

Kleine Moleküle als Transkriptionsmodulatoren

Hans-Dieter Arndt*

Stichwörter:

Coaktivatoren · Genexpression · Protein-Protein-Wechselwirkungen · Transkriptionsfaktoren · Tumorthерапеutика

Gentranskriptionsprogramme werden von Transkriptionsfaktoren ausgeführt, die mit Coaktivator- oder Corepressorproteinen große Multiproteinkomplexe bilden. Obwohl mit der Identifizierung und Bestätigung von potennten Antagonisten (oder Agonisten) für Protein-Protein-Wechselwirkungen einige Schwierigkeiten verknüpft sind, konnten in jüngerer Zeit verschiedene kleine Moleküle identifiziert werden, die den Transkriptionsprozess durch direkte Wechselwirkung mit Transkriptionsfaktoren beeinflussen. Einige dieser kleinen Moleküle weisen überraschende Selektivitäten auf, und manche sind sogar *in vivo* aktiv. Der Kurzaufsatz fasst den Stand der Forschung in diesem aufstrebenden Gebiet zusammen und veranschaulicht das Potenzial dieser kleinen Moleküle in der chemischen Biologie der Transkription.

1. Einleitung

Die in der zellulären DNA codierte genetische Information kann erst durch die regulierte Expression Gestalt annehmen, d.h. nach ihrer Transkription in prä-RNA. Dieser Transkriptionsprozess wird von Zellkernproteinen kontrolliert, die in komplexe zelluläre Regulationsnetzwerke eingebunden sind. Man geht zurzeit davon aus, dass in höheren Organismen 5–10% der genetischen Information für Proteine codiert, die den Transkriptionsprozess regeln.^[1] Das Ausmaß der Expression einzelner Gene äußert sich im Allgemeinen in spezifischen Phänotypen, und die fehlregulierte Expression von genetischer Information ist mit einer Vielzahl von Krankheiten verknüpft. Aus diesem Grund wären kleine Moleküle, die direkt mit der Transkriptionsmaschinerie wechselwirken könnten, von großem Interesse. Dies gilt nicht nur für eine therapeutische Verwendung, sondern insbesondere auch für das Gebiet der chemischen Biologie, wo solche Moleküle einen wichtigen Beitrag zur Aufklärung der hochkomplexen Wechselwirkungen zwischen dem Chromatin, den

Transkriptionsfaktoren und dem Expressionsgrad bestimmter Gene leisten könnten.

Die Verwendung von inhärent ligandenabhängigen Transkriptionsfaktoren, den so genannten Kernrezeptoren (nuclear receptors, NRs), ist der wohl wichtigste Ansatz zur Adressierung von Genen mit kleinen Molekülen.^[2,3] Eine Vielzahl von steroid- und nicht-steroidbasierten Effektormolekülen befindet sich in der wissenschaftlichen Entwicklung oder klinischen Nutzung (z.B. selektive Östrogenrezeptor-Modulatoren, „SERMs“). Allerdings lässt sich deren Anwendung nur schwer auf Gene oder Phänotypen übertragen, die nicht von Kernrezeptoren abhängig sind.

Bei der Suche nach neuartigen Aktivitätsprofilen wäre eine spezifische Adressierung weiterer Komponenten der Transkriptionsmaschinerie mit kleinen Molekülen vorteilhaft. Die Anwendung solcher Verbindungen könnte helfen, unser Verständnis des Transkriptionsprozesses zu vertiefen, und Untersuchungen zu den vorgelagerten Signaltransduktionskaskaden ergänzen. Auch ist in der Wirkstoffentwicklung die direkte Modulierung der Transkription bisher nur wenig untersucht (mit der bereits erwähnten Ausnahme auf dem Gebiet der Kernrezeptoren); neue Erkenntnisse könnten hier zu alternativen Therapien führen, besonders in der Krebsbehandlung.^[4] In den folgenden Abschnitten werden die Fortschritte zusammengefasst, die auf diesem Gebiet im Bezug auf kleine Moleküle erzielt worden sind.^[5]

2. Transkriptionsinitiierung

Die promotorspezifische Initiierung der Transkription (Abbildung 1) bedarf sowohl genspezifischer (TF) als auch allgemeiner, „basaler“ Transkriptionsfaktoren (GTF), die

[*] Dr. H.-D. Arndt
Universität Dortmund
Fachbereich Chemie
Otto-Hahn-Straße 6, 44221 Dortmund (Deutschland)
und
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie
Otto-Hahn-Straße 11, 44227 Dortmund (Deutschland)
Fax: (+49) 231-133-2498
E-mail: hans-dieter.arndt@mpi-dortmund.mpg.de

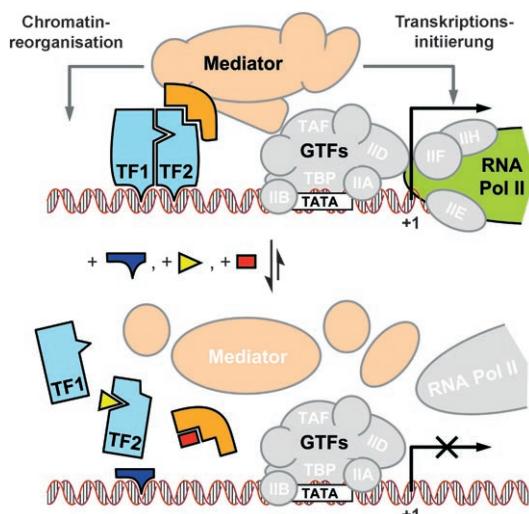


Abbildung 1. Vereinfachte Darstellung der Bildung des Transkriptionsinitiationskomplexes. Gezeigt sind kleine Moleküle, die mit DNA wechselwirken können (dunkelblau), Transkriptionsfaktoren adressieren (gelb) oder Coaktivatoren bzw. den Mediator-Komplex binden (orange). Ein Coaktivator kann auch an die basalen Transkriptionsfaktoren (GTFs) und an das Chromatin binden sowie weitere Coaktivatoren stabilisieren (nicht gezeigt). TF: Transkriptionsfaktor, GTF: basaler Transkriptionsfaktor, RNA Pol II: RNA-Polymerase II, TATA: TATA-Element, TBP: TATA-Element bindendes Protein, TAF: TBP assoziierter Faktor, „+1“: Ort des Transkriptionsbeginns.

sich kooperativ auf passenden DNA-Elementen anordnen, die dem codierenden DNA-Bereich vorgelagert sind („Promotor“).^[6] Transkriptionsfaktoren sind in der Lage, Coaktivatorproteine zu binden,^[7] die dann wiederum die allgemeinen Transkriptionsfaktoren auf dem Promotorkern stabilisieren können. Darüber hinaus induzieren Coaktivatoren die Reorganisation des Chromatins („remodeling“) und rekrutieren weitere Proteine. Diese bilden schließlich einen großen, auch „Mediator“ genannten Komplex, der viele DNA-bindende Faktoren verbrückt.^[8] Für die vielfältigen Mediator- und Mediator-ähnlichen Komponenten wurde erst vor kurzem eine einheitliche, speziesübergreifende Nomenklatur vorgeschlagen.^[8c] Alle diese Faktoren wirken schließlich in der Bildung eines stabilen Präinitiationskomplexes zusam-

men, der die RNA-Polymerase II rekrutiert und so die Transkription eines Gens auslöst.^[8d]

Die Hinweise mehren sich, dass die Bindung dieser Zellkernproteine an das Chromatin unerwartet dynamisch ist (Sekundenskala) und wahrscheinlich mit dem Modell eines stochastischen Abtastprozesses erklärt werden kann.^[9,10] Statisch DNA-gebundene Proteinfractionen scheinen eher die Ausnahme als die Regel zu sein. Darüber hinaus konnte selbst für die Bereiche, die gerade aktiv an der Transkription beteiligt sind, eine stetige und dynamische Reorganisation im Minutenbereich nachgewiesen werden.^[10a] Obwohl in die Transkriptionsinitierung mehrere Dutzend unterschiedlicher Proteine eingebunden sind, sollte also ein Eingriff in diesen Prozess möglich sein und auf der Zellebene schnell ablaufen. In einer einfachen Modellvorstellung könnten kleine Moleküle an Transkriptionsfaktoren, Coaktivatoren oder auch DNA binden und deren Assoziation dynamisch stören, was eine verlangsamte Rekrutierung der RNA-Polymerase II und damit eine Reduktion der Expression eines codierten Gens zur Folge hätte. Dieses Antagonistenkonzept konnte inzwischen in mehreren Fällen experimentell bestätigt werden. Die alternative Stabilisierung von Multiproteinkomplexen aus Transkriptionsfaktoren gelang in Modellstudien ebenfalls (siehe Abschnitt 5).

