

Ein metallorganischer Inhibitor des humanen Reparaturenzyms 7,8-Dihydro-8-oxoguanosin-Triphosphatase**

Manuel Streib, Katja Kräling, Kristin Richter, Xiulan Xie, Holger Steuber* und Eric Meggers*

Abstract: Die Verwendung einer metallorganischen Sonde zur Entwicklung des ersten niedermolekularen Inhibitors des Reparaturenzyms 8-Oxo-dGTPase wird beschrieben. Dabei handelt es sich um einen unkonventionellen cyclometallierten Ruthenium-Halbsandwichkomplex. Der niedrig nanomolare metallorganische Inhibitor weist eine erstaunliche Spezifität auf, was durch Tests in umfangreichen Kinase- und ATPase-Panels verifiziert wird. Die Bindung des metallorganischen Inhibitors an MTH1 wird durch Proteinkristallographie untersucht.

Ein signifikanter Teil der im menschliche Genom kodierten Proteine bindet und verwendet purinbasierte Nukleoside oder Nukleotide wie ATP, GTP, NAD(P), FAD, PAPS und Coenzym A.^[1] Diese Proteine umfassen wichtige Enzymklassen wie Kinasen, ATPasen, Ligasen, Helikasen und Chaperone, sind an einer Vielzahl von zellulären Prozessen beteiligt, bilden den Ursprung für viele menschliche Erkrankungen, und stellen daher wichtige Enzymtargets für die Entwicklung von Wirkstoffen dar. Unsere Arbeitsgruppe hat kürzlich eine Strategie für die Entwicklung hochpotenter und selektiver ATP-nachahmender Hemmer von Proteinkinasen eingeführt, welche auf der Verwendung von substitutionsinerten Übergangsmetallkomplexen basiert.^[2,3] Aufgrund bestehender Gemeinsamkeiten von Nukleotidbindungstaschen^[4] stellte sich uns nun die Frage, ob inerte Übergangs-

metallkomplexe auch attraktive Template für die Entwicklung von Inhibitoren anderer Nukleotid-bindender Proteine darstellen. Hier berichten wir über die Entwicklung einer neuartigen Organorutheniumverbindung als erster im niedrigen nanomolaren Bereich wirksamer und selektiver Inhibitor des menschlichen Reparaturenzyms 7,8-Dihydro-8-oxoguanosin-Triphosphatase (8-Oxo-dGTPase, NUDT1, MTH1), ein Enzym das oxidierte Purinnukleosidtriphosphate hydrolysiert und somit deren Fehleinbau in die DNA verhindert.^[5]

Als Ausgangspunkt unserer Untersuchungen wurde der Organoruthenium-Halbsandwichkomplex **1** konzipiert, der zusätzlich zu dem zweizähligen 8-(Pyridin-2-yl)adenin-Liganden eine η^5 -koordinierenden Cyclopentadienylgruppe und einen CO-Liganden enthält (Abbildung 1). Wir gingen

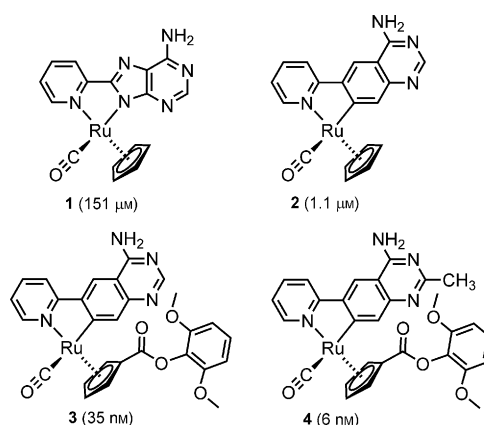


Abbildung 1. Entwickelte und untersuchte metallorganische Inhibitoren für die menschliche 8-Oxo-dGTPase (MTH1, NUDT1). Gemessene IC_{50} -Werte sind in Klammern angegeben. Die Verbindungen wurden als Racemate verwendet.

dabei davon aus, dass die Organometallverbindung **1** als Sonde für Adeninnukleotid-bindende Proteine dienen kann, da sie sowohl eine Ruthenium-koordinierte Adenin-Nukleobase enthält, als auch durch ihre Molekülstruktur die dreidimensionale Form von Nukleotiden nachahmt. Zur Verifizierung dieser Hypothese wurde eine Technik verwendet, bei der ein biotinyliertes Acylphosphatderivat von ATP und ADP zum Einsatz kommt. Dieses kann mit konservierten Lysin-Resten in den Bindungstaschen ATP-bindender Proteine irreversibel reagieren und ermöglicht damit die Bestimmung der direkten Konkurrenz zwischen der Bindung eines Inhibitors und der reaktiven Acylphosphatsonde und zwar in einer frei wählbaren biologischen Probe.^[6] Das entsprechende Profiling der metallorganischen Verbindung **1** (100 μ M) gegen

