

Protein-protein interakcije u razvoju novih lekova

Jelena Randelović*, Vladimir Savić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za organsku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

Kratak sadržaj

Interakcije među proteinima nalaze se u osnovi kako fizioloških, tako i patoloških procesa, što ih čini važnim metama za razvoj novih lekova. U ovom radu su ukratko prikazane strukturne karakteristike kompleksa nastalih interakcijom proteina, osobine njihovih vezivnih površina i teorijske postavke na kojima se zasniva dizajn malih molekula modulatora proteinskih interakcija. Navedeno je nekoliko eksperimentalnih metoda primenjivih u razvoju organskih molekula koji deluju na protein-protein interakcije. Dosadašnji razvoj istraživanja u ovoj oblasti ilustrovan je kroz više primera uspešno dizajniranih modulatorskih jedinjenja. Zbog izuzetnog značaja u živim sistemima, a zahvaljujući sve boljem razumevanju protein-protein interakcija, one postaju sve važniji deo istraživačkih programa za razvoj novih lekova. Lekovi koji deluju kao modulatori proteinskih interakcija u budućnosti će verovatno predstavljati sve veći procenat terapijski aktivnih supstanci.

***Cljučne reči:** protein-protein interakcije, hot-spot, dizajn lekova*

* Jelena Randelović, jelenar@pharmacy.bg.ac.rs, loreseekeruni@gmail.com

Proteini su najvažniji funkcionalni molekuli živih sistema, učesnici gotovo svih fundamentalnih procesa u živim ćelijama.

Da bi ostvarili svoju ulogu, proteini stupaju u interakcije sa drugim biomolekulima, ali i sa malim molekulima. Metabolički procesi se obično odvijaju delovanjem niza proteina, tako da su interakcije između proteina direktno odgovorne za protok informacija i molekula u ćeliji. Delovanjem na protein-protein interakcije moguće je uticati na ove procese. Moguće je nekoliko scenarija koji definišu ulogu protein-protein interakcija u patološkim stanjima:

1. Protein-protein interakcija je direktno uključena u patološki proces i njenom inhibicijom uspostavlja se fiziološko stanje.
2. U patološkom procesu je smanjen normalan nivo interakcije između posmatranih proteina, pa je potrebno simulirati prisustvo interakcije.
3. Fiziološka interakcija između proteina je previše izražena i prouzrokuje patološko stanje, pa ju je potrebno inhibirati.

Kao rezultat, vezivne površine između proteina predstavljaju potencijalnu metu za razvoj novih lekova, naročito poslednjih decenija, kada je razvoj metoda molekularne biologije, hemije i drugih naučnih disciplina doveo do značajnog povećanja broja rešenih trodimenzionalnih struktura bioloških makromolekula. Međutim, vezivne površine u protein-protein interakcijama se značajno razlikuju od tradicionalnih ciljnih mesta lekova na proteinima, kakva su aktivna mesta enzima. Ove razlike uslovljavaju i nove probleme, a time i nove pristupe u dizajnu i razvoju modulatora njihovih interakcija.

Proteinski kompleksi

Proteinski kompleksi mogu u sebi sadržati dva ili više molekula proteina i javljaju se kako među slobodnim proteinima u rastvoru, tako i među membranskim receptorima. Proteinske subjedinice u kompleksu mogu po građi biti identične, gradeći homokomplekse, ili različite, ako grade heterokomplekse. Po dužini vremena asocijacije između članova, proteinski kompleksi su podeljeni na prolazne i trajne. Prolazni kompleksi se stvaraju i razgrađuju po potrebi, obično da bi se obavila određena, vremenski ograničena funkcija, nakon čega se proteinske subjedinice razilaze i nastavljaju da nezavisno postoje u rastvoru. Proteine koji grade ovakve komplekse odlikuje stabilnost u slobodnom stanju i dovoljna hidrofilnost površina da bi opstali u rastvoru. Primer takvog kompleksa su kompleksi ciklin zavisnih kinaza i ciklina. Trajni kompleksi se formiraju neposredno po sintezi proteinskih lanaca, u procesu formiranja konačne strukture proteina. Njihove subjedinice ne mogu da postoje nezavisno u rastvoru i ostaju vezane čitav životni vek kompleksa. Dobar primer građenja trajnih kompleksa je hemoglobin.

