

Mehrdimensionaler Entwurf von Antikrebspeptiden**

*Yen-Chu Lin, Yi Fan Lim, Erica Russo, Petra Schneider, Lea Bolliger, Adriana Edenthaler, Karl-Heinz Altmann, Cornelia Halin, Jan A. Hiss und Gisbert Schneider**

Abstract: Wir stellen hier den rechnergestützten Entwurf und die Optimierung von Peptiden vor, die selektiv Krebszellen zerstören können. Der Designprozess ermöglichte die Verschmelzung von Eigenschaften bekannter Antikrebs-, zellpenetrierender und Tumor-adressierender Peptide. Dabei identifizierten maschinelle Lernverfahren vollautomatisch neue Peptide mit den vorhergesagten Eigenschaften. Ausgehend von einer als Vorlage fungierenden Aminosäuresequenz haben wir systematisch die Toxizität der Peptide gegen eine Reihe von Krebszelllinien optimiert, während gleichzeitig die Aktivität gegen primäre humane Endothelzellen reduziert wurde. Die vom Computer generierten Peptide zeigten verbesserte Krebszellpenetration, lösten Apoptose aus und waren in der Lage, die zytotoxisch wirksame Konzentration von gleichzeitig verabreichten Chemotherapeutika *in vitro* zu reduzieren. Diese Studie demonstriert das Potenzial mehrdimensionaler maschineller Lernverfahren, innerhalb kurzer Zeit neue Peptide mit den gewünschten Eigenschaften zu erhalten.

Das computergestützte Design von Peptiden mit gewünschten biologischen Aktivitäten ist ein (wieder)aufkommendes Forschungsthema, das die Zukunft der chemischen Biologie und der Wirkstoff-Forschung nachhaltig beeinflussen wird.^[1] Designer-Peptide mit selektiven Zell-adressierenden und zugleich onkolytischen Eigenschaften zeigen Potenzial sowohl für den Wirkstoff-Transport als auch für die Leitstrukturentwicklung. Wir stellen hier die Entwicklung und praktische Anwendung einer Technik vor, die die Konzepte des maschinellen Lernens für die Eigenschafts- und Aktivitätsvorhersage mit der mehrdimensionalen Peptidoptimierung verbindet. Der Ansatz hat unmittelbar zu neuartigen Sequenzen geführt, die selektive Aktivität – sowohl durch direkte Membranzerstörung als auch durch Apoptoseinduktion – für Krebszellen aufweisen.

Antikrebspeptide (anticancer peptides, ACPs) repräsentieren eine exploratorische Substanzklasse für die Krebsbekämpfung. Obwohl ACPs bestimmte Struktureigenschaften

und molekulare Mechanismen mit antimikrobiellen Peptiden (antimicrobial peptides, AMPs) teilen, z.B. eine oftmals positive Gesamtladung und eine amphipathische räumliche Struktur, sind nicht alle bekannten AMPs auch gleichzeitig ACPs.^[2] Der onkolytische Effekt von ACPs kann teilweise durch direkte membranzerstörende Mechanismen, die nicht an die direkte Wechselwirkung mit Membranrezeptoren gekoppelt sind, erklärt werden.^[2b] Zellpenetrierende Peptide (cell penetrating peptides, CPPs) sind strukturell ebenfalls mit ACPs verwandt und können das Zytosol der Zielzellen bereits in niedrigen Konzentrationen erreichen, jedoch ohne dabei eine Zerstörung der Zellmembran zu verursachen.^[3] CPPs wurden bereits umfangreich in ihrer Funktion als Wirkstoff-Transportvehikel untersucht.^[4] Allerdings sind nicht alle Peptide mit Antitumoraktivität auch selektiv für Krebszellen.^[5] Eine systematische Analyse hat gezeigt, dass ihre Gesamtladung, ihre Hydrophobie und ihr hydrophobes Moment alleine unzureichend für eine Vorhersage der Selektivität sind sowie dass AMPs und ACPs nicht durch solche Grundeigenschaften alleine von CPPs unterschieden werden können.^[6] Bestimmte CPPs (z.B. TAT-Peptide) zeigen zusätzlich eine starke antimikrobielle Aktivität,^[7] und bestimmte AMPs, z.B. LL-37, könnten für den Wirkstoff-Transport eingesetzt werden.^[8] Tumor-adressierende Peptide (tumor-homing peptides, THPs) rückten kürzlich in den Fokus der Aufmerksamkeit wegen ihrer hohen Affinität zu bestimmten Rezeptoren und/oder Markern, die in Krebszellen überexprimiert sind.^[9] Sie sind reich an Arginin- und Cysteinresten,^[10] einschließlich der gut untersuchten RGD-(Arg-Gly-Asp) und NGR-Sequenzmotive (Asn-Gly-Arg).^[11] THPs können mit ACPs konjugiert werden, und die daraus resultierenden Chimären haben die Fähigkeit, in kultivierten Krebszelllinien Apoptose auszulösen und das Wachstum von Tumoren in Mäusen zu unterdrücken.^[12]

