

Orale Desinfektionsmittel inhibieren Protein-Protein-Wechselwirkungen des antiapoptotischen Proteins Bcl-x_L und induzieren Apoptose in humanen oralen Tumorzellen**

Martin Gräber, Michael Hell, Corinna Gröst, Anders Friberg, Bianca Sperl, Michael Sattler und Thorsten Berg*

In den letzten Jahren wurden auf dem Gebiet der niedermolekularen Inhibitoren von Protein-Protein-Wechselwirkungen große Fortschritte erzielt, die das ungemein große Potenzial des Ansatzes für die Grundlagenforschung und die angewandte Forschung in das Zentrum des allgemeinen Bewusstseins gerückt haben.^[1] Einige der besten orthosterischen Inhibitoren von Protein-Protein-Wechselwirkungen^[2–5] werden derzeit in klinischen Studien getestet. Wir berichten hier, dass die Bisbiguanide Chlorhexidin^[6] (aktiver Bestandteil der kommerziellen Präparate Chlorhexamed, Chlorhexal, Periogard, Corsodyl und Chlorohex) und Alexidin^[7] (Esement), die seit vielen Jahren als orale Desinfektionsmittel im weltweiten menschlichen Gebrauch sind, die krebsrelevanten Protein-Protein-Wechselwirkungen zwischen dem antiapoptotischen Bcl-2-Protein Bcl-x_L und seinen proapoptotischen Bindungspartnern inhibieren. Die Verbindungen induzieren Apoptose in oralen Tumorzelllinien über den mitochondrialen Signalweg.

Unsere Untersuchung basierte auf der Annahme, dass niedermolekulare Verbindungen, die bereits als Wirkstoffe für andere Zielstrukturen zugelassen sind, bis dato unbekannte Aktivitäten gegenüber Protein-Protein-Wechselwirkungen^[8] in ihrem therapeutischen Konzentrationsbereich aufweisen könnten.^[9] Um diese Hypothese an einer für die menschliche Gesundheit relevanten Protein-Protein-Wechselwirkung zu überprüfen, konzentrierten wir uns auf die Wechselwirkung zwischen dem antiapoptotischen Bcl-2-Fa-

milienmitglied Bcl-x_L und dessen proapoptotischem Bindungspartner Bad aus derselben Proteinfamilie. Die Wechselwirkung zwischen Bcl-x_L und proapoptotischen Bcl-2-Proteinen hat bereits beträchtliche Aufmerksamkeit von Tumorbiologen und Medizinalchemikern auf sich gezogen.^[2,10–12]

Eine aus 4088 Verbindungen bestehende Substanzbibliothek, die einen großen Anteil von klinisch genutzten kleinen Molekülen enthielt, wurde in einem Bindungsassay auf der Basis der Fluoreszenzpolarisation nach Inhibitoren der Wechselwirkung von Bcl-x_L und einem von der Bad BH3-Domäne abgeleiteten Peptid durchmustert ($Z' = 0.64 \pm 0.11$; siehe Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen).^[13] Die dabei als aktiv erkannten Verbindungen (Screeningkonzentration: ca. 50 μM) wurden anschließend auf ihre Aktivitäten gegenüber anderen Protein-Protein-Wechselwirkungen aus einer vorangegangenen Screeningstudie überprüft.^[14] Durch dieses Vorgehen wurden Chlorhexidin (**1**) und Alexidin (**2**; Abbildung 1 A) als potenziell selektive Inhibitoren der Bcl-x_L/Bad-Wechselwirkung identifiziert (Abbildung S2). Die robotergestützte wiederholte Analyse bestätigte die dosisabhängige Inhibition der Bindung zwischen Bcl-x_L und Bad, sowie auch zwischen Bcl-x_L und Bak, durch **1** und **2** mit ähnlichen Aktivitäten (Abbildung S3). Für die folgenden Studien wurde aufgrund des größeren Assayfensters die Wechselwirkung zwischen Bcl-x_L und Bak anstelle der Wechselwirkung zwischen Bcl-x_L und Bad analysiert. Die

[*] Dr. M. Gräber,^[‡] M. Sc. C. Gröst,^[‡] Prof. Dr. T. Berg
Institut für Organische Chemie, Universität Leipzig
Johannisallee 29, 04103 Leipzig (Deutschland)
E-Mail: tberg@uni-leipzig.de
Homepage: <http://www.uni-leipzig.de/~tberg>

Dr. M. Gräber,^[‡] Dipl.-Chem. M. Hell,^[‡] B. Sperl, Prof. Dr. T. Berg
Abteilung für Molekularbiologie, Max-Planck-Institut für Biochemie
und Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM)
Am Klopferspitz 18, 82152 Martinsried (Deutschland)

Dipl.-Chem. M. Hell^[‡]
Institut für Molekulare Gesundheitswissenschaften, ETH Zürich
Schafmattstrasse 22, 8093 Zürich (Schweiz)

Dr. A. Friberg,^[§] Prof. Dr. M. Sattler
Institut für Strukturbioogie, Helmholtz-Zentrum München
Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg (Deutschland)
und