Sa aspekta medicine veći značaj imaju kratkotrajni, funkcionalni proteinski kompleksi, ali su oni i značajno zahtevniji kao ciljna mesta delovanja lekova, zbog veće polarnosti svojih vezivnih površina. U proseku, vezivne površine trajnih kompleksa su hidrofobnije (1), pošto njihove subjedinice nikada ne izlažu ove površine rastvaraču, za razliku od članova prolaznih kompleksa, čije su vezivne površine u direktnom kontaktu sa vodom kada kompleks nije formiran.

Strukturne osobine protein-protein interakcija

Veličina

Ne postoji opšte pravilo o građi vezivnih površina između proteina. Veličina vezivne površine se kreće od 600 do 4000 Å² u kompleksima sa više subjedinica, ali je u proseku oko 2000 Å² (750 – 1500 Å² po proteinskom molekulu (2)). Kao poređenje, tipični biološki aktivni molekuli obično zauzimaju oko 150 - 500 Å² na svojim proteinskim receptorima (3) . U proseku, vezivnu površinu gradi oko 50 aminokiselina (4). U sastavne komponente vezivne površine između dva proteina ulaze prostorno bliske aminokiseline sa različitim pozicija u primarnoj strukturi proteina, odnosno veći ili manji aminokiselinski segmenti njihovih lanaca. Veoma retko je čitava vezivna površina izgrađena od samo jednog segmenta primarne strukture proteina, u kontinuitetu.

Oblik

Aktivna mesta enzima obično sadrže jedan ili više hidrofobnih džepova na svojoj površini, koji predstavljaju pogodna mesta za vezivanje malih molekula. Biološki aktivna jedinjenja dizajniraju se tako da ispunjavaju stereohemijske zahteve za interakcije sa aminokiselinama koje grade ove džepove. Kod proteinskih interakcija vezivne površine su «ravne» - konkavnost i konveksnost je mnogo manje izražena, pošto su vezivni partneri drugi proteini koji za kontakt obezbeđuju značajno veću površinu. Veća vezivna površina znači da nije neophodno lokalizovati energetske značajne interakcije na mali prostor, kao što je slučaj sa enzimskim džepovima. Takođe, obezbediti vezivanje malog molekula ($M < 750$ Da) (5) na ravnoj površini izloženoj stalnim interakcijama sa molekulima rastvarača teže je nego vezati mali molekul u zaklonjeni hidrofobni džep. Svoju energiju vezivanja mali molekuli dobijaju iz ograničenog broja prostorno lokalizovanih energetskih kontakata. Ovi kontakti su neretko polarni pa se aktivni molekuli za njih nadmeću sa molekulima rastvarača (6). Za razvoj inhibitora protein-protein interakcija poželjno je odabrati konkavnu površinu, najbolje hidrofobni džep, ako postoji. Ako se u kristalnoj strukturi kompleksa ne uočavaju džepovi na vezivnoj

površini, moguće je pokušati vezivanje modulatora u džepove koji se periodično stvaraju na površini dok je protein slobodan u rastvoru (7).

Tipovi interakcija

U vezama između proteinskih subjedinica u kompleksu, javljaju se svi uobičajeni tipovi molekularskih nekovalentnih interakcija.

Jonski parovi se formiraju između terminalnih grupa kiselih i baznih aminokiselina, npr. Asp i Lys. Iako predstavljaju snažne veze, jonski parovi (soni mostovi) su retki u proteinskim interakcijama, već najveću ulogu igraju u elektrostatičkom usmeravanju molekula proteina ka pravilnoj orijentaciji za interakciju, što je efekat analogan onome koji pozitivno naelektrisani regioni proteina igraju u interakcijama sa DNK.