[*] M. Streib, K. Kräling, K. Richter, Dr. X. Xie, Prof. Dr. E. Meggers
Fachbereich Chemie, Philipps-Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße, 35043 Marburg (Deutschland)
E-Mail: meggers@chemie.uni-marburg.de

Dr. H. Steuber^[†]
LOEWE-Zentrum für Synthetische Mikrobiologie
Philipps-Universität Marburg
Hans-Meerwein-Straße, 35043 Marburg (Deutschland)
Prof. Dr. E. Meggers
College of Chemistry and Chemical Engineering
Xiamen University, Xiamen 361005 (Volksrepublik China)

[†] Derzeitige Adresse:
Bayer Pharma AG, Lead Discovery Berlin – Structural Biology
Müllerstraße 178, 13353 Berlin (Deutschland)
E-Mail: holger.steuber@bayer.com

[**] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (ME1805/9-1) und dem US National Institutes of Health (CA114046) unterstützt. Pär Nordlund (Structural Genomics Consortium) danken wir für die Bereitstellung des MTH1-Expressionsvektors. Wir danken dem Bessy-MX-Department für die Bereitstellung von Messzeit und Ausrüstung, sowie die Unterstützung der Datenerfassung. Dem Helmholtz-Zentrum Berlin (HZB) danken wir für die finanzielle Unterstützung von Synchrotron-Fahrten.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201307849> zu finden.

mehr als 150 ATP-bindende Proteine innerhalb des Lysats von HL60-Zellen ergab,^[7] dass **1** nur an wenige zelluläre Proteine bindet und zwar insbesondere das nukleäre Chaperon Midasin und ein Midasin-Homolog,^[8] desweiteren ein Protein, das an der Pyrimidin-Biosynthese beteiligt ist (CAD Protein),^[9] und das Reparaturenzym MTH1^[5] (Abbildung 2).

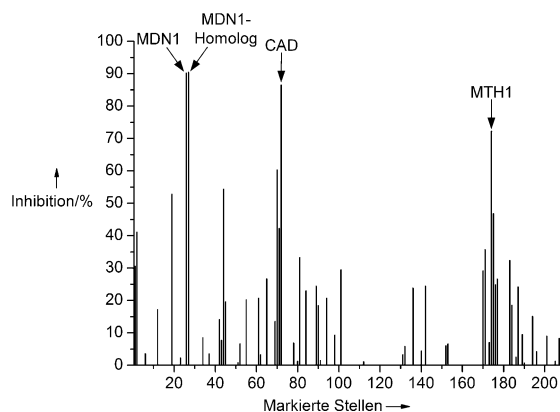


Abbildung 2. Profiling von Komplex **1** (100 µM) gegen ATP-bindende Proteine im Lysat von HL60-Zellen durch Verwendung einer Sonden-technologie mit biotinylierten Acylphosphatderivaten von ATP und ADP (KiNativ, ActivX Biosciences, La Jolla, CA, USA). Gezeigt ist die Inhibition der ATP/ADP-Sondenbindung durch Komplex **1** an 207 bestätigte Peptidfragmente von 153 ATP-bindenden Proteinen. Midasin (MDN1, 90% Inh.), ein Midasin-Homolog (90% Inh.), das CAD Protein (87% Inh.) sowie die 8-Oxo-dGTPase (MTH1/NUDT1, 72% Inh.) weisen die höchsten Inhibitionswerte auf. Siehe die Hintergrundinformationen für Details.