Munich Center for Integrated Protein Science
Lehrstuhl für biomolekulare NMR-Spektroskopie
Department Chemie, Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85747 Garching (Deutschland)

[§] Derzeitige Adresse: Department of Biochemistry
Vanderbilt University School of Medicine
Nashville, TN 37232-0146 (USA)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Diese Arbeit wurde großzügig unterstützt durch die Abteilung für Molekularbiologie (Direktor: Prof. Dr. Axel Ullrich) am Max-Planck-Institut für Biochemie (MPIB), das BMBF (NGFN-2, Förderkennzeichen 01GS0451), die Deutsche Krebshilfe (Förderkennzeichen 108614) und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Förderkennzeichen BE 4572/1-1). Wir danken Prof. Ho Sup Yoon (Nanyang Technological University, Singapore) für das Bcl-x_L-Plasmid und die Zuordnung der NMR-Signale der Proteinhauptkette. Wir danken außerdem Judith Müller (MPIB) und den Mitarbeitern des MPIB für experimentelle Unterstützung, und Angela Hollis für das kritische Lesen des Manuskriptes. Wir danken Prof. Dr. Wilhelm Krek (ETH Zürich) für die Unterstützung der Arbeiten von M.H.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201208889> zu finden.

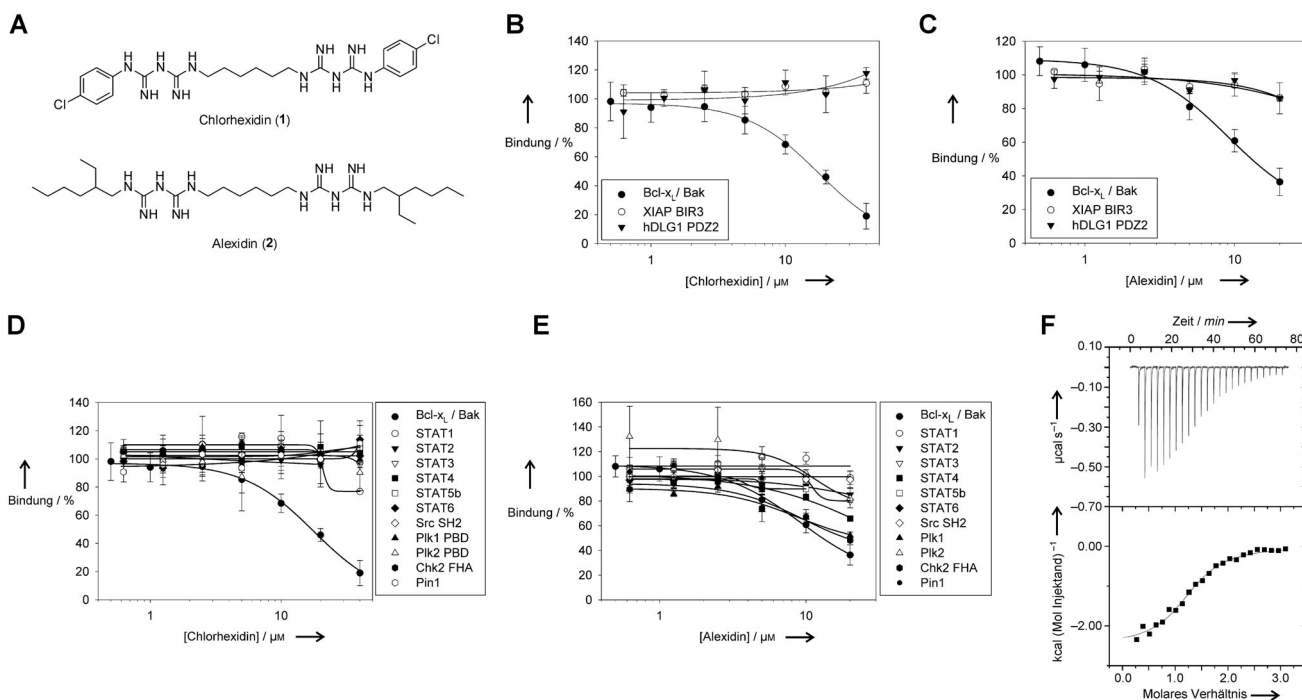
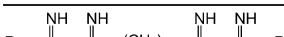

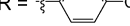
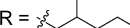


Abbildung 1. Chlorhexidin und Alexidin inhibieren die von Bcl-x_L vermittelten Protein-Protein-Wechselwirkungen. Für den Assay wurde die Deletionsmutante Bcl-x_L Δ45–84 verwendet, in der die für die antiapoptotische Aktivität von Bcl-x_L nicht relevante, flexible Region entfernt ist.^[18,19] A) Strukturen von Chlorhexidin und Alexidin. Aktivitätsprofil von B) Chlorhexidin und C) Alexidin gegen Bcl-x_L, die BIR3-Domäne von XIAP und die zweite PDZ-Domäne von hDLG1. Aktivitätsprofil von D) Chlorhexidin und E) Alexidin gegenüber phosphorylierungsabhängigen Protein-Protein-Wechselwirkungen. F) Analyse der Bindung von Chlorhexidin an Bcl-x_L mit ITC. Parameter des unteren Diagramms: $N = (1.28 \pm 0.0278)$ Stellen; $K = (9.05 \pm 1.31) \times 10^4 \text{ m}^{-1}$; $\Delta H = -(2493 \pm 78.14) \text{ cal mol}^{-1}$; $\Delta S = 14.2 \text{ cal mol}^{-1} \text{ deg}^{-1}$.