3. Inhibitoren der Assoziation von Transkriptionsfaktoren

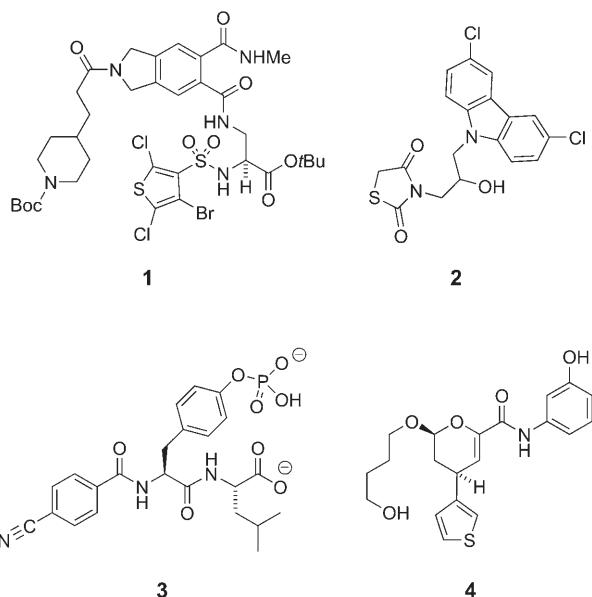
Transkriptionsfaktoren üben ihre Funktion höchst selten allein aus, sondern agieren meist gemeinsam mit weiteren Transkriptionsfaktoren, die an Promotor-DNA binden. In vielen Fällen bilden Transkriptionsfaktoren kooperativ Homo- oder Heterodimere als kleinste Untereinheit, und meistens haben nur diese Dimere eine genügend hohe Affinität und Spezifität für ihre entsprechenden DNA-Elemente. Ein vielversprechender Ansatz zur Beeinflussung der Genexpression könnte also das Hemmen der Dimerisierung eines wichtigen Transkriptionsfaktors sein (Schema 1).

3.1. Myc/Max

Die erste derartige Wechselwirkung, für die ein niedermolekularer Antagonist identifiziert werden konnte, war Myc/Max.^[11] c-Myc ist als basischer Helix-Schleife-Helix-Transkriptionsfaktor mit einer Leucin-Reißverschlussdomäne entscheidend an der Zellproliferation und Unterdrückung der Zelldifferenzierung beteiligt, und es konnte gezeigt werden, dass c-Myc in menschlichen Krebsarten häufig überexprimiert auftritt.^[12] Die aktivierende Wirkung geht jedoch von Heterodimeren aus, die von c-Myc mit dem Partnerprotein Max gebildet werden. Zur Identifizierung von Antagonisten der Myc/Max-Wechselwirkung wurden von Vogt et al. Fusionsproteine mit dem cyan (CFP) und gelb fluoreszierenden Protein (YFP) in FRET-basierten Experimenten eingesetzt (FRET = resonanter Fluoreszenzenergietransfer).^[11] Es gelang so, in einem Hochdurchsatzscreening einige Antagonisten mit Aktivitäten im mittleren mikromolaren



Hans-Dieter Arndt, Jahrgang 1971, studierte Chemie in Ulm, London (Imperial College) und Marburg. Im Anschluss promovierte er 2002 bei Ulrich Koert an der Humboldt-Universität zu Berlin über artifizielle Ionenkanäle. Nach einem Postdoc-Aufenthalt bei Peter B. Dervan am California Institute of Technology, wo er Protein-rekrutierende DNA-Liganden untersuchte, wurde er 2004 Gruppenleiter am Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie sowie Emmy Noether-Nachwuchsgruppenleiter an der Universität Dortmund. Sein Forschungsinteresse gilt der chemischen Biologie der Transkription und Translation sowie der organischen Synthese.



Schema 1. Inhibitoren 1–4 der Assoziation von Transkriptionsfaktoren.
Boc = *tert*-Butoxycarbonyl.

Bereich zu finden, wobei sich in dieser Studie das Isoindolin **1** (Schema 1) als aktivste Verbindung herausstellte ($50 \mu\text{M}$). Weiterhin unterband **1** eine onkogene Transformation von Fibroblasten aus Hühnerembryos (ca. $20 \mu\text{M}$), was den Beleg lieferte, dass eine Beeinflussung dieser TF-Dimerisierung generell möglich ist.^[11] Anschließend wurden auch von Prochownik et al. Verbindungen vorgestellt, die Antagonisten der Myc/Max-Wechselwirkung sind.^[13] In diesem Fall wurde ein Hefe-Zwei-Hybrid-Assay (yeast two-hybrid assay) eingesetzt, um nach Auslösern der Auflösung des c-Myc/Max-Komplexes zu suchen. Dabei wurde in einer kommerziellen Verbindungsbibliothek das Dichlorcarbazol **2** nebst einigen weiteren wirksamen Inhibitoren gefunden. **2** wies nicht nur eine Wirkung im niedrigen mikromolaren Bereich *in vitro* auf, sondern es unterdrückte auch die Proliferation von Fibroblasten in einer c-Myc-abhängigen Weise. Darüber hinaus konnte das Wachstum von Modelltumoren in der Nacktmaus komplett gestoppt werden, nachdem diese vor der Inokulation mit **2** behandelt worden waren ($39 \mu\text{M}$). Zwar ist die Wirkung von **2** noch nicht sehr stark, das generelle Potenzial von c-Myc/Max-Antagonisten für die Krebsbehandlung wird aber deutlich. Dies wird von einer weiteren, kürzlich veröffentlichten Studie unterstrichen, in der strukturell verwandte Naphthole als Antagonisten der c-Myc/Max-Wechselwirkung *in vitro* identifiziert wurden ($17\text{--}36 \mu\text{M}$), die dann in zellulären Transformationsstudien ebenfalls Wirkung zeigten.^[14]

3.2. STAT3

Als zweite Gruppe von möglicherweise interessanten Transkriptionsfaktoren wurden STATs untersucht (STAT = signal transducer and activator of transcription). STATs können extrazelluläre Signale vermitteln und dabei gleichzeitig die Transkription direkt regulieren. Sie können von

Wachstumsfaktor- und Cytokinrezeptor-, aber auch von nichtrezeptorassoziierten Tyrosinkinasen wie Abl oder c-Src phosphoryliert werden, wodurch ihre Dimerisierung über reziproke Wechselwirkung von Phosphotyrosin in den SH2-Domänen ausgelöst wird. Nach der Translokation in den Zellkern bewirken diese Dimere diverse Transkriptionsprozesse, die mit der Immunantwort und Entzündungen, aber auch mit Proliferation, Differenzierung, Entwicklung und Apoptose verknüpft sind.^[15] STAT-vermittelte Signale werden in der Zelle streng reguliert. Es wird angenommen, dass die Fehlregulation einiger STAT-Subtypen, besonders die Überaktivierung von STAT3 und STAT5, die Bösartigkeit mancher Tumoren verursacht.^[15b] Turkson et al. konnten das Tripeptidmimetikum **3**, das von einem STAT3 bindenden Phosphopeptid abgeleitet ist, als Inhibitor der reziproken Dimerisierung von STAT3 identifizieren ($40 \mu\text{M}$).^[16] Ungeachtet der möglicherweise geringen Zellpermeabilität und Stabilität von **3** gelang es den Autoren zu zeigen, dass **3** nicht nur STAT3-Dimere auflösen kann, sondern auch das Zellwachstum in zellulären Experimenten unterdrückt. Dies bestätigt die Hypothese einer effektiven direkten Hemmung der Dimerisierung von STAT3 (und damit des aktivierenden Potenzials); dies könnte eine konzeptionelle Alternative zur Untersuchung STAT3 phosphorylierender Kinasen ergeben (Abl, c-Src).^[17]