Jon-dipol i dipol-dipol interakcije se ostvaruju kako između aminokiselina, tako i sa molekulima rastvarača.

Vodonične veze u protein-protein interakcijama mogu biti direktne, ili indirektne, preko molekula vode, a u njihovom formiranju učestvuju kako atomi polipeptidnog niza, odnosno «kičme» proteina, tako i bočni lanci aminokiselina. Proteinski kompleksi se međusobno jako razlikuju po broju vodoničnih veza na vezivnoj površini (0 - 46) (8), a u proseku je prisutna jedna H-veza na svakih 100 \AA^2 (8).

Van der Valsove sile, iako po intenzitetu slabije od polarnih interakcija, značajne su za integritet hidrofobnih regiona proteinskih vezivnih površina. U trajnim, homodimernim kompleksima sa pretežno hidrofobnim vezivnim površinama, ove interakcije su glavna sila koja omogućuje vezivanje. Što je veća površina molekula uključena u vezivanje, to je veći uticaj ovakvih interakcija.

Polarnost vezivnih površina se nalazi između polarnosti hidrofobnog jezgra proteina i hidrofilne površine izložene vodi. Polarnost varira u zavisnosti od tipa kompleksa – najhidrofilnije su antigen-vezujuće površine na antitelima a najhidrofobnije vezivne površine trajnih kompleksa.

Kinetika proteinskih kompleksa

Vreme formiranja proteinskih kompleksa se meri u nanosekundama (9). Konstante disocijacije (K_d) proteinskih kompleksa su u oblasti $10^{-4} - 10^{-14} \text{ M}$, (10) ali ne predstavljaju nepremostivu prepreku za razvoj lekova. Ako se mali molekul modulator slabijeg afiniteta nađe u dovoljnoj koncentraciji, on će moći da utiče na biohemijsku ravnotežu vezivanja visokoafinitetnog proteina i ispolji dejstvo u živom sistemu (1).

Teorijske postavke značajne za dizajn organskih jedinjenja modulatora proteinskih interakcija

Sve do nedavno smatralo se da su protein-protein interakcije gotovo nemoguća ciljna mesta lekova, tj. da je nemoguće razviti male molekule koji bi mogli da se u afinitetu za vezivnu površinu interakcije takmiče sa nativnim proteinskim partnerom. Međutim poslednjih decenija razvijeno je nekoliko teorijskih postavki koje su promenile ovo stanovište.

1. Teorija *hot-spot* aminokiselina

Ako bi energija vezivanja između dva proteina u kompleksu bila ravnomerno raspoređena na sve aminokiseline koje učestvuju u vezivanju i na čitavu vezivnu površinu, bilo bi praktično nemoguće razviti male molekule koji bi mogli da spreče vezivanje dva proteina. Takvi molekuli bi zauzimali samo mali procenat dostupne jednolične vezivne površine, na kojoj bi trebalo da ostvare interakcije barem podjednakog afiniteta i selektivnosti kao i proteinski molekul koji ometaju a koji ima na raspolaganju svoju čitavu vezivnu površinu.

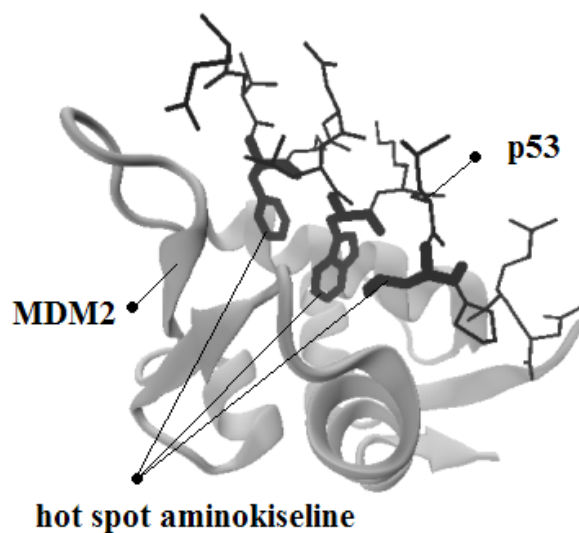
Prema teoriji *hot-spot* aminokiselina (*hot-spot* eng. – žarište, ključno mesto), energija vezivanja u interakcijama dva proteina nije ravnomerno raspoređena po čitavoj vezivnoj površini. Postoji mali broj aminokiselina koje ostvaruju ključne interakcije za vezivanje i označavaju se kao *hot-spot* aminokiseline.