manuelle Validierung der Substanzen **1** und **2** bestätigte deren Aktivitäten im unteren mikromolaren Konzentrationsbereich (IC₅₀-Werte: Chlorhexidin: (21.0 ± 1.0) µM; Alexidin: (18.2 ± 1.6) µM; Abbildung 1 B,C, Tabelle 1) und Tabelle S1). Diese Werte liegen deutlich unterhalb des Konzentrationsbereichs des oralen Desinfektionsmittels Chlorhexidin (**1**), das als Digluconat in 0.1 %-iger und 0.2 %-iger Lösung (w/v) eingesetzt wird, entsprechend einer Konzentration von 1.1 mM und 2.2 mM. Die Wirksamkeit von Alexidin (**2**) als Desinfektionsmittel wurde oft bei einer Konzentration von 0.035 % (w/v, in Form des Dihydrochlorids), entsprechend 600 µM, gezeigt.^[15] Daher sind die Konzentrationen von Chlorhexidin und Alexidin, die in Mundspüllösungen genutzt werden, vermutlich mehr als ausreichend, um Bcl-x_L in den oberflächensexponierten Zellen in der Mundhöhle zu inhibieren.

Tabelle 1: Inhibitorische Aktivitäten der Bisbiguanide **1–3** auf die Wechselwirkung zwischen Bcl-x_L und einem von Bak abgeleiteten BH3-Peptid, analysiert im Fluoreszenzpolarisationsassay.

		Aktivität
1		IC ₅₀ = (21.0 ± 1.0) μM
2		IC ₅₀ = (18.2 ± 1.6) μM
3		(28 ± 2) % Inhibition bei 100 μM

Zur Kontrolle der Spezifität der beiden Verbindungen wurden diese zunächst auf ihre Aktivitäten gegenüber Protein-Protein-Wechselwirkungen getestet, die über die BIR3-Domäne von XIAP^[16] und die zweite PDZ-Domäne von hDLG1 vermittelt werden.^[17] Keine der beiden Protein-Protein-Wechselwirkungen wurden durch die Bisbiguanide signifikant inhibiert (Abbildung 1 B, C). Daraufhin wurde eine ausführliche Spezifitätsanalyse gegen eine aus elf Mitgliedern bestehende Kollektion phosphorylierungsabhängiger, strukturell diverser Protein-Protein-Wechselwirkungen durchgeführt.^[14] Diese Experimente bestätigten Chlorhexidin als spezifischen Inhibitor der von Bcl-x_L vermittelten Bindung, und zeigten für Alexidin noch andere, aber schwächere Aktivitäten auf (Abbildung 1 D,E). Noch eingehendere Spezifitätsanalysen zeigten, dass auch manche andere antiapoptotische Bcl-2-Proteine durch Chlorhexidin und Alexidin in unterschiedlichem Maße inhibiert werden (Abbildung S4), was in Anbetracht der redundanten Funktionen antiapoptotischer Bcl-2-Proteine vorteilhaft ist.

Auf Grund seines engeren Selektivitätsprofils wurde Chlorhexidin für die thermodynamische Analyse der Bindung der Substanzen an Bcl-x_L durch isotherme Titrationskalorimetrie (ITC) ausgewählt (Abbildung 1 F). In Übereinstimmung mit der Aktivität aus dem Inhibitionsassay wurde mittels ITC eine Dissoziationskonstante (K_d) von $(10.4 \pm 0.7) \mu\text{M}$ bestimmt. Die Bindung an Bcl-x_L wird sowohl durch eine enthalpische Komponente ($\Delta H = -(2.25 \pm 0.25) \text{ kcal mol}^{-1}$) als auch durch eine entropische Komponente ($\Delta S = 16.0 \pm$

1.7 cal mol⁻¹ deg⁻¹) vermittelt. Diese Daten weisen auf eine Kombination elektrostatischer und hydrophober Wechselwirkungen zwischen dem Protein und der organischen Substanz hin.

