

# A glikogén foszforiláz glükózanalóg gátlószerei, mint potenciális antidiabetikumok

SOMSÁK László,\* BOKOR Éva, CZIFRÁK Katalin, KÓNYA Bálint, KUN Sándor, TÓTH Marietta

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szerves Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf. 20.

## 1. Bevezetés

### 1.1. A cukorbetegségről

A cukorbetegséget korunk egyik legsúlyosabb betegségeként tartják számon. A huszadik század végétől a cukorbetegséggel diagnosztizált betegek számában világszerte drámai növekedés figyelhető meg. A *diabetes mellitus* krónikusan megemelkedett vércukorszint jellemzi, és a nyugati társadalmak felnőtt népességének mintegy 6%-át érinti.<sup>1</sup> A kettes típusú *diabetes* (1d alább) gyors terjedése miatt 2010-re a betegek száma becslések szerint akár a 220 millió főt is meghaladhatja. Ez 10 év alatt mintegy 46%-os növekedést jelent,<sup>2</sup> ami – figyelembe véve a módszertani bizonytalanságokat, illetve a nem diagnosztizált eseteket – feltehetően alábecsült érték.<sup>3</sup> A legjelentősebb növekedés Afrika, Ázsia és Dél-Amerika fejlődő országaiban várható, míg Európa népessége kevésbé érintett.<sup>4</sup> Különösen a hosszú távú szövődmények, mint például látászervi, idegrendszeri, veseműködési zavarok, de különösen a szív- és érrendszeri betegségek miatt a *diabetes* az egyik leggyakoribb halálokká vált.

Hazánkban 2007-ben a 18 évesnél idősebb népességben mintegy 690 ezer cukorbeteg tartottak nyilván.<sup>5</sup> A növekedés az 1999. évhez képest ~87 %-os. „Valószínűleg még közel félmillió embert érint a cukorbetegség „előszobájának” is nevezhető állapot, a csökkent glükóztolerancia állapota.”<sup>6</sup>

A cukorbetegség két fő típusra osztható: az egyes típus vagy inzulinfüggő *diabetes mellitus* (IDDM – *insulin-dependent d. m.*) autoimmun betegség, amit teljes inzulinhiány jellemez, melyet külső inzulin bevitellel kezelnek; a kettes típus vagy nem inzulinfüggő *diabetes* (NIDDM – *non-insulin-dependent d. m.*) jellemzője az abnormális inzulin-kiválasztás és/vagy az inzulin-érzékenység, mely esetekben a betegek vércukor szintjét elsősorban diétával, testmozgással és hipoglikémiás szerekkel, illetve végső soron itt is inzulin adásával kontrollálják.<sup>7</sup> Napjainkban a kettes típusú *diabetes* gyakorisága több mint 90 %.<sup>1,2</sup> A járványszerű terjedés oka valószínűleg az, hogy – bár a betegséget genetikai eredetűnek vélik – kialakulásában egyéb, például környezeti, immunológiai tényezők is szerepet játszhatnak. Mindehhez hozzájárulnak az életmóddal kapcsolatos, úgynevezett 'civilizációs' problémák, így például az ülő életmód, a rendszeres fizikai igénybevétel hiánya, az ellenőrizetlen diéták, a nagyfokú túltápláltság és az elhízás is.

Az elmúlt években a fiatalok illetve a gyermekek körében is megjelent és terjed a kettes típusú betegség,<sup>5</sup> ami súlyos egészségügyi és gazdasági terheket vetít előre a következő évtizedekre.<sup>8-10</sup>

Annak ellenére, hogy számos patomechanizmust vizsgálnak,<sup>11-13</sup> a betegség kialakulásának molekuláris alapjai ismeretlenek. A kettes típusú *diabetes* tüneti kezelésében számos orális hipoglikémiás szer (szulfonil-karbamidok, biguanidin-származékok, tiazolidindionok) alkalmaznak.<sup>14-21</sup> A glükozidáz inhibitorok (akarbóz, miglitol, vogliboz) szintén széles körű alkalmazást nyertek.<sup>22</sup> Az ilyen típusú kezelések célja, hogy beállítsák/közelítsék a normál fiziológias vércukorszintet, ugyanakkor ezeknek a szereknek számos káros mellékhatásuk is van, egyebek között fokozzák a hipoglikémia veszélyét.<sup>23</sup> Továbbá, ezek a szerek a betegek 30-40%-ánál alkalmatlannak bizonyulnak.<sup>24</sup>

Szükséges tehát új típusú terápiás lehetőségek keresése, ami a folyó kutatásokban új inzulin kiválasztást segítő szerek, inzulin érzékenyítők, glükagon receptor antagonisták, a máj glükóztermelését gátló szerek, kombinációs terápiák vizsgálatát jelenti.<sup>1,25-31</sup> Javaslatot tettek egy kizárólag a helyes táplálkozásra alapuló terápiára is.<sup>32</sup>

Amájglükóztermelésének csökkentését célzó módszerek<sup>28,33-35</sup> közül az egyik legígéretesebb a glikogén lebontását katalizáló glikogén foszforiláz (GP) enzim szelektív gátlásán alapul.

### 1.2. A máj glükóztermelése és a glikogén foszforiláz

A vérben lévő glükóz legfontosabb forrása a máj. Számos tanulmány szerint a máj glükóztermelése a kettes típusú *diabetes* esetében közvetlen kapcsolatba hozható a hiperglikémiával.<sup>1,26,28,36,37</sup> A májban a glükóz két úton keletkezik: a glikogénolízis (a tároló poliszacharid, a glikogén lebontása) és glükoneogenezis (a glükóz *de novo* szintézise C-3 prekursorokból) révén. A glikogénolízis a máj glükóz termelésének több mint 70 %-át adja, azonban a glükoneogenezis<sup>38</sup> során képződő glükóz jelentős hányada is beépül a glikogénbe, mielőtt a vérbe jutna.<sup>39</sup>

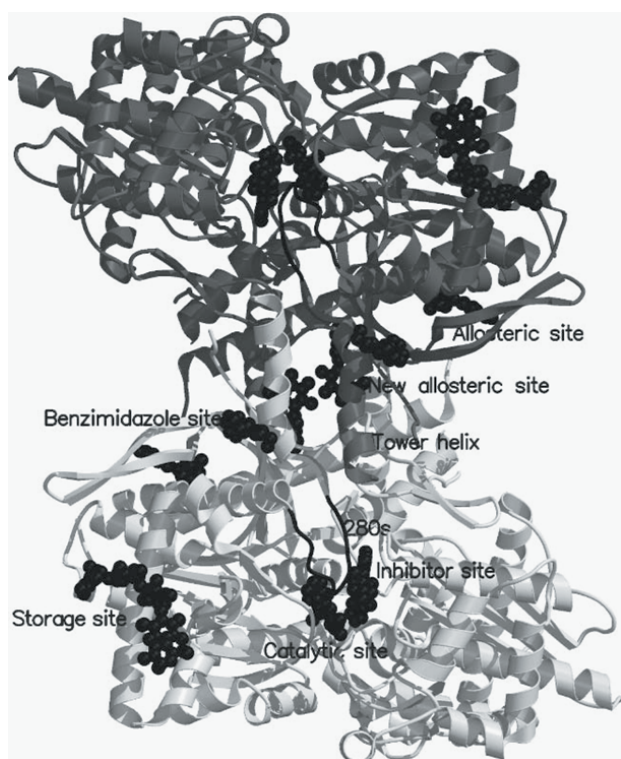
A máj glükóz termelésére enzimek összetett rendszere hat, melyben a sebesség-meghatározó, fő szabályozó enzim a glikogén foszforiláz (GP). A GP-nak, amely glükóz-1-foszfátot szabadít fel a glikogénből, csak a foszforilált (GPa) módosulatában van jelentős aktivitása. Tekintettel a glükóztermelés két útjának fent említett kapcsolatára, a máj GP gátlásával a glikogénolízisből és a glükoneogenezisből származó glükóztermelés egyidejűleg szorítható vissza.<sup>26,40,41</sup>

Három emlős GP izoenzim ismert: az „izom”, az „agy” és „máj” glikogén-foszforiláz, attól függően, hogy melyik szövetből izolálták őket.<sup>41</sup> Az enzimek dimer szerkezetűek,

\*Tel.: +36-52-512-900/22348; fax: +36-52-453-836; e-mail: somsak@tigris.unideb.hu.

két azonos, 97.5 kDa tömegű alegységből állnak. Több enzim aminosav szekvenciája és röntgenkristallográfiáival meghatározott térszerkezete is ismert, így pl. a nyúl vázizomból (rabbit muscle GP, RMGP) és az emberi májból (human liver GP, HLGP) származó enzimek 72 %-os homológiát mutatnak, katalitikus helyük szerkezete pedig azonos.<sup>40</sup> Ez, valamint a könnyebb hozzáférés magyarázza, hogy a legtöbb vizsgálatot az RMGP enzimmel végzik.

Az izoformák létezése felveti az inhibíció szelektivitásának kérdését: a vércukorszint csökkentése céljából a máj izoenzimét kell megcélozni lehetőleg a másik kettő gátlása nélkül. Erre kérdésre is keresik a választ,<sup>42-44</sup> és az eddigi eredmények arra utalnak, hogy GP inhibitorok jelenlétében nem következik be pl. súlyos izomyogénéség. Elkerülhetetlen azonban a szöveti szelektivitás további tanulmányozása, éppúgy mint a máj-specifikus glikogén foszforiláz gátlók keresése.<sup>45,46</sup>



1. Ábra. A nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGPb) szerkezete a kötő-helyekkel és egy-egy, az adott helyhez kapcsolódó inhibitorral (részletesebb magyarázat a szövegben).