Hier haben wir nun einen mehrdimensionalen Peptid-Design-Ansatz verfolgt, der auf Support-Vektor-Maschinen (SVMs) basiert.^[13] Unser Ziel war es, die Sequenz einer AMP-Vorlage (Decoralin),^[14] für die wir in der vorliegenden Studie Antikrebsaktivität nachweisen konnten, durch das Einbringen von Eigenschaften von sowohl CPPs als auch THPs gezielt zu modifizieren. Unsere Hypothese besagte, dass ein solches modifiziertes 11-mer bestimmte Krebszellen in Konzentrationen, die unterhalb der kritischen membranlytischen Konzentration liegen, penetrieren könne. Solche kationischen Designer-Peptide könnten dann möglicherweise Zytotoxizität entfalten, indem sie an Mitochondrien (Organelle mit einer negativ geladenen Membran) binden und dadurch Apoptose induzieren.^[15] Statt analog zu Liu et al.^[16] eine AMP-Sequenz an eine CPP-Sequenz zu kuppeln, was zu einem Peptid mit sehr hohem Molekulargewicht führen

[*] Dr. Y.-C. Lin, Y. F. Lim, E. Russo, Dr. P. Schneider, L. Bolliger, A. Edenthaler, Prof. Dr. K.-H. Altmann, Prof. Dr. C. Halin, Dr. J. A. Hiss, Prof. Dr. G. Schneider
Department Chemie und Angewandte Biowissenschaften
Eidgenössische Technische Hochschule
Vladimir-Prelog-Weg 4, 8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: gisbert.schneider@pharma.ethz.ch

[**] Wir danken Sarah Haller für technische Unterstützung. Die ETH Zürich und der schweizerische Nationalfonds (Grants 205321-134783, 206021-133768) haben diese Arbeit finanziell unterstützt.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (weitere Details sowie die Protokolle der Experimente und eine weitere Peptid-Design-Studie zu TAT₄₈₋₆₀) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201504018> zu finden.

würde, verfolgten wir hier einen computergestützten Ansatz zur Erzeugung minimalistischer Peptide.

Im ersten Schritt erstellten wir dabei mathematische Modelle (SVMs) zur Vorhersage von membranaktiven Peptiden. Als Trainingsdaten verwendeten wir annotierte ACPs ($N=51$), CPPs ($N=481$) und THPs ($N=669$) bis zu einer Länge von 16 Aminosäureresten aus öffentlich zugänglichen Datenbanken. Alle Sequenzen wurden für die Computeranalyse durch korrelierte Aminosäureeigenschaften dargestellt (PPCALI-Methode).^[17] Dieses Vorgehen resultierte in einem reellzähligen Vektor für jedes Peptid, in dem auch mögliche paarweise Aminosäure-Wechselwirkungen berücksichtigt werden. Wir trainierten anschließend SVM-Klassifizierer für jede Gruppe von Peptiden (Tabelle 1). Die SVM-

Tabelle 1: Performance der SVM-Modelle in 10-facher Kreuzvalidierung.^[a]

Modell	$mcc^{[b]}$	Spezifität	Empfindlichkeit
SVM _{ACP}	0.59 ± 0.20	0.94 ± 0.04	0.77 ± 0.16
SVM _{CPP}	0.76 ± 0.06	0.92 ± 0.02	0.81 ± 0.04
SVM _{THP}	0.72 ± 0.06	0.90 ± 0.01	0.82 ± 0.03

[a] Angegeben als Mittelwert $\pm \sigma$. [b] mcc : Matthews-Korrelationskoeffizient.

Modelle waren in der Lage, robuste und kompetitive Voraussagen zu machen.^[18] Unter den drei Klassifizierern zeigte das SVM_{ACP}-Modell die höchste Varianz in der Klassifizierungsgenauigkeit. Trotz eines nur moderaten Matthews-Korrelationskoeffizienten ($mcc = 0.59 \pm 0.20$; mcc -Werte liegen im Bereich $[-1,1]$, wobei null eine zufällige Klassifizierung beschreibt), der vermutlich von der geringen Anzahl an ACP-Trainingsbeispielen herrührt, motivierte die hohe Spezifität des SVM_{ACP}-Modells von (94 ± 4) % zur dessen Verwendung für das Peptid-Design.

