을 수 있고 분자 인지 분야에 관한 연구에 유용한 단서를 제공한다(Chen et al., 1992). 한편 펩타이드는 환경에 의해 구조가 심하게 영향을 받아 특성이 쉽게 변한다(Marshall et al., 1978). 수용액 내에서 이러한 구조적 유동성 때문에 그들이 결합할 수용체나 생리활성을 띄는 구조를 결정하는 것은 어렵고 복잡한 일이다(Fauchre, 1987; Hruby, 1987). 구조를 한정하면 이러한 결정을 매우 쉽게 할 수 있다(Hruby et al., 1987). 단백질 모방학은 분자지각 연구에 강력한 수단이며, 복잡한 단백질과 펩타이드의 구조-기능관계를 탐구하고 분석하는데 독특한 방법이다. 이 장에서는 매우 넓고 빠르게 확장되고 있는 Peptidomimetic연구를 간략히 소개하고 있다. 단 본문은 기술 범위를 N-Methylated 아미노산과 스테로이드 등으로 제한하여 소개한다.

1. 변형 펩타이드

변형되지 않은 펩타이드는 일반적으로 단백질 분해효소에 의해 빠르게 실활된다. 또한 펩타이드는 장점막이나 혈관-뇌 점막 같은 지방장벽을 통과하는데 있어서 낮은 생리이용성을 갖는다. 이러한 불리한 특징들을 극복하기 위한 시도로서 펩타이드의 변형이 수행되어 왔다. 이 일에 대한 동의어로 peptidomimetics가 자주 언급되었음에도 불구하고 그것들을 그저 변형된 펩타이드로 분류하는 것이 더 논리적인 것 같다. 어쨌든 변형된 펩타이드에 대한 연구정보는 peptidomimetics를 설계하는데 중요하다.

1.1 N-Methylated 아미노산

N-Methylated 아미노산은 보통 자연에서 펩타이드성 항생물질 형태로 발견된다(예 cyclosporin). N-Methylated 아미노산은 매우 다양하고 유용한 효과를 낸다. 이것은 amide의 질소에서 수소를 제거함으로써 강제로 peptide의 수소결합 페턴을 바

꾸어버린다. N-Methylated amide는 일반적으로 *cis* 와 *trans* 형태 사이에서 평형을 이룬다. Dipep- tide 인 Sar-Sar(1) (Sar = sarcosine or N-Methylglycine)의 분광학적 및 전자계산적 연구를 통해 cis형이 적어도 1kcal/mol 이상 높은 에너지 준위를 갖고 있음을 밝혀냈다(Toniolo, 1990). N-Methylation은 아미노산의 residue가 있을 공간을 제한하였다.(마치 proline residue가 보이는 효과와 유사하다)(Howard et al., 1973)(Yamazaki et al., 1993). N-Methylated 아미노산은 opioid peptide(Manavalan & Momany, 1980; Morley, 1980), bradykinin(Kawai et al., 1990), TRH (Filatova et al., 1986), angiotensin II (Bovy et al., 1989), CCK(Hruby et al., 1990b) 등의 생리활성 유사물질을 만드는데 적용되었다.

1.2 α-Alkyl 아미노산

α-Alkyl 아미노산은 α-수소원자가 알킬기로 치환된 구조를 갖는다. 이러한 변화는 N-Cα(φ) 결합과 Cα-C(O)(ψ)결합의 회전이 심하게 제한받는 결과를 낳는다. Glycine 의 경우 한 개의 메틸기가 첨가됨으로써(Ala) 사용가능한 공간의 70%가 차단되어 버린다. 여기에 두 번째 메틸기가 첨가됨으로써(Aib, α-amino isobutyric acid)(2) glycine 의 남은 20%의 공간마저도 사라지게 된다(Degrado, 1988; Paterson et al., 1981). Aib(α-amino-isobutyric acid 또는 α-methylalanine)는 자연상태의 체널 형성 펩타이드 중 하나로서 가장 많이 연구된 α-Alkyl 아미노산이다. Aib residue의 분자배열은 왼쪽과 오른쪽 방향의 α와 3_{10}helix를 선호한다(Karle & Balaram, 1990; Toniolo & Benedetti, 1991). 이 Aib residue는 잠재적 유사물질을 획득하고 그들이 생리활성을 보이는 분자배치를 정의하기 위한 연구에 사용되었다. 연구에 적용되었던 생리활성 물질은 enkephalin (Balaram & Sudha, 1983; Nagaraj & Balaram, 1978), angiotensin (Samanen et al., 1991), 그리고 bradykinin (London et al., Balaram, 1990) 등이 있다. Toniolo는 최근에 몇몇 α-메틸화 아미노산 분자배치 선호도를 관찰하였다. 그 연구에 사용된 물질은 isovaline (l-α-ethylalanine) (3), α-methylvaline (4), methylleucine (5), 그리고 α-methylphenylalanine (6) 등이 있다(Ton- iolo et al., 1993). 이들의 분자배치 선호도는 X-ray crystallography 또는 ^{1}H-NMR 법에 의해 실험적으로 측정되고 컴퓨터를 이용한 에너지 계산에 의해 결정된다. 실험의 결과는 펩타이드들은 Type I 또는 Type III 의 β-turn 분자배치를 갖게되고 확장구조(φ=180°, ψ=180°)는 선택하지 않았다. 유사하게 α-amino cycloalkanecar- boxylic acids (7) 는 Type III (3_{10} 나선형)을 더 선호하였다 (Di Blasio et al., 1992). 흥미롭게도 diethylglycine (8) 과 dipropylglycine (9) 는 φ과 ψ의 각도가 거의 180°인 완전 확장구조를 보인다(Benedetti et al., 1984; Marshall et al., 1988). Diphenylglycine에서도 이와 유사한 최저 에너지 분자배치가 예상된다 (Crisma et al., 1990).

1.3 N^{α}- C^{α} 고리형 아미노산

N^{α}-C^{α} 고리형 아미노산들은 본질적으로 proline 의 유사체이다. 이 물질의 Tertiary amide결합은 *cis-trans* amide결합의 회전을 용이하게 할 수 있다. 이것은 두 conformer의 에너지 차이가 일반적인 펩타이드 결합(약 12 kcal/mol)보다 현저히 낮기 때문이다(약 2 kcal/mol)(Creighton, 1984). Proline과 같이 그것들의 유도체들도 φ각과 ψ각을 매우 제한된 조건에 적응시킨 구조를 갖는다. 다른 좁은 영역의 고리화(residue에서 -1까지 또는 에서 +1까지) Type N↔C_{α} ^{1}이나 C_{α} ^{1}↔ C_{α} 같은 좁은 영역의 고리화는 펩타이드에 접근하여 합쳐질 수 있는 구조적 공간을 현저히 줄일 수 있다.

1.4 Peptoids

펩타이드의 바람직하지 않은 여러 특성들 때문에 인공적인 biopolymers의 개발이 촉진되었다. Peptoids(10)라 명명한 N-substituted glycine의 oligomer에 관한 논문이 발표되었다(Simon et al.,

1992). Nowick 과 그의 동료들은 내부 수소결합에 의해 안정화된 oligourea scaffold를 개발하였다 (11)(Nowick et al., 1992). 추가로 oligocarbamates(12)(Cho et al., 1993), polypyrrolinones(13)(Smith et., 1992)와 vinylogous polypeptides(14)(Hagihaara et al., 1992) 등의 물질이 polyamide backbones의 대체물질로 제시되었다.

1.5 펩타이드 결합 Isosteres

많은 amide결합 isostere들이 고안되었다. 이러한 유사체들은 서로 약간의 차이는 있으나 펩타이드 결합과 유사하다. 그러나 이것들은 단백질 분해에 대해 보다 저항력을 갖는다. 이것은 일반적으로 기하학적 또는 topochemeical적인 구조나 전기적 또는 수소결합 상호작용이나 일반적인 친수성의 변화를 통해 얻어진다. 이러한 변형의 예로서 retro-inverso [NH-C(O)] (Chorev & Goodman, 1993), 환원 amide [CH2-NH] (El Masdouri et al., 1988), thiomethylene [CH2-S] (Spatola & Edwards, 1986), oxomethylene [CH2-O] (Rodriguez et al., 1990), thioamide [C(S)-NH] (Jones et al., 1973), *trans*-olefin과 *trans*-fluoroolefin [CH=CH 와 CF=CH] (Cox et al., 1980; Felder et al., 1992; Spaltenstein et al., 1987), ketomethylene (Jennings-White & Almquist,1982; Vara prasad & Rich, 1990), 그리고 fluoroketomethylene [C(O)-CFR, *R* = H 또는 F] (Damon &Hoover, 1990; thaisrivongs et al., 1991) 등의 유사물질이 있다.

2. Nonpeptide Mimetics

1975년 endogenous opioid pentapeptides인 methionine 과 leucine enkephalin (Hughes et al., 1975)의 분리와 동정은 peptidomimetics 분야의 지적 착공식이라 할 수 있다. 그들 선형 pentapeptides와 condensed heteocyclic species morphine은 구조적으로 매우 다름에도 불구하고 두 종류의 물질 모두 다 opiate receptor에 결합함으로써 무통각증과 같은 생물학적인 반응을 이끌어낸다. 그러나, 구조적 수준에서 이것의 관계를 규명하기 위한 각고의 노력에도 불구하고 향후 20년간 명확한 해석은 어려울 것이다.

2.1 Screening

최근까지 의심할 여지없이 peptide ligand로 이용되는 nonpeptide 개발에 있어서 가장 성공적인 접근법으로 screening이 포함되었다. 일반적으로 방향성이 없는 방대한 양의 ligands의 배열은 그들이 흉내낼 endogenous peptide ligand와 구조적인 유사성이 조금이라도 있다면, recepter-based screening 프로그램에 의하여 드러나게 되었다. 이것들에는 CCK-A 와 CCK-B mimetics가 포함된다. 이들의 분자 수준의 예로서 benzodiazepine (15) (Bock et al., 1993), β-carboline(16)(Evans et al., 1993)과 diphenylpyrazolidinone(17) (Howbert et al., 1993) 등을 들 수 있다. 또한 heterocyclic 구조를 갖고 있는 다양한 종류의 angiotensin II antagonists[예를들어 losartan(18), Pd-123,319(19)] (Mantlo et al., 1994와 references therein)와 neurokinin antagonists (20, 21)(Advenier et al., 1992; Lowe et al., 1993; Watling, 1992) 등도 그 예가 된다. 그리고 neuropeptide Y (Doughty et al., 1992), C5a(Lanza et al., 1992), glucagons (Collins et al., 1992), melatonin(Yous et al., 1992), oxytocin(Evans et al., 1992; Salituro et al., 1993), vasopressin(Otsubo et al., 1993), bombesin(Valentine et al., 1992), growth hormone-releasing peptide(Smith et al., 1993a), neurotensin(Snider et al., 1992) 등이 nonpeptide ligand로서 추가적으로 발견되었다.