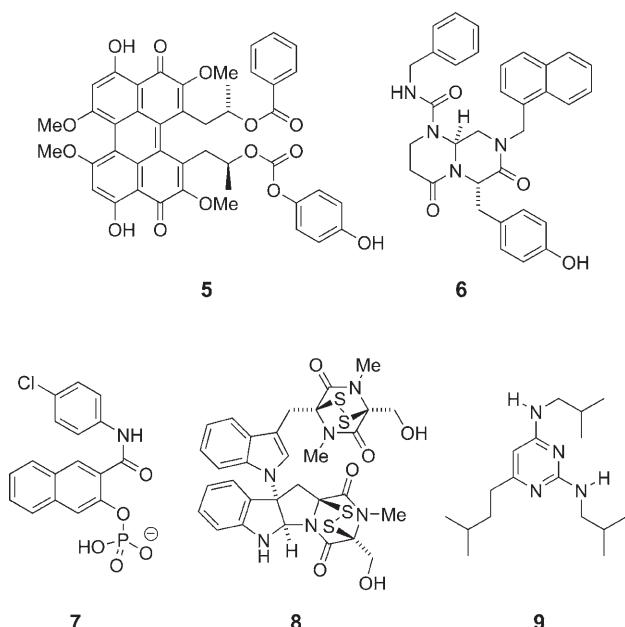
3.3. HAP3

In einem ganz unterschiedlichen Ansatz, ausgehend von einem Mikroarray kleiner Moleküle, erwies sich das Dihydropyran **4** als selektiver Ligand für den Transkriptionsfaktor HAP3 aus Hefe.^[18] HAP2/3/5 (heme activated proteins) binden als Heterotrimere an hochkonservierte CCAAT-DNA-Sequenzen mit subnanomolaren Affinitäten, genauso wie ihre Homologen NF-Y und CBF in höheren Eukaryonten. Die Daten aus Oberflächenplasmonenresonanzexperimenten, Reporterstudien und der Analyse von Gesamtgenomexpressionsprofilen in Hefe zeigten, dass **4** direkt an HAP3 bindet ($0.3 \mu\text{M}$), die HAP-abhängige Transkription herunterreguliert ($24 \mu\text{M}$) und HAP-abhängige Genregulation auf genomicscher Ebene moduliert. Es wird interessant sein zu sehen, ob **4** auch den NF-Y-Komplex beeinflussen kann, der in Säugetierzellen allgemeinere und vielfältigere Aufgaben erfüllt als das homologe HAP in Hefe.^[19]

4. Modulatoren der Wechselwirkung mit Cofaktoren

Transkriptionsfaktoren sind immer mit mindestens zwei funktionalen Domänen ausgestattet: Zum einen binden sie an die genomische DNA, um das Auslesen und die Prozessierung genetischer Programme in Abhängigkeit von der Promotorsequenz zu ermöglichen. Zum anderen wechselwirken sie mit weiteren Cofaktoren, um ihre Funktion auszuüben, und können daher auch als quasikombinatorische Adapterproteine betrachtet werden, die den DNA-Sequenzkontext vermitteln.^[20] Viele der von Transkriptionsfaktoren adressierten Proteine sind entweder Coaktivatorproteine, die die Chro-

matinreorganisation und Transkriptionsinitierung steuern, oder Corepressorproteine, die ein Gen oder einen ganzen Locus stilllegen können. Darüber hinaus können sich Wechselwirkungen auch auf die basalen Transkriptionsfaktoren oder Mediatorkomponenten erstrecken. Dies bedeutet, dass außer den Wechselwirkungen zwischen einzelnen Transkriptionsfaktoren auch die Kommunikation zwischen Transkriptionsfaktoren und Coregulatoren einen Angriffspunkt für kleine Moleküle wie den in Schema 2 gezeigten bieten



Schema 2. Modulatoren 5–9 der Assoziation von Transkriptionscofaktoren.

könnte. Auf diesem Gebiet hat es deutliche Fortschritte gegeben, in einigen Fällen gelang es sogar, die Wirksamkeit im Tiermodell zu demonstrieren. Interessanterweise zeigen einige dieser Verbindungen eine klare Selektivität für einzelne Bindestellen innerhalb eines multivalenten Proteins (d. h. eines Proteins mit mehreren Bindungsstellen).

4.1. β -Catenin

Das multifunktionale Protein β -Catenin vermittelt die Signale des Wnt-Signalpfades als transkriptioneller Coaktivator und wird infolge onkogener Mutationen leicht hyperaktiv.^[21] β -Catenin bildet im Zellkern Komplexe, wobei die Bindung an die Transkriptionsfaktoren der TCF- und LEF-Familie hervorzuheben ist. Diese Bindung wird von einer großen, flachen Oberfläche vermittelt, die von einem 12fachen „armadillo repeat“ des β -Catenins gebildet wird ($> 3600 \text{ \AA}^2$).^[22] Es gilt gemeinhin als sehr schwierig, niedermolekulare Inhibitoren für solche Oberflächenwechselwirkungen zu finden. Dennoch gelang es in einem Hochdurchsatzscreening mit 7000 Naturstoffen, einige kleine Moleküle dafür zu identifizieren und diese dann im Detail zu untersuchen.^[23] Das planare Chinon **5** (Schema 2), ein Pilz-

metabolit, erwies sich als interessanter Kandidat. **5** unterbindet die Bildung eines reinen β -Catenin/TCF-Komplexes *in vitro* ($3 \mu\text{M}$ ELISA) sowie in Zellextrakten, verhindert abhängig vom Zelltyp die Proliferation (0.4 – $3.4 \mu\text{M}$), verringert die Expression von β -Catenin-abhängigen Zielgenen (cyclin D1, c-myc) in HCT116-Zellen und nimmt starken Einfluss auf die β -Catenin-abhängige Entwicklung in Froschembryonen. Auch wenn die Autoren nicht ausschließen, dass **5** noch weitere Zielproteine ansteuern könnte, ist es ein starker Kandidat für eine direkte Störung der Komplexbildung aus β -Catenin und TCF. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass eine Sammlung von 45 000 synthetischen Verbindungen im gleichen Screening kein einziges positives Ergebnis erbrachte.^[24]

4.2. Das CREB-bindende Protein (CBP) und p300

Das CREB-bindende Protein (CBP) und das dazu hoch homologe Protein p300 haben als Multidomänen-Coaktivatorproteine mit hohem Molekulargewicht (300 kDa) die Aufgabe, das Chromatin zu reorganisieren und die Transkription zu aktivieren, nachdem sie von Transkriptionsfaktoren rekrutiert wurden.^[25] CBP/p300 gilt allgemein als limitierender Faktor innerhalb der Transkriptionsnetzwerke, im Hinblick sowohl auf die Umsatzrate als auch auf die Konzentrationen. CBP/p300 trägt mindestens sechs Wechselwirkungsdomänen, die mit einer Vielzahl von Transkriptionsfaktoren und Mediatorkomponenten wechselwirken können. Dies macht CBP und p300 zu sehr komplexen Zielproteinen. Es gelang jedoch kürzlich, drei Moleküle zu finden, die in die Bindung von CBP/p300 an Transkriptionsfaktoren eingreifen, wobei zudem drei unterschiedliche Wechselwirkungen angesteuert werden (Schema 2).

In einer Untersuchung von 5000 Verbindungen zeigte sich, dass das Piperazinon **6** in der Lage ist, die β -Catenin/TCF-abhängige Signalkaskade herunterzuregulieren (TCF = T-Zell-Faktor).^[26] Bei affinitätschromatographischen Experimenten stellte sich heraus, dass **6** anders als **5** selektiv an CBP bindet, dabei allerdings direkt mit β -Catenin konkurriert. Die Binderegion für **6** konnte auf den N-Terminus von CBP eingegrenzt werden, an dem auch die Kernrezeptoren binden (z. B. RAR/RXR). Überraschenderweise bindet **6** dabei nicht an den hoch homologen Coaktivator p300. Verschiedene onkogene Zielgene stromabwärts von β -Catenin (wie survivin oder cyclin-D1) waren nach einer Behandlung mit **6** deutlich herunterreguliert. Dies galt sowohl für kultivierte Darmkrebszellen ($25 \mu\text{M}$) als auch für ein Mausmodell (150 mg kg^{-1} i.v.), was die Effektivität dieser Verbindung *in vivo* belegt.