Vor dem eigentlichen Sequenz-Design überprüften wir die Zytotoxizität von Decoralin. Das Peptid wurde auf Brust-Adenokarzinomzellen (MCF7) und primären humanen dermalen mikrovaskulären Endothelzellen (HDMEC) getestet. Decoralin zeigte Aktivität gegen MCF7-Zellen ($EC_{50} = (19 \pm 1)$ μM) und nur geringe HDMEC-Zytotoxizität ($EC_{50} = (132 \pm 1)$ μM), wie aus Abbildung 1A ersichtlich ist. Mithilfe von Glycin-Scanning bestimmten wir, welche Aminosäuren entscheidend für die beobachtete Zytotoxizität gegen MCF7-Zellen waren. Wir entschieden uns für Glycin anstelle von Alanin für den Scan, da wir die einzelnen Positionen mit einer strukturell möglichst flexiblen (Einfluss auf Turn-Bildung) und wenig hydrophoben (Einfluss auf Membran-Lipid-Interaktion und Amphiphilie) Sonde untersuchen wollten. Die Mutationen zu Glycin in den Positionen 1, 4 und 11 des 11-mers waren weitgehend aktivitätsbewahrend (Abbildung 1B). Dieser Befund lässt darauf schließen, dass die terminalen Reste nicht entscheidend für den beobachteten zytotoxischen Effekt sind, im Einklang mit Berichten zur variablen Rolle der C- und N-Termini bei membranaktiven Peptiden.^[19] Basierend auf den Befunden des Glycin-Scans generierten wir mit dem Computer $20^3 = 8000$ Variationen von Decoralin, indem wir an den Positionen 1, 4 und 11 jede der 20 proteinogenen Aminosäuren zuließen. Wir wählten

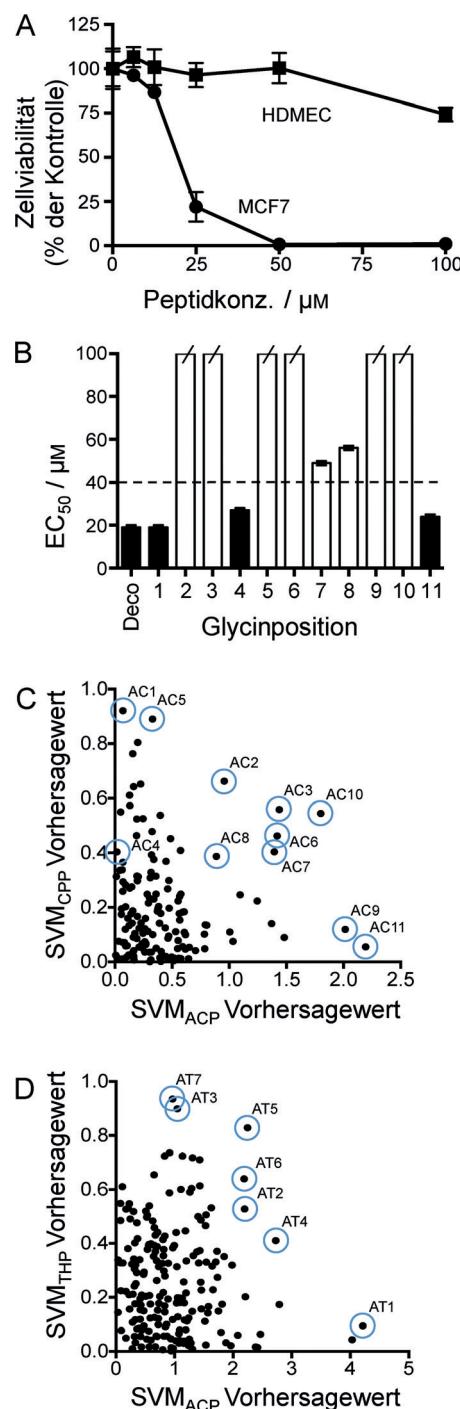


Abbildung 1. A) Zytotoxizität von Decoralin gegen MCF7- und HDMEC-Zellen. Die Zellen wurden 24 h mit Peptid behandelt, gefolgt von 1 h MTT. B) MCF7-Zytotoxizität der Variationen von Decoralin (Deco) im Glycin-Scanning. Die in (A) und (B) dargestellten Daten entsprechen dem Mittelwert $\pm \sigma$ ($N=3$ unabhängige Experimente, jeweils drei technische Replikate). C, D) Vorhergesagte Werte (Score) für die vom Computer generierten Sequenzen. Die Werte wurden als Abstände zur jeweiligen SVM-Hyperebene berechnet. Die markierten Peptide wurden zur Synthese ausgewählt.

diese Permutationsstrategie, da wir die Aktivität der Peptide durch die kleinstmöglichen Sequenzänderungen modulieren wollten, bei zugleich hoher Wahrscheinlichkeit der Bewahrung der Membranaktivität.