Zur Ermittlung der Bindungsstelle von Chlorhexidin und Alexidin an Bcl-x_L wurden ¹H,¹⁵N-HSQC-Experimente mit demselben Proteinkonstrukt durchgeführt, das bereits zur NMR-basierten, strukturellen Charakterisierung der Bcl-x_L/Bak-Wechselwirkung verwendet wurde.^[18] Diesem Proteinkonstrukt fehlt die aus den Aminosäuren 45–84 bestehende ungefaltete Region, die nicht für die antiapoptotische Aktivität von Bcl-x_L erforderlich ist, und die C-terminale Transmembrandomäne.^[18,19] Beide Verbindungen führen zu beträchtlichen Veränderungen der chemischen Verschiebungen von zu großen Teilen identischen Amidresonanzen (siehe Abbildung 2A–C sowie die Abbildungen S5 und S6). Die beobachteten spektralen Änderungen können durch die Bindung der kleinen Moleküle in die hydrophobe BH3-Bindungstasche von Bcl-x_L, in ähnlicher Weise wie BH3-Domänen-Peptide, erklärt werden. Die stärksten Veränderungen der chemischen Verschiebungen traten in den Helices α2–α5 auf, welche die Bindungstasche für von BH3-Domänen abgeleitete Peptide oder für niedermolekulare Verbindungen bilden (Abbildung S7).^[18] Daher liegt es nahe, dass die beiden Verbindungen ebenfalls in die hydrophobe BH3-Bindungs-

tasche von Bcl-x_L binden. Diese Daten sind konsistent mit der in den Fluoreszenzpolarisationsassays durch die kleinen Moleküle hervorgerufenen Verdrängung von BH3-Domänen-Peptiden aus der Bcl-x_L-Bindungstasche (siehe Abbildung 1B,C sowie Abbildung S3). Aminosäuren mit starken Veränderungen der chemischen Verschiebungen sind unter anderem Phe146, Val126, Glu129, Leu108, Asn136 und Gly94 (siehe Abbildung 2C und Abbildung S6). Die ersten vier dieser Aminosäuren sind Teil einer hydrophoben Tasche, in welche gemäß einer Röntgenkristallstrukturanalyse^[20] der Bcl-x_L-Inhibitor ABT-737^[11] bindet (siehe Abbildung 2D und Abbildung S7C). Interessanterweise sagten molekulare Dockingexperimente mit AutoDockVina voraus,^[21] dass einer der beiden 4-Chlorphenyl-Ringe des Chlorhexidins in die gleiche hydrophobe Tasche von Bcl-x_L bindet wie der 4-Chlorbiphenyl-Rest von ABT-737.

Der durch die molekularen Dockingstudien vorgeschlagene Bindungsmodus wurde durch chemische Synthese und biochemische Untersuchung von Analoga hinterfragt. Das Entfernen der Chloratome des Chlorhexidin (**1**) wie im Deschlorohexidin (**3**) führte zu einer starken Verringerung der Bindungsaffinität (Tabelle 1). Die im Zuge der Erstellung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen gesammelten Daten zeigen, dass geeignete hydrophobe Wechselwirkungen durch die äußeren Substituenten an den Biguaniden für die Bindung an

