

# O- $\beta$ -N-acetil-D-glicosaminiltransferase (OGT): Passado e Presente na Busca por Inibidores de um Interessante Alvo Terapêutico

## *O- $\beta$ -N-acetyl-D-glucosaminyltransferase (OGT): Past and Present in the Search for Inhibitors of an Interesting Therapeutic Target*

Pedro Henrique R. de A. Azevedo,<sup>a</sup> Maria Carolina C. N. Alves,<sup>a</sup> Priscila G. Camargo,<sup>b</sup> Luiza Rosaria S. Dias,<sup>a</sup> Camilo Henrique da S. Lima,<sup>c,\*</sup> Estela Maris F. Muri<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Farmácia, Departamento de Tecnologia Farmacêutica, CEP 24241-000, Niterói-RJ, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Departamento de Fármacos e Medicamentos, CEP 21941-909, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

<sup>c</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, CEP 21941-909, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

\*E-mail: [camilolima@iq.ufrj.br](mailto:camilolima@iq.ufrj.br)

Recebido: 6 de Outubro de 2023

Aceito: 3 de Maio de 2024

Publicado online: 9 de Maio de 2024

One of the many glycosylation types that occurs in living organisms is the process of *O*-linked  $\beta$ -*N*-acetylglucosamine modification (*O*-GlcNAcylation), which involves the addition of monosaccharide units. This process acts as a sensor highly linked to the cellular nutritional influx through the hexosamine biosynthetic pathway. Any dysregulation in the *O*-GlcNAcylation process can be associated with pathological conditions such as diabetes, cancer, cardiovascular, and neurodegenerative diseases. Therefore, OGT is a promising molecular target for new therapies. Currently, no drugs are available on the market based on the OGT inhibition. In this review, we focus on the research progress in developing OGT inhibitors highlighting the different classes and structural patterns of molecules reported by their potential inhibitory activity.

**Keywords:** OGT; *O*-GlcNAcylation; UDP-GlcNAc; inhibitors.

## 1. Introdução

Os polissacarídeos ou glicanos são polímeros naturais formados por meio de ligações glicosídicas de unidades de monossacarídeos. Os glicanos são compostos ubíquos para todas as células existentes, podendo desempenhar uma quantidade inumerável de funções em todo ser vivo. Muitas destas funções estão atreladas ao processo de modificação pós-traducional (MPT) de maior ocorrência e diversidade estrutural, denominado de glicosilação, processo onde glicanos são ligados a proteínas ou lipídeos de forma covalente.<sup>1</sup> Dependendo do resíduo de aminoácido da proteína onde a ligação glicosídica é formada a glicosilação pode ser do tipo *O*-ligada, quando ocorre no oxigênio da cadeia lateral dos resíduos de serina ou treonina, ou *N*-ligada quando a ligação é formada no nitrogênio da cadeia lateral de resíduos de asparagina.<sup>2</sup>

Dentre os inúmeros tipos de glicosilação que ocorrem nos seres vivos existe o processo envolvendo a adição de unidades do monossacarídeo  $\beta$ -*N*-acetilglicosamina (GlcNAc), chamado de *O*-GlcNAcilação, descoberto em 1984.<sup>3</sup> A *O*-GlcNAcilação ocorre quase que exclusivamente em proteínas citoplasmáticas, mitocondriais e nucleares e consiste em um processo reversível que envolve duas enzimas, a *O*- $\beta$ -*N*-acetil-D-glicosaminiltransferase (OGT) responsável pela adição do substrato *O*-GlcNAc à proteína e a *O*- $\beta$ -*N*-acetil-D-glicosaminidase (OGA) que realiza sua remoção (Figura 1). Seu ciclo de adição/remoção é dinâmico e rápido se assemelhando a outros processos regulatórios de MPT, como por exemplo, a fosforilação.<sup>2</sup>