A GP enzimekben számos kötőhelyet fedeztek fel az enzim-inhibitor komplexek röntgenkristallográfiás vizsgálatával (1. Ábra): a katalitikus helyhez (*Catalytic site*, mely tartalmazza az esszenciális kofaktort, a piridoxál-foszfátot is) elsősorban a D-glükóz és származékai, illetve mimetikumai kapcsolódnak; az allosztérikus (vagy AMP) kötőhelyen (*Allosteric site*) az aktiváló hatású AMP, illetve a gátló hatású glükóz-6-foszfát, továbbá pl. dihidropiridin-disav, ftálsav, acilkarbamid, pentaciklusos triterpenoid típusú inhibitorok képesek kötődni; a glikogén kötőhely (*Storage site*), amely fiziológiás körülmények között a glikogén szemcsékhez való kapcsolódásra szolgál, maltopenta- és -heptaózt, valamint ciklodextrint is be tud fogadni; az inhibitor (vagy koffein) kötőhelyhez (*Inhibitor*

*site*) purin származékok, nukleozidok és nukleotidok, illetve flavopiridol típusú vegyületek kötődnek; az új allosztérikus (vagy indol) kötőhelyen (*New allosteric site*) elsőként indolkarboxamidok kötődését figyelték meg, melyet követett számos tieno-pirrol-, indán- és kinolonvázis vegyület, illetve néhány D-glükóz származék esetén is kimutatható volt a kötődés ehhez a helyhez is a katalitikus helyen kívül; a benzimidazol kötőhelyen (*Benzimidazole site*) eddig egyetlen 2-( $\beta$ -D-glükopiranozil)-benzimidazol kapcsolódását figyelték meg.<sup>40,47</sup>

Ebben az áttekintésben a GP katalitikus helyéhez kötődő glükózanalóg gátlók szerkezetét és szerkezet-hatás összefüggéseit foglaljuk össze. Bizonyos történelmi elemek felvillantása mellett elsősorban az utóbbi évtized fontos eredményeire koncentrálunk. A GP más típusú vegyületekkel történő gátlása tekintetében számos összefoglaló segíti a tájékozódást.<sup>26,35,40,41,47-50</sup>

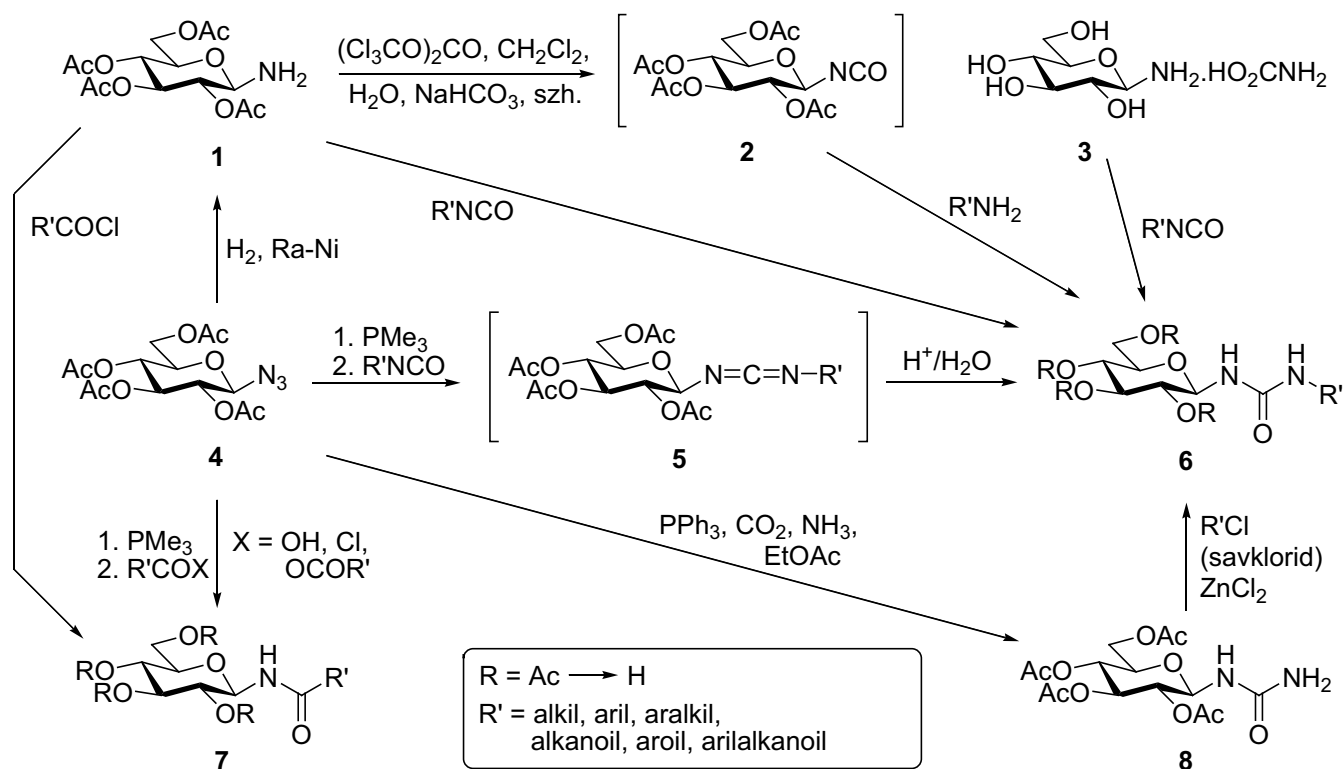
## 2. A glikogén foszforiláz glükózanalóg gátlói

### 2.1. N-glükózil származékok

Az *N*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranozilamin<sup>51</sup> (1. Táblázat, **7a**) volt az első, az alacsony mikromólos tartományban hatásos glükózanalóg GP inhibitor. Számos egyéb, *N*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranozilamin szerkezetű vegyületet (**7**) állítottak elő a 2. ábrán vázolt szintézisutakon: az egyik gyakran alkalmazott eljárásban a **4** per-*O*-acetilezett  $\beta$ -D-glükopiranozil-azidból Staudinger reakcióban foszfinimin intermediert képeznek, amit izolálás nélkül reagáltatnak savakkal, savkloridokkal vagy savanhidridekkel a **7** amidokká.<sup>52</sup> Alternatív szintézisutat kínál a per-*O*-acetilezett  $\beta$ -D-glükopiranozilamin (**1**) acilezése, melynek során az egyik fő nehézséget az anomerizáció jelenti.<sup>53</sup> A védőcsoportok többnyire Zemplén-körülmények között végzett eltávolítása vezet a gátló hatásra vizsgálható vegyületekhez (válogatás az 1. Táblázatban).

A **7a** metilcsoportjában végzett helyettesítésekkel (vö. **7b**, **7c**) a gátlás romlik. A **7b** trifluoracetamid  $\alpha$ -anomerje (**9**) is stabilisnak bizonyult (az *N*-acetyl-glikozilaminok konfigurációs stabilitásával kapcsolatban ld.<sup>53</sup>), azonban gátlást nem mutatott. További  $\beta$ -anomer származékok sorában dikarbonsavak monoamidjai közül a **7d** a legerősebb gátló, míg a metilészterek (pl. **7e**) jóval gyengébbek. Az oxálsav származékok között a sav (**7f**) és az észter (**7g**) hatásossága felcserélődik, azonban mindkettő lényegesen gyengébben gátol alapvegyülethez képest. Nagyméretű oldallánc bevitel (**7h**) szintén gyenge inhibitor ad. Az aromás amidok közül a **7i** 2-naftil származék az acetamidhoz képest számottevően erősebben kötődik, és ebben a sorozatban az aromás csoport orientációja (vö. 1- és 2-naftil, 2. Táblázat 1. sor) is lényegessé válik. A teljes homoaromás rendszer fon-tosságát 1,4-benzodioxán-karboxamidok sorozata bizonyítja, melyek közül a legjobb gátló a **7j** vegyület.

A **4** azid trimetilfoszfittal a megfelelő *N*- $\beta$ -D-glükopiranozil-foszforamidátot adja, amely a védőcsoportok eltávolítása után a megfelelő **10** tesztvegyületet eredményezi.<sup>54</sup> Az *N*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranozilamin acil részének foszforil csoportra történő cseréje a gátlás jelentős romlásához vezet.<sup>55</sup>



2. Ábra. N-Acyl-β-D-glükopiranozilaminok és N-szubsztituált-N'-β-D-glükopiranozil-karbamidok előállításáa.

Az *N*-acetil- és *N*-benzoi-*N'*-β-D-glükopiranozil-karbamidokat<sup>56</sup> (2. Táblázat, 4A) először az alább tárgyalandó spiro-hidantoinokkal analóg vegyületek lehetséges prekursoraiként állítottuk elő. Bár a tervezett fotokémiai gyűrűzárások más reakcióutak előtérbe kerülése miatt nem valósultak meg,<sup>57</sup> a vegyületek váratlanul kiváló GP gátlóknak bizonyultak.<sup>58</sup> Ez indította el azt a vizsgálatosorozatot, melynek során a D-glükopiranozil egység és különböző aromás csoportok közé 3-6 atomból álló, az amidcsoporttal analóg, illetve azt helyettesítő kapcsolóelemeket építettünk be, és vizsgáltuk a vegyületek gátló hatását (2. Táblázat).

Védett *N*-szubsztituált-*N'*-β-D-glükopiranozil-karbamidokat (6 R' = alkil, aril, aralkil; 2. ábra) a 4 azidból kiindulva az 5 karbodiimid köztitermék savkatalizált vízdíciójával, illetve az 1 glükózilamin és a megfelelő izocianát addíciójával állítottunk elő.<sup>59</sup> *N*-Acil-*N'*-β-D-glükopiranozil-karbamidok (6 R' = alkanoil, aroil, aralkanoil; 2. ábra) nyerésére a 4 azidból módosított Staudinger reakcióval<sup>60</sup> előállítottuk a per-*O*-acetilezett *N*-β-D-glükopiranozil-karbamidot (8), melyet savkloridokkal katalitikus mennyiségű ZnCl<sub>2</sub> jelenlétében acileztünk.<sup>57,59</sup> Egy másik úton az 1 glükopiranozilamint *in situ* a 2 izocianáttá alakítottuk,<sup>61</sup> melyet magas hőmérsékleten savamidokkal reagáltatva kaptuk a 6 (R' = acil) karbamidokat.<sup>59</sup> A védőcsoportok eltávolítását bázis- vagy savkatalizált átészterjesítési körülmények között végeztük, azonban az acilkarbamidok esetében mindig fellépett az acilcsoport részleges lehasadása. Ezt a zavaró mellékreakciót a 3 β-D-glükopiranozilammónium-karbamid<sup>62</sup> alkalmazásával küszöböltük ki, melynek addíciójával különböző (acil)izocianátokra védőcsoportok alkalmazása nélkül kaptuk a célvegyületeket.<sup>63</sup> Az *N*-fenil-*N'*-β-D-glükopiranozil-biuret<sup>64</sup> (2. Táblázat, 14A) a 2 izocianát és fenilkarbamid, az *N*-2-naftoil-*N'*-β-D-

glükopiranozil-biuret<sup>57</sup> (2. Táblázat, 16D) pedig a 8 glükopiranozil-karbamid és 2-naftoil-izocianát reakciójával állítottuk elő. A védőcsoportokat a Zemplén-módszerrel távolítottuk el.