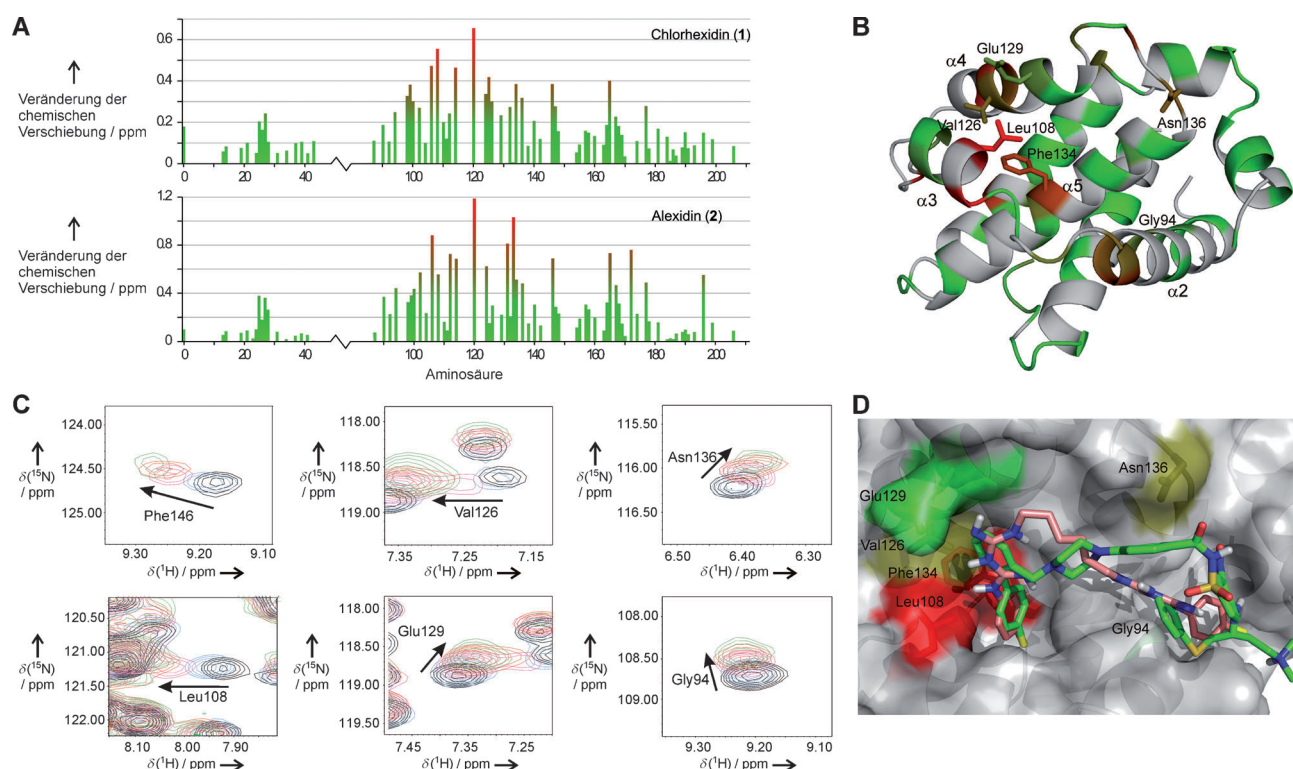


Abbildung 2. Nachweis der Bindung von Chlorhexidin (**1**) und Alexidin (**2**) an Bcl-x_L Δ45–84 durch NMR-Titrations. A) Veränderungen der chemischen Verschiebungen in ¹H,¹⁵N-HSQC-NMR-Experimenten durch Bindung von **1** (obere Reihe) und **2** (untere Reihe) an Bcl-x_L. B) Graphische Darstellung der Veränderungen der in A) gezeigten chemischen Verschiebungen für **1** in der Struktur von ungebundenem Bcl-x_L (PDB-Eintrag: 1MAZ).^[19] Die Grafik wurde mit PyMOL^[22] erzeugt. C) Die Amidresonanzen von Phe146, Val126, Leu108, Glu129, Asn136 und Gly94 in ¹⁵N-markiertem Bcl-x_L Δ45–84 (100 μM) in Abwesenheit von **1** (schwarz) zeigen starke und Dosis-abhängige Veränderungen der chemischen Verschiebungen bei Zugabe von **1** (50 μM, blau; 100 μM, magenta; 200 μM, orange; 400 μM, grün). D) Überlagerung der Dockingpose von **1** (Kohlenstoffatome rosafarben dargestellt) mit der Cokristallstruktur von ABT-737 (Kohlenstoffatome grün dargestellt) gebunden an Bcl-x_L (PDB-Eintrag: 2YXJ).^[20] Aminosäuren, für die Veränderungen der chemischen Verschiebungen in (C) gezeigt sind, sind wie in (B) eingefärbt.

Bcl-x_L notwendig sind, und dass kürzere Linkereinheiten zwischen den beiden Biguaniden gut toleriert werden (Tabelle S1).

Da die in vielen Tumorzellen vorliegende Überexpression von Bcl-x_L deren Apoptoserate verringert, wurde die Wirkung von **1** und **2** auf die Apoptoserate von Tumorzellen aus oralen Geweben näher untersucht. Deschlorohexidin (**3**) diente aufgrund der hohen strukturellen Ähnlichkeit zum spezifischeren Inhibitor **1** und seiner signifikant geringeren Aktivität *in vitro* als Negativkontrolle. Drei Plattenepithelkarzinom-Zelllinien der Zunge (SCC-4, SCC-9, SCC-15) und zwei Rachenkarzinom-Zelllinien (FaDu und Detroit 562) wurden mit den beiden Verbindungen behandelt, und die durch irreversiblen DNA-Abbau gekennzeichnete Apoptose mittels TUNEL-Assay visualisiert (Abbildung 3A). Sowohl **1** als auch **2**, aber nicht die Negativkontrolle **3**, induzierten die für die Apoptose charakteristischen DNA-Strangbrüche in allen fünf Zelllinien (siehe Abbildung 3B,C und Abbildung S9).

Antiapoptotische Proteine der Bcl-2-Familie wie Bcl-x_L inhibieren den intrinsischen Apoptoseweg durch Bindung

und Blockierung proapoptotischer Bcl-2-Proteine. Kleine Moleküle, die eine Aufhebung der Inhibition durch die antiapoptotischen Bcl-2 Proteine bewirken, ermöglichen die Oligomerisierung der proapoptotischen Bcl-2 Proteine Bak und Bax, die in der Mitochondrienmembran lokalisiert sind. Dadurch kommt es zur Depolarisierung der Mitochondrienmembran und Induktion der Apoptose über den intrinsischen Signalweg. Um zu klären, ob die durch Chlorhexidin und Alexidin induzierte Apoptose über diesen intrinsischen Signalweg verläuft, wurde ein mitochondrialer Membrandepolarisierungs-Assay mit denselben fünf Tumorzelllinien durchgeführt, die auch für den TUNEL-Assay verwendet wurden. Der Membrandepolarisierungs-Assay beruht auf der Tatsache, dass der kationische Farbstoff Tetramethylrhodaminethylester (TMRE) in Zellen mit intakten, aktiven Mitochondrien schnell akkumuliert, nicht aber in apoptotischen Zellen mit depolarisierter Mitochondrienmembran (Abbildung 4A). **1** und **2** bewirkten eine starke Reduktion der TMRE-Einlagerung, die durch Depolarisierung der Mitochondrienmembran und darauffolgende Induktion der Apoptose durch die Substanzen erklärt werden kann (siehe Abbildung 4B,C und Abbildung S10). Dagegen verursachte Deschlorohexidin (**3**), das *in vitro* eine geringe Aktivität gegenüber Bcl-x_L aufweist, nur eine deutlich geringere Reduktion der TMRE-Einlagerung.