발견되는 물질들의 구조적 다양성에도 불구하고 많은 일반적 특징들이 나타났다. 그들은 흉내낼 펩타이드와 구조적으로 유사하다 할지라도 nonpeptide ligand는 일반적으로 거의 방향성을 갖지 않는다. 본질적으로는 장애가 아님에도 불구하고 이것은 일반

적으로는 펩타이드 structure activity relati- onship 이 있음에도 활성도를 더욱 높이기 위해 고안된 경우에 활성이 방해되는 것을 볼 수 있다. Nonpeptide mimics를 이용하여 topology적으로 적절히 펩타이드를 위치시키기 위한 수많은 시도가 있었음에도 불구하고(Pierson & Freer, 1992; fortoghese et al., 1988) 이들 유사체들은 일반적인 공통특성을 보이지 않았다. 최근들어 receptor에 섬세하게 mutation을 일으키는 분자생물학적 실험을 통하여서 이론적인 근거를 얻을 수 있게 되었다(Fong et al., 1992; Gether et al., 1993). Peptide mimetics의 결합에 영향을 주는 mutation은 endogenous peptide ligand의 결합에는 영향을 주지 않는다. 두 ligand가 동일한 receptor에 결합할지라도, 그들은 서로 다른 아미노산 residue와 접촉하고 기껏해야 부분적으로 겹치는 공간을 차지하는 정도일 뿐 서로 다른 방식으로 결합한다. Screening의 성공의 대부분은 G-protein과 couple 되어진 serpentine receptor(7-helix transmem- brane spanning)의 길항제(antagonist)를 찾는 과정 중에 있었다. 이러한 일이 일어나는 이유로서 부분적으로는 본질적으로 receptor의 lipophilic 한 환경과 ligand-receptor 상호작용에 관여하는 비교적 제한된 접촉면에 기인한다고 할 수 있다.

이러한 screening법이 주는 가르침은 무엇인가? Peptidomimetics의 논리적 설계의 밑바탕에 깔려 있는 여러 결정적인 개념을 정당화한다. 또한 peptidomimetics를 통해 명확한 pharmacophore한 유사성과 유연성 뿐만 아니라 amide bond도 없는 물질이 peptide receptor들과 선택적으로 결합할 수 있는 ligand가 된다는 것을 증명하였다. 그러나 매우 신중한 보고들은 이러한 관계는 펩타이드와 mimetics간의 관계를 이성적으로 고찰하는 것에 대한 일반적인 해결책의 개발과 관련하여서는 매우 제한된 정보만을 제공한다고 지적하였다.

3. Combinatorial Screening

방대한 양의 배열(libraries)을 이용한 ligand의 발견은 초기 발견에 있어서 점차적으로 인기있는 방법이 되고 있다. 초기에 대부분의 노력은 짧은(6-7 아미노산) 펩타이드에 집중되어 있었다(Fodor et al., 1991; Geysen & Mason, 1993; Houghten et al., 1991; Lam et al., 1993). 이 방법의 중요 관심사는 일반적으로 10^6에서 10^7개의 물질이 있는 방대한 조합의 pool에서 목적물질과 높은 친화도를 보이면서 결합하는 물질을 선별해내는 것이다.

본질적으로는 이것은 자연으로부터 또는 합성하여 얻은 물질의 잠재적 치료효과를 확인하는 전통적인-이전 제약산업의 대들보였던 screening법의 르네상스라 할 수 있다. 그러나, 앞에서 논의되었던 것처럼 펩타이드는 의약품 개발의 이상적인 후보물질이라고 할 수는 없다. 이러한 단점을 이해한 화학자들은 cyclic peptides와 novel biopolymers 그리고 nonpeptides의 library를 발전시키고 있다. 여기에는 어떻게 identify할 것인가 하는 문제가 발생한다. Kerr 등은 그들의 library pool에 있는 각각의 인위적으로 만든 물질들을 고유한 peptide sequence에 따라 code화하여 바로 convential peptide sequencing 할 수 있는 방법을 개발하였다. Binding ligand와 coding peptide를 번갈아 바꾸어가며 평행적으로 합성한 branched polymer에 의해 200종의 인공적으로 만든 decapeptoids의 Code화 된 library가 만들어졌다. 최근에 훨씬 더 큰 nonpeptide의 library를 tracking할 수 있는 총명한 coding 기술이 개발되었다. Nielsen 등(1993)과 Needels 등(1993)은 PCR에 의하여 coding sequence를 증폭할 수 있는 oligonucleotide coding system에 대하여 발표하였다. Ohlmeyer 등(1993)은 tag가 electron capture capillary gas chromatography에 의해 읽혀질 수 있는 encoded library의 합성에 관한 기술에 관하여 보고하였다. Chen등(1993)은 libraries의 사용에 관한 흥미로운 경고를 하였다. 이 백만 개의 hexapeptides와 이 백만 개의 cyclic hexapeptides를 가진 library들에는 PI3 kinase의 SH3 domain과 결합하는 ligands가 없다. 그러나, 알려진 polyprolin motif가 포함되어있는 biased library는 그것을 할 수 있다.

약과 같은 구조를 갖는 nonpeptide의 combinatorial synthesis는 신약 개발 과정을 단축시킬 수 있는 흥미로운 기회를 제공한다. Library를 이용하는 형태의 신약개발의 확실한 장점은 screen된 물질이 이미 구조적 고정성과 biostability라는 바람직한 특징을 갖고 있다는 것이다. Bunin과 Ellman (1992)은 1,4-benzodiazepines의 합성을 일반적이고 효과있는 solid phase method로 수행하는 것을 근본 토대로 하였다. 유사하게 Dewitt 등(1933)은 diversomer 접근법에 대해 발표하였다. 그들은 solid phase approach를 통해 40 종류의 hydantoins와 40 종류의 benzodiazepines를 합성할 수 있었다. 가까운 장래에 확실한 활성도를 띠는 물질이 library construction과 screening 방법에 의해 나타날 것으로 예상된다. Hydantoins와 benzodiazepines가 이미 주요 제약회사의 개발품에 있는 것에 비추어보아 특별히 기발한 종류의 물질의 효과적인 합성에 매우 바람직할 것으로 예상된다.

4. Design of Nonpeptide Mimetics

생물학적으로 효과가 있는 펩타이드와 단백질의 유사물질을 논리적으로 설계하고 합성하기 위한 노력은 계속 증가하고 있다. 이러한 약은 현재의 약에 비해 더 높은 선택성과 더 낮은 부작용을 갖을 것으로 예상된다 (Fauchre, 1986). Mimetics의 논리적인 설계와 관련된 복잡한 문제의 해결은 분자생물학, spectroscopy, 그리고 computational chemistry의 발전과 더욱더 높은 연관성을 갖게 되었다. 펩타이드나 단백질의 ligand에 결합하는 receptor의 구조를 결정하는 것은 mimetics에서는 의미가 없다. 그러나, 어떤 예외적인 경우에는 유용하다(de Vos et al., 1992; Milner-White et al., 1988).

구조적 제약 (conformational constraints)은 이 문제를 푸는 가장 확실한 방법 중 하나이다. 특히 ligand가 단 하나의 구조만 선호한다면 더욱 그러하다. 구조의 유연성이 없는 analogues는 그것의 receptor와 결합하는데 더 낮은 entropy cost를 지불하므로 동격의 pharmacophoric residues에 비하여 더욱 더 열렬히 결합한다(Miklavc et al., 1987). 일반적으로 단백질 분해효소는 구조적 융통성이 높은 기질을 더 선호한다. 따라서 구조적 제약이 높은 analogues는 단백질 분해효소에 대해 더 안정적이다. 또한 바람직하지 않은 생리활성을 띄는 구조이성질체의 생성이 억제되므로 selectivity도 증가될 수 있다(Veber et al., 1979).

4.1 Secondary Structure Approach

Peptidomimetics를 설계하는데 또 하나의 접근방법은 단백질과 유사한 분자 구조를 이용하는 것이다. 세가지 기초 building brocks(α-helix, β-sheets, reverse turns)는 모든 단백질을 구성하는데 이용된다. 이들 세가지 building block을 대체할 Peptidomimetic 기초 물질을 설계하고 합성하는 것은 작고 제한된 구조를 갖는 물질을 이용하여서 단백질이 갖고 있는 복잡한 구조-기능관계(structure-function relationship)를 분석하고 조사하는 기회를 제공한다. 이것은 낮은 분자량을 갖는 nonpeptide 약품을 논리적으로 설계하는데 결정적인 단계이며, 일반적인 peptide의 약점을 극복하는 방법이다. 최근 출판된 심포지움 책자에 이 주제에 대해 깊게 다루어져 있다(Kahn, 1993).

4.2 Reverse Turn (β-turns and γ-turns)

단백질에서 turn들이 표면에 위치하는 것과 잠재적인 critical pharmacophoric 정보를 갖는 residue들이 우세하게 있는 것이 분자 인지에 결정적인 역할을 한다는 가설을 세울 수 있게 한다(Rose et al., 1985). Reverse turns는 3개의 residue로 구성된 γ-turns(C7 conformation으로 불리기도 함)과 보다 일반적인 4개의 펩타이드로 구성된 β-turn들(C10 conformation)로 구성된다. α-Helix나 β-sheet과는 달리 β-turn들은 상을 명확히 잡은 X-ray crystal structures의 다양한 통계학적 연구에 의해 보여진 것처럼 매우 불규칙적인 이차구조를 갖으며 매우 다양한 backbone conformations를 갖는다 (lexis et al., 1973; Perczel et al., 1993;

Venkatachalam, 1968; Wilmot & Th- ornton, 1988, 1990). β-Turn은 4개의 펩타이드를 기본단위로 하며 첫번째와 네번째의 α-carbon의 거리가 7이하 이고 nonhelical region에 포함되어 있어야 한다고 정의된다(Lewis et al., 1973). β-Turn은 두번째와 세번째 residue의 backbone의 이면각도에 따라 더 세분화 할 수 있다(Wilmot & Thornton, 1988).

그러나 β-turn을 펩타이드 backbone 구조에 따라 분류하는 것은 적절하지 않은 것 같다. 분자간 인식에 있어서 아미노산 side chain의 적절한 배치가 β-turn의 가장 중요한 역할이라는 압도적인 증거가 있다. 다른 대안이 될 β-turn 분류가 제안되었다. 이것은 single torsional parameter β를 이용하여 기준을 삼았다. β는 펩타이드 결합이 reverse turn으로 들어가고 나갈 때 펩타이드 결합 간의 공간적 관계와 side chain에 끼어들 때 상대적인 방향성에 의해 규정된다(Ball et al 1990, 1993). Ball과 Alewood(1990)의 review에 reverse turn mimetics에 있어서 위 분야에 대한 개발과정이 요약되어 있다.

Endogenous(자연계에서 만들어지는) tripetide Pro-Leu-Gly-NH_2(22)는 CNS dopamine receptor에 대한 조절기능이 있다. 그리고 NMR (Higashijima et al., 1978)과 X-ray(Reed & Johnson, 1973)로 조사해 보았을 때 Type II β-turn 구조를 갖는 것으로 생각된다. 이것은 여러 형태의 제약을 갖는 구조를 갖게 됨으로써 생물학적으로 활성을 띄는 구조를 갖는다(23-29)(Genin et al., 1993a,b; Sreenivasan et al., 1993; Subashinghe et al., 1993). γ-Lactam을 Leu-Gly위치에 집어넣은 초창기 analogue (23)는 선형 tripeptide의 10,000배에 달하는 dopamine agonist ADTN 결합력을 보여주었다. 놀랍게도 lactam 고리의 크기나 chirality를 변화시키더라도(23-29) 효과의 변화는 없었다. Type II' β-turn을 흉내내어 설계한(Nagai & Sato, 1985) 5,5-bicyclic thiazolidine lactam system과 6,5-bicyclic thiazolidine lactam system(30,31과 32,33 순서대로)은 선형 PLG 보다 조금 강한 활성(2-5배)을 보일 뿐이었다. MM2 force field (Allinger, 1977)을 이용한 Random conformational search pro- gram(ferguson & Raber, 1989)의 30과 32의 구조분석은 30,32 모두 거의 이론치와 흡사한 ϕ_2, ψ_2 torsional angle을 갖는다 (이론각은 순서대로 120° 와 80° 이다). (*R*)-4.4와 5.4-spirolactam systems는 PLG sequence에서 β-turn을 유도한다(34, 35)(Genin et al., 1993a). 이것의 구조는 X-ray crystallography로 분석되었고, Type II β-turn을 갖는 것으로 밝혀졌다 (Genin et al., 1993b). Ward 등(1990)의 neurokinin an- tagonists에 대한 이전 연구는 extended conformation은 (*R*)-4.4-spirolactam systems을 선호한다는 것을 보여주었다. 그러나 NMR spectros- copy 결과 (S)-4,4-spirolactam는 DMSO에서 Type II' β-turn 구조를 나타내고 있었다.