Az enzimkinetikai eredményeket a 2. Táblázatban foglaltuk össze a vegyületek azon válogatására, melyek a legfontosabb következtetéseket megalapozzák. Az 1., 2., 4., 14. és 16. sorok összehasonlításából látható, hogy az acil-karba-mid szerkezetű kapcsolóelem esetén a legerősebb a gátlás, ennél rövidebb, vagy hosszabb kötőelemek kevésbé hatékony vegyületeket eredményeznek. A 2.-3., 4.-5., 4. és 12.-13., illetve a 14.-15. sorok összevetése arra utal, hogy tetraédes atom bevitele (CH<sub>2</sub> vagy SO<sub>2</sub> csoport formájában) igen jelentős aktivitás-csökkenést okoz.

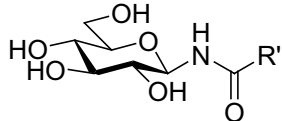
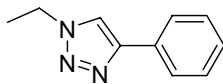
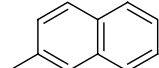
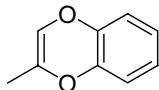
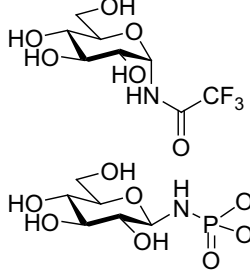
Ebből a kötőelem merev szerkezetének szükségességére következtethetünk. Ezt alátámasztják a 6.-8. sorok eredményei is. A 4. és 9.-11. sorok összehasonlításával megállapítható, hogy csak a β-D-Glc-NHCONHCO-Ar szerkezet mutat számottevő aktivitást, tehát a kapcsolóelem bármely konstitúciós izomerjével való felcserélése nem lehetséges. Az A-D oszlopok összevetése alapján azt láthatjuk, hogy a nagyobb méretű és megfelelő orientációjú aromás rész jelenléte kedvez a gátlás erősödésének, amennyiben a 2-naftil származékok mutatják valamennyi vegyületsoport esetén a legjobb inhibíciót. Az *N*-2-naftoil-*N'*-β-D-glükopiranozil-karbamid (2. Táblázat, 4D) volt a glükózanalóg vegyületek körében az első nanomólos GP inhibitor.

Az 1,4-diszubsztituált 1,2,3-triazolok regioselektív szintézise elegáns megoldásának, a Cu(I) katalizált azid-acetilén cikloaddícióinak<sup>74</sup> (CuAAC) a térnyerése révén egyre szaporodnak az amid és az 1,2,3-triazol kötőelemek méret-



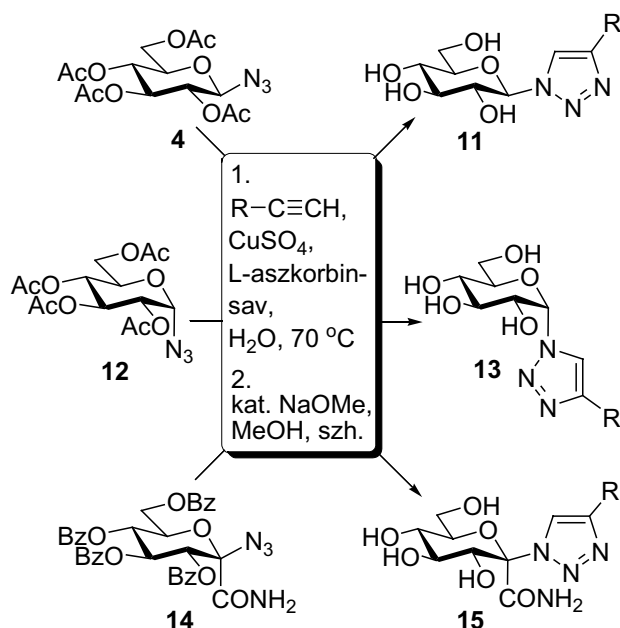
dipólusmomentum- és H-kötés akceptor sajátosságainak hasonlóságára, és erre alapozott bioizosztériájára vonatkozó eredmények.<sup>75-77</sup> E hasonlóságot kívántuk vizsgálni a GP inhibitorok esetében, ezért három 1-D-glükopiranozil-1,2,3-triazol vegyületsorozat szintézisét végeztük el a 3. ábrán vázolt módon.<sup>78</sup> A **4** β-D-, a **12** α-D-glükopiranozil-azidok és a **14** (β-D-glüko-hept-2-ulopiranozilazid)onamid vizes közegben *in situ* generált Cu(I) katalizálta cikloadícióval szolgáltatva a megfelelő **11**, **13** és **15** triazolokat, melyekből az acil védőcsoportokat Zemplén-körülmények között távolítottuk el.

**1. Táblázat.** *N*-Acil-β-D-glükopiranozilaminok gátló hatása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzimre.

		
	R'	$K_i$ [μM]
<b>7a</b>	-CH <sub>3</sub>	32 <sup>51</sup>
<b>7b</b>	-CF <sub>3</sub>	81 <sup>65</sup>
<b>7c</b>	-CH <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	75 <sup>66</sup>
<b>7d</b>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH	49 <sup>67</sup>
<b>7e</b>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOCH <sub>3</sub>	20 <sup>68</sup>
<b>7f</b>	-COOH	170 <sup>68</sup>
<b>7g</b>	-COOCH <sub>3</sub>	710 <sup>69</sup>
<b>7h</b>	-COOCH <sub>3</sub>	210 <sup>69</sup>
<b>7i</b>		180 <sup>70</sup>
<b>7j</b>		10 <sup>71</sup>
<b>9</b>		13 <sup>72</sup>
<b>10</b>		85 <sup>73</sup>
		Nincs gátlás <sup>65</sup>
		5900 <sup>55</sup>

Számottevő gátlást csak a **11** sorozatban észleltünk, néhány inhibitor-állandót a 2. Táblázat 17. sorában tüntettünk fel. Az adatokat az 1. sorban lévő amidokéival összevetve látható, hogy elfogadható hasonlóság van a gátlás erősségében. E vegyületek RMGP *b* enzimmel alkotott komplexekének röntgenkristallográfiai vizsgálata azt mutatta, hogy a kötődés több esetben igen nagyfokú szerkezeti analógiát, sőt azonosságot is mutat a megfelelő amid-triazol pároknál,

ami megalapozza az amid-1,2,3-triazol bioizosztéria érvényességét a GP esetében.<sup>72</sup>



**3. Ábra.** 1-(D-Glükopiranozil)-1,2,3-triazolok előállítása.

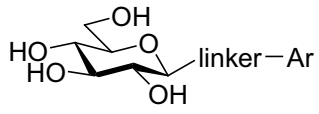
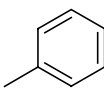
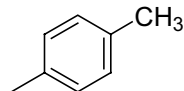
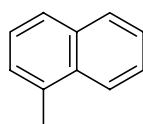
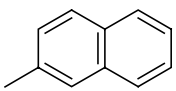
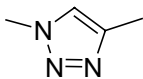
Más típusú *N*-β-D-glükopiranozil-heterociklusok körében is találtak mikromólos GP inhibitorokat.<sup>79</sup> E nukleozid típusú vegyületeket penta-O-acetil-β-D-glükopiranozil és szililezett pirimidin illetve purinszármazékok összekapcsolását követő Zemplén-féle dezacetilezéssel állították elő; a leghatékonyabbakat a 3. Táblázatban mutatjuk be.

Újabb vizsgálták a β-D-glükopiranozil-izotiocianáttól nyerhető 4-(β-D-glükopiranozil)-tioszemikarbazonok<sup>80,81</sup> (**4**. Táblázat) gátló hatását, amely az aromás rész szerkezetétől függően többnyire az alacsony mikromólos tartományba esett.<sup>82,83</sup>

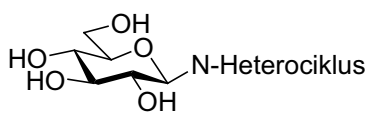
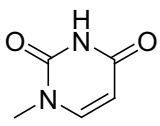
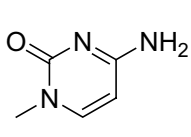
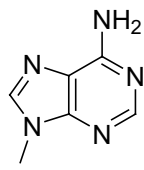
## 2.2. Glükopiranozilidén-spiro-heterociklusok

A **18a** glükopiranozilidén-spiro-hidantoin (5. Táblázat) volt a korai inhibitor-keresés legnagyobb sikere.<sup>84</sup> Az RMGPb-**18a** komplex röntgenkristallográfiai vizsgálata rámutatott az erős kötődés szerkezeti okaira: a) H-kötés az N(7)-H és a katalitikus hely közelében lévő His377 főláncban lévő karbonilcsoportja között (illusztrációját ld a 4. Ábrán); b) a spiro-hidantoin gyűrűrendszer merev szerkezete, amely a kötődés során csak elhanyagolható mértékű konformáció-energia-vesztéssel szenved el; c) a hidantoin beilleszkedése H-hidak révén a meglévő szerkezeti vízmolekulák hálózatába.<sup>93</sup> A **18a** hidantoin előállítására több szintézist is leírtak,<sup>84,88,94</sup> azonban további biológiai vizsgálatokhoz szükséges mennyiséget nem sikerült készíteni, mivel a **18a** és a **22** spiro-epimerok együttesen keletkeztek, és az utóbbi bizonyult a főterméknek. Hasonló tapasztalatokat szereztünk a **20**→**16**→**17** (R = Ac) átalakításokat követő, cyanationokkal végzett gyűrűzárás reakcióiban is, ahol a védett **18a** és **22** 1 : 10 arányban keletkeztek.<sup>65,89</sup> A **17** bróm-amid tiocianáttal végzett átalakítása azonban csak a **19** tiospiroepimer szolgáltatva. Ezt a sajátos sztereoselektivitást mechanizmusvizsgálatokkal értelmezni tudtuk.<sup>65</sup>