Um weitere Belege dafür zu erbringen, dass die Induktion der Apoptose in den Tumorzellen zumindest teilweise durch die Inhibition der Bcl-x_L/Bak-Wechselwirkung hervorgerufen wird, wurde ein Coimmunpräzipitations-Assay in FaDu-Zellen durchgeführt (Abbildung S11). Dieser Assay bestätigte, dass sowohl **1** als auch **2** die Bindung zwischen Bcl-x_L und Bak hemmen, wohingegen Verbindung **3** nur einen geringen Einfluss hatte. Die Daten der zellulären Assays belegen die Fähigkeit von **1** und **2** zur Induktion der Apoptose in Tumorzelllinien aus humanen oralen Geweben über den intrinsischen Signalweg und deuten darauf hin, dass dieser Effekt zumindest teilweise durch die Hemmung von Bcl-x_L hervorgerufen wird. Unsere Daten bestätigen frühere Untersuchungen, welche von der Induktion des Zelltodes durch Verbindung **1** in L929-Fibroblasten^[23] sowie der Apoptose-induzierenden Aktivität von **2** auf Tumorzelllinien des Kopf- und Nackenbereiches, einschließlich FaDu-Zellen, berichten.^[24]

Um festzustellen, ob **1** und **2** bevorzugt Tumorzellen gegenüber nichttransformierten Zellen angreifen, wurde ein Zellviabilitäts-Assay an SCC-4- und FaDu-Zellen, sowie an normalen humanen Vorläuferzellen des Zahnfleisches (HGEP) durchgeführt. Die Zellviabilität der beiden getesteten Tumorzelllinien war signifikant stärker durch **1** und **2** beeinträchtigt als die der nichttransformierten Zellen (Abbildung S12). Dies legt nahe, dass es einen therapeutisch brauchbaren Konzentrationsbereich für die beiden Verbindungen geben könnte. Unser Ergebnis ist in Übereinstimmung mit dem beschriebenen Fehlen der Zytotoxizität von **2** gegenüber primären Inselzellen des Pankreas^[25] und der bevorzugten Inhibition von Krebszellen gegenüber nichttransformierten Zellen durch **2**^[24] und bietet eine molekulare Erklärung für die letztere Beobachtung.

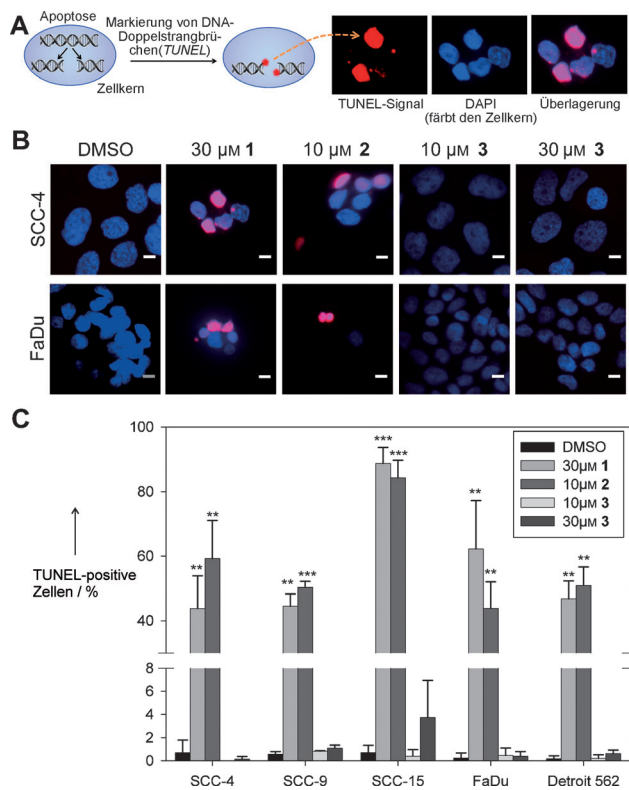


Abbildung 3. Chlorhexidin (**1**) und Alexidin (**2**) induzieren Apoptose in Tumorzelllinien der Zunge und des Rachens, analysiert durch einen TUNEL-Assay. A) Prinzip des TUNEL-Assays. B) Die durch Behandlung der Zellen mit den Verbindungen für 24 h verursachten, für die Apoptose charakteristischen DNA-Strangbrüche sind markiert (rot). Zellkerne wurden mit DAPI angefärbt (blau). Gezeigt sind repräsentative Fluoreszenzbilder. Maßstabsbalken: 10 µm. C) Quantifizierung der in B) und in Abbildung S9 gezeigten Experimente. Die Daten zeigen Durchschnittswerte und Standardabweichungen von im Triplikat durchgeführten Experimenten. Mindestens 100 Zellen wurden pro Experiment und Bedingung analysiert. ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (t-Test gegen DMSO-Kontrolle).