Für alle Peptide wurden anschließend SVM-Vorhersagewerte (Scores) berechnet. Entsprechend unseren früheren Arbeiten^[20] berechneten wir die Vorhersagewerte als Abstand eines Peptides (repräsentiert durch den PPCALI-Vektor) zur trennenden Hyperebene im SVM-Hilbert-Raum. Diese Werte interpretierten wir als Indikator für die Verlässlichkeit der Vorhersage, jedoch nicht als einen quantitativen Index für die Peptidaktivität.^[21] 146 der 8000 modifizierten Sequenzen erhielten hohe Werte sowohl vom SVM_{ACP}- als auch vom SVM_{CPP}-Modell (Abbildung 1 C), und 196 Sequenzen wurden sowohl als ACP als auch als THP (Abbildung 1 D) klassifiziert. Die Decoralinsequenz selbst erhielt eine perfekte SVM_{ACP}-Vorhersage. Selbst wenn wir Decoralin aus den Trainingsdaten löschten, wurde Decoralin konsequent als ACP, aber nicht als CPP oder THP vorhergesagt. Basierend auf der Zielsetzung für hohe Vorhersagewerte für die Kombinationen ACP + CPP und ACP + THP wählten wir 11 (AC1–11) und sieben (AT1–7) Decoralinderivate für die weitere Analyse.

Wir synthetisierten die Peptide AC1–11 und prüften auf Zytotoxizität gegen vier verschiedene Krebszelllinien und HDMEC, als Beispiel für nicht-transformierte humane Zellen (Tabelle 2). Decoralin sowie alle elf Derivate zeigten Aktivität gegen sämtliche Krebszelllinien und vernachlässigbare Toxizität gegen HDMEC ($EC_{50} > 100 \mu\text{M}$). Insbesondere AC1–5 waren aktiver als Decoralin gegen alle Krebszelllinien, wobei mit AC2 eine zweifache Steigerung der Aktivität erreicht werden konnte.

Um festzustellen, ob die erhöhte zelluläre Antitumoraktivität von gewissen designten Peptiden zumindest zum Teil durch intrazelluläre Effekte ausgelöst wurde, die gegebenenfalls von einer verbesserten Zellpenetration herrührten, kuppelten wir Fluoresceinisothiocyanat (FITC) N-terminal an Decoralin und AC1–5 und führten fluoreszenzmikrosko-

pische und durchflusszytometrische Analysen der mit den Peptiden behandelten Zellen durch. Die mikroskopischen Aufnahmen lassen darauf schließen, dass diese Peptide tatsächlich in MCF7-Zellen eindringen, wenn sie in niedriger Konzentration zugegeben werden ($1 \mu\text{M}$; Abbildung 2 A). AC1, AC2 und AC5 zeigten signifikant höhere ($p < 0.05$) MCF7-Zellpenetration als Decoralin, aber keine erhöhte Aufnahme in A549-Zellen (Abbildung 2 B,C). AC2 induzierte signifikant mehr ($p < 0.0001$) Zellen in früher Apoptose [(5.2 gegenüber 1.2 %, Annexin V-FITC⁺/7-Aminoactinomycin (AAD⁻)] und in später Apoptose und/oder nekrotische Zellen (15 gegenüber 3.5 %, Annexin V-FITC⁺/7-AAD⁺) als Decoralin, wobei beide Peptide zu einem grundsätzlich gleichen Ausmaß an beschädigten Zellen führten (19 %, Annexin V-FITC⁻/7-AAD⁺; Abbildung 2 D). Der prozentual höhere Anteil an Zellen in der Annexin V-FITC-negativen und 7-AAD-positiven Phase bei Decoralinbehandlung legt nahe, dass die Zellmembran in den meisten der toten Zellen völlig zerstört wurde. Daher detektierten wir keine Färbung dieser Zellen, in Übereinstimmung mit Beobachtungen für andere membranlytische Peptide.^[12b] Nach der Behandlung mit AC2 wurden die Zellen in allen Phasen gefunden. Dies spricht dafür, dass AC2 MCF7-Zellen sowohl durch Membranlyse als auch durch intrazelluläre Mechanismen abtötet.