Gore navedena hipoteza je proistekla iz eksperimentalne studije mutacija na hormonu rasta (11) kada se pokazalo da je mala grupa aminokiselina iz centralnog dela vezivnih površina odgovorna za vezivanje proteina u kompleksu. Otada je ovo zapažanje potvrđeno na velikom broju analiziranih proteinskih kompleksa.

Bogan i Torn (12) su pokazali da se kao *hot-spot* aminokiseline najčešće javljaju tirozin (Tyr), arginin (Arg) i triptofan (Trp) a veoma retko leucin (Leu), valin (Val), serin (Ser), treonin (Thr), metionin (Met). Njihova studija je takođe ukazala da je zaklonjenost od rastvarača potreban, ali ne i dovoljan uslov da neka aminokiselina sa vezivne površine bude *hot-spot*. Ista *hot-spot* aminokiselina može, u različitom hemijskom okruženju biti uključena u formiranje različitih kompleksa proteina čiji je deo (2).

Danas je analiza *hot-spot* aminokiselina uobičajeni postupak u dizajniranju inhibitora interakcija između proteina. Osim eksperimentalnih tehnika kao što je mutiranje jedne po jedne aminokiseline vezivnih površina u alanin i merenje njihovog energetskog doprinosa vezivanju, predviđanje *hot-spot* aminokiselina se vrši i *in silico*. (13) Postoji veći broj javno dostupnih kompjuterskih programa za ovakva predviđanja.

Otkriće postojanja *hot-spot* aminokiselina je od velikog značaja za razvoj modulatora proteinskih interakcija, pošto omogućava istraživačima da odaberu značajne segmente površina proteina kao ciljna mesta i kalupe za dizajn molekula. Energetski značajne interakcije koje ostvaruje jedna ili više *hot-spot* aminokiselina oponašane u molekulu leka mogu biti dovoljne da obezbede vezivanje i aktivnost molekula na površini proteina. Na slici 1 prikazana je interakcija između MDM2/p53 i izdvojene su *hot-spot* aminokiseline koje su esencijalne za nastanak proteinskog kompleksa.



Slika 1. Hot-spot aminokiseline u interakciji MDM2/p53 (PDB unos:1YCR) Slika generisana u VMD programu (program za vizualizaciju molekulskih struktura) (21)

Figure 1. Hot-spot aminoacids in MDM2/p53 protein interaction (PDB code: 1YCR) Picture generated using VMD software (molecular structure visualisation software) (21)

2. Hipoteza O prstena

Energetski značajne *hot-spot* aminokiseline su veoma često okružene prstenom hidrofobnih aminokiselina (O – prsten), čija je uloga da izoluju energetske bitne kontakte između proteina od molekula rastvarača.

Same aminokiseline O prstena nisu energetske značajne za vezivanje. Obično O prsteni postoje na oba proteinska molekula koji se vezuju i postavljeni su naspramno jedni drugima. Hipoteza O prstena (12, 14) dopunjava *hot-spot* hipotezu.

Ometanje funkcije O prstena oko značajne aminokiseline na proteinskoj površini bi smanjilo njen energetske udeo u vezivanju. Sa druge strane, kako je O prsten hidrofobniji od svoje okoline, on može da posluži kao mesto vezivanja molekula inhibitora, bilo primarno, ili sekundarno uz uspostavljanje kontakata koji odgovaraju *hot-spot* aminokiselini, ako modulator oponaša njeno prisustvo. Uz pažljiv dizajn, inhibitori koji oponašaju O prsten mogli bi da izoluju značajne *hot-spot* aminokiseline i spreče njihovo učestće u vezivanju.