Wir entschlossen uns, MTH1 für weitere Untersuchungen auszuwählen, da es eine wichtige Rolle in der zellulären Reparaturmaschinerie bei oxidativem Stress spielt. Seine Inhibition könnte einen interessanten Ansatz darstellen, um Tumorstadium zu verringern, indem RAS-induzierte oxidative Schäden zu DNA-Doppelstrangbrüchen führen und somit den Eintritt der Zellen in eine verfrühte Seneszenz bewirken.^[5] Darüber hinaus wurde kürzlich eine Kokristallstruktur von MTH1 mit gebundenem 8-Oxo-dGMP veröffentlicht, welche die Identifizierung wichtiger Inhibitor-Enzym-Wechselwirkungen für weitere Affinitätssteigerungen erleichtern sollte.^[10,11]

Die Konzentration von **1**, bei der die MTH1-Aktivität halbmaximal ist (IC_{50} -Wert) wurde mit einem HPLC-Assay bestimmt und stellt mit moderaten 151 µM einen vernünftigen Ausgangspunkt dar (Abbildung 3). Es ist hierbei wichtig anzumerken, dass zusätzlich zu seiner Affinität zu 8-Oxo-dGTP ($K_m = 15.2$ µM), MTH1 auch oxidierte ATP-Derivate (z. B. 8-Oxo-dATP: $K_m = 13.9$ µM) bindet und effizient hydrolysiert,^[12] und somit erklärt, warum das Adeninderivat **1** überhaupt eine Affinität zu 8-Oxo-dGTPase aufweisen kann. Interessanterweise, der Austausch des 8-(Pyridin-2-yl)adenin-Liganden von **1** durch ein 4-Amino-6-(pyridin-2-yl)chinazolin, das nach Cyclometallierung zu Komplex **2** führt, verbessert den IC_{50} -Wert um mehr als zwei Größenordnungen auf 1.1 µM. Das anschließende Erstellen einer Struktur-Aktivitäts-Beziehung mit dieser Metallo-Chinazolin-Leitstruktur

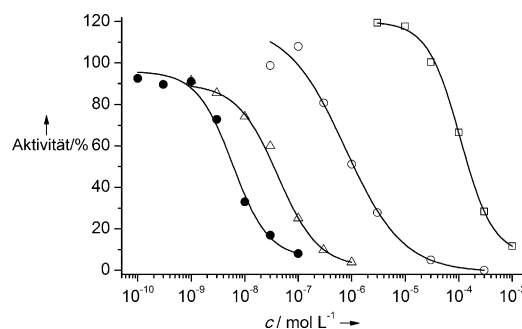


Abbildung 3. IC_{50} -Kurven der Komplexe **1–4** gegen MTH1: **1** = leere Quadrate, **2** = leere Kreise, **3** = leere Dreiecke, **4** = gefüllte Kreise. Assaybedingungen: Die Verbindungen **1–4** wurden für 30 min mit gereinigtem MTH1 (10 nM) vorinkubiert. Nach Zugabe von 8-Oxo-dGTP (25 µM) wurde 10 min bei 37°C unter Schütteln inkubiert, bevor die Enzymreaktion abgebrochen und das Substrat (8-Oxo-dGTP) sowie das Reaktionsprodukt (8-Oxo-dGMP) per HPLC quantifiziert wurden.

durch Derivatisierung des Cyclopentadienylliganden führte zu Komplex **3**, der mit einem IC_{50} -Wert von 35 nM eine weitere Verbesserung darstellt (siehe die Hintergrundinformationen für Derivate). Letztlich führte die Einführung einer Methylgruppe in C2-Position des Chinazolinsystems zu dem im einstelligen nanomolaren Bereich wirksamen MTH1-Inhibitor **4** ($IC_{50} = 6$ nM). Verglichen mit der ursprünglichen Sonde **1** hat die metallorganische Verbindung **4** eine um etwa den Faktor 25000 verbesserte Affinität zu MTH1.

Um die Bindung der metallorganischen Verbindung **4** an MTH1 zu verstehen, wurde **4** mit MTH1 kokristallisiert und die Struktur mit einer Auflösung von 2.70 Å bestimmt (Tabelle 1).^[13] Abbildung 4 zeigt die Gesamtstruktur. Als Mitglied der Nudix-Hydrolasen-Überfamilie^[14] weist MTH1 mit einer Anordnung gemischter β -Faltblattstrukturen, die von