Decoralin selbst zeigte ausgeprägte Zellpenetration von MCF7 und Lungenkarzinomzellen (A549; Abbildung 2 B,C), wodurch die Interpretation zum Mechanismus weiter gestützt wird.^[22] Offensichtlich war unser maschinelles Lernmodell in der Lage, entscheidende Eigenschaften von CPPs zu identifizieren und diese auf die Decoralinderivate zu übertragen. Des Weiteren behielten die entworfenen Peptide die Antitumoraktivität der Vorlage bei. Wir konnten somit die Decoralinsequenz entsprechend der Zielsetzung anpassen und die zusätzliche Fähigkeit zur Zellpenetration für MCF7-

Zellen bestätigen. In AC1, AC2 und AC5 wurden jeweils zwei Serine in der Decoralinsequenz durch Arginin ersetzt. Das erhaltene Ergebnis ist in Übereinstimmung mit Arbeiten von Nakase et al., wonach das Einfügen von Argininresten in ACPs die Membrandurchdringung verbessern kann.^[23] Deren Peptide verloren jedoch ihre Zytotoxizität gegen HeLa-Zellen, was für eine empfindliche Struktur-Aktivitäts-Beziehung zwischen ACPs und CPPs spricht. Unsere Peptid-Design-Strategie hat diesem Umstand durch die SVM-Modelle adäquat Rechnung getragen.

Nicht alle ACPs sind hinreichend selektiv für eine therapeutische Anwendung.^[5,24] Daher wollten wir Decoralin auf Selektivität hinsichtlich Krebszellen optimieren. Wir synthetisierten sieben Peptide, die die vorhergesagten Antikrebs- und Tumordressierenden Eigenschaften aufweisen (AT1–7; Abbildung 1 C). Diese zeigten gegenüber Decoralin alle eine verbesserte Selektivität für HDMEC (Tabelle 2). Zudem wiesen die Peptide AT1–4 eine starke Zytotoxizität gegen verschiedene Krebszelllinien auf (Tabelle 2). AT2 und AT4 zeigten selektive Toxizität gegen humane Melanomzellen (LU1205) und MCF7-Zellen, aber eine vernachlässigbare

Tabelle 2: Zytotoxizität von Decoralin und dessen durch den Computer als ACP + CPP (AC1–11) oder ACP + THP (AT1–7) vorhergesagten Derivaten.^[a]

Name	Sequenz	MCF7	A549	LU1205	Jurkat	HDMEC
Decoralin	SLLSLIRKLIT _{NH2}	19 ± 1	28 ± 1	18 ± 1	40 ± 1	132 ± 1
AC1	RLLRLIRKLII _{NH2}	11 ± 1	21 ± 1	9 ± 1	39 ± 1	141 ± 1
AC2	RLLRLIRKLIL _{NH2}	9 ± 1	14 ± 1	7 ± 1	25 ± 1	125–250
AC3	LLLLLIRKLIK _{NH2}	11 ± 1	22 ± 1	16 ± 1	25 ± 1	125–250
AC4	YLLYLIRKLIL _{NH2}	13 ± 1	29 ± 1	14 ± 1	22 ± 1	256 ± 2
AC5	RLLRLIRKLIR _{NH2}	14 ± 1	27 ± 1	16 ± 1	27 ± 1	138 ± 7
AC6	QLLQLIRKLII _{NH2}	22 ± 1	29 ± 1	21 ± 1	35 ± 1	171 ± 1
AC7	QLLQLIRKLIM _{NH2}	33 ± 1	33 ± 1	24 ± 1	46 ± 1	142 ± 2
AC8	MLLMLIRKLIL _{NH2}	16 ± 1	58 ± 1	31 ± 1	31 ± 1	262 ± 1
AC9	QLLQLIRKLIR _{NH2}	53 ± 1	60 ± 1	38 ± 1	75 ± 1	260 ± 1
AC10	QLLQLIRKLIK _{NH2}	50–100	54 ± 1	39 ± 1	69 ± 1	ca. 250
AC11	QLLQLIRKLIV _{NH2}	50–100	61 ± 1	29 ± 1	58 ± 1	349 ± 1
AT1	LLLQLIRKLII _{NH2}	10 ± 1	30 ± 1	12 ± 1	53 ± 1	154 ± 1
AT2	TLLLLLIRKLIL _{NH2}	38 ± 1	79 ± 1	16 ± 1	30 ± 1	348 ± 1
AT3	RLLLLLIRKLIL _{NH2}	24 ± 1	35 ± 1	18 ± 1	40 ± 1	160 ± 1
AT4	LLLLLIRKLIL _{NH2}	25 ± 1	> 100	48 ± 1	50 ± 1	278 ± 1
AT5	QLLLLLIRKLIL _{NH2}	63 ± 1	> 100	44 ± 1	39 ± 1	271 ± 1
AT6	QLLLLLIRKLIV _{NH2}	77 ± 1	> 100	53 ± 1	> 100	339 ± 1
AT7	CLLLLLIRKLIL _{NH2}	> 100	> 100	76 ± 1	> 100	ca. 500

[a] EC_{50} -Werte (μM) sind als Mittelwert $\pm \sigma$ angegeben ($N = 3$ unabhängige Experimente, jeweils drei technische Replikate).