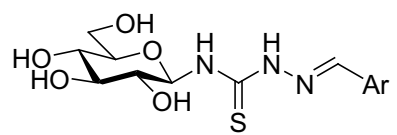
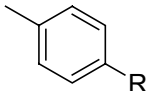
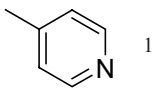
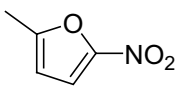
**2. Táblázat.** *N*-Acil- $\beta$ -D-glükopiranozilaminok, *N*-szubsztituált-*N'*- $\beta$ -D-glükopiranozil-karbamidok és analóg vegyületek gátló hatásának összehasonlítása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzim esetén ( $K_i$  [ $\mu$ M])

		Ar			
Sorszám	linker (kapcsolóelem)	A	B	C	D
1.	NHCO				
		2 atom	81 <sup>51</sup> 144 <sup>65</sup>	4500 (IC <sub>50</sub> ) <sup>71</sup>	191 <sup>72</sup> 444 <sup>71</sup>
2.	NHCONH	3 atom	18 <sup>59</sup>	-	350 <sup>59</sup> (IC <sub>50</sub> )
3.	NHCOCH <sub>2</sub>	3 atom	1100 (IC <sub>50</sub> ) <sup>71</sup>	-	-
4.	NHCONHCO	4 atom	4.6 <sup>58</sup>	2.3 <sup>59</sup>	10 <sup>57</sup>
5.	NHCONHCH <sub>2</sub>	4 atom	42 % (1 mM) <sup>59</sup>	-	-
6.	NHCOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	5 atom	85 <sup>71</sup>	-	-
7.	NHCOCH=CH	5 atom	18 <sup>71</sup>	-	3.5 <sup>71</sup>
8.	NHCOC≡C	5 atom	62 <sup>71</sup>	-	-
9.	NHCOCONH	5 atom	100 <sup>85</sup>	-	144 <sup>85</sup>
10.	CONHCONH	5 atom	No inh. <sup>59</sup>	-	-
11.	CONHNHCO	5 atom	22 % (3.75 mM) <sup>85</sup>	-	-
12.	NHCONHSO <sub>2</sub>	6 atom	-	6200 <sup>86</sup> (IC <sub>50</sub> )	-
13.	NHSO <sub>2</sub> NHCO	6 atom	-	Nem gátló <sup>59</sup>	-
14.	NHCONHCONH	6 atom	75 <sup>59</sup> (IC <sub>50</sub> )	-	-
15.	NHCONHCOCH <sub>2</sub>	6 atom	600 <sup>59</sup>	-	-
16.	NHCONHCONHCO	6 atom	-	-	45 % (625 $\mu$ M) <sup>57</sup>
17.			151 <sup>72</sup>	-	136 <sup>72</sup>

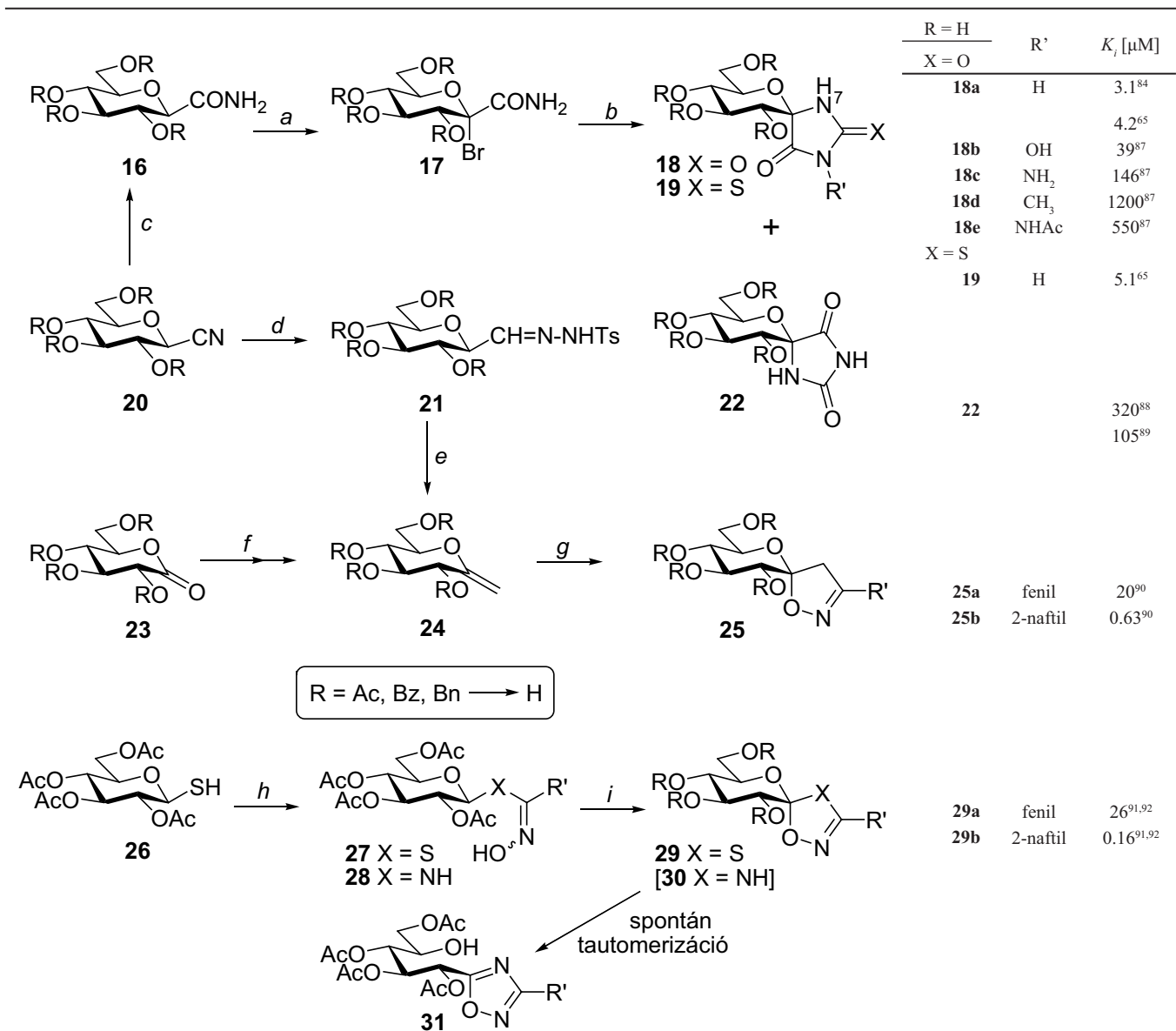
**3. Táblázat.** *N*-( $\beta$ -D-Glükopiranozil)-heterociklusok gátló hatása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzimre<sup>79</sup> ( $K_i$  [ $\mu$ M]).

	
	
6.1	7.7
	
	315

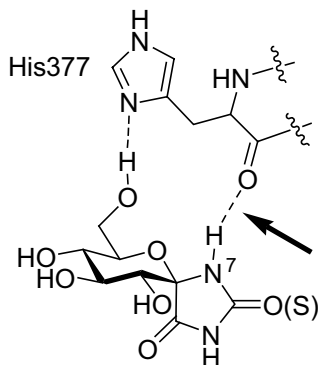
**4. Táblázat.** 4-( $\beta$ -D-Glükopiranozil)-tioszemikarbazonok gátló hatása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzimre ( $K_i$  [ $\mu$ M])

	
	R =
	H 33 <sup>83</sup>
	Cl 26 <sup>83</sup>
	Br 49 <sup>82</sup>
	Me 101 <sup>82</sup>
	105 <sup>82</sup>
	8 % (625 $\mu$ M) <sup>83</sup>

5. Táblázat. Glükopiranozilidén-spiro-heterociklusok előállítás és a leghatásosabb inhibitorok gátló hatása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) b enzimre.



Reakció-körülmények: a) Br<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, hv, reflux; b) AgOCN ill. KSCN, CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>, 80 °C, N<sub>2</sub>, atm.; c) HBr, AcOH, 20 °C; d) Raney Ni, NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub>, TsNHNH<sub>2</sub>, AcOH, H<sub>2</sub>O, piridin, 20 °C; e) NaH, dioxán, reflux; f) 2-etánszulfonilbenziazol, LiHMDS, -78 °C, DBU, THF; g) ArC(Cl)=NOH, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 °C; h) ArC(Cl)=NOH, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 °C; i) NBS, CHCl<sub>3</sub>, hv, reflux.



4. Ábra. A glükopiranozilidén-spiro-hidantoinok (18, 19) kötődése a GP katalitikus helyén. A His377 aminosavval kialakuló H-hidak, kiemelve az N(7)-H-O=C hidrogénkötés. Analóg H-hidak az N-acil- $\beta$ -D-glükopiranozilaminok (7) kötődésekor is megfigyelhetők.