3. Modularna građa vezivnih površina u proteinskim kompleksima

Na vezivnim površinama proteinskih kompleksa izdvaja se 3 do 9 grupa važnih aminokiselina koje su međusobno nezavisne i aditivno doprinose energiji vezivanja. Mutacija u jednoj grupi značajno utiče na vezivanje te grupe, tj. u svakoj od grupa, vezivanje je kooperativno.

Modularna građa vezivnih površina (15) prisutna je kod velike većine proteinskih kompleksa, osim kod onih kod kojih nije postojala evolutivna mogućnost da se ona razvije, tj. kod kompleksa uključenih u procese preživljavanja ćelije, kod kojih svaka mutacija dovodi do smrti ćelija.

Značaj modularne građe vezivnih površina proteinskih kompleksa za dizajn inhibitora ogleda se u mogućnosti razumevanja načina na koji će položaj liganda na vezivnoj površini među proteinima uticati na njihovo vezivanje. Drugim rečima, poznavanje arhitekture i organizacije vezivnih površina proteinske interakcije pruža mogućnost procene međusobnog uticaja više istovremenih promena na njoj – a time i efikasnijeg dizajna liganada sa više aktivnih centara povezanih hemijskim linkerima. Optimalan odabir aminokiselina čije vezivanje treba sprečiti, ili iskoristiti, tako da se ostvari najveća energetska promena u ukupnom vezivanju između dva proteina predstavlja prednost u dizajniranju liganada. Ona direktno ukazuje na povoljne orijentacije liganada na aktivnom mestu i potencijalne prostorne rasporede aktivnih grupa na njima.

4. *Anchor* - aminokiseline

Bočni lanci određenih aminokiselina u strukturama slobodnih proteina koji stupaju u međusobnu interakciju najveći deo vremena nalaze se u konformaciji koju zauzimaju po vezivanju. Ove aminokiseline stoga pružaju pogodna sidra (*anchor*) za inicijalno povezivanje dva proteina i po vezivanju se nalaze u odgovarajućim džepovima – sidrištima, po mehanizmu ključ – brava.

Jednom kada su *anchor* – aminokiseline povezane, ostale vezivne površine proteina se prilagođavaju jedna drugoj, pojačavajući vezivanje.

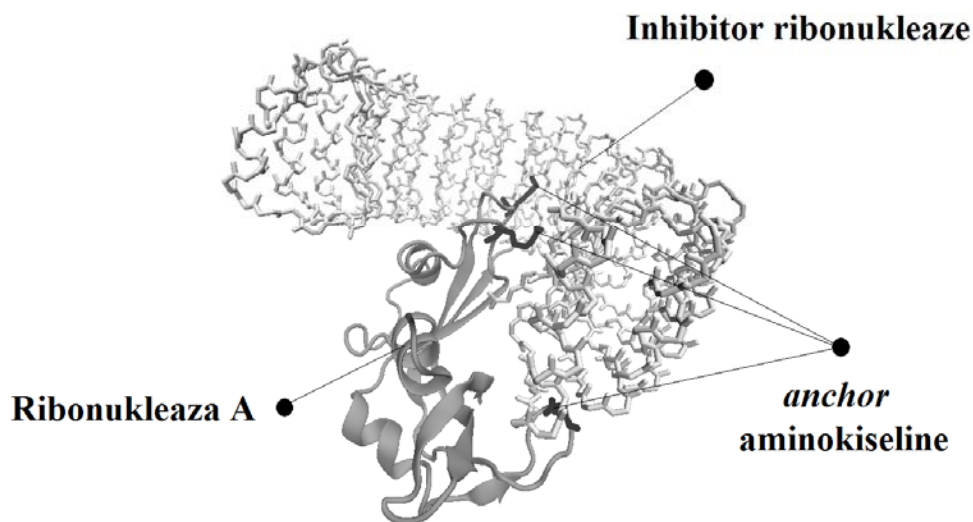
Anchor – aminokiseline (16) podležu velikim promenama površine izložene rastvaraču (*solvent accessible surface area* - SASA) prilikom građenja kompleksa. Drugim rečima, po građenju kompleksa, ove aminokiseline su duboko zakopane u vezivne džepove izolovane od rastvarača.