이런 series의 더욱 구조적으로 제한된 analogues는 bicyclothiazolidine lactam과 spirolactam을 결합시킴으로써 spirobicyclic system을 만드는 것으로 이어졌다(36)(Genin & Johnson, 1992). molecular modeling과 NMR연구(temperature coefficient of amide hydrogen and NOE)는 네 개의 torsional angles(ϕ_2, ψ_2, ϕ_3; 이상적인 Type II β-turn에 맞는 root mean square값은 0.16 이다) 중 3개를 거의 이상적인 값에 제한시킴으로써 $CDCl_3$ 안에서 Type II β-turn을 만들 수 있다고 제안하였다. 그러나 DMSO에서는 그 mimetic은 amide hydrogen에 대하여 높은 temperature coefficient를 보였고, β-turn은 안정적이지 않으며 추측건대 ψ_3값에 의해 유연성을 보였던 것 같다. Analogue의 modulatory activity를 측정한 결과 linear PLG 1μM가 dopamine receptor에 대하여 26%의 ADTN 결합력을 증가시키는 데 비교하여 1μM 농도에서 40%의 결합력 증가를 보였다. 이러한 결과들에 의해 PLG의 bioactive conformation은 Type II β-turn이 분명하다. 그러나, 초기 덜 제한 받도록 만들어진 물질(23)의 개선이 좋은 성과를 보이지 않았기 때문에 β-turn 구조가 중요하다 하더라도 구조를 버티는 물질(buttre- ssing group)을 peptide backbone에 첨가하는 것은 결합을

방해한다고 우리는 믿게 되었다.

Beca 등(1993)은 HIV-1 protease의 Gly-16과 Gly-17사이의 Type Ⅰ′ β-turn을 Nagai의 Type Ⅱ' thiazolidine lactam β-turn mimetic으로 교체하였다. β-Turn 형태의 mimetic을 포함하는 효소는 천연의 효소와 유사하게 행동하였다. 완벽하게 활성을 띄었으며, 기질 특이성을 가졌고 열에 대하여는 천연 효소에 비해 더욱 안정하였다. Nicolaou 등(1990)은 3-deoxy-β-d-glucose(37)를 발판처럼 이용하여 somatostatin(38)의 β-turn (Phe7, Trp8, Lys9, Thr10)을 인식하는 receptor의 첫번째 nonpeptide analogue를 합성하였다. 이것은 뇌하수체(pituitary gland)의 somatostatin receptor와 결합하며 IC_{50} value는 1.3μM이다. 흥미롭게도 fuctional assay에서 이 mimetic은 3μM 에서 agonist activity를 보였다. 이런 현상은 다른 peptidomimetics에서는 흔치 않은 일이다.

최근에는 benzodiazepine peptidomimetic(39)이 Ras farnesyl transferase를 저해하는 물질로 응용되고 있어 흥미를 더하고 있다. Benzodiazepine system은 효소 기질의 CAAX sequence에 있는 β-turn를 흉내내도록 설계되었다(James et al., 1993). 이것의 IC_{50}은 1nM이하이다. 또한 물질 (40)은 angiotensin converting enzyme의 잠재 저해제(potent inhibitor) 이다. 이것은 분자구조적으로는 친유성이며 분자 배치상으로는 tripeptide (Z)Phe-His-Leu의 제한된 모방물질 (restricted mimetic)이다(Flynn et al., 1987). 이 경우에서처럼 다른 metalloproease 기질 상호작용의 analogy에 의해 enzyme-bound substrate는 변형된 구조(extended structure)를 취할 것으로 생각된다.

4.3 γ-Turns

γ-Turn은 i 아미노산 residue의 carbonyl oxygen과 i+1 residue의 amide hydrogen 사이의 수소결합에 의해 정의된다. γ-Turn은 inverse γ-turn과 classic γ-turn 두 종류가 있다. 그들의 backbone structure는 거울상이다. 최근 고분리능의 X-ray crystal structure로 54개의 단백질을 분석한 결과, 약 10개의 classic γ-turn이 존재하는 것을 알 수 있었다. 이중 하나는 β-hairpin의 끝부분에 chain reversal이 있었다. Inverse γ-turn은 단백질 내에서 classic γ-Turn보다 6배 많이 발견되었다. 그것들은 chain kink(비틀림)이 있었고 흔치는 않지만 chain reversal을 나타내었다(Milner-White et al., 1988). (inverse γ-Turn 61개 중 1개) 그러나, 생물학적인 활성을 나타내는 cyclic peptide의 비교적 일반적인 형태로서 γ-turn은 잘 확립되어 있다(Bienstock et al., 1993; Bogusky et al., 1993; Di Blasio et al., 1993; Pavone et al., 1992; Stroup et al., 1992). *Trans*-olefin C7 mimetic (42)은 RGD sequence의 Asp residue에 γ-turn conformation을 고정시키는데 사용되었다(Callahan et al., 1992). 이것은 fibrinogen이 그것의 receptor (gp-Ⅱb/Ⅲa)에 결합하지 못하게 함으로써 혈소판 응집(platelet aggregation)과 thrombus 형성을 저해하는 것으로 알려져 있다. Cyclic peptide Ac-c[Cys-NMeArg-Gly-Asp-Pen]-NH_2에 대한 NMR, X-ray crystallography, molecular modeling 연구는 RGD region에서의 extended Gly와 aspartic acid residue에서의 γ-turn을 보여주었다. 두 종류의 mimetic 을 포함하는 RGD analogue(42와 43, R=CH_3 또는 Ph)가 합성되었으며, 이것은 *in vitro*상에서 혈소판 응집의 inhibitor가 될 수 있으며, 분리된 human gp-Ⅱb/Ⅲa receptor에 대하여 nano mole 수준의 affinity를 갖고 있는 것으로 밝혀졌다. 이것은 cyclic peptide에 필적할 만하며, 상응하는 linear peptide에 비해 2배 더 뛰어났다. Retro amide mimetic (44) 또한 Asp residue의 γ-turn conformation을 고정시키기 위하여 RGD peptide sequence안에 결합되었다. 그러나 retro amide mimetic(45)은 human gp-Ⅱb/Ⅲa receptor 와의 결합력과 *in vitro*상에서 혈소판 응집 방해 능력이 현저히 감소하는 현상을 보였다(Callahan et al., 1993). 추가적인 carbonyl group

이 mimetic의 결합을 방해하는 것이 활성을 잃은 것에 대한 가능한 설명이 될 것이다.

그러나 RGD의 생리활성을 띄는 conformation은 아직까지 불명확하다. 뱀 독 단백질인 echistatin과 kistrin(Adler et al., 1991; Chen et al., 1991)은 매우 가변성이 높은 loop에 RGD sequence를 갖고 있다. β-Turn 또한 생리활성을 띄는 conformation 이라고 제안되기도 하였다(Reed et al., 1988). 생리활성을 띄는 peptidomimetics의 series(예를 들어 46번 물질)는 이러한 가정 위에서 설계되었다(Barker et al., 1992; Hirschmann et al., 1992; McDowell & Gadek, 1992).

아마도 gp-IIb/IIIa에 의한 RGD analogues의 결합력은 우선적으로 guanidinium과 carboxylate moieties와의 거래에 의해 결정되는 것 같다. 그리고 비록 완전하지는 않지만 무차별적인 scaffolding도 관련이 있는 것 같다.

Trans-olefin mimic은 또한 enkephalin (H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH)의 active conformation연구에도 적용되었다(Tourwe et al., 1992). γ-Turn은 Gly-Gly-Phe나 Gly-Phe-Leu나 Tyr-Gly-Gly를 바꾸어 줌으로써 유도될 수 있었다. 이 enkephalin analogue의 결합정도와 fuctional activity는 δ와 μ opioid receptor에 의해 측정되었다. Tyr-Gly-Gly mimetic이 포함된 analogue 하나만이 활성을 보였으나, 이것도 leucine endephalin(δ-receptor에 대하여)의 1%의 affinity 밖에 보이지 않았다. 그리고 mouse vas deferens δ-receptor의 기능 분석에서 이 analogue는 거의 활성을 보이지 않았다. 이들 결과를 통해서 볼 때 δ와 μ opioid receptor에 대한 Leu-endephalin의 생물학적 활설 구조는 γ-turn으로서 일관성을 보이지 않는 것 같다.

6-Membered lactam ring(47)(R_1=H, R_3=CH_2Ph)가 nonapeptide bradykinin(Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg)에 합쳐졌다. Residue 6-8 사이에서 형성된 γ-turn이 bioactive conformation이라는 가정이 세워졌다 (Sato et al., 1992). Diastereomer중 하나가 Ser-6과 Pro-7의 적합한 side chain이 없음에도 불구하고 bradykinin receptor에 매우 온화한 (micromole) 친화도를 보이는 것이 발견되었다. 이 결과는 reverse turn(γ-turn 또는 보다 가능성 있는 β-turn)의 존재를 지지하는 것으로 보인다.

4.4 α-Helix

Helix는 globular protein에서 가장 흔하게 발견되는 이차 구조이다. 전체 residues의 1/3이상을 차지한다 (Barlow &Thornton, 1988). α-Helix의 주요한 특징은 4개의 residue 건너 위치한 amide hydrogen과 carbonyl oxygen간의 backbone hydrogen bonding이 반복되는 패턴을 보인다는 것이다. α-Helix는 Pauling(1951)등이 세운 개념에 의해 단백질 구조의 품질 보증 마크(hallmark)와 같이 인식되었다. 수소결합으로서 protein folding에 중요한 역할을 수행하는 것이 단백질 내에서 자율적인 folding unit을 형성하는 intrasegment partner로 위치할 수 있다고 가정되었다(Kim & Baldwin, 1984; Presta & Rose, 1988; shoemaker et al., 1987). Helix 형성과 안정성 그리고 아미노산 성향의 이해에 대한 많은 노력이 있어왔다(Blaber et al., 1993; Chakrabartty et al., 1991, 1993; Hermans et al., 1992; Komeiji et al., 1993; Padmanabhan et al., 1990; Padmanabahan & Baldwin, 1991). 그러나 Kemp와 Curran(1988a,b)에 의해 지적된 것처럼 helical template를 설계하기 위한 노력은 것의 없었다. 이것은 12개의 아미노산으로 이루어진 안정되고 분리된 helical peptide를 흉내내는 것이 매우 어렵다는 본질적인 문제에 많은 부분 기인한다. α-Helix의 형성은 initiation과 propagation 두 단계로 이루어져 있다. 최근까지 α-helix mimetics의 설계와 합성은 N-terminal initiation motif 분야에 집중되어 있었다. Arrhenius와 Satterthwait는 hydrazone-ethylene bridge를 이용하여 α-Helix 1 회전의 5→1번 backbone의 수소결합을 cyclic peptide로 만들어 대체하였다(Arrh- enius et al., 1987; Arrhenius & Satterthwait, 1989). Methyl

ester와 amide의 구조 분석은 $CDCl_3$와 DMSO-d_6 안에서 NMR spectroscopy를 이용하여 이루어졌다. 1D NOE measureme- nts에 근거하여 DMSO안에서 두 물질 모두 *cis* -*N*-methyl peptide bond conformation을 선호하며 $CDCl_3$안에서는 equilibrium mixture를 형성한다. 이 분석결과로서는 이 같은 macrocyclic co- mpound에서 α-Helix가 만들어내는 conformation을 결론지을 수 없다. 이 macrocyclic template의 carboxy 말단 쪽에 이어서 pentapeptide (Ala- (Glu- γ-ethylester)$_4$-ethyl ester)를 붙여 보았다(48). macrocyclic template에 붙어있을 때와 붙어있지 않을 때 pentapeptide의 conformation을 NMR을 이용하여 관찰하였다. 이때 ^3J coupling constant와 deuterated trifluoroethanol안에서 amide proton의 순차적인 NOE와 H/D excha- nge rate를 이용하여 보았다. 3.8 Hz ^3J coupling constant(Pardi et al., 1984)가 alanine re- sidue에서 관찰되었고 보다 작은 exchange rate을 보였다. 이것은 α-Helix 형성을 나타낸다고 볼 수 있다.