Für den prototypischen Effektor von CBP, das CREB (cAMP response element binding protein), wurde vor kurzem ein Antagonist vorgestellt.^[27] In einem NMR-basierten Experiment fiel das Naphtholphosphat **7** als niedermolekularer Antagonist der CREB/CBP-Wechselwirkung auf. Detaillierte NMR-Experimente führten die Autoren zu dem Schluss, dass **7** eine Bindestelle fernab der CREB-bindenden Furche auf der KIX-Domäne des CBP ansteuert und dabei wahrscheinlich über einen allosterischen Mechanismus wirkt. Die Eigenschaft von **7**, CREB abzulösen, konnte mit *In-vivo*-Re-

porterstudien bestätigt werden ($10 \mu\text{M}$). Da die KIX-Domäne auf CBP als Bindeplattform für unterschiedlichste Transkriptionsfaktoren fungiert, zeigen Verbindungen wie **7** auch, dass diese Plattform möglicherweise auf verschiedene Weise angesteuert werden kann. CREB ist entscheidend an der Gluconeogenese in der Leber beteiligt und wird daher auch als mögliches Zielprotein für die Behandlung von Diabetes Typ II diskutiert.

Weiterhin wurde in einem Hochdurchsatzscreening gezeigt, dass der Naturstoff Chetomin (**8**) in der Lage ist, die Bindung von p300 an HIF-1 α zu stören.^[28] HIF-1 α ist als Transkriptionsfaktor entscheidend an der Reaktion von Geweben auf Hypoxie (Sauerstoffmangel) beteiligt und gilt daher als wichtiges Zielprotein in der Antiangiogeneseforschung. Allerdings vermittelt erst der Coaktivator p300 die Wirkung von HIF-1 α , indem er mit seiner TAZ1-Domäne (auch CH1-Domäne genannt) an den Transkriptionsfaktor bindet. Chetomin (**8**) scheint die Faltung der TAZ1-Domäne auf p300 zu stören; HIF-1 α kann nun seine Funktion nicht mehr ausüben, da hierfür die Bindung an p300 über diese Domäne notwendig ist. Dies sollte ebenfalls für andere Transkriptionsfaktoren gelten, die an die TAZ1-Domäne binden, was auch für HIF-2 α und STAT2 gezeigt werden konnte. Wichtig ist, dass die Wirkung wohl nicht über eine kovalente Modifikation des potenziell reaktiven Cys-800 in der Aktivatordomäne von HIF-1 α erzielt wird. Der genaue Bindungsmodus von **8** an p300 muss noch aufgeklärt werden; allerdings lässt die hohe Potenz in vitro (nm) sowie in Tumormodellen in der Nacktmaus in vivo (1 mg kg^{-1} i.v.) eine Erforschung dieser Art von Wirkung vielversprechend erscheinen.

4.3. Kernrezeptoren

Ein Kernrezeptor (NR) ändert in Reaktion auf die Bindung eines Liganden im Allgemeinen die Konformation seiner ligandenbindenden Domäne und präsentiert so eine modulierte Bindeoerfläche, die entweder Coaktivator- (Agonisten) oder Corepressorrekruierung (Antagonisten oder Apoform) begünstigt.^[29] Es wurde gezeigt, dass Coaktivatoren auf der Ligandenbindedomäne mit einem hochkonservierten, helicalen LxxLL-Motiv andocken, das oft als „nuclear receptor interaction box“ bezeichnet wird. Die Adressierung dieser Bindestelle mit konformativ eingeschränkten Peptiden und Peptidmimetika hat bereits ein hohes Niveau erreicht.^[30] Katzenellenbogen et al. konnten nun zeigen, dass auch ein kleines Molekül in der Lage sein kann, die Bindung von Coaktivatorpeptiden an den Östrogenrezeptor α -Subtyp (ER- α) zu verhindern.^[31] Mithilfe der Information über NR-Coaktivatorpeptide entwarfen die Autoren Moleküle, die drei Leucin-artige Seitenketten präsentieren, und untersuchten sie auf ihre Eignung für die Destabilisierung von ER- α /Coaktivatorpeptid-Komplexen. Zwar wies das identifizierte Pyrimidin **9** nur eine moderate Aktivität auf ($K_d \approx 30 \mu\text{M}$), es ist aber die erste nichtpeptidische Verbindung, die Coaktivatoren reversibel von einem Agonist-gebundenen Kernrezeptor verdrängen kann. Sollte sich dieser wichtige Nachweis des Wirkprinzips auch für potentere Liganden führen lassen,

würde dies bedeuten, dass sich steroidartige NR-Liganden auf eine neuartige Weise selektiv beeinflussen lassen. Neueste Befunde aus einem Hochdurchsatzscreening mit Coregulator-Antagonisten des thyroidalen Hormonrezeptors (TR) weisen in diese Richtung: Guy et al. gelang es, Vinylarylketone als kovalent-reaktive Liganden des TR zu identifizieren, die im submikromolaren Bereich die Bindung von Coaktivatoren verhindern.^[32]

4.4 p53

Von allen Transkriptionsfaktoren ist wahrscheinlich der Tumorsuppressor p53 am besten untersucht worden.^[33,34] Dieser potente Transkriptionsfaktor integriert verschiedene Stresssignale und beeinflusst die Kontrolle des Zellzyklus, der Zellarterung und der Apoptose. Wegen seiner Rolle als „zellulärer Wächter“ finden sich in Krebszellen sehr häufig onkogene Mutationen im p53-Regulationsweg, die genau diese Funktion beeinträchtigen. In gesunden menschlichen Zellen wird die Kontrolle der Menge an p53 durch das Regulatorprotein HDM2 sichergestellt (in der Maus durch das homologe MDM2), das die wichtige Aktivatordomäne in p53 abschirmt und darüber hinaus den Abbau von p53 über eine intrinsische Ubiquitinligaseaktivität vom RING-Finger/E3-Typ einleiten kann. Eine Blockade von HDM2 sollte daher dazu führen, dass die (positive) Aktivität von p53 in den betroffenen Zellen wiederhergestellt und/oder befördert wird.

Auf der Suche nach solcher Aktivität haben kürzlich drei Gruppen unabhängig voneinander kleine Moleküle vorgestellt, die die p53-Bindestelle auf HDM2/MDM2 ansteuern. Diese Bindung von p53 findet in einer Vertiefung auf der Oberfläche von HDM2 statt, an der eine hydrophobe Tasche mit drei Seitenketten (Phe-19, Trp-23, Leu-26) eines α -helicalen Segments von p53 gefüllt wird (Abbildung 2).^[35]

Erstmals wurden bei Roche potente und selektive niedermolekulare Inhibitoren der MDM2/p53-Wechselwirkung entwickelt.^[36] Dort waren nach Hochdurchsatzscreenings und

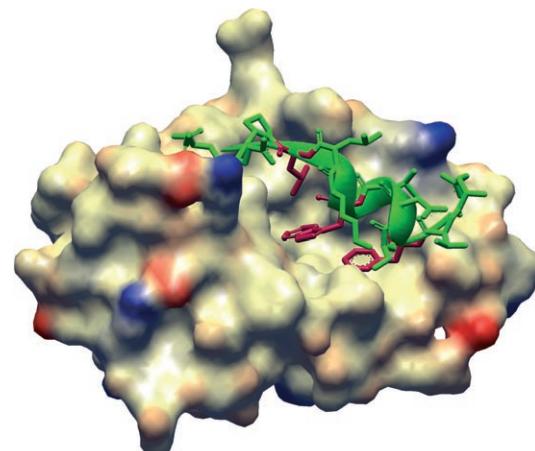
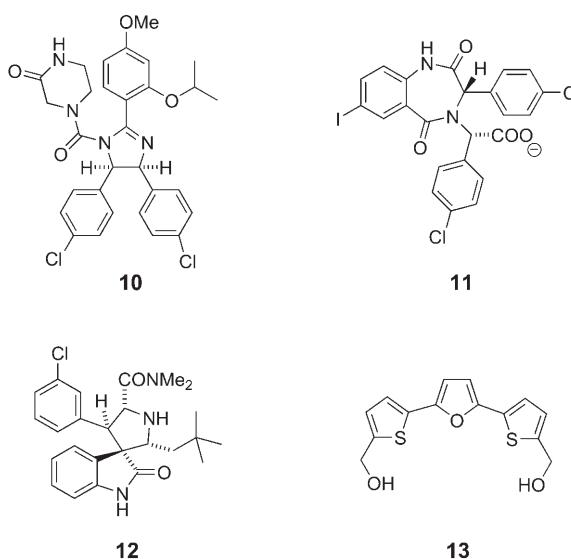


Abbildung 2. HDM2-Protein (bronze) im Kristall, assoziiert mit einem Peptid aus der Transaktivatordomäne von p53 (grün).^[35] Die für die Bindung wichtigen Aminosäureseitenketten sind in violettblau hervorgehoben (PDB: 1YCR).

strukturbasierter Optimierung *cis*-Dihydroimidazole mit Affinitäten im höheren nanomolaren Bereich identifiziert worden (Schema 3). „Nutlin 3“ (**10**) bindet an MDM2 (0.1 µM),



Schema 3. Verbindungen **10–13**, die p53 modulieren.

stoppte die Proliferation von Krebszellen (1–3 µM) und unterband das Tumorgewachstum in der Nacktmaus nach oraler Gabe (400 mg kg⁻¹ pro Tag). In all diesen Versuchen erwies sich die Wirkung des Dihydroimidazols **10** als vergleichbar mit jener des klinisch erprobten Wirkstoffs Doxorubicin.