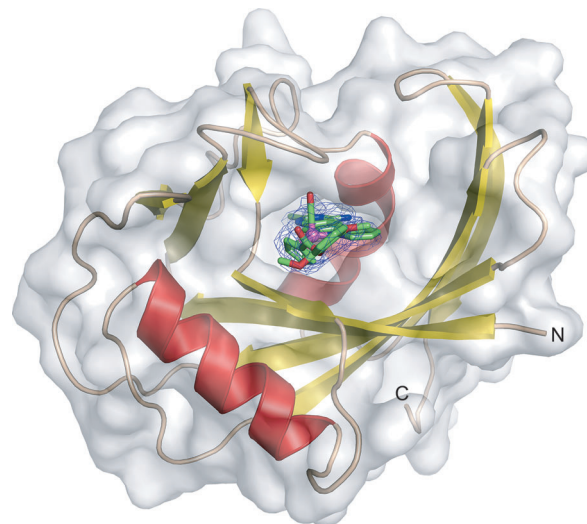


Abbildung 4. Kokristallstruktur von MTH1 (Kette A, halbtransparente Oberflächenansicht) mit in der Nukleotidbindungstasche gebundener metallorganischer Verbindung (**5**)-**4**. Die absolute Konfiguration des Inhibitors wurde aus der Elektronendichte abgeleitet (Darstellung als blaues Maschennetz). Die SIGMAA-gewichtete $2F_{obs} - F_{calc}$ -Differenzelektronendichtekarte des Inhibitors wurde bei 1 σ dargestellt.

Tabelle 1: Kristallographische Daten und Verfeinerungsstatistiken für 4/MTH1 (PDB-Eintrag 3WHW).

<u>Datensammlung und -prozessierung</u>	
Anzahl der vermessenen Kristalle	1
Wellenlänge [Å]	0.91841
Raumgruppe	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<u>Konstanten der Elementarzelle</u>	
a, b, c [Å]	59.76, 67.65, 79.54
α, β, γ [°]	90, 90, 90
Matthews-Koeffizient [Å ³ Da ⁻¹]	2.21
Solvensgehalt [%]	44.2
<u>Diffractionsdaten</u>	
Auflösungsbereich [Å]	25.0–2.70 (2.90–2.70)
Zahl unabhängiger Reflexe	9264 (1737)
$R(I)_{\text{sym}}$ [%]	16.0 (63.3)
Vollständigkeit [%]	99.6 (99.0)
Redundanz	5.8 (5.7)
$I/\sigma(I)$	10.62 (3.0)
<u>Verfeinerung</u>	
Auflösungsbereich [Å]	25.0–2.70
Zahl der Reflexe (Arbeits-Set/Test-Set)	8800/464
Finale R -Werte für $R_{\text{work}}/R_{\text{free}}$ [%]	21.5/26.6
Aminosäuren	308
Inhibitoratome	78
Wassermoleküle	34
Sulfationen	7
<u>RMSDs</u>	
Bindungen [Å]	0.0085
Winkel [°]	1.280
<u>Ramachandran-Diagramm</u>	
Reste in den günstigsten Bereichen [%]	89.6
Reste in zusätzlich erlaubten Bereichen [%]	10.4
Reste in großzügig erlaubten Bereichen [%]	–
<u>B-Faktoren [Å²]</u>	
Protein	51.9
Inhibitor	58.9
Wassermoleküle	33.4
Sulfationen	99.8

zwei α -Helices umgeben sind und zusammen mit einigen Schleifen die aktive Tasche bilden, eine typische Nudix-Faltung auf. Wie zu erwarten besetzt Komplex 4 die Nukleotidbindungstasche, wobei die Elektronendichte, insbesondere die des Phenylester-Substituenten, die eindeutige Bestimmung der *S*-Konfiguration am stereogenen Metallzentrum ermöglicht.^[15] Die halbtransparente Oberflächenansicht in Abbildung 4 zeigt auf anschauliche Art und Weise, dass Komplex 4 eng von Aminosäureseitenketten der angrenzenden α -Helices, β -Faltblätter und Schleifen umgeben ist, was eine berechnete Wechselwirkungsfläche von etwa 501 Å² ergibt.^[16] Der Chinazolinheterocyclus ist an einigen Wasserstoffbrücken beteiligt (Abbildung 5a): Eine H-Brücke wird zwischen der exocyclischen NH₂-Gruppe und Asp119 ausgebildet, eine weitere kann zwischen dem endocyclischen N3 und Asp120 identifiziert werden und zusätzlich befinden sich die NH-Gruppe des Gly34-Rückgrats und die Amid-Seiten-