둘이나 그 이상의 수소결합 receptor를 적절히 배치하는 것은 성공적인 helix nucleation template를 설계하는 데 결정적인 요소이다. 두개의 proline ring을 thiamethylene bridge를 이용하여 tricyclic template (49) 를 만듦으로써 right-handed α-Helix에 적합한 pitch와 space를 갖는 세 개의 amid carbonyl을 유도할 수 있었다(Kemp & Curran, 1988). $CDCl_3$ 안에서 acetyl methyl 부터 이어오는 proline αH까지 NOE를 관찰한 결과, N-terminus에 있는 acetyl group의 carbonyl oxygen이 부적절한 위치에 있다고 생각된다(예를들어 *cis*형이 유도된다). 아마도 이것은 배열된 carbonyl의 dipole-dipole repulsion을 피하기 위한 것이라 생각된다. 그러나, 이 template에 연결된 polyalanine의 $CDCl_3$ 안에있는 NMR 연구에 의하면 trans-N-terminal acetamid bond의 intramolecularly hydrogen bond 구조와 *cis* conformer에서 유도되는 non-hydrogen bond 구조 사이에서 conformational equilibrium을 이루고 있다고 한다(Kemp et al., 1991a). 이 polyalanine oligomer의 *cis trans* 비율은 (이 비율은 관찰되는 helix의 random coil ratio에 비례한다) 길이와 solvent의 특성에 관련이 있는 것으로 밝혀졌다 (Kemp et al., 1991b).

추가적인 설계에서는 cyclic triproline helix template을 사용하여 hydrogen bond donor site를 4개로 까지 늘렸다(50)(Kemp & Rothman., 1992). X-ray 와 NMR 연구를 통해 이 template의 많은 부분이 nonhelical conformation으로 존재하는 것을 알아냈다. 이것은 helical conformation이 약 4kcal/mole이하에서 안정하다는 molecular mechanics calculation 과 상응하는 결과이다. 이 template에 polyalanine(n=1-3) sequence를 붙임으로써 펩타이드를 3_{10} helical conformation에 적응시킬 수 있을 것이다.

세 개의 carbonyl oxygen이 굳건하게 배열할 수 있는 template가 Mller 등에 의해 개발되었다 (1993). 그들은 electrocyclic addition reaction을 계속하여 실제적으로 접근 가능한 cage compound를 이용하였다. 이 cage compound에 결합된 nonapeptide(Ala와 Aib의 mixture)는 CD spectra 로 측정했을 때 물-TFE 1:1 solution 에서 linear nonapeptide에 비하여 현저한 α-Helicity의 증가를 보였다. 한편 동일한 nonapeptide(이때 세개의 carbonyl group은 left-handed helix로 배치되었다)를 enantiomeric template에 붙였을 경우 위와 동일한 조건에서 helicity의 감소를 보였다. 222nm에서 CD elipticity에 근거하여 α-helicity를 측정한 결과, N-Boc protected linear는 40%, right-handed conjugate(51)는 70%, left-handed conjugate(52)는 25%를 보였다(Mller et al., 1993).

4.5 β-Sheet

예를 들어 enzyme inhibitors(Borkakoti et al., 1994), antigen presentation(Bjorkman et al., 1987), disruption of dimerization(Schramm, 1991, 1993) 그리고 second messenger signa-

ling(Waksman et al., 1992) 같은 β-sheet를 이용한 매우 넓은 분야에 mimetics의 적용이 가능함에도 불구하고 이 분야에 대하여는 제한된 보고만이 있을 뿐이다. 잘 정의된 unaggregated form의 β-sheet를 만드는 것이 어렵기 때문에 β-sheet를 이해하는 것은 어려웠었다. 단백질 내에서 β-sheet는 extensive hydrogen-bond network 과 side chain side chain interaction의 결과로 형성된다. 적절하게 배치되도록 hydrogen bond donor와 acceptor 그리고 side chain functional groups을 놓는 합성작업은 엄청난 도전이다(Kemp et al., 1991c).

Kemp와 그의 동료들은 diacylaminoepindolidione template를 이용한 첫번째 β-sheet에 대하여 기술하였다. 이 template에는 dipeptide Pro-d-Ala가 link 되었으며, 이것은 β-turn conformation에 적응할 것으로 가정된다. 추가적으로 urea (이것은 peptide chain의 방향을 전환시킨다)를 붙여서 antiparallel sheet structure를 유도하였다(53)(Kemp & Brown, 1988a, b, 1990; Kemp et al., 1991c). Urea를 제거할 경우에는 parallel β-sheet이 형성되었다(54)(Kemp et al., 1991c). β-Sheet의 존재는 DMSO내에서 glycine의 alpha hydrogens과 H-1 epindolidione 사이에서 그리고 N-methyl groups과 H-10 epindolidione 사이에서 NOEs의 관찰에 의해 확실해졌다. amide proton chemical shift의 temperature dependence와 geminal coupling constant등이 추가적 지지 근거이다. β-Turn이 antiparallel β-sheet를 형성하는데 얼마나 효과가 있는지 시험하기 위하여 β-turn을 형성하는 Pro-d-Ala sequence를 Sar-Gly로 바꾸었다. 이 물질에 대한 polarity는 THF와 DMSO의 polarity 범위에서 두 아미노산의 asymmetric center와 epindolidione 사이에서 주목할만한 interaction은 없었고 의미있는 이차구조의 형성도 없이 일정한 값을 보였다(Kemp & Bowen, 1990). Epindolidione은 pararellel 과 antiparallel β-sheet의 nucleation과 stabi- lity에 많은 유용한 정보를 제공함에도 불구하고, side chain fuctionality를 이 template에 결합(여러 생물학적 적용을 위해서 이 결합이 필요하다)하는데 많은 어려움을 갖고 있다는 것이 이 epind- olidione의 단점이다. 이 문제는 NH group을 교체하고 3,5-linked pyrrolin-4-ones를 사용함으로써 해결되었다(Smith et al., 1992, 1993b). 초기 modeling은 β-strand는 선호하는 conformation이 되려 한다는 것을 지적했다. 이 물질의 x-ray crystal sturcture는 β-strand이 존재하고 side chain orientation은 angiotensin 안에 있는 natural β-strand를 매우 유사하게 모방한 것으로 확인되었다. 또한 이 unit cell 검사에 의해 mimetic dimer가 antiparallel β-pleated sheet에 적응한다는 것을 확인하였다. Aspartic proteinase inhibitor analogues는 이전에 보고된 inhibitor에 근거하여 pyrrlinone template를 이용하여 구성되었다. 이 발표된 제한된 example들은 개선된 transport property 뿐만 아니라 높은 binding affinity와 selectivity를 보였다(Smith et al., 1994).

Peptide backbone을 β-sheet conformation으로 고정하기 위한 시도들 중에서 Martin 등은 trisubstituted cyclopropane을 rennin inhibitor로 사용하였다. Vinylogous polypeptide 또한 peptide backbone structure를 고정하는데 사용되었다 (Hagihara et al., 1992). 그들은 side chain substitutent에 의하여 crystal 형태로서 antiparallel 또는 parallel β-sheet에 적응하는 것을 알아냈다. Elongated vinylogous polypeptides는 helical formation에 적응하는 것으로 보인다. 자연에서 얻어지는 vinylogous polypeptide인 Cyclotheonamide B는 상대적으로 thrombin 저해 능이 있음에도 불구하고 flexibility와 hydro- gen bond donor-acceptor capacity가 효소저해를 하는 일반적인 응용을 방해하는 것으로 생각된다 (Fusetani et al., 1990).

β-Turn template(55)로서 dibenzofuran을 사용하여 Kelly와 그의 동료들은 β-sheet를 nucleate하고 안정화 시킬 수 있었다(Diaz et al., 1993; Tsang et al., 1994). 유사하게 tricyclic xanthene template는 뱀독 flavoridin(56)의 β-

loop을 모방하는데 사용되었다. 이 analogue는 상응하는 linear peptide에 비하여 fibrinogen receptor gp-IIb/IIIa에 대한 affinity가 약 50배 상승하는 것을 보였다(Mller et al., 1993). 이 두 경우 모두에서처럼 적합한 hydrogen bonding network를 유도하는 것 뿐만 아니라, turn template에서 hydrophobic clustering이 β-sheet를 안정화하고 nucleate하는데 기여한다는 사실은 주목할 만한 가치가 있다(Tsang et al., 1994).

5. 최근 연구 동향(Reverse Turn Mimetics)

Reverse turn mimetic system을 설계함에 있어서 고려되어야 할 수많은 관점과 기준이 있다. β-Turn은 상당히 여러 종류의 구조들(diverse group of structure)로 이루어져 있다. β-Turn은 i+1과 i+2 residue의 φ와 ψ각에 의해 분류된다. turn type(Ⅰ,Ⅰ',Ⅱ,Ⅱ',Ⅲ,Ⅲ',Ⅳ,Ⅴ,Ⅴa,Ⅵa,Ⅵa, Ⅶ,Ⅷ)이 매우 많을 뿐만 아니라 C_α i에서 C_α i+3까지의 거리도 4-7으로 다양하다(Wilmot & Thornton, 1988). 이 피상적인 논의를 통해서 어떤 구조도 이 turn의 다양성을 정확히 흉내낼 수 없음이 확실해졌다. 아미노산의 side chain과 이것에 상보적인 receptor group과의 상호작용은 생물학적 특이성을 결정하는 핵심요소이다. 성공적인 peptidomimetics를 위해서는 적합한 fuctional group을 상대적으로 굳은 골격에 적절하게 위치시키는 것이 필요하다. 그러므로 이상적인 mimetic 설계는 자연의 reverse turn에서 발견되는 것과 동일한 방식으로 핵심적인 pharmacophoric information을 정확하게 발현시키는 능력을 포함한다. 이것은 최소한 네 개의 인접하지 않은 asymmetric center를 stero 또는 enantiomer로 만드는 것과 같은 변변찮은 합성 문제와는 거리가 멀다. 한편 이들 non-peptide 물질은 peptide가 갖고 있는 고유한 문제를 확실히 해결할 수 있다. 합성 방법은 structure-activity relationship의 서술이 중요한 문제이고 유사한 구조들의 series를 합성하고 평가해야 할 때 중요하게 사용된다. 초창기 peptidomimetics를 만들어 몇 번의 성공밖에 거두지 못하였음에도 불구하고 structure-function 연구에 대한 peptidomi-metics의 힘을 지배하기 위해서는 이 방법이 접근하기 가장 쉽다는 것이 더욱 명확해 졌다. Peptide 합성에서 가장 비약적 전진은 Merrifiel에 의한 so-lid phase format의 개발이다(Merrifield, 1985). 이것으로 그는 1985년 Novel상을 받았다. Pepti-domimetics를 더욱 연구함에 있어 modular com-ponent nature와 solid phase peptide 합성 자동 기기가 필요하다는 것이 확실해 졌다. 또한 이것은 우리가 구조적으로 제약된 peptidomimetics의 library를 발전시키도록 한다. 이러한 목적과 함께, 적합한 retrosynthetic strategy의 제안은 이것을 더욱 수월하게 하였다.