In der Folge stellte auch Johnson & Johnson Benzodiazepinone als HDM2-Antagonisten vor, wobei sich **11** bei Invitro- und zellbasierten Studien als besonders aktiv erwies.^[37] Die räumliche Gestalt ähnelt stark jener der *cis*-Imidazoline, allerdings scheinen die publizierten Benzodiazepinone generell etwas weniger aktiv zu sein. Auch hier konnte aber die Unterdrückung der Proliferation von Krebszellen bei ca. 30 µM gezeigt werden. Sowohl die „Nutline“ (**10**) als auch die Benzodiazepinone (**11**) wurden im gebundenen Zustand an ihren jeweiligen Zielproteinen röntgenkristallographisch charakterisiert; sie binden tatsächlich an der p53-Bindungsfurche auf MDM2 (**10**) bzw. HDM2 (**11**).

Kürzlich wurden von einer Hochschulgruppe Spirooxindole als potente MDM2-Antagonisten vorgestellt.^[38] Die Autoren gelangten durch Substrukturvergleich von Naturstoffstrukturen und Computermodellierung zu diesen Verbindungen (**12**), die dann über enantioselektive dipolare Azomethinylid-Cycloaddition aufgebaut wurden. Auch wenn bislang nur über wenige Derivate berichtet wurde, liegen zumindest die Aktivitäten von **12** in vitro gleichauf mit denen der *cis*-Dihydroimidazole (siehe Tabelle 1 in Abschnitt 6).

Vor kurzem wurde ein p53-Aktivator völlig anderen Typs beschrieben.^[39] Das Bis(thiophenyl)furan **13** („RITA“) wurde bei der Untersuchung einer Substanzbibliothek entdeckt, in der zwei bis auf ihren p53-Status isogene Darmkrebszelllinien eingesetzt wurden. Die Aktivität von **13** konnte in Folgeexperimenten verifiziert werden. Insbesondere verhinderte **13**

das Wachstum von Tumormodellen in der Nacktmaus bei 10 mg kg⁻¹ pro Tag i.v. vollständig. **13** greift in die Bildung des Komplexes aus HDM2 und p53 ein, wobei es nicht an HDM2, sondern mit sehr hoher Affinität direkt an p53 zu binden scheint ($K_d = 1.5$ nM). Die Autoren schlossen daraus, dass **13** wahrscheinlich eine bislang unbekannte, allosterische Bindestelle auf p53 adressiert. So könnte entweder ein zur Komplexbildung notwendiger Konformationsübergang blockiert oder ein Zustand stabilisiert werden, der weitere Co-faktoren rekrutiert.

Interessanterweise zeigte sich in vor kurzem veröffentlichten NMR-Experimenten, dass natives p53 auch nach der Bindung an MDM2 relativ unstrukturiert bleibt.^[40] Dies deutet darauf hin, dass zum Erreichen seines aktivierenden Zustands zusätzliche Regulatorproteine notwendig sind. In der gleichen Studie wurde auch darauf hingewiesen, dass MDM2 in Gegenwart von niedermolekularen Substanzen unterschiedlich stark zur Aggregation tendieren kann. Die hohe Wirksamkeit von **13** in p53⁺-Tumorgewebe und sein neuartiger Wirkmechanismus belegen das Potenzial von möglichst breit angelegten Screeningexperimenten.

5. Modulare, nichtpeptidische Aktivatormoleküle

Die Transkription könnte auch beeinflusst werden, indem nicht der Transkriptionsinitiationskomplex destabilisiert, sondern im Gegenteil seine Bildung gefördert würde. Dies sollte dann zu einer Häufung von Transkriptionsereignissen führen und die Expressionsniveaus des betroffenen Gens erhöhen. Auf Zwei- und Drei-Hybrid-Konstrukten basierende Experimente nutzen eine derartige artifizielle Aktivierung zur Detektion von Wechselwirkungen über das Auslesen der Transkription von Reporterkonstrukten, und aus Aktivator- und DNA-bindenden Domänen zusammengesetzte Fusionsproteine werden seit längerem als artifizielle Aktivatoren untersucht und verwendet.^[41] Kleine Moleküle, die in einer vergleichbaren Weise Transkriptionskomplexe stabilisieren können, sind bislang nicht identifiziert worden. Sollte es gelingen, kleine Moleküle, die Komponenten der Transkriptionsmaschinerie adressieren, in modular aufgebaute Konstrukte einzubinden, dann könnten auch nichtpeptidische Aktivatoren ein Hilfsmittel in der chemischen Biologie werden.

Ist einmal ein geeigneter Ligand für einen Coaktivator oder ein Mediatorprotein gefunden – z.B. in auf TF/Cofaktor-Disssoziation^[42] oder Cofaktor-Rekrutierung^[43] ausgerichteten Screeningexperimenten –, so könnte ein neuartiger Aktivator durch kovalentes Anbinden an ein weiteres Molekül erhalten werden, was eine hohe DNA-Affinität sicherstellen würde (Abbildung 3). Um ausschließlich relevante Gene zu aktivieren, könnte ein DNA-bindendes Protein angesteuert werden (artifiziell oder auch natürlich, Abbildung 3a) oder die DNA direkt mit einem sequenzspezifischen Liganden adressiert werden (Abbildung 3b). Dies ergäbe je nach Konfiguration niedermolekulare Protein-Protein- oder Protein-DNA-Dimerbildner („Dimerizer“). Dieses Konzept konnte bisher mit drei unterschiedlichen Molekülen realisiert werden (Schema 4).