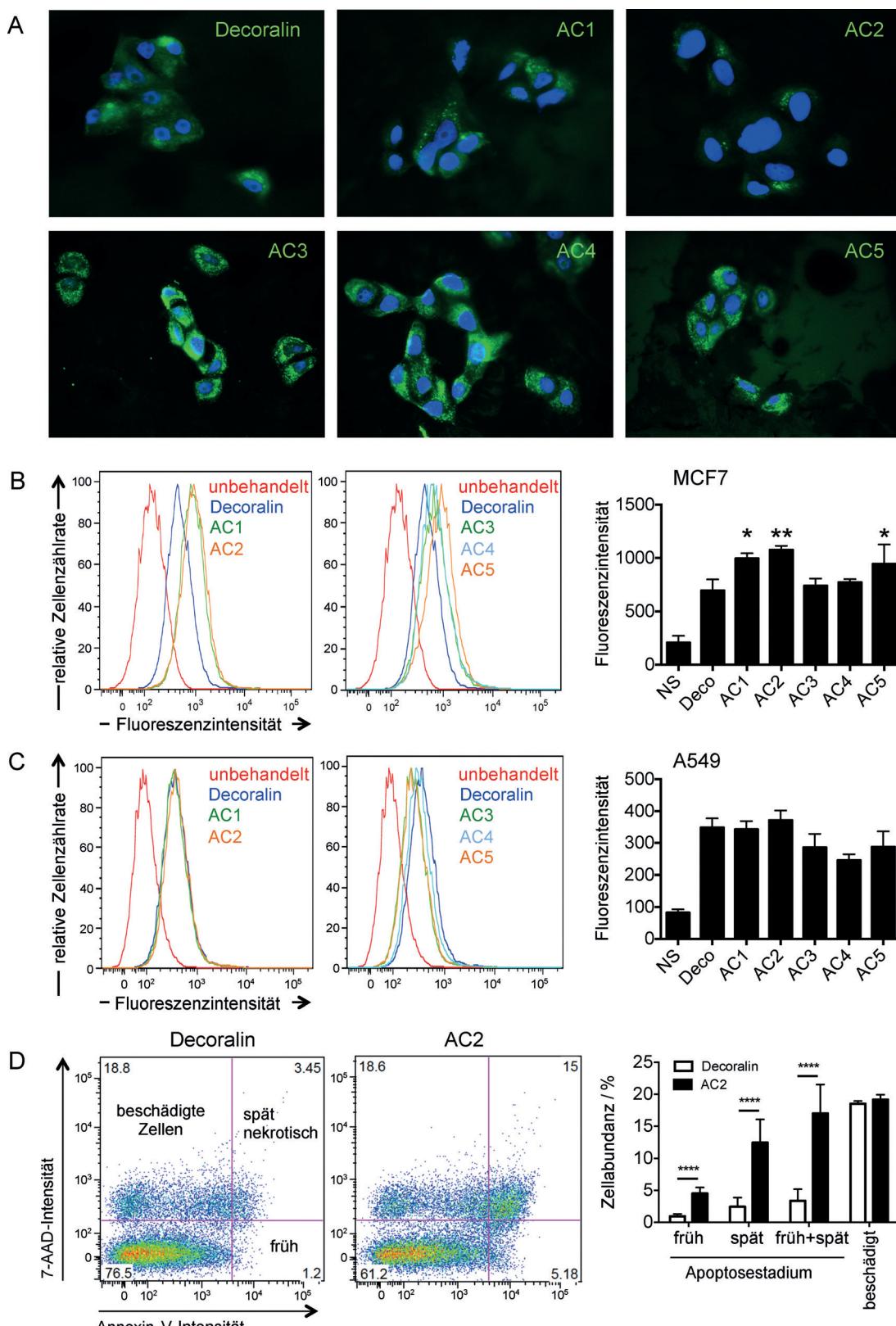


Abbildung 2. A) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von MCF7-Zellen, die mit $1 \mu\text{M}$ FITC-markiertem Decoralin sowie den Peptiden AC1–7 behandelt wurden (grün: Peptide, blau: Zellkerne). Repräsentative Ergebnisse der Durchfluszytometrie sind gezeigt für B) MCF7- und C) A549-Zellen (Fluoreszenzintensität als Mittelwert $\pm \sigma$, $N = 3$). (Die Statistik vergleicht Decoralin (Deco) mit den Peptidbehandlungen (NS: nicht stimuliert, ohne Peptid), *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.) D) Durchfluszytometrie-Experimente zur Zellapoptose. MCF7-Zellen wurden über 20 min mit $25 \mu\text{M}$ Decoralin oder AC2 behandelt und anschließend mit Annexin V-FITC und 7-AAD gefärbt. Die Zahlenangaben in den Quadranten geben prozentuale Anteile an Zellen wieder. Das Histogramm gibt die prozentuale Verteilung in den unterschiedlichen apoptotischen Phasen als Mittelwert $\pm \sigma$ an ($N = 3$ unabhängige Experimente, jeweils mit drei technischen Replikaten). ****: $p < 0.0001$.