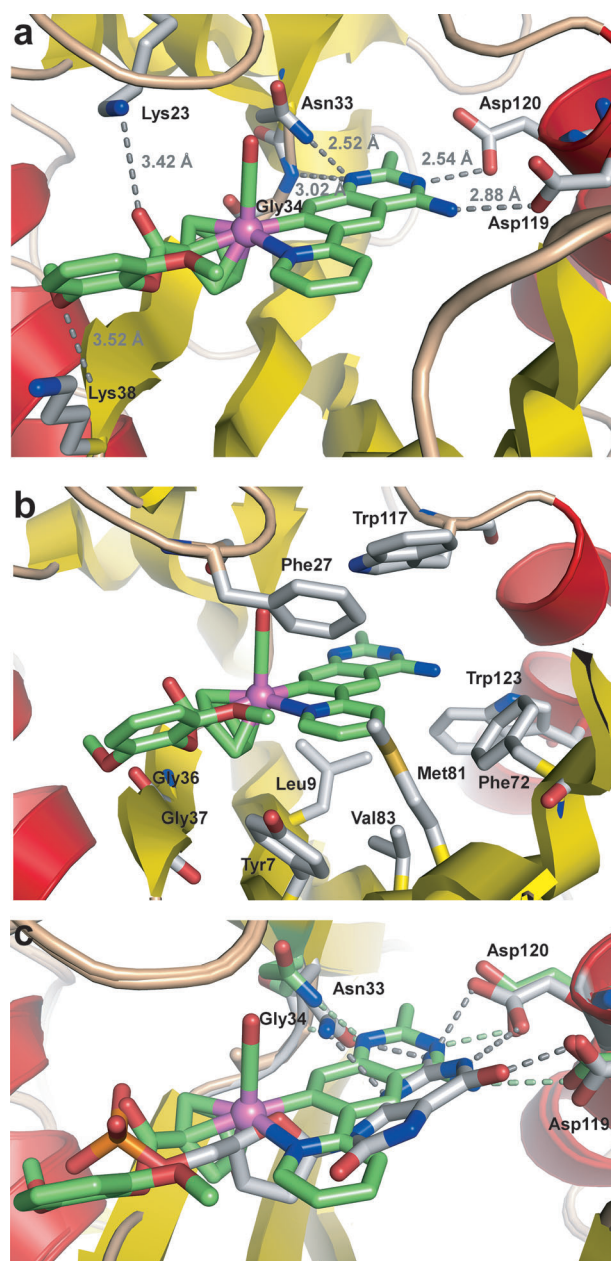


Abbildung 5. Wechselwirkungen von (*S*)-4 in der aktiven Tasche von MTH1 und überlagerte Kokristallstrukturen von (*S*)-4 (grün) und 8-Oxo-dGMP (grau) mit MTH1 (PDB-Eintrag 3ZR0). Die Überlagerung wurde mit PyMOL Molecular Graphics System, Version 0.99rc6, Schrödinger, LLC durchgeführt.

kette von Asn33 in H-Brückendistanz zum endocyclischen N1. Weitere polare Wechselwirkungen mit größeren Abständen werden zwischen der Ester-Carbonylgruppe von 4 und Lys23 sowie zwischen einer Methoxygruppe von 4 und der NH-Gruppe von Lys38 beobachtet. Wie aus Abbildung 5b hervorgeht, befindet sich der Inhibitor auch in Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit verschiedenen Seitenketten. Besonders bemerkenswert ist dabei die Anzahl aromatischer Seitenketten, die mit dem Chinazolinliganden des Inhibitors Fläche auf Fläche (Trp117 und Phe27) und Seite auf Seite (Trp123, Phe72 und Tyr7) stapeln. Die Überlagerung

der Kokristallstrukturen von (S)-**4** und 8-Oxo-dGMP (PDB-Eintrag 3ZR0^[10]) mit MTH1 ist in Abbildung 5 c gezeigt und erlaubt einen Vergleich der Bindungsmodi. So nimmt der Pyridylchinazolinligand von (S)-**4** etwa die gleiche Position ein wie die Guaninnukleobase von 8-Oxo-dGMP und die Position des Rutheniums deckt sich in etwa mit der Ribose, während der 2,6-Dimethoxyphenylester den gleichen Platz füllt, der im Fall von 8-Oxo-dGMP von der Phosphatgruppe besetzt wird. Obwohl der heteroaromatische Chinazolinligand von (S)-**4** im Vergleich zur Purinnukleobase von 8-Oxo-dGMP etwas verschoben und gekippt ist, sind dieselben Schlüsselseitenketten bei der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zu beiden Liganden beteiligt. Dies ist deshalb möglich, da die Guaninnukleobase von 8-Oxo-dGMP offenbar als Lactim-Tautomer vorliegt.^[10]