AD-glükózból kiinduló és a 20  $\rightarrow$  16  $\rightarrow$  17  $\rightarrow$  19 átalakításokkal végződő reakciósor össz-hozamát benzoil (R = Bz) védőcsoportok alkalmazásával mintegy 30 %-ra tudtuk emelni az R = Ac sorban kapott ~3 %-kal szemben.<sup>95,96</sup> Mivel a 18a és a 19 hidantoinok gyakorlatilag azonos gátlást mutattak, és a kötődés szerkezeti jellemzői is azonosnak bizonyultak,<sup>97</sup> megnyílt az út a további biológiai kiértékelés előtt.<sup>95</sup> A hidantoinban végzett további helyettesítések (18b-e) a gátlás nagyfokú gyengülését hozták, aminek értelmezését kristallográfiai<sup>87</sup> és szabadenergia perturbációs analízissel<sup>98</sup> adták meg. A spiro-hidantoinok területén végzett kiterjedt egyéb vizsgálatokat illetően korábbi összefoglalókra utalunk.<sup>48,99</sup>

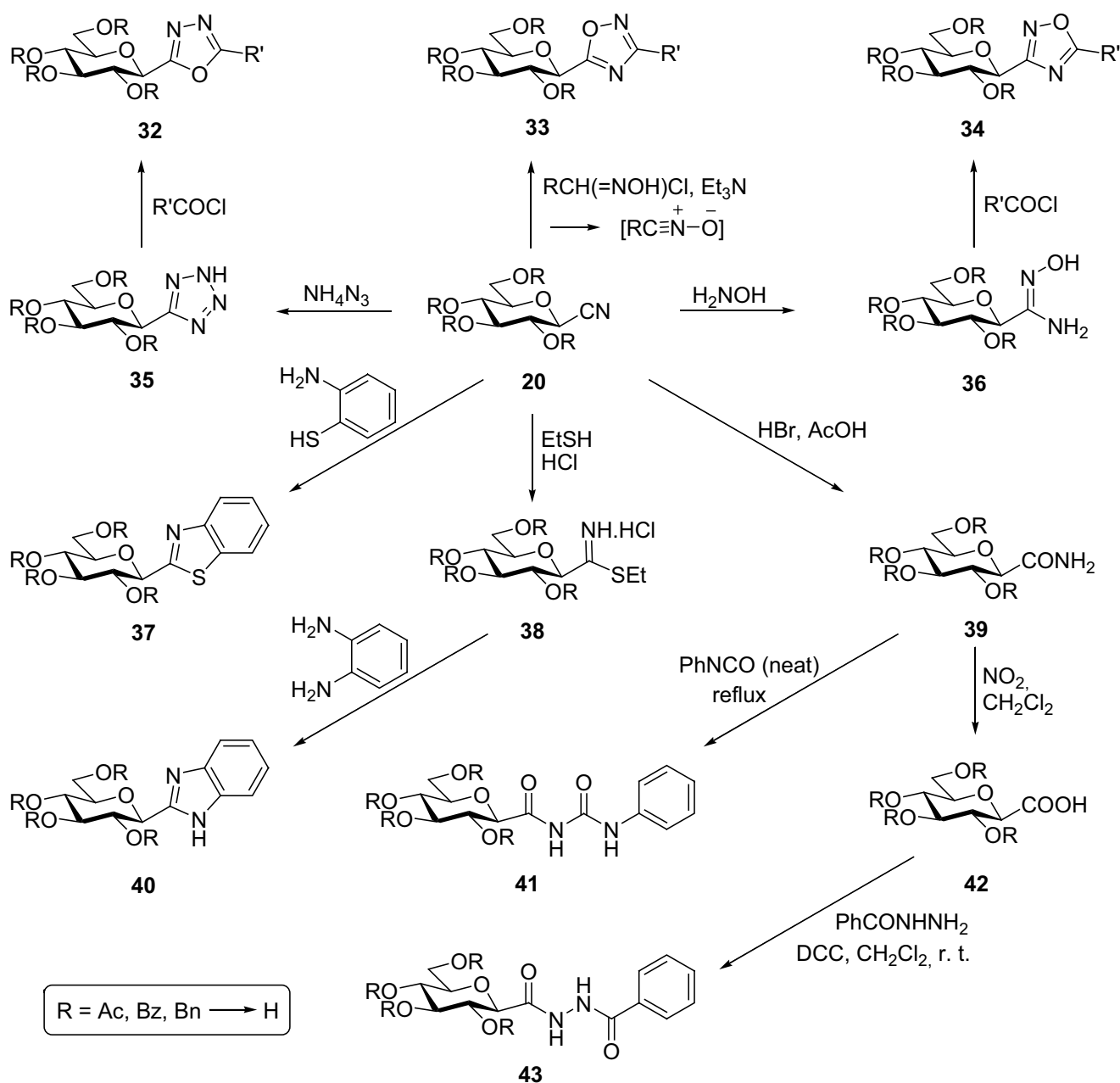
Az RMGPb-spiro-hidantoin komplexekben kialakuló N(7)-H-O=C(His377) H-híd a 7 N-acil- $\beta$ -D-glükopiranozil-

aminok kötődésében is kiemelt szerepet játszik.<sup>66</sup> Nem alakul ki analóg H-kötés *N*-acil-*N'*- $\beta$ -D-glükopiranozil-karbamidok kapcsolódása során,<sup>58</sup> a gátlás azonban egy nagyságrenddel erősebb (vö. a 2. Táblázat 1. és 4. sorát). Ez arra utal, hogy – különösen a nagyméretű aglikonok esetén – e H-híd hatását jelentősen felülmúló kölcsönhatás alakul ki a gátlószer és az enzim között, ami a további inhibitor-tervezésben felhasználható.

Az előbbi megfigyelések alapján az inhibitor-tervezés újabb fázisában a következőkre alapoztunk: a molekula a) legyen merev, az anomer centrumon spiro-biciklusos szerkezetű, lehetőleg öttagú (hetero)ciklussal; b) ne tartalmazzon feltétlenül H-kötés-donor csoportot a His377 irányában

(bár ennek jelenléte előnyös is lehet); c) tartalmazzon megfelelően orientált, nagyméretű aromás csoportot a H-híd hiányának kompenzálására.

E tervezési elvek érvényességét elsőként a **29** spiro-oxa-tiazolinok esetén bizonyítottuk, melyeket a **26** 1-tio- $\beta$ -D-glükopiranoz és *in situ* generált nitril-oxidok addíciójával kapott **27**  $\alpha$ -oximino-tioéterek oxidatív gyűrűzárásával állítottunk elő.<sup>91</sup> A H-kötés-donor **30** spiro-oxadiazolinok elkészítése a megfelelő **28** amidoximokból sikertelen maradt, mivel a piranozgyűrű felnyílásával **31** és további oxidációs termékek képződését tapasztaltuk; ennek magyarázata a kialakuló **30** biciklus heterogyűrűjének aromatizációja lehet.<sup>92</sup>



5. Ábra. C- $\beta$ -D-Glükopiranozil vegyületek előállítása.

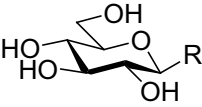
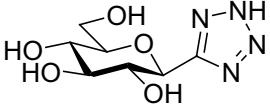
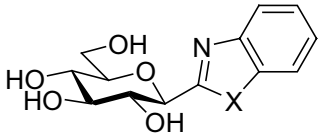
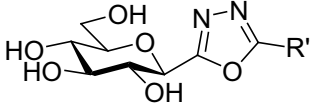
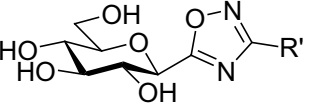
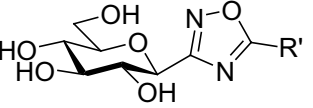
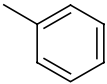
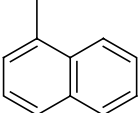
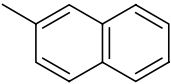
A fenti megfontolásokat igazolta a **25** spiro-izoxazolinok előállítása is.<sup>100</sup> Ennek során a **23** (R = Bn) per-O-benzilezett glükonolakon Julia-olefinezésével kapott **24** (R = Bn) *exo*-glükál és *in situ* képzett nitril-oxidok 1,3-dipoláris cikloaddíciójával nyerték az **25** (R = Bn) izoxazolinokat. A benzil védőcsoportok hidrogenolitikus eltávolításakor azonban a heterogyűrű O-N kötése is hasadt, ezért az *exo*-glükált per-*O*-acetilezett származékká (**24**, R = Ac) alakították, melynek előbbi cikloaddíciója, majd Zemlén szerint végzett elszappanosítása adta a **25** (R = H) izoxazolinokat.<sup>90</sup> A per-*O*-acilezett *exo*-glükálok (**24**, R = Ac, Bz) jóval egyszerűbb előállítása a **20** → **21** → **24** úton anhidroaldóz-tozilhidrazonok Bamford-Stevens-reakciójával történhet.<sup>101,102</sup>

Mindkét glükopiranozilidén-spiro-heterociklusos sorban a 2-naftil származékok (**25b**, **29b**) nanomólos gátlóknak bizonyultak, a gátlás erősödése a fenil származékokhoz (**25a**, **29a**) viszonyítva mintegy két nagyságrendnyi.

### 2.3. C-β-D-Glükopiranozil vegyületek

A C-glükozil szerkezetű vegyületek közül a **39** anhidroaldonamidot (5. Ábra), valamint néhány, nitrogénen helyettesített származékát vizsgálták a GP inhibitoraként: míg **39** mérsékelt gátló hatású volt (6. Táblázat), *N*-metil származéka mintegy háromszor erősebbnek bizonyult, számos más *N*-szubsztituens esetében azonban közel azonos vagy jóval gyengébb gátlás mutatkozott.<sup>103</sup>

**6. Táblázat.** C-(β-D-glükopiranozil)-heterociklusok és prekursoraik gátló hatásának összehasonlítása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzim esetén ( $K_i$  [μM]).