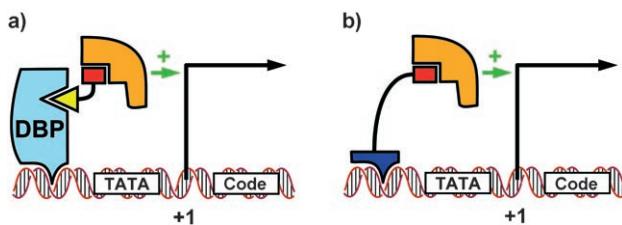


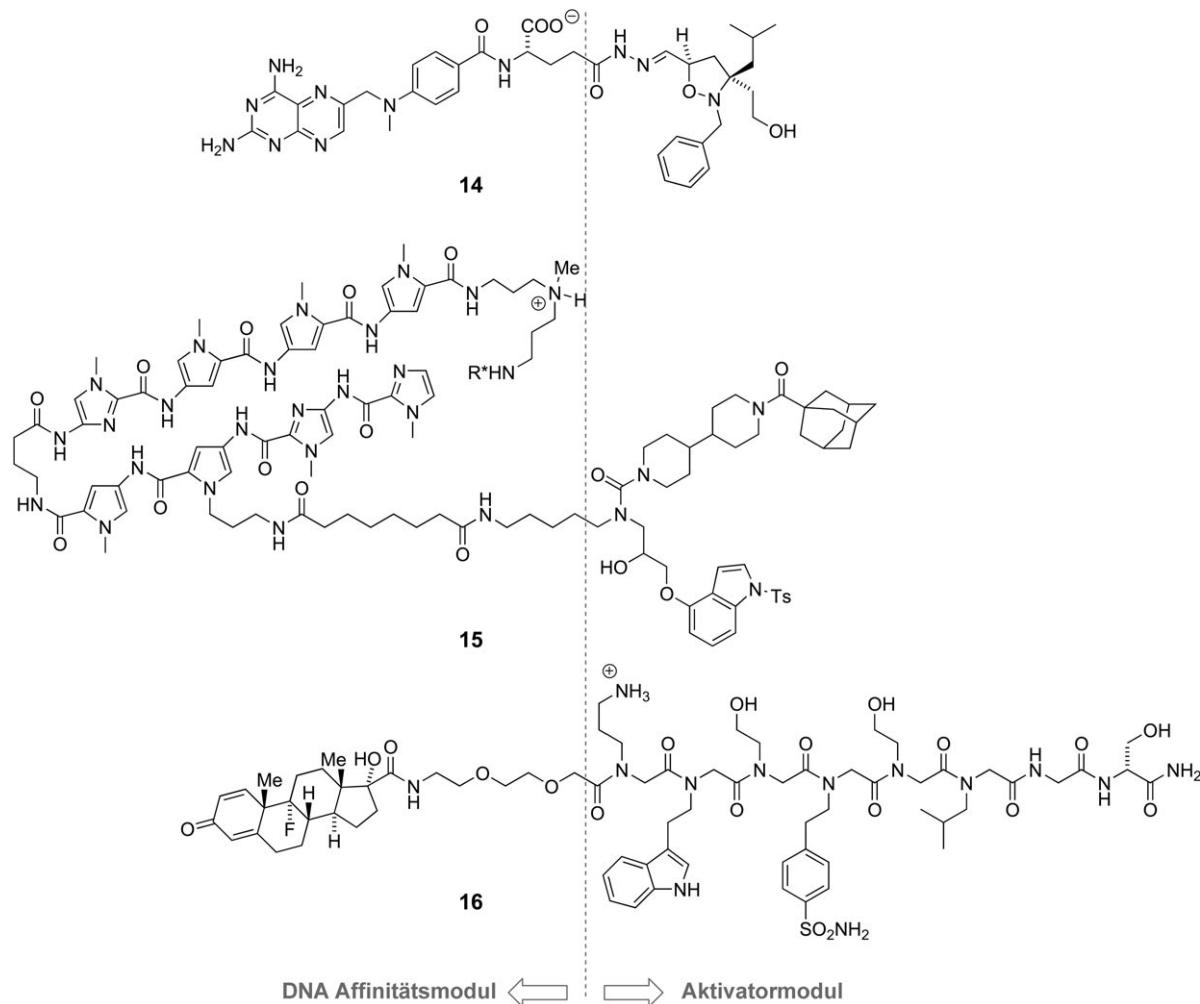
Abbildung 3. Modulare, artifizielle Aktivatoren. a) Ein Aktivatormodul (rot), verknüpft mit einem Liganden für ein DNA-bindendes Protein (DBP, gelb). b) Ein Aktivatormodul, verbunden mit einem DNA-bindenden Molekül (dunkelblau). Code: codierende Region; TATA: TATA-Element; +1: Ort des Transkriptionsbeginns.

Das Isoxazolidin **14** und ähnliche Verbindungen können, wie Mapp et al. zeigten, die Transkription eines Zielgens *in vitro* um das Fünf- Siebenfache erhöhen.^[44] Die notwendige DNA-Affinität wurde durch das Anknüpfen von Methotrexat erreicht, das an ein artificielles Fusionsprotein aus Dihydrofolat-Reduktase und der DNA-Bindedomäne des Hefetranskriptionsfaktors LexA bindet. Interessanterweise konnten sowohl die Konfiguration als auch die Anordnung

der Substituenten am Isoxazolidinkern stark variiert werden, eine Eigenschaft, die auch manche natürliche Aktivatorpeptidsequenzen aufweisen.^[44b] Über die Natur der zellulären Zielproteine dieses Isoxazolidin-Aktivators sowie das Ausmaß der Beeinflussung durch das Fusionsprotein wurde noch nicht im Detail berichtet.

In der Folge stellten Uesugi, Dervan et al. ein Konjugat (**15**) aus „Wrenchnolol“ und einem DNA-bindenden Polyamid vor, das *in vitro* die sequenzspezifische Transkription von DNA auslöst, ohne auf ein DNA-bindendes Protein angewiesen zu sein.^[45] „Wrenchnolol“ war zuvor als mikromolarer Ligand für Sur-2 identifiziert und optimiert worden, einer Ras-gebundenen Untereinheit des menschlichen Mediotkomplexes.^[42] Mit dem Wrenchnololkonjugat **15**, das ein sequenzspezifisch DNA-bindendes Polyamid trägt,^[46] konnte die Rekrutierung sowohl von Sur-2 als auch von RNA-Polymerase II an die Ziel-DNA demonstriert werden, was die gelungene *In-vitro*-Rekonstitution des transkriptionskompetenten Präinitiationskomplexes aus den molekularen Komponenten stützt.

Kodadek et al. gelang es kürzlich, aus einer Bibliothek von 100000 Peptoiden drei potente Liganden für die KIX-



Schema 4. Modulare nichtpeptidische Aktivatorverbindungen **14–16**. Die aktivierenden Module sind auf der rechten Seite abgebildet. R* = 5-Thioureidofluorescein; Ts = Tosyl.

Domäne des CBP zu identifizieren, die Potenzial zur Rekrutierung aufwiesen.^[47] Das Konjugieren dieser Peptioide an Dexamethason ergab unter anderem das Konjugat **16**, das trotz seiner Größe bemerkenswert zellpermeabel war. **16** wirkte als starker Aktivator in vivo in einem Zellexperiment, in dem ein Fusionsprotein der Ligandenbindungsdomäne des Glucocorticoidrezeptors und der Gal4-DNA-Bindungsdomäne die Spezifität für ein artifizielles Reportergen vermittelte. Bemerkenswerterweise ergaben andere der im ersten Schritt identifizierten CBP-Liganden nach Konjugation an Dexamethason keine potennten Aktivatoren. Dies lässt darauf schließen, dass in diesem Fall die Lage der Bindestelle und die relative Orientierung zum Coaktivator wichtige Variablen für die Aktivatorfunktion sind.

Tabelle 1: Aktivitäten kleiner Moleküle in der Transkriptionsmodulierung.

Verb.	Name	Quelle ^[a]	Target ^[b]	$IC_{50}/K_d^{[c]}$ [μM]
1	IIA6B17	COM	Myc/Max	50–125/n.b.
2	10074A4	COM	c-Myc/Max	n.b./ ≈ 5
3	ISS-610	SGD	STAT3	42/n.b.
4	Haptamide B	COM	HAP3	24/0.33
5	PKF115-584	NAT	TCF/ β -Catenin	3.2/n.b.
6	ICG-001	COM	CBP/ β -Catenin	3/n.b.
7	KG-501	COM	CBP/CREB	10/50
8	Chetomin	NAT	p300/HIF-1 α	$\approx 0.01^{[d]}$ /n.b.
9	–	SGD	ER- $\alpha^{[e]}$	n.b./29
10	Nutlin-3	COM	MDM2/p53	1–3/0.09 ^[f]
11	–	COM	HDM2/p53	30/0.4 ^[f]
12	–	SGD	MDM2/p53	0.8–10/0.09 ^[f]
13	RITA	COM	p53	0.05–13/0.0015

[a] SGD: Strukturgeleitetes Design, COM: kombinatorische Chemie oder Substanzbibliothek, NAT: Naturstoff oder Naturstoffderivat. [b] Soweit bekannt ist der primäre Bindungspartner unterstrichen hervorgehoben. [c] Alle Werte hängen stark von der Art des Experiments und der Zelltypen ab und sollten daher nur mit Vorsicht verglichen werden, auch wenn der gleiche Wirkmechanismus nahe liegt; n.b.=nicht bestimmt. [d] Reporter- sowie Zwei-Hybrid-Assays unter hypoxischen Bedingungen. [e] Die ER-Ligandenbindestelle war mit Östradiol gesättigt. [f] K_d aus einem Verdrängungsexperiment mit einem p53-Peptid.