Anchor – aminokiseline mogu, ali ne moraju biti *hot-spot* aminokiseline tj. aminokiseline sa najvećim energetskim doprinosom vezivanju. Njihova uloga je da uspostave brzu, relativno specifičnu vezu između dva proteina koji intereaguju, prilikom njihovih interakcija u rastvoru, dajući ostatku vezivne površine dovoljno vremena da se prilagodi i učvrsti kompleks.

Kao *anchor* – aminokiseline javljaju se često lizin (Lys), Arg i aromatične aminokiseline, nešto ređe (u oko 20% ispitanih kompleksa) alifatične aminokiseline, a retko asparaginska kis. (Asp) i glutaminska kiselina (Glu).

Proteinski kompleks može imati jednu *anchor*-aminokiselinu (sa Δ SASA $> 100 \text{ \AA}^2$) ali ako sve aminokiseline imaju Δ SASA $< 100 \text{ \AA}^2$ neophodno je više «sidara» da dođe do formiranja proteinskog kompleksa, pa se uočava više *anchor* - aminokiselina. Na slici 2 prikazan je kompleks ribonukleaze A i njenog inhibitora sa izdvojenim *anchor*-aminokiselinama.

Kako se *anchor* – aminokiseline vezuju u dobro definisane džepove na proteinskoj površini i odgovorne su za inicijalno povezivanje proteinskih molekula, one predstavljaju odličnu metu za dizajn malih molekula modulatora proteinskih interakcija. Njihovi vezivni džepovi će dobro usidriti i molekule inhibitora, a inhibitori koji blokiraju vezivanje *anchor* – aminokiselina imaju velike šanse da spreče formiranje proteinskog kompleksa.



Slika 2. Kompleks ribonukleaze A i njenog inhibitora sa izdvojenim anchor aminokiselinama (PDB unos: 1DFJ) Slika generisana u VMD programu (program za vizualizaciju molekularnih struktura) (21)

Figure 2. Ribonuclease A complexed with its inhibitor with anchor-aminoacids shown (PDB code: 1DFJ) Picture generated using VMD software (molecular structure visualisation software) (21)

Praktični pristupi razvoju modulatora proteinskih interakcija

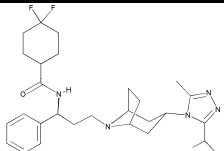
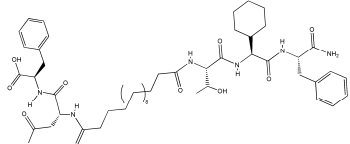
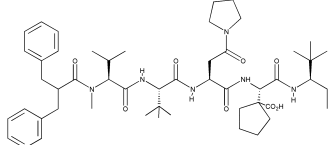
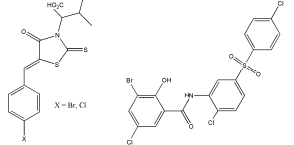
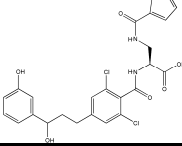
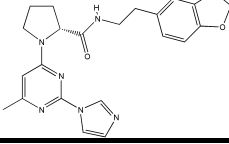
Proteinske interakcije se strukturno međusobno veoma razlikuju, pa se stoga javljaju i značajne razlike u njihovoj pogodnosti kao molekularnih meta za razvoj potencijalnih lekova. Postupak razvoja malog organskog molekula modulatora proteinske interakcije može teći na više fundamentalno različitih načina i primenom kako eksperimentalnih, tako i *in silico* metoda. Strukture mnogih proteinskih kompleksa još uvek nisu rešene, pa je *in vitro* testiranje hemijskih biblioteka prirodnih ili sintetisanih jedinjenja jedini put za otkrivanje njihovih modulatora. Ako je struktura kompleksa poznata, tj. rešena, bilo kristalografski, NMR tehnikama ili sa manje pouzdanosti, formiranjem homologih modela, informacije o vezivnim površinama se mogu iskoristiti za dizajn modulatora. Informacije o postojanju džepova na vezivnim površinama,