					
					37
					X = S
					229 <sup>104</sup>
<b>20</b>	R = CN	130 <sup>104</sup>			76 <sup>107</sup>
<b>36</b>	R = C(=NOH)NH <sub>2</sub>	Nem gátol	<b>35</b>	Nem gátol <sup>104</sup>	<b>40</b>
<b>39</b>	R = CONH <sub>2</sub>	440 <sup>103</sup>			X = NH
					11 <sup>104</sup>
					9 <sup>107</sup>
R'					
CH <sub>3</sub>	<b>32a</b>	212 <sup>104</sup> 145 <sup>107</sup>	--		<b>34a</b>
					Nem gátol
	<b>32b</b>	10 % (625 μM) <sup>105</sup>	<b>33b</b>	27 <sup>100</sup> 64 <sup>105</sup>	<b>34b</b>
					10 % (625 μM) <sup>106</sup>
	<b>32c</b>	10 % (625 μM) <sup>105</sup>	<b>33c</b>	19 <sup>105</sup>	<b>34c</b>
					Nem gátol
	<b>32d</b>	10 % (625 μM) <sup>105</sup>	<b>33d</b>	2.4 <sup>105</sup>	<b>34d</b>
					38 <sup>106</sup>

Az első GP inhibitoraként kipróbált C-glükozil-heterociklusok a **32** 1,3,4-oxadiazol, a **35** tetrazol, a **37** benzotiazol és a **40** benzimidazol voltak.<sup>104</sup> E vegyületek szintézisének közös kiindulási anyaga a 20 per-*O*-acetilezett vagy -benzoilezett anhidro-aldonitril (β-D-glükopiranozil-cianid). A **20** vegyület azidionokkal történő 1,3-dipoláris cikloaddíciójával nyertük az 5-β-D-glükopiranozil-tetrazolt (**35**), melyet savkloridokkal acilezve *N*-acil-nitrilimin intermedieren keresztül kaptuk az 5-β-D-glükopiranozil-2-szubsztituált-1,3,4-oxadiazolokat (**32**). A **20** nitril és 2-amino-tio-fenol gyűrűzárásai reakciójával kaptuk a 2-β-D-glükopiranozil-benzotiazolt (**37**). Az analóg reakció 1,2-diamino-benzollal

sikertelen volt, de a reaktívabb **38** tioimidát sóval elvégezve az átalakítást a várt 2-β-D-glükopiranozil-benzimidazol (**40**) keletkezett.

A **20** glükozil-cianidból kiindulva más oxadiazolokat is előállítottak. *In situ* generált nitril-oxidokkal történő 1,3-dipoláris cikloaddícióval nyerték a 3-szubsztituált-5-β-D-glükopiranozil-1,2,4-oxadiazolokat (**33**).<sup>100,105</sup> A fordítottan helyettesített, 5-szubsztituált-3-β-D-glükopiranozil-1,2,4-oxadiazolokat (**34**) a **20** nitrilből hidroxilaminnal képzett **36** amidoxim savkloridokkal végzett gyűrűzárásával kapták.<sup>106</sup> A védőcsoportokat valamennyi oxadiazol származékból a



Zemplén-módszerrel eltávolítva képződtek az inhibitorként vizsgálható vegyületek (6. Táblázat).

A **20** cianidból állítottuk elő az *N*-acil-*N'*- $\beta$ -D-glükopiranozil-karbamidok konstitúciós izomereit: a savkatalizált hidratációval kapott **39** amidot fenil izocianáttal a **41** „fordított” acil-karbamidá, míg nitrozálással a **42** anhidroaldonsavvá alakítottuk, mely utóbbit benzhidraziddal kapcsolva a **43** diacil-hidrazin származékot nyertük. A védőcsoportok eltávolításával keletkezett vegyületek gyenge gátlóknak bizonyultak, a kinetikai vizsgálatok eredményeit a 2. Táblázatban tüntettük fel (**41** = 10A, **43** = 11A).

A vegyületek enzimkinetikai vizsgálata (6. Táblázat) azt mutatta, hogy a  $\beta$ -D-glükopiranozil-cianid (**20**) gyengén kötődik, míg a H-kötés donor tulajdonságú C-( $\beta$ -D-glükopiranozil)formamidoxim (**36**) és az 5- $\beta$ -D-glükopiranozil-tetrazol (**35**) inaktívnak bizonyult.

Általánosságban elmondható, hogy a három oxadiazol sorozat (**32**, **33**, **34**) közül a **33** vegyületek a legaktívabbak. Itt is érvényesül a korábban (pl. az *N*-acil- $\beta$ -D-glükopiranozilaminok és az *N*-szubsztituált-*N'*- $\beta$ -D-glükopiranozil-

karbamidok esetében, ld. 2. Táblázat) megfigyelt tendencia, mely szerint az erős kötődés érdekében a heterociklus szubsztituensének nagy méretűnek és megfelelő orientáltságúnak kell lennie: a 2-naftilcsoport előnyösebb a fenillel és az 1-naftillal szemben.

Az anomer centrumhoz közvetlenül kapcsolódó kondenzált aromás rendszereket tartalmazó vegyületek, mint a **37** benziazol és **40** benzimidazol kötődése is megerősíti a nagyméretű aromás gyűrűrendszer fontosságát. A **40** benzimidazol erősebb gátlása az imidazol NH és az enzim His377 oldallánca közötti H-kötéssel magyarázható, ami a benziazol esetében nem jöhet létre.<sup>107</sup>

Számos egyéb, többségében C-glükozil vegyületet is vizsgáltak a GP gátlás szempontjából, melyeket a 7. Táblázatban foglaltunk össze. A **44-46** C-glükozil származékok nagyon gyenge inhibitoroknak bizonyultak,<sup>108</sup> míg a **47** ciklopropán inaktív volt.<sup>109</sup> A **48** C-glükozil-butenon,<sup>110</sup> amely egy nagyobb sorozat legjobban gátló tagja, analóg szerkezetűnek tekinthető a 2. Táblázat 7D amidjával (az amid NH-csoportot ebben CH<sub>2</sub> helyettesíti).

7. Táblázat. Különböző glükózsármazékok gátló hatása nyúl vázizom glikogén foszforiláz (RMGP) *b* enzim esetén (*K*, [ $\mu$ M]).

	44 R = H	900 <sup>108</sup>		1300 <sup>108</sup>
	45 R = Me	Nem gátló <sup>108</sup>		
		Nem gátló (625 $\mu$ M) <sup>109</sup>		
				52 % (100 $\mu$ M) <sup>110*</sup>
	49 R' = H	10 % <sup>111</sup>		35 % <sup>111</sup>
				Nem gátló <sup>111</sup>
				30 % <sup>111</sup>
	53	OEt		21 % (625 $\mu$ M) <sup>113</sup>
	54	SPh		Nem gátló (625 $\mu$ M) <sup>113</sup>
	55	NHPh		Nem gátló (625 $\mu$ M) <sup>113</sup>
	56	N <sub>3</sub>		1800 <sup>114</sup>
	54	NHCOMe		310 <sup>114</sup>
	58	NHCOOMe		16 <sup>88</sup>
				Nem gátló (625 $\mu$ M) <sup>112</sup>

\*Az enzimtípus nincs megadva.

A gátló hatás közvetlen összehasonlítása nem lehetséges, mivel a közleményben nem szerepelnek az enzimre és a kinetikai vizsgálatra vonatkozó adatok.

A szénhidrát-fehérje felismerési folyamatokban gyakori multivalens kötődést vizsgálták az egy, illetve három glükóz egységet tartalmazó **49-50**, illetve **51-52** vegyületpárokkal.<sup>111</sup>

Számottevő gátlás egyik esetben sem mutatkozott, azonban a háromértékű vegyületek erősebben kötődtek az enzimhez az egyértékűekhez viszonyítva. Szerkezeti vizsgálatok hiányában egyelőre nem látszik bizonyítottnak, hogy a multivalens kötődés ténylegesen az aktív helyen következik-e be, vagy egyéb kölcsönhatások lépnek fel a nagyméretű molekula és az enzim között.

Az **53-58** ( $\beta$ -D-glükó-hept-2-ulopiranozil)onamid típusú vegyületek közül csak az 58 karbamát mutatott jelentékenynek mondható gátlást. Az általunk elsőként előállított 59 glükózil-szulfonamid a szokásos koncentráció tartományban nem gátolta az enzimet.<sup>112</sup>

### 3. Következtetések

A glikogén foszforiláz gátlását világszerte jelentős erővel vizsgálják akadémiai és ipari kutatóhelyeken egyaránt. E munka intenzitását jól példázza, hogy a legutóbbi nagy összefoglaló munka<sup>47</sup> adatgyűjtésének lezárása, 2008 kora tavasza óta mintegy 60 újabb publikáció jelent meg több új gátló hatású vegyületsoprotot is bemutatva. Ezek közül a glükózanalog vegyületek legfrissebb képviselőit is szerepeltetjük ebben a cikkben.

Anagy számú glükózszármazék analíziséből származó fontos következtetés, hogy nagyméretű, megfelelően irányított hidrofób csoportok jelenléte nanomólos gátlást eredményez több alapvázon is (*N*-acil-*N'*- $\beta$ -D-glükopiranozil-karbamidok, glükopiranozilidén-spiro-oxatiazolinok, és -izoxazolinok). Ezért az inhibitor-tervezés és -szintézis

egyik következő feladata az lehet, hogy e csoportoknak az enzimmel való kölcsönhatásait felderítve (krisztallográfia, NMR spektroszkópia), a megfelelő szubsztitúciós mintát megtervezve (számítási kémia, molekuláris dokkolás) újabb vegyületeket állítson elő, melyek aglikonjai sokkal erősebb enzim-inhibitor kapcsolódást fognak lehetővé tenni. További vázak keresése szintén fontos teendő, ezen a területen a C-glükózil származékok körében már biztató jelek látszanak. A szövetszelektivitás problémájának megoldásával a glikogén foszforiláz gátlói ígéretes antidiabetikus terápiás lehetőséget jelenthetnek.

### Köszönetnyilvánítás

A glikogén foszforiláz inhibitorok szintézisét az OTKA (T32124, T46081, NI-61336) és az NKTH (NK-68578, CK-77712) hosszabb ideje támogatja, része volt a Genomnanotech Debreceni Regionális Egyetemi Tudásközpont (RET-006/2004), illetve jelenleg az innovatív kutatócsoportok támogatási programjában is szerepel (TÁMOP-4.2.2-08/1/2008-0014). Az enzimológiai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Orvosi Vegytani Intézetében Dr. Gergely Pál és Docsa Tibor végzi. A szintetikus munkák terén hosszú, gyümölcsöző kapcsolatban állunk Dr. Jean-Pierre Pralyval és csoportjával a Lyoni Egyetemen. A fehérje krisztallográfiai vizsgálatokkal Dr. Nikos G. Oikonomakos illetve (NGO 2008. évi sajnálatos elhalálása után) Evangelia D. Chrysiná és munkatársaik (Görög Nemzeti Kutatási Alapítvány, Athén) segítik a szintetikus tervezést. E kapcsolatokat számos kétoldalú Tét együttműködés és MTA projekt támogatta és segíti jelenleg is.