Wirkung auf HDMEC-Zellen, was für die erfolgreiche Kombination von ACP- und THP-Eigenschaften durch unser computergestütztes Peptid-Design spricht.

Schlechte Tumorpenetration kann ein limitierender Faktor für die Wirksamkeit von Tumorthterapeutika sein; daher wurde die Coadministration mit ACPs oder anderen tumorspezifischen Peptiden als eine vielversprechende Lösung für den klinischen Einsatz vorgeschlagen.^[25] A549- und MCF7-Zellen zeigten in unserer Studie eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegen Doxorubicin ($EC_{50} = (450 \pm 1)$ bzw. (22 ± 1) nM) und Epothilon C ($EC_{50} = (49 \pm 1)$ bzw. (14 ± 2) nM). Wir inkubierten A549- und MCF7-Zellen 72 h mit einer Mischung aus ACPs (Decoralin oder AC2) in Kombination mit entweder Doxorubicin oder Epothilon C. Während wir keinen signifikanten Synergismus zwischen Peptid und den Chemotherapektika in MCF7-Zellen beobachten konnten, erhielten wir auf A549-Zellen einen signifikanten ($p < 0.0001$, *F*-Test) synergistischen Effekt von Decoralin und AC2 in Kombination mit Doxorubicin ($EC_{50} = (260 \pm 1)$ bzw. (127 ± 1) nM) oder Epothilon C ($EC_{50} = (31 \pm 1)$ bzw. (21 ± 1) nM; Abbildung S1 der Hintergrundinformationen). Der Effekt (EC_{50}) des designten Peptides AC2 übertraf dabei denjenigen von Decoralin. Dies stützt die Hypothese, wonach optimierte ACPs den zytotoxischen Effekt von Chemotherapektika verbessern können.

Maschinelle Lernverfahren ermöglichen die Identifikation von maßgeschneiderten Peptidsequenzen mit einer starken und selektiven zellulären Zytotoxizität gegen Krebszelllinien. Unsere Vorhersagemodelle erwiesen sich als geeignet für die Bestimmung der mit der Aktivität verknüpften Eigenschaften von bekannten ACPs und CPPs. Ausgehend von einer Beispielesequenz (Decoralin) ermöglichte unser rechnerbasierter Ansatz den Entwurf von Sequenzderivaten mit signifikant verbesserten Eigenschaften bei gleichzeitig minimalem Syntheseaufwand. Diese mehrdimensionale Entwurfsmethode erweitert das konventionelle De-novo-Design von Peptiden, das nur auf einzelne Zielsetzungen ausgerichtet ist, und bietet eine Alternative zur Entwicklung von Peptiden mit hohem Molekulargewicht und möglichen Löslichkeitsproblemen.

Stichwörter: Computerchemie · Krebs · Lipidmembranen · Maschinelles Lernen · Wirkstoff-Forschung

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10370–10374
Angew. Chem. **2015**, *127*, 10512–10516

- [1] a) N. Tsomaia, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 459–470; b) C. D. Fjell, J. A. Hiss, R. E. Hancock, G. Schneider, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2012**, *11*, 37–51; c) *De Novo Molecular Design* (Hrsg.: G. Schneider), Wiley-VCH, Weinheim, **2013**.
- [2] a) J. S. Mader, D. W. Hoskin, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2006**, *15*, 933–946; b) F. Harris, S. R. Dennison, J. Singh, D. A. Phoenix, *Med. Res. Rev.* **2013**, *33*, 190–234.
- [3] F. Madani, S. Lindberg, U. Langel, S. Futaki, A. Graslund, *J. Biophys.* **2011**, *2011*, 414729.
- [4] C. Bechara, S. Sagan, *FEBS Lett.* **2013**, *587*, 1693–16702.
- [5] S. Riedl, D. Zweytk, K. Lohner, *Chem. Phys. Lipids* **2011**, *164*, 766–781.