Reverse turn mimetic의 합성은 용액 내에서 수행될 수 있다. 그러나 이것은 solid phase synthesis protocol에 의해서도 완전히 모순 없이 이루어질 수 있다. 본질적으로 첫번째 modular component (A)는 성장하는 peptide chain (B) 의 amino terminus에 coupling되어야 한다. 두 번째 물질 (C)의 coupling, protecting group P'의 제거, 그리고 이어서 세 번째 modular component (D)의 coupling에 의해 신생 β-turn (E)이 만들어진다. 이 연속적인 합성과정에서 macrocyclization reaction에 영향을 미치는 activated ester인 azetidinone의 사용이 결정적 단계이다(Wasserman, 1987). Nucleophile X에 의해 azetidinone의 nucleophilic 열림이 있자마자 연속적인 합성에 의해 새로운 amino acid terminus가 생성된다. 이 실험방법의 중요한 특징은 X-group linker를 길이에 따라 그리고 rigidity와 flexibility에 따라 바꾸어 줄 수 있다는 것이다. 그 필수 불가결한 st-ereogenic center는 주로 chiral pool에서 유도된다. 이 합성은 l 또는 d configuration에서 자연적 또는 인공적인 amino acid side chain function-ality를 가능하게 해 주었다. 또한 세 번째 modu-lar component (D)를 빼면 γ-turn mimetics에 응용될 수 있다(Sato et al., 1992).

우리는 immunoglobulin gene superfamily 분

자에 대한 structure-function relationship을 연구함에 있어 제 3 세대 mimetic system을 이용하였다. Immunoglobulin은 loop에 의해 연결된 antiparallel β-pleated sheet의 series로 만들어져 있다 (Amzel et al., 1979; Kabat, 1978).이 분자의 특이성은 규정된 다양한 complementarity determining regions(CDRs)의 크기와 sequence에 의해 결정된다(Chothia et al., 1989; Martin et al., 1989).

Monoclonal antibody 87.92.6(mAb 87.92.6)은 antiidiotype antibody로서 type 3 reovirus의 cellular receptor에 결합한다. Sequence analysis를 통해 이 receptor와 결합하는 두 proteinaceous ligand 사이에서 흥미로운 homology를 발견하게 되었다 (Saragovi et al., 1991). 특별히 mAb 87.92.6 light chain의 CDR-2 한 region과 type 3 reovirus의 hemagglutinin사이에서 강한 primary sequence homology를 보였다. V_L CDR-2 는 reverse turn conformation 상태로 존재하였다. 이 분석에 근거하여 우리는 reverse turn mimetic (57)을 합성하였다.이것은 Y,S,G,S,S로 이루어졌다(Saragovi et al., 1991). 이것은 cellular reovirus receptor와 mAb 9BG5에 대하여 유사한 binding property를 보였으며, 자연의 antibody 87.92.6과 마찬가지로 cell proliferation에 동일한 저해 효과를 보였다.

또한 우리는 human CD4 region과 같은 CDR-2의 mimetic을 설계하였다. CD4는 55 kD의 glycoprotein이며, T cell의 helper class의 세포 표면에서 우선적으로 발견된다. 이것은 매우 높은 affinity(K_d ? 1-4nM)로 human immunode- ficiency virus glycoprotein(HIV gp120)과 결합하며, 이것이 바이러스가 세포 내부로 들어오는 주요 통로이다. 광범위한 mutagenesis(Ashkenazi et al., 1990; Landau et al., 1988)와 peptide mapping 실험 (Jameson et al., 1990)을 통해 CD4의 CDR-2-like domain 안의 40-55 amino acid region이 gp120 binding에 결정적인 역할을 한다는 것을 알아냈다. X-ray crystallographic analysis는 통해 residue Gln40 부터 Phe43 이 C'과 C β-strand에 연결된 채로 highly surface exposed β-turn에 위치한다는 것을 밝혀냈다. 이 region에 대한 첫번째 mimetic(58)이 설계되고 합성되었다. NMR과 molecular modeling analysis를 통하여 이 ten-membered ring system(58)이 이 loop의 conformation을 거의 모방하였음을 확인하였다. 주목할 만한 것은 이 작은 분자가 HIV- 1(IIIB) gp120과 $CD4^+$의 결합을 그만두게 하고 250μg/ml에서 syncytium 형성을 50% 감소시킨다는 것이다(Chen et al., 1992).

최근 들어 우리는 앞에서 언급한 morphine과 enkephalin의 관계에 관한 일에 집중하고 있다. Enkephalin이 갖고 있는 framework의 mobility, *in vivo* 상에서의 빠른 분해(Roques et al., 1976), 그리고 multiple receptor subtype들의 존재 (Mansour et al., 1988; Rapaka et al., 1986)는 생리활성을 띄는 conformation으로의 접근을 어렵게 하였다. 구조적으로 제한된 펩타이드나 peptidomimetics(Belanger et al., 1982; Hansen & Morgan, 1990; Schiller 1990; Su et al., 1993)는 이 일을 용이하게 하여야만 했다. 몇몇의 turn conformation이 computational model (Chew et al., 1991; Hassan & Goodman, 1986; Petit et al., 1991; Smith et al., 1991)과 X-ray crystallography (Aubry et al., 1988; Griffin & Smith, 1988), 그리고 spectroscopic 연구(Hruby et al., 1988; Mosberg et al., 1990; Picone et al., 1990)에 기초하여 제시되었다.

1976년 Bradbury 등은 Phe^4의 NH와 Tyr^1의 C=O의 수소결합에 의해 안정화 되는 β-bend model을 제안하였다. 이것은 Phe^4 aromatic ring과 Tyr^1의 tyramine segment 사이에서 공간적 배치를 이룬다. 이 배치는 잠재적 morphin analogue인 PEO 내부에 상응하는 일부분 사이에 존재하는 것과 유사하다. 이 conformation에 대한 타당성을 뒷받침 하기 위해 가장 낮은 에너지 conformer인 잠재적 enkephalin analogue [$dAla^2$, Met^5]의 energy calculation 연구가 수행되었다 (Balodis et al., 1978; Jumblet & Decoen,

1977; Manavalan & Momany 1980). 이 물질은 residue 2와 3에 집중된 turn을 가진 접힌 구조를 내포하고 있다. 그러나 Freidinger (1981), Schiller와 Dimaio (1983)은 4→1 β-turn의 생물학적 유효성에 반대하는 증거들을 13 또는 14 개로 구성된 고정된 cyclic analogue들의 conformation analysis를 통해 제기하였다. 더욱 더 이 가설을 증명하기 위하여 우리는 4→1 β-turn mimetic의 집합 (59-62)을 합성하였다. 가장 낮은 energy conformer인 ten-membered ring system이 이상적인 Type I' β-turn(6 atom rms deviation 0.22)을 가장 잘 모방하였다. 그리고 결정적인 Phe^4 aromatic ring과 PET의 tyramine moiety들과 매우 잘 겹쳐졌다. 그러나 이것에는 biological activity가 빠져있었다. 약간의 확장된 loop structure를 가진 14-membered ring analogue만이 μ receptor와 최소한의 어떤 binding activity를 보여주었다. 이 실험의 결과로서 enkephalin에 대한 4→1 β-turn conformation의 생물학적인 개연성에 확실한 의문을 던질 수 있게 되었다. 이와 유사한 구조적으로 제한된 5→2 enkephalin β-turn mimetics의 analogue를 이용한 실험들이 수행중이다. 구조적으로 제한된 reverse turn analogue들의 합성에 대한 이 같은 방식의 합성 방법 즉 multiple peptide synthetic strategies를 포함하는 합성 방법은 이것들과 reverse turn conformation이 결합된 다른 제안된 receptor의 생물학적 유의성을 명확하게 해 줄 것이다.

6. 요 약

cDNA 클로닝과 단일 항체에 대한 분자생물학의 출현에 의해 여러 단백질 조합의 기능 뿐만 아니라 구조적 분석의 가능성이 열렸다. 모든 분자적 수준에서 이루어지는 생물학적 조절에 결정적인 역할을 수행하는 단백질의 특징은 실질적으로 재조합 단백질을 이용한 치료의 가능성을 무한하게 하였다. 그러나 몇몇 주요한 예외(EPO, tPA 등)에 의해 단백질 치료법의 적용은 엄격하게 제한되어 왔다. 단백질은 낮은 생리유용성, 단백질 분해효소에 의한 분해, 제거의 어려움이란 문제를 안고 있다. 또한 단백질은 항원으로 인식될 가능성이 있다.

최근에는 단백질, 펩타이드와 유사한 생물학적으로 활성이 있는 nonpeptide 물질을 설계하고 합성하려는 노력이 증가하고 있다. 미래의 약은 더 높은 선택성을 갖음으로써 더 낮은 부작용을 갖게 될 것이며, 이에 대한 수많은 시도들이 본문에서 소개되었다. 아마도 peptidomimetics에서 나온 가장 매력적인 형태는 자연의 정교한 단순함을 본 딴 놀라운 구조적 다양성과 창조성을 갖게 된 것일 것이다.

7. 참고문헌

1. Adler, M., Lazarus, R. A., Dennis, M. S., & Wagner, G., *Science 253*, 445-448 (1991).
2. Advenier, C., Emonds-Alt, X., Vilain, P., Goulaouic, P., Proietto, V., Van Broeck, D., Naline, E., Neliat, G., Le Fur, G., & Breliere, J. C., *Br. J. Pham. 105*, 77P (1992).
3. Allinger, N. L., *J. Am. Chem. Soc. 99*, 8127-8134 (1977).
4. Amzel, L. M., Poljak, R. J., *Annu. Rev. Biochem. 48*. 961-997 (1979).
5. Arrhenius, T., Lerner, R. A., & Satterhwait, A. C., in *Protein Structue, Fold- ing and Design*(Oxender, D., Ed.) pp 453 -465, Alan R. Liss. New York (1987).
6. Arrhenius, T., & Satterhwait, A. C., in *The 11th American Peptide Symposium* (Rivier, J. E. & Marshall, G. R., Eds.) pp 870-872, ESCOM, Leiden, La Jolla, CA (1989).
7. Ashkenazi, A., Presta, L. G., Marsters, S. A., Camerato, T. R., Rosenthal, K. A., Fendly, B. M., & Capon, D. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87*, 7150-7154 (1990).