O processo de *O*-GlcNAcilação funciona como um sensor de nutriente celular uma vez que a concentração do substrato doador de GlcNAc, difosfato de 5'-uridina *N*-acetilglicosamina (UDP-GlcNAc), é altamente relacionado ao influxo nutricional celular pela via biossintética das hexosaminas (HBP).<sup>4</sup> Essa característica responsiva a nutrientes confere diferentes mudanças específicas em proteínas celulares impactando de forma importante em diversas funções celulares como ciclo celular, manutenção genômica, regulação epigenética, síntese/degradação proteica, vias metabólicas, vias de sinalização intracelular, resposta ao estresse e apoptose, além de influenciar processos fisiológicos como o ritmo circadiano, a formação da memória e o apetite.<sup>2</sup>

A formação do substrato UDP-GlcNAc da enzima OGT pela HBP envolve ao menos quatro vias metabólicas diferentes, como o da glicose pela utilização da frutose-6-fosfato, o de aminoácidos pela utilização da glutamina, o de ácidos graxos pela utilização da acetil

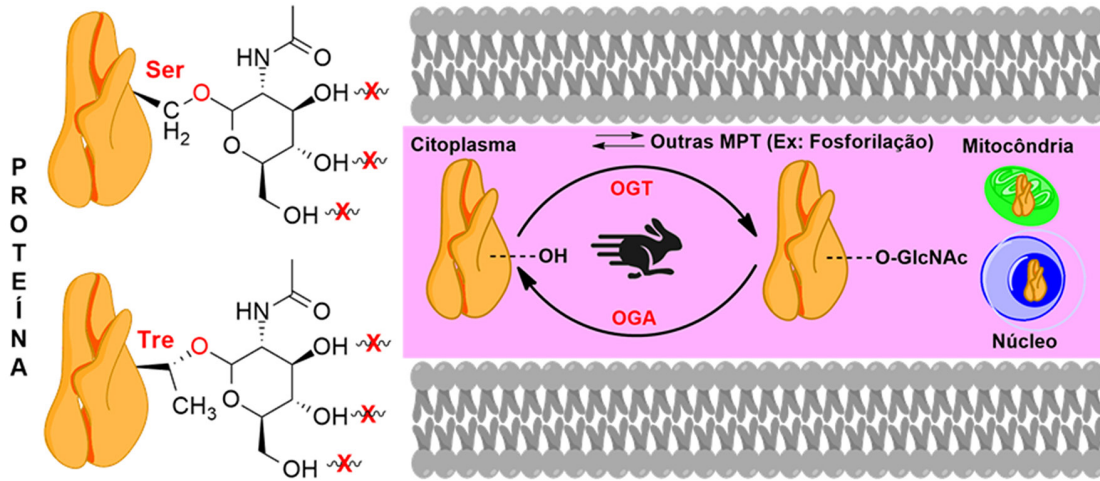


Figura 1. Processo de O-GlcNAcilação

coenzima A (Ac-CoA) e o de nucleotídeos pela utilização do trifosfato de uridina. A primeira enzima da HBP, glutamina-frutose-6-fosfato aminotransferase (GPT1) converte a frutose-6-fosfato (Fru-6-P) à glicosamina-6-fosfato (GlcN-6-P) com participação do aminoácido glutamina que é convertida a glutamato. A formação de GlcN-6-P pode ocorrer também a partir da entrada da glicosamina (GlcN) na célula, evitando a etapa que envolve a GPT1. Sequencialmente, a GlcN-6-P sofre acetilação pela enzima glicosamina-6-fosfato *N*-acetiltransferase (GNPNAT1) que transfere o grupo acetila da acetil-CoA para o açúcar, formando o *N*-acetilglicosamina-6-fosfato (GlcNAc-6-P). A penúltima enzima, fosfoacetilglicosamina mutase (PGM3), catalisa a isomerização da GlcNAc-6-P à *N*-acetilglicosamina-1-fosfato (GlcNAc-1-P). Por fim, a enzima UDP-*N*-acetilhexosamina pirofosforilase (UAP1),

utilizando o trifosfato de uridina (UTP), catalisa a formação da UDP-GlcNAc finalizando o processo de formação do substrato da OGT (Figura 2).<sup>2</sup>

## 2. O-GlcNAcilação e Patologias Relacionadas

Diversas evidências confirmam a participação da O-GlcNAcilação em processos celulares importantes, incluindo transcrição, tradução, metabolismo, sinalização transducional e autofagia. Assim, desregulações no processo de O-GlcNAcilação podem estar relacionadas a diversos processos patológicos, como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares como Acidente Vascular Cerebral (AVC) e Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) e neurodegenerativas como a Doença de Parkinson e a Doença de Alzheimer.<sup>5</sup>