### Hivatkozások

- Moller, D. E. *Nature* **2001**, *414*, 821-827.
- Zimmet, P.; Alberti, K. G. M. M.; Shaw, J. *Nature* **2001**, *414*, 782-861.
- Green, A.; Hirsch, N. C.; Pramming, S. K. *Diabetes-Metab. Res. Rev.* **2003**, *19*, 3-7.
- Diamond, J. *Nature* **2003**, *423*, 599-602.
- Egészségügyi statisztikai évkönyv*, Központi Statisztikai Hivatal, 2007.
- A cukorbetegség*. <http://www.origo.hu/tudomany/elet/20040921cukorbetegseg.html> (megtekintés dátuma: 2009. 09. 21.)
- Hengesh, E. J. In *Principles of Medicinal Chemistry*; Foye, W. O.; Lemke, T. L.; Williams, D. A. Eds.; Williams & Wilkins: Baltimore, 1995; pp. 581-600.
- Ehtisham, S.; Barrett, T. G. *Ann. Clin. Biochem.* **2004**, *41*, 10-16.
- Bloomgarden, Z. T. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 998-1010.
- Alberti, G.; Zimmet, P.; Shaw, J.; Bloomgarden, Z.; Kaufman, F.; Silink, M. *Diabetes Care* **2004**, *27*, 1798-1811.
- Panunti, B.; Jawa, A. A.; Fonseca, V. A. *Drug Discov. Today: Disease Mech.* **2004**, *1*, 151-157.
- Stumvoll, M.; Goldstein, B. J.; van Haeften, T. W. *Lancet* **2005**, *365*, 1333-1346.
- Lowell, B. B.; Shulman, G. I. *Science* **2005**, *307*, 384-387.
- Cobb, J.; Dukes, I. In *Annual Reports in Medicinal Chemistry*; Bristol, J. A. Ed.; Academic Press: San Diego, 1998; pp. 213-222.
- Perfetti, R.; Barnett, P. S.; Mathur, R.; Egan, J. M. *Diabetes Metab. Rev.* **1998**, *14*, 207-225.
- Rose, M. L.; Paulik, M. A.; Lenhard, J. M. *Expert Opin. Ther. Patents* **1999**, *9*, 1-14.
- Zhang, B. B.; Moller, D. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 461-467.
- Rendell, M. *Drugs* **2004**, *64*, 1339-1358.
- Cheng, A. Y. Y.; Fantus, I. G. *Can. Med. Assoc. J.* **2005**, *172*, 213-226.
- Padwal, R.; Majumdar, S. R.; Johnson, J. A.; Varney, J.; McAlister, F. A. *Diabetes Care* **2005**, *28*, 736-744.
- Krentz, A. J.; Bailey, C. J. *Drugs* **2005**, *65*, 385-411.
- van de Laar, F. A.; Lucassen, P. L.; Akkermans, R. P.; van de Lisdonk, F. H.; Rutten, G. E.; van Weel, C. *Diabetes Care* **2005**, *28*, 154-163.
- Murata, G. H.; Duckworth, W. C.; Hoffman, R. M.; Wendel, C. S.; Mohler, M. J.; Shah, J. H. *Biomed. Pharmacother.* **2004**, *58*, 551-559.
- Wagman, A. S.; Nuss, J. M. *Curr. Pharma. Design* **2001**, *7*, 417-450.
- Cohen, P. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **1999**, *354*, 485-495.
- Treadway, J. L.; Mendys, P.; Hoover, D. J. *Expert Opin. Invest. Drugs* **2001**, *10*, 439-454.
- Saltiel, A. R.; Kahn, C. R. *Nature* **2001**, *414*, 799-806.
- Staehr, P.; Hother-Nielsen, O.; Beck-Nielsen, H. *Diabetes Obes. Metab.* **2002**, *4*, 215-223.
- Morral, N. *Trends Endocrin. Metab.* **2003**, *14*, 169-175.
- Nourparvar, A.; Bulotta, A.; Di Mario, U.; Perfetti, R. *Trends Pharmacol. Sci.* **2004**, *25*, 86-91.
- Agius, L. *Best Pract. Res. Clin. Endocrin. Metab.* **2007**, *21*, 587-605.
- McCarty, M. F. *Med. Hypoth.* **2000**, *54*, 483-487.
- Kurukulasuriya, R.; Link, J. T.; Madar, D. J.; Pei, Z.; Rohde, J. J.; Richards, S. J.; Souers, A. J.; Szczepankiewicz, B. G. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 99-121.

34. Kurukulasuriya, R.; Link, J. T.; Madar, D. J.; Pei, Z.; Richards, S. J.; Rohde, J. J.; Souers, A. J.; Szczepankiewicz, B. G. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 123-153.
35. Barf, T. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 897-908.
36. Bollen, M.; Keppens, S.; Stalmans, W. *Biochem. J.* **1998**, *336*, 19-31.
37. Radziuk, J.; Pye, S. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2001**, *17*, 250-272.
38. Roden, M.; Bernroider, E. *Best Pract. Res. Clin. Endocrin. Metab.* **2003**, *17*, 365-383.
39. Andersen, B.; Rassov, A.; Westergaard, N.; Lundgren, K. *Biochem. J.* **1999**, *342*, 545-550.
40. Oikonomakos, N. G. *Curr. Protein Pept. Sci.* **2002**, *3*, 561-586.
41. McCormack, J. G.; Westergaard, N.; Kristiansen, M.; Brand, C. L.; Lau, J. *Curr. Pharma. Design* **2001**, *7*, 1451-1474.
42. Lerin, C.; Montell, E.; Nolasco, T.; Garcia-Rocha, M.; Guinovart, J. J.; Gomez-Foix, A. M. *Biochem. J.* **2004**, *378*, 1073-1077.
43. Baker, D. J.; Timmons, J. A.; Greenhaff, P. L. *Diabetes* **2005**, *54*, 2453-2459.
44. Baker, D. J.; Greenhaff, P. L.; MacInnes, A.; Timmons, J. A. *Diabetes* **2006**, *55*, 1855-1861.
45. Freeman, S.; Bartlett, J. B.; Convey, G.; Hardern, I.; Teague, J. L.; Loxham, S. J. G.; Allen, J. M.; Poucher, S. M.; Charles, A. D. *Brit. J. Pharmacol.* **2006**, *149*, 775-785.
46. Baker, D. J.; Greenhaff, P. L.; Timmons, J. A. *Expert Opin. Ther. Patents* **2006**, *16*, 459-466.
47. Somsák, L.; Czifrák, K.; Tóth, M.; Bokor, É.; Chrysina, E. D.; Alexacou, K. M.; Hayes, J. M.; Tiraidis, C.; Lazoura, E.; Leonidas, D. D.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 2933-2983.
48. Somsák, L.; Nagy, V.; Hadady, Z.; Docsa, T.; Gergely, P. *Curr. Pharma. Design* **2003**, *9*, 1177-1189.
49. Henke, B. R.; Sparks, S. M. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2006**, *6*, 845-857.
50. Oikonomakos, N. G.; Somsák, L. *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2008**, *9*, 379-395.
51. Watson, K. A.; Mitchell, E. P.; Johnson, L. N.; Cruciani, G.; Son, J. C.; Bichard, C. J. F.; Fleet, G. W. J.; Oikonomakos, N. G.; Kontou, M.; Zographos, S. E. *Acta Cryst.* **1995**, *D51*, 458-472.
52. Györgydeák, Z.; Thiem, J. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2006**, *60*, 103-182.
53. Kovács, L.; Ösz, E.; Domokos, V.; Holzer, W.; Györgydeák, Z. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4609-4621.
54. Kannan, T.; Vinodhkumar, S.; Varghese, B.; Loganathan, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2433-2435.
55. Chrysina, E. D.; Kosmopolou, M. N.; Kardakaris, R.; Bischler, N.; Leonidas, D. D.; Kannan, T.; Loganathan, D.; Oikonomakos, N. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 765-772.
56. Helferich, B.; Kosche, W. *Chem. Ber.* **1926**, *59*, 69-79.
57. Nagy, V., Doktori (PhD) értekezés, Debreceni Egyetem, 2003.
58. Oikonomakos, N. G.; Kosmopolou, M.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Somsák, L.; Nagy, V.; Praly, J.-P.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 1684-1696.
59. Felföldi, N., Doktori (PhD) értekezés, Debreceni Egyetem, 2009.
60. Pintér, I.; Kovács, J.; Tóth, G. *Carbohydr. Res.* **1995**, *273*, 99-108.
61. Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Nishiyama, T.; Isobe, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 586-591.
62. Likhoshesterov, L. M.; Novikova, O. S.; Shibaev, V. N. *Dokl. Chem.* **2002**, *383*, 89-92.
63. Somsák, L.; Felföldi, N.; Kónya, B.; Hüse, C.; Telepó, K.; Bokor, É.; Czifrák, K. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2083-2093.
64. Felföldi, N.; Tóth, M.; Chrysina, E. D.; Charavgi, M.-D.; Alexacou, K.-M.; Somsák, L. *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 208-213.
65. Somsák, L.; Kovács, L.; Tóth, M.; Ösz, E.; Szilágyi, L.; Györgydeák, Z.; Dinya, Z.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2843-2848.
66. Anagnostou, E.; Kosmopolou, M. N.; Chrysina, E. D.; Leonidas, D. D.; Hadjiloi, T.; Tiraidis, C.; Zographos, S. E.; Györgydeák, Z.; Somsák, L.; Docsa, T.; Gergely, P.; Kolisis, F. N.; Oikonomakos, N. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 181-189.
67. Petsalakis, E. I.; Chrysina, E. D.; Tiraidis, C.; Hadjiloi, T.; Leonidas, D. D.; Oikonomakos, N. G.; Aich, U.; Varghese, B.; Loganathan, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5316-5324.
68. Czifrák, K.; Hadady, Z.; Docsa, T.; Gergely, P.; Schmidt, J.; Wessjohann, L. A.; Somsák, L. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 947-956.
69. Hadjiloi, T.; Tiraidis, C.; Chrysina, E. D.; Leonidas, D. D.; Oikonomakos, N. G.; Tsipos, P.; Gimisis, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3872-3882.
70. Alexacou, K. M.; Hayes, J. M.; Tiraidis, C.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Chrysina, E. D.; Archontis, G.; Oikonomakos, N. G.; Paul, J. V.; Varghese, B.; Loganathan, D. *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* **2008**, *71*, 1307-1323.
71. Györgydeák, Z.; Hadady, Z.; Felföldi, N.; Krakomperger, A.; Nagy, V.; Tóth, M.; Brunyánszky, A.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4861-4870.
72. Chrysina, E. D.; Bokor, É.; Alexacou, K.-M.; Charavgi, M.-D.; Oikonomakos, G. N.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Oikonomakos, N. G.; Somsák, L. *Tetrahedron Asymmetry* **2009**, *20*, 733-740.
73. Czákó, Z.; Juhász, L.; Kenéz, Á.; Czifrák, K.; Somsák, L.; Docsa, T.; Gergely, P.; Antus, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6738-6741.
74. Meldal, M.; Tornøe, C. W. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2952-3015.
75. Horne, W. S.; Yadav, M. K.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15366-15367.
76. Appendino, G.; Bacchiega, S.; Minassi, A.; Cascio, M. G.; De Petrocellis, L.; Di Marzo, V. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2007**, *46*, 9312-9315.
77. Angell, Y. L.; Burgess, K. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1674-1689.
78. Bokor, É.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 1171-1180.
79. Cismaş, C.; Sovantzis, D.; Hadjiloi, T.; Stathis, D.; Gimisis, T.; Hayes, J. M.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Chrysina, E. D.; Oikonomakos, N. G. 13<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium, 2005, Bratislava, Slovakia. Book of Abstracts p. 141.
80. Bognár, R.; Somogyi, L.; Szilágyi, L.; Györgydeák, Z. *Carbohydr. Res.* **1967**, *5*, 320-328.
81. Tenchiu (Deleanu), A.-C.; Kostas, I. D.; Kovala-Demertzi, D.; Terzis, A. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 1352-1364.
82. Deleanu, A. C.; Kostas, I. D.; Liratzis, I.; Alexacou, K.-M.; Leonidas, D. D.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G. In *4<sup>th</sup> Central European Conference Chemistry towards Biology*: Dobogókő, Hungary, September 8-11, 2008. Book of Abstracts p. 80.
83. Szilágyi, L.; Somsák, L.; Docsa, T.; Gergely, P. *nem közölt eredmények*.
84. Bichard, C. J. F.; Mitchell, E. P.; Wormald, M. R.; Watson, K. A.; Johnson, L. N.; Zographos, S. E.; Koutra, D. D.; Oikonomakos, N. G.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2145-2148.
85. Czifrák, K.; Somsák, L. *nem közölt eredmények*.
86. Hadady, Z., Doktori (PhD) értekezés, Debreceni Egyetem, 2007.
87. Watson, K. A.; Chrysina, E. D.; Tsitsanou, K. E.; Zographos, S. E.; Archontis, G.; Fleet, G. W. J.; Oikonomakos, N. G. *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* **2005**, *61*, 966-983.
88. Krülle, T. M.; Fuente, C.; Watson, K. A.; Gregoriou, M.; Johnson, L. N.; Tsitsanou, K. E.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G.; Fleet, G. W. J. *Synlett* **1997**, 211-213.
89. Ösz, E.; Somsák, L.; Szilágyi, L.; Kovács, L.; Docsa, T.; Tóth,