8. Aubry, A., Birlirakis, N., Sakarellos-Daitsiotis, M., Sakarellos, C., & Marroud, M., *Biopolyners 28*, 27-40 (1989).
9. Baca, M., Alewood, P. E., & Kent, S. B. H., *Protein Sci. 2*, 1085-1091 (1993).
10. Balaram, P. & Sudha, T. S., *Int. J. Pept. Res. 21*, 381-388 (1983).
11. Ball, J. C., Andews, P. R., Alewood, P. F., & Hughes, R. A., *FEBS Lett.* 273, 15-18 (1990).
12. Ball, J. B., & Alewood, R. F., *J. Mol. Recognition 3*, 55-64 (1990).
13. Ball, J. B., Hughes, R. A., Alewood, P. F., & Andrews, P. R., *Tetahedron 49*, 2467-2478 (1993).
14. Balodis, Y. Y., Nikiforovich, G. V., Grinsteine, I. V., Vegner, R. E. & Chipens, G. I., *FEBS Lett. 86*, 239-242, (1978).
15. Barker, P. L., Bullen, S., Bunting, S., Burdick, D. J., Chan, K. S., Deisher, T., Eigenbrot, C., Gadek, T. R., Gantzos, R., Lipari, M. T., Muri, C. D., Napier, M. A., Pitti, R. M., Padua, A., Quan, C., Stanley, M., Struble, M., Tom, J. Y. K., & Burnier, J. P., *J. Med. Chem. 35*, 2040-2048, (1992).
16. Barlow, D. J. & Thornton, J. M. *J. Mol. Biol. 201*, 601-619 (1988).
17. Belanger, P. C., Dufresne, C., Scheigetz, J., Young, R. N., Springer, J. P., & Dmitrienko, G. I. *Can. J. Chem. 60*, 1019-1029 (1982).
18. Benedetti, E., Toniolo, C., Hardy, P., Barone, V., Bavoso, A., Di Blasio, B., Grimalai, P., Lelj, F., Pavone, V., Pedone, C., Nonora, G. M., & Lingham, I., *J. Am. Chem. Soc. 106*, 8146-8152 (1984).
19. Bienstock, R. J., Rizo, J., Koerber, S. C., Rivier, J. E., Hagler, A. T., & Gieasch, L. M. *J. Med. Chem. 36*, 3265-3273 (1993).
20. Birnbaum, S. & Mosbach, K., *Curr. Opin. Biotech. 3*, 49-54 (1992).
21. Bjorkman, P. J., Saper, M. A., Samraoui, B., Bennett, W. S., Strominger, J. L., & Wiley, D. C., *Nature 329*, 512-518 (1987).
22. Blaber, M., Zhang, X. -J., Matthws, B. W., *Science, 260*, 1637-1640 (1993).
23. Bock, M. G., DiPardo, R. M. Veber, D. F., Chang, R. S. L., Lotti, V. J., Freedman, S. B., & Freidinger, R. M., Bioorg. Med. Chem. Lett. *3*, 871-874 (1993).
24. Bogusky, M. J., Brady, S. F., Sisko, J. T., Nutr, R. F., & Smith, G. M., *Int. J. Pept. Prot. Res. 42*, 194-203 (1993).
25. Borkakoti, N., Winkler, F. K., Williams, D. H., D'Arcy, A., Broadhurst, M. J., Brown, P. A., Johnson, W. H., & Murray, E. J., *Struct. Biol. 1*, 160-110 (1994).
26. Bovy, P. R., Trapani, A. J., McMahon, E. G., & Palomo, M., *J. Med. Chem. 32*, 520-522 (1989).
27. Bruck, C., Co, M. S., Slaoui, M., Gau- lton, G. N., Smith T., Fields, B. N., Mullins, J. I., & Greene, M. I., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 83*, 6578-6582 (1986).
28. Bunin, B. A. & Ellman, J. A., *J. Am. Chem. Soc. 114*, 10997-10998 (1992).
29. Callahan, J. F., Bean, J. W., Burgess, J. L., Eggleston, D. S., Hwang, S. M., Kopple, K. D., Koster, P. F., Nichols, A., Peishoff, C. E., Samanen, J. M., Vasko, J. A., Wong, A., & Huffman, W. F., *J. Med. Chem. 35*, 3970-3972 (1992).
30. Callahan, J. F., Newlander, K. A., Bur-

gess, J. L., Eggleston, D. S., Nichols, A., Wong, A., & Huffman, W. F., *Tetrahedron 49*, 3479-3488 (1993).
31. Chakrabartty, A., Kortmme, T., Padamanabhan, S., & Baldwin, R. L., *Biochemistry 32*, 5560-5565 (1993).
32. Chakrabartty, A., Schellman, J. A., & Baldwin, R. L., *Natue 351*, 586-588 (1991).
33. Chen, J. K., Lane, W. S., Brauer, A. W., Tanaka, A., & Schreiber, S. L., *J. Am. Chem. Soc. 155*, 12591-12592 (1993).
34. Chen, S., Chrusciel, R. A., Nakanishi, H., Raktabutr, A., Johnson, M. E., Sato, A., Winer, D., Hoxie, J., Saragovi, H. U., Grene, M. I., & Kahn, M., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89*, 5872-5876 (1992).
35. Chen, Y., Pitzenberger, S. M., Garsky, V. M., Lumma, P. K., Sanyal, G., & Baum, J., *Biochemistry 30*, 11625-11636 (1991).
36. Chew. C., Villar, H. O., & Loew, G. H., *Mol. Pharmacol. 39*, 502-510.
37. Cho, C. Y., Moran, E. J., Cherry, S. R., Stephans, J. C., Fodor, S. P. A., Adams, C. L., Sundaram, A., Jacobs, J. W., & Schultz, P. G., *Science 261*, 1303-1305 (1993).
38. Chorev, M., & Goodman, M., *Acc. Chem. Res. 26*, 266-273 (1993).
39. Chothia, C. & Lesk, A. M., *J. Mol. Biol. 196*, 901-917 (1987).
40. Chothia, C., Lesk, A. M., Tramontano, A., Levitt, M., Smith-Gill, S. J., Air, G., Sheriff, S., Padlan, E. A., Davies, D., Tulip, W. R., Colman, P. M., Spinelli, S., Alzara, P. M., & Poljak, R. J., *Natue 342*, 877-889 (1989).
41. Collins, J. L., Dambek, P. J., Goldstein, S. W., & Faraci, W. S., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 2*, 915-918 (1992).
42. Cox, M. T., Heaton, D. W., Horbury, J., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 799-802 (1980).
43. Creighton, T. E., in *Proteins*, p. 163, W. H. Freeman, New York (1984).
44. Crisma, M., Valle, G., Bonora, G. M., De Memego, E., Toniolog, C., Lelj., F., Barone, V., & Fratrnali, F. *Biopolymers 30*, 1-11 (1990).
45. Damon, D. B. & Hoover, D. J., *J. Am. Chem. Soc. 12*, 6439-6442 (1990).
46. Degrado, W. F., *Adv. Protein Chem. 39*, 51-124 (1988).
47. Dewitt, S. H., Kiely, J. S., Stankovic, C. J., Shroeder, M. C., Reynolds Cody, D. M., & PAvia, M. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90*, 6909-6913 (1993).
48. Diaz, H., Tsang, k. Y., Choo, D., Espina, J. R., Kelly, J. W., *J. Am. Chem. Soc. 115*, 3790-3791 (1993).
49. Di Blasio, F., Lombardi, A., Nastri, F., Saviano, M., Pedone, C., Yamada, T., Naiao, M., Kuwata, S., & Pavone, V., *Biopolymers 32*, 1155-1161 (1992).
50. Di Blasio, B., Lombardi, A., D'Auria, G., Saviano, M., Isernia, C., Maglio, O., Paolillo, L., Pedone, C., & Pavone, V., *Biopolymers 33*, 621-631 (1993).
51. Doughty, M. B., Chu, S. S., Misse, G. A., & Tessel, R., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 2*, 1497-1502 (1992).
52. El Masdouri, L., Aubry, A., Sakarellos, C., Gomex, E. J., Cung, M. T., & Marraud. M., *Int. J. Pept. Prot. Res. 31*, 420-428 (1988).
53. Evans, B. E., Leighton, J. L., Rittle, K. E, Gilbert, K. F., Lundell, G. F., Hobbs,

D. W., DiPardo, R. M., Veber, D. F., Pettibone, D. J., Anderson, P. S., & Freidinger, R. M., *J. Med. Chem. 35*, 3919-3927 (1992).

54. Evans, B. E., Rittle, K. E., Chang, R. S. L., Lotti, V. J., Freedman, S. B., Freidinger, R. M., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 3*, 867-870 (1993).
55. Fauchere, J. L., *Adv. Drug. Res. 15*, 29-69 (1986).
56. Fauchee, J. L., *in QSAR in Krug Design and Toxicology* (Hadzi, D. and Jerman-Blazic. B., Eds.) 22, Amsterdam, The Netherlands (1987).
57. Felder, E., Allmendinger, T., Fritz, H., Hugerbuler, E., & Keller, M., in *Proceedings of the Twelfth American Peptids Symposium* (Smith, J. A. & Rivier, J. E., Eds.) 161-162 (1992).
58. Ferguson, D. M. & Raber, D. J., *J. Am. Chem. Soc.* III, 4371-4378 (1989).
59. Filatova, M. P., Dri, N. A., Komarova, N. A., Orfkkchovich, O. M., Reiss, V. M., Liepinya, I. T., & Nikiforovich, G. V., *Bioorg. Khim.* 12, 59-70 (1986).
60. Flynn, G. A., Giroux, E. L., & Dage, R. C., *J. Am. Chem. Soc. 109*, 7914-7915 (1987).
61. Fodor, S. P., Read, J. L., Pirrung, M. C., Strye, L., Lu, A. T., & Solas., D. *Science 251*. 767-773
62. Fong, T. M., Huang R. R. C., & Strader, C. D., *J. Biol. Chem. 267*, 25664-25667 (1992).
63. Franciskovich, J., Houseman, K., Mueller, R., & Chmielewski, J. *Bioorg. Med. Chem. Letts. 3*, 765-768 (1993).
64. Fridinger, R. M. *in peptides, Synthesis, Structure, Function* (Rich, D. H. & Gross, E., Eds.) Piece Chemical Co., Rockford, II 673-683 (1981).
65. Fusetani, N., Matsunaga, S., Matsumoto, H., & Takebayashi, Y. *J., Am. Chem. Soc.* 112, 7053-7054 (1990).
66. Genin, M. J. & Johnson, R. L., *J. Am. Chem. Soc.* 114, 8778-8783 (1992).
67. Genin, M. J., Mishra, R. K., & Johnson, R. L. *J., Med. Chem.* 36, 3481-3483 (1993a).
68. Genin, M. J., Ojala, W. H., Gleason, W. B., & Johnson, R. L. J., *Org. Chem. 58*, 2334-2337 (1993b).
69. Gether, U., Johansen, T. E., Snider, R. M., Lowe, J. A., Nakanishi, S., Schwartz, T. W., *Nature, 632*, 345-348 (1993).
70. Geysen, H. M. & Mason, T. J., *Bioorg. Med. Chem.* Lett. 3, 397-404 (1993).
71. Griffin, J. F., & Smith, G. D., *Opioid Peptides: An Update* (Rapaka, R. S. & Dhawan, B. N., Eds.) 41, NIDA Research Monograph 87, Wahington, D. C. (1988).
72. Grimaldi, P., Lelj, F., Pavone, V., Pedone, C., Nonora, G. M., Lingham, I., *J. Am. Chem. Soc.* 106, 8146-8152 (1984).
73. Hagihara, M., Anthony, N. J., Stout, T. J., Clardy. J., & Schreiber, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* 114, 6568-6570 (1992).
74. Hale, J. J., Finke, P. E., & MacCoss, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 3, 319-322 (1993).
75. Hansen, P. E., Morgan, B. A., *The Peptldes: Analysis. Synthesis. Biology 6* (Udonfried, S. & Meienhofer, J., Eds.) 269-321 (1990).
76. Hassan, M. & Goodman, M. Biochemistry, 25, 7596-7606 (1986).
77. Hermans, J., Anderson, A. G., & Yun, R. H. Biochemistry 31, 5646-5653 (1992).
78. Higashijima, T., Tasumi, M., Miyazawa,

T., & Miyoshi, M., *Eur. J. Biochem.* 89, 543-546 (1978).