6. Diskussion und Ausblick

In Tabelle 1 sind relevante Daten für die Verbindungen **1–13** zusammengestellt. Welche Schlüsse lassen sich nun aus den vorgestellten Befunden ableiten? Erstens zeigen diese vielfältigen Beispiele, dass es möglich ist, potente kleine Moleküle zu identifizieren, die die Transkription auf unterschiedliche Weise beeinflussen. Die Wirksamkeit einiger dieser Verbindungen nähert sich bereits der In-vivo-Potenz von Wirkstoffen. Zweitens scheint die Entwicklung von potennten Modulatoren für transkriptionelle Cofaktoren einfacher zu sein als diejenige von kleinen Molekülen, die direkt mit Transkriptionsfaktoren wechselwirken. Drittens konnten kleine Moleküle identifiziert werden, die unterschiedliche Regionen des gleichen makromolekularen Zielmoleküls ansteuern und dabei unterschiedliche Wirkung erzielen.

Die meisten der hier besprochenen Verbindungen teilen ein strukturelles Merkmal: Sie tragen lipophile Reste in einer vorgegebenen dreidimensionalen Orientierung, die häufig radial, fast sternförmig anmutet. Für solche Anordnungen wird angenommen, dass sie die dreidimensionale Form eines begrenzten Proteingesgments abbilden (z.B. eine α -Helix oder eine β -Schleife). Allerdings konnten nur wenige der hier vorgestellten Verbindungen als funktionale „nichtkonventionelle Peptidmimetika“ bestätigt werden, die auf diese Weise in Proteintaschen binden, wie etwa die MDM/HDM-Liganden **10** und **11**. Für die überwiegende Mehrzahl der beschriebenen Verbindungen sind die molekularen Parameter der Wechselwirkungen nur ungenau definiert, aber eine komplexe, möglicherweise allosterische Beeinflussung der Proteinstruktur liegt in einigen Fällen sehr nahe. Man kann annehmen, dass die Protein-Protein-Wechselwirkungen indirekt moduliert werden, wobei die strukturelle Plastizität der bindenden Grenzflächen genutzt wird. Diese Plastizität könnte bei den an der Transkription beteiligten Proteinen mit ihrer multimodalen, multivalenten Natur besonders ausgeprägt sein.

Auch konventionellere Wechselwirkungen von kleinen Molekülen mit Proteinen haben immer wieder für Überraschungen gesorgt.^[48] Eine detaillierteres Verständnis der Wechselwirkungen von niedermolekularen Modulatorverbindungen mit Transkriptionsproteinen ist für die weitere Entwicklung dieses Gebiets wünschenswert. Bereits jetzt hat sich gezeigt, dass potente kleine Moleküle gefunden werden können, die die Transkriptionsmaschinerie direkt adressieren. Viele dieser Verbindungen sollten sich hervorragend als molekulare Sonden für das Studium der Transkriptionsregulation eignen, und einige von ihnen könnten darüber hinaus den Weg zu neuen therapeutischen Anwendungen weisen.

Diese Arbeit wurde durch den Fonds der Chemischen Industrie (Liebig Stipendium) und die DFG (AR493-1) gefördert. Ich danke Prof. Dr. H. Waldmann für seine Unterstützung.

Eingegangen am 23. Januar 2006

- [1] M. Levine, R. Tjian, *Nature* **2003**, *424*, 147–151.
- [2] Einige neuere Übersichten: a) A. Ananda, A. Pascual, *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 1269–1304; b) N. J. McKenna, B. W. O’Malley, *Cell* **2002**, *108*, 465–474; c) V. Perissi, M. G. Rosenfeld, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2005**, *6*, 542–554.
- [3] a) H. Gronemeyer, J.-A. Gustafsson, V. Laudet, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, *3*, 950–964; b) K. W. Nettles, G. L. Greene, *Annu. Rev. Physiol.* **2005**, *67*, 309–333.
- [4] J. E. Darnell, Jr., *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 740–749.
- [5] Dieser Kurzaufsatz konzentriert sich auf nichtoligomere Verbindungen. Allgemeine Übersichten zur Ansteuerung von Protein-Protein-Wechselwirkungen finden sich bei: a) T. Berg, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2566–2586; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2462–2481; b) M. R. Arkin, J. A. Wells, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, *3*, 301–317; c) H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4200–4235; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4130–4163.
- [6] T. I. Lee, R. A. Young, *Annu. Rev. Genet.* **2000**, *34*, 77–137.