- [6] a) S. T. Henriques, M. N. Melo, M. A. Castanho, *Biochem. J.* **2006**, *399*, 1–7; b) E. Eiriksdóttir, K. Konate, U. Langel, G. Divita, S. Deshayes, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2010**, *1798*, 1119–1128.
- [7] W. L. Zhu, S. Y. Shin, *J. Pept. Sci.* **2009**, *15*, 345–352.
- [8] a) X. Zhang, K. Oglecka, S. Sandgren, M. Belting, E. K. Esbjörner, B. Norden, A. Graslund, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2010**, *1798*, 2201–2208; b) K. Splith, I. Neundorf, *Eur. Biophys. J.* **2011**, *40*, 387–397.
- [9] a) W. Arap, R. Pasqualini, E. Ruoslahti, *Science* **1998**, *279*, 377–380; b) N. Svensen, J. G. Walton, M. Bradley, *Trends Pharmacol. Sci.* **2012**, *33*, 186–192.
- [10] P. Kapoor, H. Singh, A. Gautam, K. Chaudhary, R. Kumar, G. P. Raghava, *PLoS One* **2012**, *7*, e35187.
- [11] a) R. Pasqualini, E. Koivunen, E. Ruoslahti, *Nat. Biotechnol.* **1997**, *15*, 542–546; b) R. Pasqualini, E. Koivunen, R. Kain, J. Lahdenranta, M. Sakamoto, A. Stryhn, R. A. Ashmun, L. H. Shapiro, W. Arap, E. Ruoslahti, *Cancer Res.* **2000**, *60*, 722–727.
- [12] a) Y. Chen, X. Xu, S. Hong, J. Chen, N. Liu, C. B. Underhill, K. Creswell, L. Zhang, *Cancer Res.* **2001**, *61*, 2434–2438; b) M. Sioud, A. Mobergslien, *Biochem. Pharmacol.* **2012**, *84*, 1123–1132.
- [13] a) C. Cortes, V. Vapnik, *Machine Learning* **1995**, *20*, 273–297; b) E. Byvatov, U. Fechner, J. Sadowski, G. Schneider, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43*, 1882–1889.
- [14] K. Konno, M. Rangel, J. S. Oliveira, M. P. Dos Santos Cabrera, R. Fontana, I. Y. Hirata, I. Hide, Y. Nakata, K. Mori, M. Kawano, H. Fuchino, S. Sekita, J. R. Neto, *Peptides* **2007**, *28*, 2320–2327.
- [15] Siehe Lit. [2a].
- [16] S. Liu, H. Yang, L. Wan, J. Cheng, X. Lu, *Cancer Biother. Radiopharm.* **2013**, *28*, 289–297.
- [17] C. P. Koch, A. M. Perna, S. Weissmuller, S. Bauer, M. Pillong, R. B. Baleiro, M. Reutlinger, G. Folkers, P. Walden, P. Wrede, J. A. Hiss, Z. Waibler, G. Schneider, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1876–1881.
- [18] A. Gautam, K. Chaudhary, R. Kumar, A. Sharma, P. Kapoor, A. Tyagi, Open source drug discovery consortium; G. P. Raghava, *J. Transl. Med.* **2013**, *11*, 74.
- [19] a) D. W. Hoskin, A. Ramamoorthy, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2008**, *1778*, 357–375; b) Y.-C. Lin, J. A. Hiss, P. Schneider, P. Thelesklaf, Y. F. Lim, M. Pillong, F. M. Koehler, P. S. Dittrich, C. Halin, S. Wessler, G. Schneider, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 2225–2231; c) C. S. Lee, W. C. Tung, Y. H. Lin, *J. Pept. Sci.* **2014**, *20*, 438–445.
- [20] E. Byvatov, B. C. Sasse, H. Stark, G. Schneider, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 997–999.
- [21] J. Platt, *Advances in Large Margin Classifiers*, MIT Press, Cambridge, **1999**, S. 61–74.
- [22] a) H. Xu, C. X. Chen, J. Hu, P. Zhou, P. Zeng, C. H. Cao, J. R. Lu, *Biomaterials* **2013**, *34*, 2731–2737; b) K. Ohara, M. Kohno, T. Hamada, K. Kawakami, *Peptides* **2013**, *50*, 28–35.
- [23] I. Nakase, S. Okumura, S. Katayama, H. Hirose, S. Pujals, H. Yamaguchi, S. Arakawa, S. Shimizu, S. Futaki, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11097–11099.
- [24] E. Kondo, K. Saito, Y. Tashiro, K. Kamide, S. Uno, T. Furuya, M. Mashita, K. Nakajima, T. Tsumuraya, N. Kobayashi, M. Nishibori, M. Tanimoto, M. Matsushita, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 951.
- [25] a) N. Papo, Y. Shai, *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 784–790; b) K. N. Sugahara, T. Teesalu, P. P. Karmali, V. R. Kotamraju, L. Agemy, D. R. Greenwald, E. Ruoslahti, *Science* **2010**, *328*, 1031–1035.

Eingegangen am 4. Mai 2015

Online veröffentlicht am 26. Juni 2015