79. Hirschmann, R., Sprengeler, P. A., Kawasaki, T., Leahy, J. W., Shakespeare, W. C., & Smith, A. B., III *J. Am. Chem. Soc.* 114, 9699-9701 (1992).
80. Houghten, R. A., Pinilla, C., Blondelle, S. E., Appell, J. R., Dooley, C. T., Cuervo, J. H. *Nature 354*, 84-86 (1991).
81. Howard, J. C., Momany, F. A., Andreatta, R. H., & Scheraga, H. A. *Macromolecules 6*, 535-541 (1973).
82. Howbert, J. J., lobb, K. L., Britton, T. C., Mason, N. R., & Bruns, R. F. *Bioorg. Med. Chem.* Lett. 3, 875-880.
83. Hruby, V. J., *Trends Pharmacol.* Sci. 8, 336-339 (1987).
84. Hruby, V. J., Al-Oeidi, F., & Kazmierski, W. *Biochem. J. 268*, 249-262 (1990).
85. Hruby, V. J., Kao, L. F., Pettitt, B. M., Karplus, M., *J. Am. Chem. Soc. 110*, 3351-3359 (1988).
86. Hruby, V. J., Knapp, F. S., Kazmierski, W., Lui, G. K., Yamaura, H. I., in Peptides: *Chemistry, Structure and Bio- logy, Proceedings of the 11th American Peptide Symposium* (Rivier, J. E. & Marshall, G. R., Eds.) 53-55 ESCOM Leiden (1990b).
87. Hughes, J., Smith, T. W., Kostelitz, H. W., Fothergill. L. A., Morgan, B. A., & Morris, H. R., *Nature 258*, 577-578 (1975).
88. Humblet, C. & Decoen. J. L., in Peptides: Proceedings of the Fifth American Peptide Symposium (Goodrum, M. & Meienhofer, J., Eds.) 88-91, Wiley, New York (1977).
89. James, G. L., Goldstein, J. L., Brown, M. S.,Rawson, T. E., Somers, T. C., McDowll, R. S., Growley. C. W., Lucas, B.K., Levinson, A. D., & Marsters, Jr., J. C., *Science 260*, 1937-1942 (1993).
90. Jameson, B. A., Rao, P. E., Kong. L. I., Hahn, B. H., Shaw, G. M., Hood. L. E., & Kent, S. B. H., *Science 240*, 1335 -1339 (1990).
91. Jennings-White, C., & Almquist, R. G., *Tetrahedron Lett.* 23, 2533-2534 (1982).
92. Jones, Jr., W. C., Nestor, Jr., J. J., & du Vigneaud, V., *J. Am. Chem. Soc. 95*, 5677-5680 (1973).
93. Kabat, E. A., *Adv. Protein Chem.* 32, 1-75 (1978).
94. Kahn, M. Ed., Peptide *Secondary Structure Mimetics*. Tetrahedron Symposia-in-print Number 50, Oxford, England (1993).
95. Kaiser, E. T. & Kezdy, F. J., *Scienc 223, 249-255* (1984).
96. Karle, I. L. & Balaram, P. *Biochemistry 29*, 6747-6756 (1990).
97. Kawai, M., Fukuta, N., Ito, N., Kagami, T., Butsugan, Y., Maruyama, M., & Kudo, Y., *Int. J. Pept. Protein Res.* 35, 452-459, and citations therein (1990).
98. Kemp, D. S., Allen. T. J., & Oslick, S. L. in Peptide Chemistry and Biology: *Proceedings of the 12th Amican Peptide Symposium* (Smith, J. A. & Rivier, J. E., Eds.) 352-355, ESCOM, Leiden (1991a).
99. Kemp. D. S.,Blanchard, D. E., & Muendel, C. C., *in Peptides: Chemistry and Biology. Proceedings of the 12th American Peptide Symposium* (Smith, J. A., & Rivier, J. E., Eds.) 319-322, ESCOM, Leiden (1991c).
100. Kemp, D. S. & Bowen, B. R., *Tetrah-*

edron Lett. 29, 5077-5080 (1988a).

101. Kemp, D. S., & Bowen, B. R., *Tetrahedron Lett.* 29, 5081-5082 (1988b).
102. Kemp, D. S., & Bowen, B. R. *in Protein Volding: Deciphering the Second Half of the Genetic Code* (Gierasch, L. M. & King, J., Eds.) 293-303, AAS, Washington, D. C. (1990).
103. Kemp, D. S., & Curran, T. P., *Tetrahedron Lett.* 29, 4931-4934 (1988a).
104. Kemp, K. S., & Curran, T. P., *Tetrahedron Lett.* 29, 4935-4938 (1988b).
105. Kemp, D. S., Curran, T. P., Boyd, J. G., & Alten, T. J., *J. Org. Chem. 56*, 6672-6682 (1991b).
106. Kemp, D. S., & Rothman, J. H., *in Peptides: Chemistry and Biology, Proceedings of the 12th American Peptide Symposium*, (Smith, J. A. & Rivier, J. E., Eds.) 350-351, ESCOM, Leiden (1992).
107. Kerr, J. M., Hanville, S. C., & Zuckerman, R. N., *J. Am. Chem. Soc.* 155, 2529-2531 (1993).
108. Kim, P. S & Baldwin, R. L., *Nature 307*, 329-334 (1984).
109. Kobayashi, S. V., Caldwell, C. G., Springer, M. S., & Hagmann, W. K. J., *Med. Chem. 35*, 252-258, (1992).
110. Komeiji, Y., Uebayashi, M., Someya, J. -I., & Yamaota, I., *Proteins 16*, 268-277 (1993).
111. Kopple, K. D., Baures, P. W., Dambrosio, C. A., Hughes. J. L., Peishoff. C. E., & Eggleston, D. S., *J. Am. Chem.* Soc. 114, 9615-9623 (1992).
112. Lam, K. S., Hruby, V. J.,Lebl., M., Knapp, R. J., Kazmierski, W. M., Hersh, M., & Salmon, S. E, *Bioorg. Med. Chem. Lett., 3*, 419-424 (1993).
113. Landau, N. R., Warton, M., & Littman, D. R., *Nature 334*, 159-162 (1988).
114. Lanza, T. J., Durette, P. L., Rollins, T., Siciliano, S., & Cianciarulo, D. N. *J., Med. Chem. 35*, 252-258 (1992).
115. Lewis, P. N., Momany, F. A., & Sheaga, H. A., *Biochim. Biophys. Acta. 303*, 211-229 (1973).
116. Landon, R. E., Stewart, J. M., & Cann, J. R., *Biochem. Pharmacol. 40*, 41-48 (1990).
117. Lowe, J. A., Drozda, S. E., Snider, R. M., Longo, K. P., & Rizzi, J. P., *Bioorg., Med. Chem. Lett.* 3, 921-924 (1993).
118. Manavlan, P. & Momany, F. A., *Biopplymers* 19, 1943-1973 (1980).
119. Mansoru, A., Khachturian, H., Lewis, M. E., Akil, H., & Watsonm, S. J., *Trends Neurosci.* 11, 308-314 (1988).
120. Mantlo, N. B., Kim, D., Ondeyka, D., Chang. R.S., L., Kivlighn, S. D., Siegl, P. K. S, & Greenlee, W. J., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 4*, 14-22 (1994).
121. Marshall, G. R.,Clark. J. D., Dunbar J. B.,Smith, G. D., Zabrocki, J., Redlinski, A. S., & Lipplawy, M. R., *Int. J. Pept. Prot. Res. 32*, 544-555 (1988).
122. Marshall, G. R., Gorin, F. A., & Moore M. L., *Annu. Rev. Med. Chem.* 13, 227-238 (1978).
123. Martin, A. C. R., Cheetham, J. C., & Ress, A. R., *RNAS 86*, 9628-9272 (1989).
124. Martin, S.F., Austin, R. E., Oalmann, C. J., Baker, W. R., Condon, S. L., Delara, E, Rosenberg, S. H., Spina, K. P., Stein, H. H., Cohen, J., Kleienrt, H. D., *J. Med. Chem. 35*, 1710-1721

(1992).
125. McDowell, R. S. & Gadek, T. R., *J. Am. Chent. Soc. 114*, 9245-9253 (1992).
126. Merrifield, R. B., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 24*, 799-810 (1985).
127. Miklavc, A., Kocjan, D., Avbelj, F., & Hadzi, D., in *QSAR in Drug Design and ToxiCology* (Hadzi, D. and Jerman-Blazic, B., Eds) 185-190, Amsterdam (1987).
128. Milner-White, E. J., Ross, B. M., Ismail, R., Beinadj-Mostefa, K., & Poet, R. *J. of Mol. Biol. 204*, 777-782 (1988).
129. Morley, J., *Annu. Rev. Pharmaco. Toxicol. 20*, 81-110 (1980).
130. Mosberg, H. L., Sobczyk-Kojiro, K., Subramanian, P., Crippen, G. M., Ramalingam, K., & Woodard, R. W., *J. Am. Chem. Soc. 112*, 822-829 (1990).
131. Muller, K.,Obrecht, D., Knierzingr, A., Stankovic. C., Spiegler, C., Bannwath, W., Trzeciak, A., Englert, G., Labhardt, A. M & Schönholzer, P., in *Perspectives in Medicinal Chemistry* (Testa, B., Kuburz, E., Fuhrer, W., & Giger, R., Eds.) pp 513-531, Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel. (1993).
132. Nagai, U. & Sato, K., *Tetrahedron Lett. 26*, 647-650 (1985).
133. Nagaraj, R. & Balaram, P., *FEBS. Lett. 96*, 273-276 (1978).
134. Needels, M. C., Jones, D. G., Tate, E. H., Heinkel, O. L., Kochersperger, L. M., Dowler, W. J., Barrett, R. W., & Gallop, M, A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90*, 10700-10704 (1993).
135. Nicolaou, K. C., Salvino, J. M., Raynor, K., Pietranico, S., Reisine, T., Feidinger, R. M., & Hirschmann, R., *Pept. Chem. Struct. Biol. Proc. Am. Pept. Symp. 11th*, 881 (1990)
136. Nielsen, J., Brenner, S., & Janda, K. D., *J. Am. Chem. Soc. 115*, 9812-9813 (1993).
137. Nowick, J. S., Powell, N. A., Martinez, E. J., Smith, E. M., & Noronha, G., *J. Org. Chem. 57*, 3763-3765 (1992).
138. Ohlmeyer, M. H. J., Swanson, R. N., Dillard, L. W., Reader, J. C., Asouline, G., Kobayashi, R., Wigler, M., & Still, C. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90*, 10922-10926 (1993).
139. Otsubo, K., Morita, S., & Uchida, M., *Bioorg. Med. Chem. Letts. 3*, 1633-1636 (1993).
140. Padmanabhan, S. & Baldwin, R. L., *J. Mol. Biol. 219*, 135-137 (1991).
141. Padmanabhan, S. Marquses, S., Ridgeway, T., Laue, T. M., & Baldwin, R. L., *Nature 344*, 268-270 (1990).
142. Pardi, A., Billeter, M., & Wuthrich, K., *J. Mol. Biol. 180*, 741-751 (1984).
143. Paterson, Y., Rumsey, S. M., Benede- tti, E., Nemethy, G., & Scheraga, H. A., *J. Am. Chem. Soc. 103*, 2947-2955 (1981).
144. Pauling, L., Corey, R. B., & Branson, H. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 37*, 205-211 (1951).
145. Pavone, V., Lambardi, A., D'Auria, G., Saviono, M., Nastri, F., Paolillo, L., DiBlasio, B., Pedone, C., *Biopolymers 32*, 173-183 (1992).
146. Perczel A., McAllister, M. A., Csaszar, P., & Csaszar, I. G., *J. Am. Chem. Soc. 114*, 4849-4858 (1993).
147. Pettitt, B. M., Matsunaga, T., Al-Obeidi, F., Gehrig, C., Hruby, V. J., & Karplus, M., *Biophys. J. 60*, 1540-

1544 (1991).