- [7] A. M. Näär, B. D. Lemon, R. Tjian, *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, *70*, 475–501.
- [8] a) M. Boube, L. Joulia, D. L. Cribbs, H. M. Bourbon, *Cell* **2002**, *110*, 143–150; b) R. D. Kornberg, *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*, 235–239; c) H.-M. Bourbon, A. Aguilera, A. Z. Ansari, F. J. Asturias, A. J. Berk, S. Bjorklund, T. K. Blackwell, T. Borggrefe, M. Carey, M. Carlson, J. W. Conaway, R. C. Conaway, S. W. Emmons, J. D. Fondell, L. P. Freedman, T. Fukasawa, C. M. Gustafsson, M. Han, X. He, P. K. Herman, A. G. Hinnebusch, S. Holmberg, F. C. Holstege, J. A. Jaehning, Y.-J. Kim, L. Kuras, A. Leutz, J. T. Lis, M. Meisterernest, A. M. Naar, K. Nasmyth, J. D. Parvin, M. Ptashne, D. Reinberg, H. Ronne, I. Sadowski, H. Sakurai, M. Sipiczki, P. W. Sternberg, D. J. Stillman, R. Strich, K. Struhl, J. Q. Svejstrup, S. Tuck, F. Winston, R. G. Roeder, R. D. Kornberg, *Mol. Cell* **2004**, *14*, 553–557; d) unter besonderen Umständen läuft die Initiierung auch ohne Mediatorkomplex ab: X. Fan, D. M. Chou, K. Struhl, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2006**, *13*, 117–120.
- [9] a) H. Kimura, K. Sugaya, P. R. Cook, *J. Cell Biol.* **2002**, *159*, 777–782; b) R. T. Phair, P. Scalfidi, C. Elbi, J. Vecerová, A. Dey, K. Ozato, D. T. Brown, G. Hager, M. Bustin, T. Misteli, *Mol. Cell. Biol.* **2004**, *24*, 6393–6402.
- [10] a) R. Métivier, G. Penot, M. R. Hübner, G. Reid, H. Brand, M. Koš, F. Gannon, *Cell* **2003**, *115*, 751–763; b) eine Übersicht: X. Darzacq, R. H. Singer, Y. Shav-Tal, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2005**, *17*, 332–339.
- [11] T. Berg, S. B. Cohen, J. Desharnais, C. Sonderegger, D. J. Maslyar, J. Goldberg, D. L. Boger, P. K. Vogt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 3830–3835.
- [12] a) C. E. Nesbitt, J. M. Tersak, E. V. Prochownik, *Oncogene* **1999**, *18*, 3004–3016; b) S. K. Oster, C. S. Ho, E. L. Soucie, L. Z. Penn, *Adv. Cancer Res.* **2002**, *84*, 81–154.
- [13] X. Yin, C. Giap, J. S. Lazo, E. V. Prochownik, *Oncogene* **2003**, *22*, 6151–6159.
- [14] Y. Xu, J. Shi, N. Yamamoto, J. A. Moss, P. K. Vogt, K. D. Janda, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2660–2673.
- [15] Übersichten: a) G. R. Stark, I. M. Kerr, B. R. Williams, R. H. Silverman, R. D. Schreiber, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 227–264; b) H. Yu, R. Jove, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 97–105.
- [16] J. Turkson, J. S. Kim, S. Zhang, J. Yuan, M. Huang, M. Glenn, E. Haura, S. Sefti, A. D. Hamilton, R. Jove, *Mol. Cancer Ther.* **2004**, *3*, 261–269.
- [17] Vor kurzem wurde auch über Peptidmimetika mit submikromolaren Affinitäten für STAT3 in vitro berichtet: D. R. Coleman, Z. Y. Ren, P. K. Mandal, A. G. Cameron, G. A. Dyer, S. Muranjan, M. Campbell, X. M. Chen, J. S. McMurray, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6661–6670.
- [18] A. N. Koehler, A. F. Shamji, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8420–8421.
- [19] R. Mantovani, *Gene* **1999**, *239*, 15–27.
- [20] Einige Übersichten: a) C. Wolberger, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1999**, *28*, 29–56; b) K. Ogata, K. Sato, T. Tahirov, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 40–48; c) R. Marmorstein, M. X. Fitzgerald, *Gene* **2003**, *304*, 1–12.
- [21] a) V. Korinek, N. Barker, P. J. Morin, D. van Wichen, R. de Weger, K. W. Kinzler, B. Vogelstein, H. Clevers, *Science* **1997**, *275*, 1784–1787; b) P. Polakis, *Curr. Opin. Genet. Dev.* **1999**, *9*, 15–21; c) M. Bienz, H. Clevers, *Cell* **2000**, *103*, 311–320.
- [22] T. A. Graham, C. Weaver, F. Mao, D. Kimelman, W. Xu, *Cell* **2000**, *103*, 885–896.
- [23] M. Lepourcelet, Y.-N. P. Chen, D. S. France, H. Wang, P. Crews, F. Petersen, C. Bruseo, A. W. Wood, R. A. Shviddasani, *Cancer Cell* **2004**, *5*, 91–102.
- [24] In einer vorherigen Publikation war über Piperazinone berichtet worden, die eine LEF-1/β-Catenin-vermittelte Transkription unterdrücken: D. L. Boger, J. Goldberg, S. Satoh, Y. Ambroise, S. B. Cohen, P. K. Voigt, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1825–1845.
- Das genaue Zielprotein dieser Verbindungen blieb unklar, andere Piperazinone (wie **6**) binden an CBP (siehe Lit. [26]).
- [25] N. Vo, R. H. Goodman, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 13505–13508.
- [26] K. H. Emami, C. Nguyen, H. Ma, D. H. Kim, K. W. Jeong, M. Eguchi, R. T. Moon, J. L. Teo, S. W. Oh, H. Y. Kim, S. H. Moon, J. R. Ha, M. Kahn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 12682–12687.
- [27] J. L. Best, C. A. Amezcuia, B. Mayr, L. Flechner, C. M. Murawsky, B. Emerson, T. Zor, K. H. Gardner, M. Montminy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 17622–17627.
- [28] A. L. Kung, S. D. Zabludoff, D. S. France, S. J. Freedman, E. A. Tanner, A. Vieira, S. Cornell-Kennon, J. Lee, B. Wang, J. Wang, K. Memmert, H.-U. Naegeli, F. Petersen, M. J. Eck, K. W. Bair, A. W. Wood, D. M. Livingston, *Cancer Cell* **2004**, *6*, 33–43.
- [29] L. Nagy, J. W. R. Schwabe, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 317–324.
- [30] a) T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1525–1526; b) T. R. Geistlinger, R. K. Guy, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6852–6853; c) A. M. Leduc, J. O. Trent, J. L. Wittliff, K. S. Bramlett, S. L. Briggs, N. Y. Chirgadze, Y. Wang, T. P. Burris, A. F. Spatola, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 11273–11278.
- [31] A. L. Rodriguez, A. Tamrazi, M. L. Collins, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 600–611.
- [32] L. A. Arnold, E. Estébanez-Perpiña, M. Togashi, N. Jouvarel, A. Shelat, A. C. McReynolds, E. Mar, P. Nguyen, J. D. Baxter, R. J. Fletterick, P. Webb, R. K. Guy, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 43048–43055.
- [33] K. H. Vousden, X. Lu, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 594–604.
- [34] P. Chène, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 102–109.
- [35] P. H. Kussie, S. Gorina, V. Marechal, B. Elenbaas, J. Moreau, A. J. Levine, N. P. Pavletich, *Science* **1996**, *274*, 948–953.
- [36] L. T. Vassilev, B. T. Vu, B. Graves, D. Carvajal, F. Podlaski, Z. Filipovic, N. Kong, U. Kammlott, C. Lukacs, C. Klein, N. Fotouhi, E. A. Liu, *Science* **2004**, *303*, 844–848.
- [37] B. L. Grasberger, T. Lu, C. Schubert, D. J. Parks, T. E. Carver, H. K. Koblish, M. D. Cummings, L. V. LaFrance, K. L. Milkiewicz, R. R. Calvo, D. Maguire, J. Lattanzio, C. F. Franks, S. Zhao, K. Ramachandren, G. R. Bylebyl, M. Zhang, C. L. Manthey, E. C. Petrella, M. W. Pantoliano, I. C. Deckman, J. C. Spurlino, A. C. Maroney, B. E. Tomczuk, C. J. Molloy, R. F. Bone, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 909–912.
- [38] K. Ding, Y. Lu, Z. Nikolovska-Coleska, S. Qiu, Y. Ding, W. Gao, J. Stuckey, K. Krajewski, P. P. Roller, Y. Tomita, D. A. Parrish, J. R. Deschamps, S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10130–10131.
- [39] N. Issaeva, P. Bozko, M. Enge, M. Protopopova, L. G. G. C. Verhoef, M. Masucci, A. Pramanik, G. Selivanova, *Nat. Med.* **2004**, *10*, 1321–1328.
- [40] L. D'Silva, P. Ozdowy, M. Krajewski, U. Rothweiler, M. Singh, T. A. Holak, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13220–13226.
- [41] a) J. Ma, M. Ptashne, *Cell* **1987**, *51*, 113–119; b) O. Nyanguile, M. Uesugi, D. J. Austin, G. L. Verdine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 13402–13406; c) eine Übersicht zu artifiziellen Aktivatoren: A. Z. Ansari, A. K. Mapp, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 765–772.
- [42] H. Shimogawa, Y. Kwon, Q. Mao, Y. Kawazoe, Y. Choi, S. Asada, H. Kigoshi, M. Uesugi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3461–3471.
- [43] Z. Wu, G. Belanger, B. B. Brennan, J. K. Lum, A. R. Minter, S. P. Rowe, A. Plachetka, C. Y. Majmudar, A. K. Mapp, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12390–12391.
- [44] a) A. R. Minter, B. B. Brennan, A. K. Mapp, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10504–10505; b) S. J. Buhrlage, B. B. Brennan, A. R. Minter, A. K. Mapp, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12456–12457.
- [45] Y. Kwon, H.-D. Arndt, Q. Mao, Y. Choi, Y. Kawazoe, P. B. Dervan, M. Uesugi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15940–15941.

- [46] Eine Übersicht zu DNA-bindenden Haarnadel-Polyamiden: P. B. Dervan, B. S. Edelson, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 284–299.
 [47] B. Liu, P. G. Alluri, P. Yu, T. Kodadek, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8254–8255.
 [48] S. J. Teague, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, *2*, 527–541.

2006

Dominating the Field of Proteomics

2006 Volume 6 24 issues
 ISSN Print 1615-9853
 ISSN Electronic 1615-9861

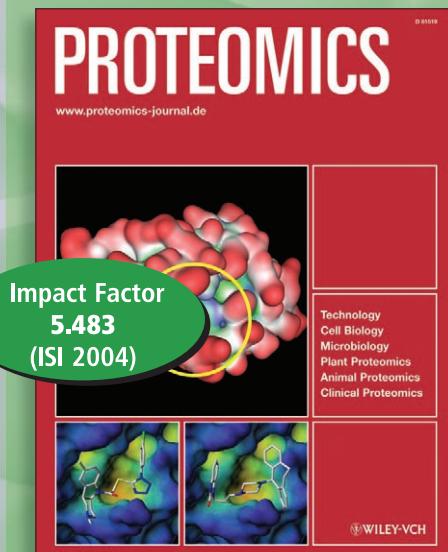
For ordering information
 please contact:

Wiley-VCH
 E-MAIL: service@wiley-vch.de
 INTERNET: www.wiley-vch.de

John Wiley & Sons, Inc.
 E-MAIL: subinfo@wiley.com
 INTERNET: www.wiley.com

John Wiley & Sons, Ltd
 E-MAIL: cs-journals@wiley.co.uk
 INTERNET: www.wileyeurope.com

22442509_vo



Highlights 2006

- 6 more issues
- New fast track system for Rapid Communications
- New topic: Nanotechnology
- New: Review Issues
- New: Supplement Issues 'Practical Proteomics'
- New: 'Proteomics – Clinical Applications' as separate section, featured monthly

For more information, or access
 to an online sample copy, please visit
www.proteomics-journal.com

WILEY-VCH

WILEY