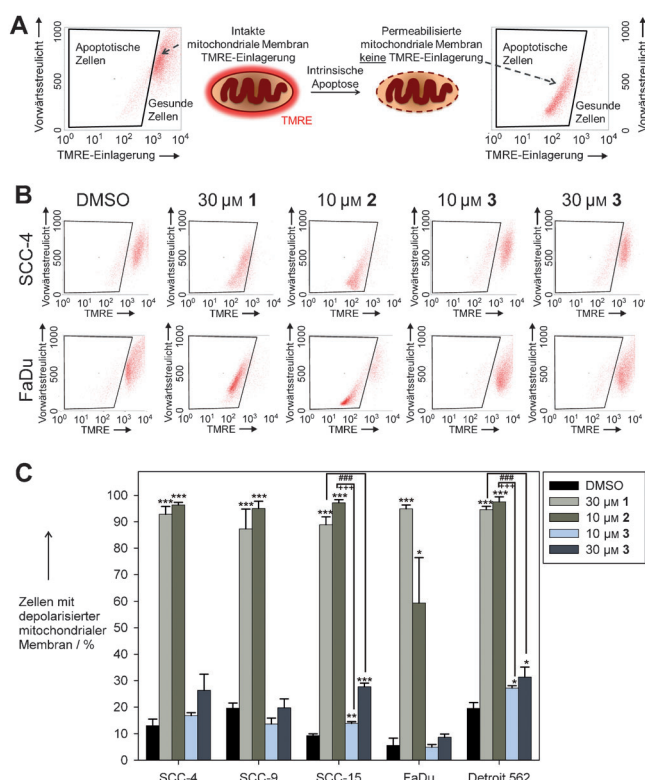


Abbildung 4. Chlorhexidin (1) und Alexidin (2) induzieren die Depolarisierung der Mitochondrienmembran in Tumorzelllinien der Zunge und des Rachens. A) Prinzip des Assays. B) Die mitochondriale Einlagerung des Fluoreszenzfarbstoffes Tetramethylrhodaminethylester (TMRE) ist in Zellen, die 1 und 2 für 24 h ausgesetzt waren, stark reduziert, während die der Substanz 3 ausgesetzten Zellen signifikant geringere mitochondriale Einlagerung von TMRE zeigen. Einzelne Zellen wurden nach TMRE-Gehalt (x-Achse) und Zellgröße (Vorwärtsstreulicht, y-Achse) per Durchflusszytometrie sortiert. Die Experimente wurden im Triplikat durchgeführt; repräsentative Durchflusszytometriebilder sind gezeigt. C) Quantifizierung der in B) und Abbildung S10 gezeigten Experimente. Die Daten bezeichnen Mittelwerte und Standardabweichungen der im Triplikat durchgeführten Experimente. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ (t-Test der Substanzen gegen DMSO-Kontrolle). ### $p < 0.001$ (t-Test von $30 \mu\text{M}$ 1 gegen $30 \mu\text{M}$ 3). +++ $p < 0.001$ (t-Test von $10 \mu\text{M}$ 2 gegen $10 \mu\text{M}$ 3).

Wir haben das antiapoptotische Protein Bcl-x_L als Zielprotein zweier Wirkstoffe aus oralen Desinfektionsmitteln identifiziert. Unserer Kenntnis nach ist dies der erste Bericht, der mittels zellbasierter mechanistischer Daten belegt, dass Substanzen, die in den Industrienationen im gegenwärtigen alltäglichen menschlichen Gebrauch sind, einen hemmenden Effekt auf eine krankheitsrelevante Protein-Protein-Wechselwirkungen im physiologisch relevanten Konzentrationsbereich ausüben können. Unsere Ergebnisse legen Krebserkrankungen als potenzielle neue therapeutische Indikation für bekannte orale Desinfektionsmittel nahe. Während die klinische Zulassung des ersten orthosterischen niedermolekularen Inhibitors einer intrazellulären Protein-Protein-Wechselwirkung noch aussteht, zeigt unsere Entdeckung, dass die Hemmung von Protein-Protein-Wechselwirkungen ein potenzieller Wirkmechanismus mancher bereits verwendeter Therapeutika sein könnte. Wir glauben, dass unsere

Daten einen beträchtlichen Einfluss auf die Wahrnehmung von Protein-Protein-Wechselwirkungen als relevante Zielstrukturen für niedermolekulare organische Moleküle haben werden.