148. Picone, D., D'Ursi, A., Motta, A., Tacredi, T., & Temussi, P. A., *Eur. J. Biochem. 192*, 433-439 (1990).
149. Pierson, M. E., & Freer, R. J., *Pept. Rse. 5*, 102-105 (1992).
150. Portoghese, P. S., Sultana, M., Nagase, H., & Takemori, A. E., *J. Med. Chem. 31*, 281-282 (1988).
151. Presta, L. G., & Rose, G. D., *Science*. 240, 1632-1641 (1988).
152. Rapaka, R. S., Barnett, G., & Hawks, R. L., Eds., in *Opioid Peptides: Medicinal Chemistry*, NIDA Research Monograph 69, Rockville, MD. (1986).
153. Raymond, M. & Gros, P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86*, 6488-6492 (1989).
154. Reed, J., Hull, W. E., von der Lieth, C. W., Kubler, D., Suhai, S., & Kinzel., V., *Eur. J. Biochem. 178*, 141-154 (1988).
155. Reed, L. L., & Johnson, P. L., *J. Am. Chem. Soc. 95*, 7523-7524 (1973).
156. Rodriguez, M., Heitz, A., & Martinez, J., *Tetrahedron Lett. 31*, 7319-7322 (1990).
157. Roques, B. P., Garbary-Jaureguiberry, C., Oberlin, R., Anetunis, M., & Lala, A. K., *Nature 262*, 778-779 (1976).
158. Rose, G. D., Gieasch, L. M., & Smith, J. A., *Adv. Protein Chem. 37*, 1-109 (1985).
159. Salituro, G. M., Pettibone, D. J., Clineschmidt, B. V., Williamson, J. M., & Zink, D. L., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 3*, 337-340 (1993)
160. Salzmann, T. N., Ratcliff, R. W., Christensen, B. G., & Boufard, F. A., *J. Am. Chem. Soc. 102*, 6161-6163 (1980).
161. Samanen, J., Cash, T., Narindray, D., Brandeis, E., Adams, Jr., W., Weideman, H., & Yellin, T., *J. Med. Chem. 34*, 3036-3043 (1991).
162. Saragovi, H. U., Fitzpatrick, D., Raktabutr, A., Nakanishi, H., Kahn, M., & Gren, M. I., *Science 253*, 792-795 (1991).
163. Sato, M., Lee, J. Y. H., Nakanishi, H., Johnson, M. E., Chrusciel, R. A., & Kahn, M., *Biochem. Biophys. Res. Commun. 187*, 999-1006 (1992).
164. Schiller, P. W., in *The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology, 6.* (Udenfired, S. & Meienhofer, J., Eds.) pp 219-268, Academic Press, Orlando, FL. (1990).
165. Schiller, P. W., & Dimaio, J., in *Peptides: Structure and Function* (Hruby, V. J., & Rich, D. H., Eds.) pp 269-278, Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois. (1983).
166. Schramm, H. J., Nakashima, H., Sch- ramm, W., Wakayama, H., & Yama- moto, N., *Biochem. Biophys. Res. Co- mmun. 179*, 847-851 (1991).
167. Schramm, H. J., Billich, A., Jaeger, E., Rucknagel, K. -P., Arnold, G., & Schramm, W., *Biochem. Biophys. Res. Commun. 194*, 595-600 (1993).
168. Shoemakrer, K. R., Kim, P. S., York, E. J., Stewart, J. M., & Baldwin, R. L., *Natue 326*, 563-567 (1987).
169. Simon, R. J., R. S., Zuckerman, R. N., Huebner, V. D., Jewell, D. A., Banville, S., Ng, S., Wang, L., Rosenberg, S., Marlowe, C. K., Spellmeyer, D. C., Tan, R., Frankel, A. D., Santi, D. V., Cohen, F. E., & Bartlett, P.

A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89*, 9376-9371 (1992).

170. Smith, Ill, A. B., Hirschmann. R., Pasternak, A., Akaishi, R., Guzman, M. C., Jones, D. R., Keenan, T. P., Sprngeler, P. A., Darke, P. L., Emini, E. A., Holloway, M. K., & Schlei, N. A., *J. Med. Chem. 37*, 215-218 (1994).
171. Smith, Ill, A. B., Holcomb, R. C., Guzman, M. C., Kennan, T. P., Spengeler, P. A., & Hirschman, R., *Tetahedron Lett. 34*, 63-66 (1993b)
172. Smith, Ill, A. B., Kenan, T. P., Holcomb, R. C., Spengler, P. A., Guzman, M. C., Wood, J. L., Carroll, P. J., & Hirschmann, R., *J. Am. Chem. Soc. 114*, 10672-10674 (1992).
173. Smith, P. R., Dana, L. X., & Pettitt, B. M., *J. Am. Chem. Soc. 113*, 67-73 (1991)
174. Smith, R. G., Cheng, K., Schoen, W. R., Pong, S. S., Hickey, G., Jack, T., Butler, B., Chan, W. W., Chaung, L. P., Judith, F., Taylor, J., Wyvratt, M. J., & Fisher, M. H., *Science 260*, 1640-1643 (1993a)
175. Snider, R. M., Pereira, D. A., Longo, K. P., Davidson, R. E., Vinick, F. J., Laitinen, K., Gene-Sehitoglu, E., & Crawly, J. N., *Bioorg. Med. Chem. Letts. 2*, 1535-1540 (1992).
176. Spaltenstein, A., Carpino, P. A., Miyake, F., & Hopkins, P. B., *J. Org. Chem. 52*, 3759-3766 (1987).
177. Spatola, A. F., & Edwards, J. V., *Biopolymers 25*, S229-244 (1986).
178. Srenivasan U., Mishra, R. K., & Johnson, R. L., *J. Med. Chem. 36*, 256-263 (1993).
179. Subashimghe, N. L., Bontems, R. J., McIntee, E., Mishra, R. K., Johnson, R. L., *J. Med. Chem. 36*, 2356-2361 (1993).
180. Still, W. C., Tempczyk, A., Hawley, R. C., & Hendickson, T., *J. Am. Chem. Soc. 112*, 6127-6129 (1990).
181. Stroup, A. N., Rockwell, A. L., Gierasch, L. M., *Biopolymers 32*, 1713-1725 (1992).
182. Su., T., Nakanishi, H., Xue, L., Chem, B., Tuladhar, S., Johnson, M. E., & Kahn, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 835-840 (1993).
183. Swain C. J., Seward E. M., Sabin, V., Owen, S., Baker, R., Cascieri, M. A., Sadowski, S., Strader, C., Ball, R. G., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 3*, 1703-1706 (1993).
184. TenBrink, R. E., *J. Org. Chem. 52*, 418-422 (1987).
185. Thaisrivongs, S., Tomaselli, A. G., Moon, J. B., Hui, J., McQuade, T. J., Turner, S. R., Strohbach, J. W., Ho- we, W. J., Tarpley, W. G., & Heinrik- son, R. L., *J. Med. Chem. 4*, 2344- 2356 (1991).
186. Toniolo, C., *Int. J. Pept. Res. 35*, 287-300 (1990).
187. Toniolo, C., & Benedetti, E., *Trends Biochem. Sci. 16*, 305-353 (1991).
188. Toniolo, C., Crima, M., Formaggio, F., Valle, G., Cavicchioni, G., Precigoux, G., Aubry, A., Kamphuis, J., *Biopolymers 33*, 1061-1072 (1993).
189. Tourwe, D., Couder, J., Ceusters, M., Mert, D., Burds, T. F., Kramer, T. H., Davis, P., Knapp, R., Yamamura, H. I., Leysen, J. E., & Van Binst, G., *Int. J. Pept. Prot. Res. 39*, 131-136

(1992).
190. Tsang, K. Y., Diaz, H., Graciani, N., & Kelly, J. W., *J. Am. Chem. Soc. 116*, 3988-4005 (1994).
191. Tung, R. D., Dhaon, M. K., Rich, D. H., *J. Org. Chem. 51*, 3350-3354 (1986).
192. Valentine, J. J., Nakanishi, S., Hageman, D. L., Snider, M. R., Spencer, R. W., & Vinick, F. J., *Bioorg. Med. Chem. Lett. 2*, 333-338 (1992).
193. Vara Prasad, J. V. N., & Rich, D. H., *Tetahedron. Lett. 31*, 1803-1806 (1990).
194. Veber, D. F., Holly, F. W., Paleveda, W. J., Nutt, R. F., Bergstand, S. J., Torchiana, M., Glitzer, M. S., & Saperstein, R., *Nature 280*, 512-514 (1979).
195. Venkatachalam, C. M., *Biopolymers 6*, 1425-1436 (1968).
196. De Vos, A. M., Ultsch, M., Kossiakoff, A. A., *Science 255*, 306-312 (1992).
197. Waksman, G., *Nature, 358*, 646-653 (1992).
198. Ward, W. H. J., Timms, D., & Fersht, A. R., *Trends Pharmacol. Sci. 11*, 280-284 (1990).
199. Wasserman, H. H., *Aldrichim. Acta. 20*, 63-74 (1987).
200. Watling, K. J., *Trends Pharmacol. Sci.* 13, 266-269 (1992).
201. William, R. M., Lee, B. H., Miller, M. M., & Andeson, O. P., *J. Am. Chem. Soc. 111*, 1063-1083 (1989).
202. Wilmot, C. M., & Thornton, J. M., *J. Mol. Biol. 203*, 221-232 (1988).
203. Wilmot, C. M., & Thornton, J. M., *Protein Eng. 6*, 479-493 (1990).
204. Yamazaki, T., Ro. S., Goodman, M., Chung, N. N., & Schiller, P. W., *J. Med. Chem. 36*, 708-719 (1993).
205. Yous, S., Andrieux, I., Howell, H. E., Morgan, P. J., Renard, P., Pfeiffer, B., Lesieur, D., & Guardiola-Lemaite, B., *J. Med. Chem. 35*, 1484-1486 (1992).
206. Yu, K. L., Fajakumar, G., Srivastava, L. K., Mishra, R. K., & Johnson, R. L., *J. Med. Chem. 31*, 430-436 (1988)