Insgesamt lässt sich aus der Analyse der Kristallstruktur ableiten, dass die hohe Affinität von (S)-**4** zu MTH1 auf eine Kombination zahlreicher Wasserstoffbrücken mit einer ganzen Reihe günstiger Van-der-Waals-Kontakte und einer genauen Passform der Organometallverbindung in der Nukleotidbindungstasche zurückgeführt werden kann. Die eingeschränkte konformative Flexibilität von **4** liefert nicht nur einen entropischen Vorteil, der sich in der hohen Bindungsaffinität zu MTH1 widerspiegelt, sondern trägt auch zur beeindruckenden Spezifität bei. Tatsächlich zeigt die Organometallverbindung **4** keine nennenswerte Affinität zu Proteinkinasen, wie mithilfe eines kompetitiven Enzymtaschen-gerichteten Assays in einem Panel von 457 Kinasen bei einer Konzentration von 1 μM bestätigt wurde (siehe die Hintergrundinformationen).^[17,18] Die hohe Bindungsselektivität wurde des Weiteren durch ein Profiling von **4** gegen 191 ATP-bindende Proteine belegt, wobei neben MTH1 nur eine signifikante Bindung an die Deoxycytidinkinase ermittelt werden konnte (> 50 % Inhibierung der irreversiblen Bindung einer Acylphosphatsonde; siehe die Hintergrundinformationen für Details).

Zusammenfassend haben wir hier die Entdeckung und Entwicklung eines molekularen Hemmers für das menschliche Reparaturenzym 8-Oxo-dGTPase (MTH1) beschrieben. Die vorgestellte Verbindung gehört nicht dem Standardrepertoire niedermolekularer organischer Substanzen an, sondern stellt eine für die chemische Biologie und Medizinalchemie unkonventionelle, cyclometallierte Ruthenium-Halbsandwichverbindung dar. Der Inhibitor **4** wirkt im einstelligen nanomolaren Bereich und weist eine erstaunliche Spezifität in einem erweiterten Spektrum von Proteinkinasen und anderen ATP-bindenden Proteinen auf. Diese Ergebnisse bestärken die Schlussfolgerungen aus unseren früheren Arbeiten zu metallbasierten Proteinkinaseinhibitoren, nämlich dass inerte Metallkomplexe ausgezeichnete strukturelle Template für die Herstellung hochselektiver molekularer Sonden darstellen, was wir zumindest teilweise auf die eingeschränkte Beweglichkeit der globulären Metallkomplexgerüste zurückzuführen.^[19] Des Weiteren skizziert diese Arbeit eine Blaupause für die Entdeckung und Entwicklung metallorganischer Inhibitoren weiterer Purinnukleotid-bindender Proteine unter Verwendung von metallkoordinierten Adenin- und Chinazolinderivaten mit verschiedenen Ligandensphären. Letztlich wird der neuartige, metallorganische

MTH1-Inhibitor **4** als Hilfsmittel zur genaueren Untersuchung der biologischen Funktion von MTH1 dienen, das sich als potenzielles Zielenzym für die Krebstherapie erweisen könnte.

Eingegangen am 6. September 2013

Online veröffentlicht am 20. November 2013

Stichwörter: 7,8-Dihydro-8-oxoguanosin-Triphosphatase · Enzyminhibition · Organometallverbindungen · Proteinkristallstruktur · Ruthenium