određivanje *hot-spot* i *anchor* aminokiselina, komplementarnost oblika i prisustvo rastvarača na vezivnoj površini pružaju dragocene smernice za dalji tok dizajna (5). Ako su u vezivanje uključeni neprekinuti peptidni fragmenti sa jednog od proteina sa energetski značajnim kontaktima, oni mogu biti podvrgnuti testovima vezivanja, prevedeni u peptidomimetike i dalje optimizovani u pogledu strukturnih i drugih osobina. Ako to nije slučaj, prostorni raspored energetski značajnih kontakata može biti iskorišćen za *de novo* racionalni dizajn (dizajn iz fragmenata) molekula koji će ostvariti vezivanje, ili za optimizaciju obećavajućih jedinjenja izdvojenih virtualnim ili *in vitro* testiranjem hemijskih biblioteka (17, 18).

U tabeli I prikazani su primeri proteinskih interakcija za koje su uspešno dizajnirani modulatori i metode koje su pri tome primenjene (10, 17-20). Neki od ovih molekula su već našli svoje mesto u terapiji, dok su drugi još uvek u određenim fazama kliničkih ispitivanja.

Tabela I Primeri istraživanja na medicinski značajnim protein-protein interakcijama

Table I Examples of research conducted on medically important protein-protein interactions

proteinska interakcija	princip	strukture modulatora (22)
MDM2/p53	peptidomimetici, HTS, virtualno testiranje	više od 20 različitih grupa jedinjenja pregled u: Dömling A. <i>Curr Opin Chem Biol</i> 2008; 12 (3): 281-91
CCR5/gp120	HTS (<i>high throughput screening</i>)	
dimerizacija HIV1 proteaze	oponašanje vezivne površine, testiranje prirodnih proizvoda	
dimerizacija HSV ribonukleotid reduktaza	peptidomimetici	
Bcl-xL ili Bcl-2 / Bak-BH3	<i>in vitro</i> testiranje	
LFA-1/ICAM-1	racionalni dizajn	alosterni inhibitor 
dimerizacija iNOS	testiranje dizajnirane hemijske databaze	alosterni inhibitor 

Zaključak

Protein-protein interakcije su od ogromnog značaja za žive sisteme i zauzimaju važno mesto u istraživačkim projektima razvoja novih lekova. Nekada smatran neostvarivim, dizajn modulatora proteinskih interakcija danas predstavlja izazovno polje istraživanja, koje se brzo razvija, pružajući ogroman broj novih mogućnosti za terapiju bolesti.

Zahvalnica

Autori zahvaljuju Ministarstvu prosvete i nauke Republike Srbije za finansijsku podršku (projekat 172009).

Jelena Randelović zahvaljuje Ministarstvu prosvete i nauke Republike Srbije za stipendiranje.

Literatura:

1. Toogood PL. Inhibition of protein-protein association by small molecules: approaches and progress. *J Med Chem* 2002; 45 (8): 1543-58
2. Arkin MR, Wells JA. Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3(4): 301-17
3. Gadek TR, Nicholas JB. Small molecule antagonists of proteins. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 1-8
4. Conte LL, Chothia C, Janin J. The atomic structure of protein-protein interaction sites. *J Mol Biol* 1999; 285: 2177-98
5. Chene P. Drugs targeting protein-protein interactions. *ChemMedChem* 2006; 1 (4) : 400-11
6. Fry DC. Protein-protein interactions as targets for small molecule drug discovery. *Peptide Science* 2006; 84: 535-52
7. Eyrisch S, Helms V. Transient pockets on protein surfaces involved in protein-protein interaction. *J Med Chem* 2007; 50 (15): 3457-64
8. Jones S, Thornton JM. Protein-protein interactions: A review of protein dimer structures. *Prog Biophys Mol Biol* 1995; 63: 31-65