Eingegangen am 6. November 2012,
veränderte Fassung am 24. Dezember 2012
Online veröffentlicht am 19. März 2013

Stichwörter: Apoptose · Inhibitoren · Protein-Protein-Wechselwirkungen · Tumortheraeutika · Wirkstoff-Forschung

- [1] J. A. Wells, C. L. McClendon, *Nature* **2007**, 450, 1001.
- [2] C. Tse, A. R. Shoemaker, J. Adickes, M. G. Anderson, J. Chen, S. Jin, E. F. Johnson, K. C. Marsh, M. J. Mitten, P. Nimmer, L. Roberts, S. K. Tahir, Y. Xiao, X. Yang, H. Zhang, S. Fesik, S. H. Rosenberg, S. W. Elmore, *Cancer Res.* **2008**, 68, 3421.
- [3] M. A. Dechantsreiter, E. Planker, B. Matha, E. Lohof, G. Holzemann, A. Jonczyk, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 3033.
- [4] C. Mas-Moruno, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, 10, 753.
- [5] H. Carol, C. P. Reynolds, M. H. Kang, S. T. Keir, J. M. Maris, R. Gorlick, E. A. Kolb, C. A. Billups, B. Geier, R. T. Kurmasheva, P. J. Houghton, M. A. Smith, R. B. Lock, *Pediatr. Blood Cancer* **2013**, 60, 633.
- [6] G. McDonnell, A. D. Russell, *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, 12, 147.
- [7] F. L. Rose, G. Swain, *J. Chem. Soc.* **1956**, 4422.
- [8] P. Filippakopoulos, S. Picaud, O. Fedorov, M. Keller, M. Wrobel, O. Morgenstern, F. Bracher, S. Knapp, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 1878.
- [9] J. P. Overington, B. Al-Lazikani, A. L. Hopkins, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, 5, 993.
- [10] G. Lessene, P. E. Czabotar, P. M. Colman, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, 7, 989.
- [11] T. Oltersdorf, S. W. Elmore, A. R. Shoemaker, R. C. Armstrong, D. J. Augeri, B. A. Belli, M. Bruncko, T. L. Deckwerth, J. Dinges, P. J. Hajduk, M. K. Joseph, S. Kitada, S. J. Korsmeyer, A. R. Kunzer, A. Letai, C. Li, M. J. Mitten, D. G. Nettesheim, S. Ng, P. M. Nimmer, J. M. O'Connor, A. Oleksijew, A. M. Petros, J. C. Reed, W. Shen, S. K. Tahir, C. B. Thompson, K. J. Tomaselli, B. Wang, M. D. Wendt, H. Zhang, S. W. Fesik, S. H. Rosenberg, *Nature* **2005**, 435, 677.
- [12] M. Orzáez, L. Mondragon, A. Garcia-Jareno, S. Mosulen, A. Pineda-Lucena, E. Perez-Paya, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 1592.
- [13] H. Zhang, P. Nimmer, S. H. Rosenberg, S. C. Ng, M. Joseph, *Anal. Biochem.* **2002**, 307, 70.
- [14] M. Gräber, W. Janczyk, B. Sperl, N. Elumalai, C. Kozany, F. Hausch, T. A. Holak, T. Berg, *ACS Chem. Biol.* **2011**, 6, 1008.
- [15] W. R. Roberts, M. Addy, *J. Clin. Periodontol.* **1981**, 8, 213.
- [16] Z. Nikolovska-Coleska, R. Wang, X. Fang, H. Pan, Y. Tomita, P. Li, P. P. Roller, K. Krajewski, N. G. Saito, J. A. Stuckey, S. Wang, *Anal. Biochem.* **2004**, 332, 261.
- [17] Z. Songyang, A. S. Fanning, C. Fu, J. Xu, S. M. Marfatia, A. H. Chishti, A. Crompton, A. C. Chan, J. M. Anderson, L. C. Cantley, *Science* **1997**, 275, 73.
- [18] M. Sattler, H. Liang, D. Nettesheim, R. P. Meadows, J. E. Harlan, M. Eberstadt, H. S. Yoon, S. B. Shuker, B. S. Chang, A. J. Minn, C. B. Thompson, S. W. Fesik, *Science* **1997**, 275, 983.
- [19] S. W. Muchmore, M. Sattler, H. Liang, R. P. Meadows, J. E. Harlan, H. S. Yoon, D. Nettesheim, B. S. Chang, C. B. Thompson, S. L. Wong, S. L. Ng, S. W. Fesik, *Nature* **1996**, 381, 335.
- [20] E. F. Lee, P. E. Czabotar, B. J. Smith, K. Deshayes, K. Zobel, P. M. Colman, W. D. Fairlie, *Cell Death Differ.* **2007**, 14, 1711.

- [21] O. Trott, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 455.
- [22] W. L. DeLano, The PyMOL Molecular Graphics System, DeLano Scientific, Palo Alto, CA, USA, **2002**.
- [23] G. Faria, C. R. Cardoso, R. E. Larson, J. S. Silva, M. A. Rossi, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, *234*, 256.
- [24] K. W. Yip, E. Ito, X. Mao, P. Y. Au, D. W. Hedley, J. D. Mocanu, C. Bastianutto, A. Schimmer, F. F. Liu, *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 2234.
- [25] D. Doughty-Shenton, J. D. Joseph, J. Zhang, D. J. Pagliarini, Y. Kim, D. Lu, J. E. Dixon, P. J. Casey, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *333*, 584.
-