- [1] Das menschliche Purinom: a) T. A. J. Haystead, *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, 6, 1117–1127; b) M. Knapp, C. Bellamacina, J. M. Murray, D. E. Bussiere, *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, 6, 1129–1159; c) J. M. Murray, D. E. Bussiere, *Methods Mol. Biol.* **2009**, 575, 47–92.
- [2] Zur Anwendung metallhaltiger Verbindungen in den Lebenswissenschaften: a) R. H. Fish, G. Jaouen, *Organometallics* **2003**, 22, 2166–2177; b) *Bioorganometallics* (Hrsg.: G. Jaouen), Wiley-VCH, Weinheim, **2005**; c) M. J. Hannon, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 280–295; d) R. Alberto, *J. Organomet. Chem.* **2007**, 692, 1179–1186; e) B. M. Zeglis, V. C. Pierre, J. K. Barton, *Chem. Commun.* **2007**, 4565–4579; f) T. W. Hambley, *Science* **2007**, 318, 1392–1393; g) T. W. Hambley, *Dalton Trans.* **2007**, 4929–4937; h) A. Levina, A. Mitra, P. A. Lay, *Metallicomics* **2009**, 1, 458–470; i) F. R. Keene, J. A. Smith, J. G. Collins, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, 253, 2021–2035; j) K. L. Haas, K. J. Franz, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 4921–4960; k) U. Schatzschneider, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 1451–1467; l) C.-M. Che, F.-M. Siu, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, 14, 255–261; m) G. Gasser, I. Ott, N. Metzler-Nolte, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 3–25; n) E. A. Hillard, G. Jaouen, *Organometallics* **2011**, 30, 20–27; o) E. Meggers, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 2490–2497; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 2442–2448; p) M. Rouffet, S. M. Cohen, *Dalton Trans.* **2011**, 40, 3445–3454; q) L. Salassa, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2011**, 4931–4947; r) A. Bergamo, G. Sava, *Dalton Trans.* **2011**, 40, 7817–7823; s) M. Patra, G. Gasser, *ChemBioChem* **2012**, 13, 1232–1252; t) Z. T. Ball, *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 560–570; u) C. G. Hartinger, N. Metzler-Nolte, P. J. Dyson, *Organometallics* **2012**, 31, 5677–5685; v) P. K. Sasmal, C. N. Streu, E. Meggers, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 1581–1587; w) N. P. E. Barry, P. J. Sadler, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 5106–5131; x) N. L. Kilah, E. Meggers, *Aust. J. Chem.* **2012**, 65, 1325–1332; y) K. J. Kilpin, P. J. Dyson, *Chem. Sci.* **2013**, 4, 1410–1419.
- [3] E. Meggers, G. E. Atilla-Gokcumen, H. Bregman, J. Maksimowska, S. P. Mulcahy, N. Pagano, D. S. Williams, *Synlett* **2007**, 1177–1189.
- [4] P. Chène, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, 1, 665–673.
- [5] Y. Nakabeppu, S. Oka, Z. Sheng, D. Tsuchimoto, K. Sakumi, *Mutat. Res.* **2010**, 703, 51–58.
- [6] a) M. P. Patricelli, A. K. Szardenings, M. Liyanage, T. K. Nomanbhoy, M. Wu, H. Weissig, A. Aban, D. Chun, S. Tanner, J. W. Kozarich, *Biochemistry* **2007**, 46, 350–358; b) M. P. Patricelli, T. K. Nomanbhoy, J. Wu, H. Brown, D. Zhou, J. Zhang, S. Jagannathan, A. Aban, E. Okerberg, C. Herring, B. Nordin, H. Weissig, Q. Yang, J. D. Lee, N. S. Gray, J. W. Kozarich, *Chem. Biol.* **2011**, 18, 699–710.
- [7] ¹H-NMR-Untersuchungen bestätigen, dass der Komplex **4** in einer Mischung aus [D₆]DMSO/D₂O (9:1; 5 mm) bei Raumtemperatur und in Anwesenheit einer äquimolaren Menge an 2-Mercaptoethanol mindestens sieben Tage stabil ist.
- [8] J. E. Garbarino, I. R. Gibbons, *BMC Genomics* **2002**, 3, 18.
- [9] H. Kim, R. E. Kelly, D. R. Evans, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 7177–7184.