- B.; Gergely, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1385-1390.
90. Bentlifa, M.; Hayes, J. M.; Vidal, S.; Gueyraud, D.; Goekjian, P. G.; Praly, J.-P.; Kizilis, G.; Tiraidis, C.; Alexacou, K.-M.; Chrysina, E. D.; Zographos, S. E.; Leonidas, D. D.; Archontis, G.; Oikonomakos, N. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 7368-7380.
  91. Somsák, L.; Nagy, V.; Vidal, S.; Czifrák, K.; Berzsényi, E.; Praly, J.-P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5680-5683.
  92. Nagy, V.; Vidal, S.; Bentlifa, M.; Berzsényi, E.; Teilhet, C.; Czifrák, K.; Batta, G.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L.; Praly, J.-P. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5696-5707.
  93. Gregoriou, M.; Noble, M. E. M.; Watson, K. A.; Garman, E. F.; Krülle, T. M.; Fuente, C.; Fleet, G. W. J.; Oikonomakos, N. G.; Johnson, L. N. *Protein Sci.* **1998**, *7*, 915-927.
  94. Fuente, C.; Krülle, T. M.; Watson, K. A.; Gregoriou, M.; Johnson, L. N.; Tsitsanou, K. E.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G.; Fleet, G. W. J. *Synlett* **1997**, 485-487.
  95. Somsák, L.; Nagy, V.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 405-408.
  96. Somsák, L.; Nagy, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1719-1727. Corrigendum 2247.
  97. Oikonomakos, N. G.; Skamnaki, V. T.; Ösz, E.; Szilágyi, L.; Somsák, L.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 261-268.
  98. Archontis, G.; Watson, K. A.; Xie, Q.; Andreou, G.; Chrysina, E. D.; Zographos, S. E.; Oikonomakos, N. G.; Karplus, M. *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* **2005**, *61*, 984-998.
  99. Somsák, L.; Nagy, V.; Hadady, Z.; Felföldi, N.; Docsa, T.; Gergely, P. In *Frontiers in Medicinal Chemistry*; Reitz, A. B.; Kordik, C. P.; Choudhary, M. I.; Rahman, A. u. Eds.; Bentham, 2005; pp. 253-272.
  100. Bentlifa, M.; Vidal, S.; Gueyraud, D.; Goekjian, P. G.; Msaddek, M.; Praly, J.-P. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6143-6147.
  101. Tóth, M.; Somsák, L. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1* **2001**, 942-943.
  102. Tóth, M.; Kövér, K. E.; Bényei, A.; Somsák, L. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4039-4046.
  103. Watson, K. A.; Mitchell, E. P.; Johnson, L. N.; Son, J. C.; Bichard, C. J. F.; Orchard, M. G.; Fleet, G. W. J.; Oikonomakos, N. G.; Leonidas, D. D.; Kontou, M.; Papageorgiou, A. *Biochem.* **1994**, *33*, 5745-5758.
  104. Hadady, Z.; Tóth, M.; Somsák, L. *Arkivoc* **2004**, 140-149.
  105. Tóth, M.; Kun, S.; Bokor, É.; Bentlifa, M.; Tallec, G.; Vidal, S.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L.; Praly, J.-P. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4773-4785.
  106. Bentlifa, M.; Vidal, S.; Fenet, B.; Msaddek, M.; Goekjian, P. G.; Praly, J.-P.; Brunyánszki, A.; Docsa, T.; Gergely, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4242-4256.
  107. Chrysina, E. D.; Kosmopoulou, M. N.; Tiraidis, C.; Kardarakis, R.; Bischler, N.; Leonidas, D. D.; Hadady, Z.; Somsák, L.; Docsa, T.; Gergely, P.; Oikonomakos, N. G. *Protein Sci.* **2005**, *14*, 873-888.
  108. He, L.; Zhang, Y. Z.; Tanoh, M.; Chen, G. R.; Praly, J. P.; Chrysina, E. D.; Tiraidis, C.; Kosmopoulou, M.; Leonidas, D. D.; Oikonomakos, N. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 596-606.
  109. Bertus, P.; Szymoniak, J.; Jeanneau, E.; Docsa, T.; Gergely, P.; Praly, J.-P.; Vidal, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4774-8.
  110. Bisht, S. S.; Fatima, S.; Tamrakar, A. K.; Rahuja, N.; Jaiswal, N.; Srivastava, A. K.; Tripathi, R. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2699-2703.
  111. Cecioni, S.; Argintaru, O.-A.; Docsa, T.; Gergely, P.; Praly, J.-P.; Vidal, S. *New J. Chem.* **2009**, *33*, 148-156.
  112. Czifrák, K.; Somsák, L. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 269-277.
  113. Nagy, V.; Czifrák, K.; Bényei, A.; Somsák, L. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 921-927.
  114. Chrysina, E. D.; Oikonomakos, N. G.; Zographos, S. E.; Kosmopoulou, M. N.; Bischler, N.; Leonidas, D. D.; Kovács, L.; Docsa, T.; Gergely, P.; Somsák, L. *Biocatal. Biotransform.* **2003**, *21*, 233-242.

### Glucose analogue inhibitors of glycogen phosphorylase as potential antidiabetic agents

A brief description of *diabetes mellitus* and its social and economical consequences is followed by a presentation of the pharmacological inhibition of hepatic glucose production and the role of glycogen phosphorylase in this process as an investigational approach to combat non-insulin-dependent (type 2) *diabetes mellitus*. A detailed survey covers to date the most important stages of inhibitor development among D-glucose derivatives, the most populated class of glycogen phosphorylase inhibitors. Synthesis as well as inhibitory activities of N-β-D-glucopyranosyl-amines, N-substituted-N'-β-D-glucopyranosyl ureas, N-β-D-glucopyranosyl pyrimidines, -purines, and -1,2,3-triazoles, 4-β-D-glucopyranosyl thiosemicarbazones, D-glucopyranosylidene-spiro-hydantoin, -oxathiazoles, and -isoxazolines, C-β-D-glucopyranosyl heterocycles (tetrazole, benzimidazole, benzothiazole, 1,2,4- and 1,3,4-oxadiazoles), -cyclopropane, (β-D-glucopyranosyl)-

ulopyranosyl)onamid derivatives, and S-β-D-glucopyranosyl sulfonamide are described and structure-activity relationships are analyzed. A most important conclusion drawn from investigation of a large number of glucose derivatives is that the presence of a large, suitably oriented hydrophobic group results in nanomolar inhibitors on several skeletons (N-acyl-N'-β-D-glucopyranosyl ureas, glucopyranosylidene-spiro-oxathiazoles, and -isoxazolines). Next steps of the inhibitor design should be based on finding out essential interactions of these groups with the enzyme (by protein crystallography and NMR methods), design of appropriate substitution patterns (by computational chemistry and molecular docking methods). Equally important is the search for other skeletons. Provided sufficient tissue selectivity can be achieved, inhibition of GP can be expected to become a powerful therapy for type 2 diabetes.