9. Northrup, S. Erickson, H. Kinetics of protein-protein association explained by Brownian dynamics computer simulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3338–42
10. Veselovsky AV, Archakov AI. Inhibitors of protein-protein interactions as potential drugs. *Curr Comput-Aid Drug* 2007; 3: 51-8
11. Clackson T, Wells JA. A hot spot of binding energy in a hormone-receptor interface. *Science* 1995; 267: 383–6
12. Bogan AA, Thorn KS. Anatomy of hot spots in protein interfaces. *J Mol Biol* 1998; 280(1):1-9
13. DeLano WL. Unraveling hot spots in binding interfaces: progress and challenges. *Curr Opin Struc Biol* 2002; 12 (1): 14-20
14. Li J, Liu Q. ‘Double water exclusion’: a hypothesis refining the O-ring theory for the hot spots at protein interfaces. *Bioinformatics* 2009; 25 (6): 743-50
15. Reichmann D, Rahat O, Albeck S, Meged R, Dym O, Schreiber G. The modular architecture of protein–protein binding interfaces. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 57-62
16. Rajamani DS, Vajda TS, Camacho CJ. Anchor residues in protein–protein interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11287–92
17. Yin H, Hamilton AD. Strategies for targeting protein–protein interactions with synthetic agents. *Angew Chem Int Edit* 2005; 45 (27): 4130-63
18. Berg T. Modulation of protein–protein interactions with small organic molecules. *Angew Chem Int Edit* 2003; 42: 2462-81
19. Gonzalez-Ruiz D, Gohlke H. Targeting protein-protein interactions with small molecules: challenges and perspectives for computational binding epitope detection and ligand finding. *Curr Med Chem* 2006; 13: 2607-25
20. Fuller JC, Burgoyne NJ, Jackson RM. Predicting druggable binding sites at the protein–protein interface. *Drug Discov Today* 2009; 14: 155-61
21. Humphrey W, Dalke A, Schulten, K. VMD - Visual Molecular Dynamics. *J Molec Graphics* 1996; 14: 33-38
22. Dömling A. Small molecular weight protein-protein interaction antagonists: an insurmountable challenge? *Curr Opin Chem Biol* 2008; 12 (3): 281-91 Kuritzkes, D. *et al.* Maraviroc. *Nat Rev Drug Discov* 2008 7, 15–16 Chmielewski *et al.* Targeting the dimerization interface of HIV-1 protease: inhibition with cross-linked interfacial peptides. *J Am Chem Soc* 1997; 119: 4841 –45 Deziel *et al.* Peptidomimetic inhibitors of herpes simplex virus ribonucleotide reductase: a new class of antiviral agents. *J Med Chem* 1995; 38 (18): 3617-23 Yuan *et al.* Identification of small-molecule inhibitors of interaction between the BH3 domain and Bcl-xL. *Nature Cell Biol.* 2001; 3: 173-82 Bodary *et al.* Generation of an LFA-1 antagonist by the transfer of the ICAM-1 immunoregulatory epitope to a small molecule. *Science* 2002; 295: 1086 – 9 Devlin *et al.* Allosteric inhibitors of inducible nitric oxide synthase dimerization discovered via combinatorial chemistry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1506 – 11

Protein-protein interactions in drug discovery

Jelena Randelović*, Vladimir Savić

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Organic Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Summary

Protein-protein interactions form the basics of both physiological and pathological processes, which makes them important targets for drug discovery. Structural characteristics of protein complexes, features of their binding interfaces and theoretical foundations relevant to the design of small molecules modulators of protein interactions have been briefly described in this text. Several experimental methods applicable to the design of drugs acting on protein-protein interactions are listed. The research progress achieved so far is illustrated through several examples of successfully designed modulator molecules. Due to the extraordinary significance of protein-protein interactions in living systems and our improved understanding of them, protein-protein interactions are becoming an increasingly important part of drug discovery research projects. Drugs modulating protein-protein interactions are likely going to represent an increasing percentage of therapeutically active compounds.

Keywords: protein-protein interactions, hot-spot, drug design