- [10] L. M. Svensson, A.-S. Jemth, M. Desroses, O. Loseva, T. Helleday, M. Högbom, P. Stenmark, *FEBS Lett.* **2011**, 585, 2617–2621.
- [11] Zur Struktur von MTH1 in Lösung: M. Mishima, Y. Sakai, N. Itoh, H. Kamiya, M. Furuichi, M. Takahashi, Y. Yamagata, S. Iwai, Y. Nakabeppu, M. Shirakawa, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 33806–33815.
- [12] a) K. Fujikawa, H. Kamiya, H. Yakushiji, Y. Fujii, Y. Nakabeppu, H. Kasai, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 18201–18205; b) K. Fujikawa, H. Kamiya, H. Yakushiji, Y. Nakabeppu, H. Kasai, *Nucleic Acids Res.* **2001**, 29, 449–454.
- [13] Kokristallstrukturen metallorganischer Halbsandwich- und Sandwichkomplexe, die nichtkovalent an Proteine gebunden sind: a) J. É. Debreczeni, A. N. Bullock, G. E. Atilla, D. S. Williams, H. Bregman, S. Knapp, E. Meggers, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1610–1615; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1580–1585; b) N. Pagano, J. Maksimoska, H. Bregman, D. S. Williams, R. D. Webster, F. Xue, E. Meggers, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1218–1227; c) J. Maksimoska, L. Feng, K. Harms, C. Yi, J. Kissil, R. Marmorstein, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 15764–15765; d) G. E. Atilla-Gokcumen, N. Pagano, C. Streu, J. Maksimoska, P. Filippakopoulos, S. Knapp, E. Meggers, *ChemBioChem* **2008**, 9, 2933–2936; e) P. Xie, D. S. Williams, G. E. Atilla-Gokcumen, L. Milk, M. Xiao, K. S. Smalley, M. Herlyn, E. Meggers, R. Marmorstein, *ACS Chem. Biol.* **2008**, 3, 305–316; f) P. Xie, C. Streu, J. Qin, H. Bregman, N. Pagano, E. Meggers, R. Marmorstein, *Biochemistry* **2009**, 48, 5187–5198; g) A. N. Bullock, S. Russo, A. Amos, N. Pagano, H. Bregman, J. É. Debreczeni, W. H. Lee, F. von Delft, E. Meggers, S. Knapp, *PLoS One* **2009**, 4, e7112; h) G. E. Atilla-Gokcumen, L. Di Constanzo, E. Meggers, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2011**, 16, 45–50; i) S. Blanck, Y. Geisselbrecht, K. Kräling, S. Middel, T. Mietke, K. Harms, L.-O. Essen, E. Meggers, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 9337–9348; j) A. J. Salmon, M. L. Williams, A. Hofmann, S.-A. Poulsen, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 2328–2330; k) D. Can, B. Spingler, P. Schmutz, F. Mendes, P. Raposo, C. Fernandes, F. Carta, A. Innocenti, I. Santos, C. T. Supuran, R. Alberto, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 3410–3413; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 3354–3357.
- [14] A. S. Mildvan, Z. Xia, H. F. Azurmendi, V. Saraswat, P. M. Legler, M. A. Massiah, S. B. Gabelli, M. A. Bianchet, L.-W. Kang, L. M. Amzel, *Arch. Biochem. Biophys.* **2005**, 433, 129–143.
- [15] Die absolute Konfiguration am Rutheniumzentrum wurde anhand der folgenden Prioritätenreihenfolge der Liganden zugeordnet: $\text{Cp} > \text{N} > \text{CO} > \text{C}$.
- [16] Die Wechselwirkungsfläche wurde mit PISA berechnet (PDBE PISA v1.47, zugänglich unter <http://pdbe.org/pisa>). Der angegebene Wert ist der Durchschnitt der Wechselwirkungsflächen der beiden in der asymmetrischen Einheit befindlichen Komplexe.
- [17] a) M. A. Fabian, W. H. Biggs III, D. K. Treiber, C. E. Atteridge, M. D. Azimioara, M. G. Benedetti, T. A. Carter, P. Ciceri, P. T. Edeen, M. Floyd, J. M. Ford, M. Galvin, J. L. Gerlach, R. M. Grotzfeld, S. Herrgard, D. E. Insko, M. A. Insko, A. G. Lai, J.-M. Lélías, S. A. Mehta, Z. V. Milanov, A. M. Velasco, L. M. Wodicka, H. K. Patel, P. P. Zarrinkar, D. J. Lockhardt, *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 329–336; b) M. W. Karaman, S. Herrgard, D. K. Treiber, P. Gallant, C. E. Atteridge, B. T. Campbell, K. W. Chan, P. Ciceri, M. I. Davis, P. T. Edeen, R. Faraoni, M. Floyd, J. P. Hunt, D. J. Lockhardt, Z. V. Milanov, M. J. Morrison, G. Pallares, H. K. Patel, S. Pritchard, L. M. Wodicka, P. P. Zarrinkar, *Nat. Biotechnol.* **2008**, 26, 127–132.
- [18] Dies könnte zumindest teilweise auf den zusätzlichen C2-Methylsubstituenten zurückzuführen sein, der aufgrund sterischer Gegebenheiten Wasserstoffbrücken zwischen Inhibitor und dem Rückgrat der Scharnierregion von Proteinkinasen stört. Demgegenüber wird im Fall von MTH1 sogar ein C2-Ethylsubstituent ohne bedeutenden Affinitätsverlust toleriert (siehe die Hintergrundinformationen).
- [19] a) L. Feng, Y. Geisselbrecht, S. Blanck, A. Wilbuer, G. E. Atilla-Gokcumen, P. Filippakopoulos, K. Kräling, M. A. Celik, K. Harms, J. Maksimoska, R. Marmorstein, G. Frenking, S. Knapp, L.-O. Essen, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 5976–5986; b) S. Blanck, J. Maksimoska, J. Baumeister, K. Harms, R. Marmorstein, E. Meggers, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 5335–5338; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 5244–5246.