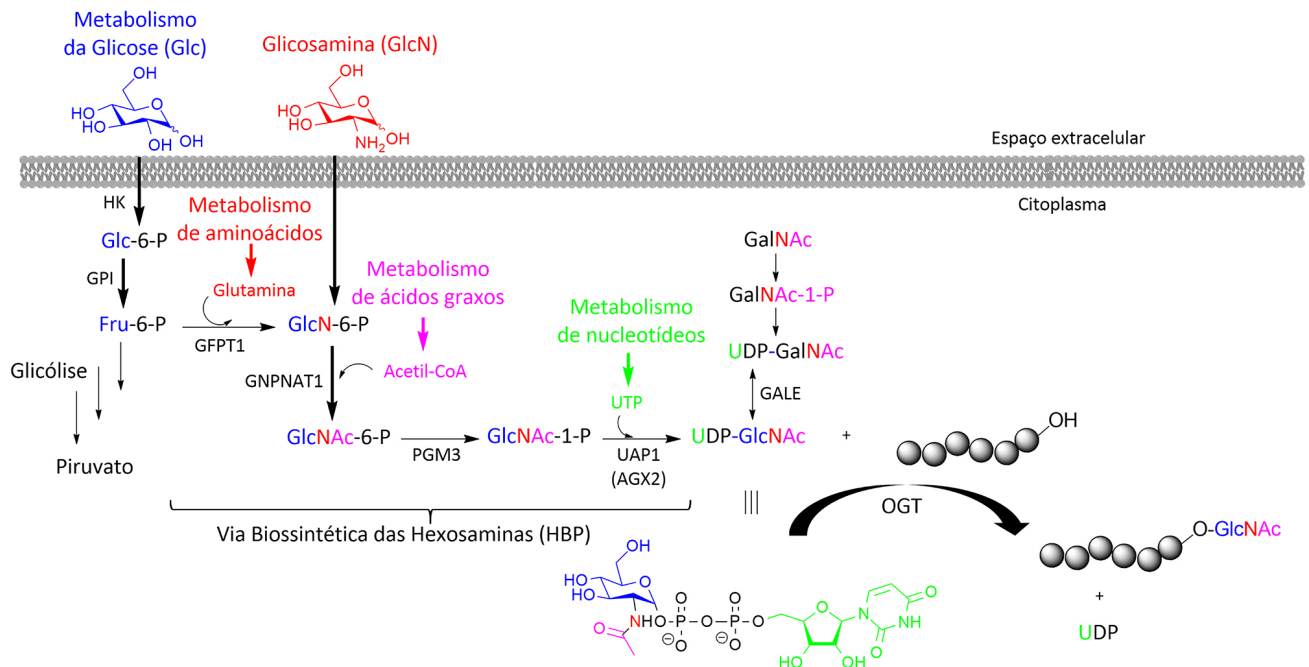


Figura 2. Formação de UDP-GlcNAc pela HBP e o ciclo da O-GlcNAcilação

## 2.1. O-GlcNAcilação e o diabetes

O Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome do metabolismo, de origem multifatorial, decorrente da diminuição ou falta de insulina e/ou da incapacidade de a insulina exercer adequadamente seus efeitos. A insulina é o hormônio produzido pelo pâncreas responsável pela manutenção do metabolismo da glicose. Alterações relacionadas a insulina provocam déficit na metabolização da glicose e, consequentemente, o aparecimento do diabetes que se caracteriza por altas concentrações de glicose no sangue (hiperglicemia).<sup>6</sup>

O Diabetes Mellitus tipo II (DM2), também chamado de diabetes insulino-resistente, envolve a secreção inadequada de insulina que inicialmente encontra-se elevada, entretanto a hiperestimulação dos receptores pela insulina leva a uma situação de resistência periférica por meio da dessensibilização dos receptores de insulina tornando os níveis do hormônio insuficientes para normalizar os níveis de glicose plasmática. Com o tempo a liberação de insulina é reduzida piorando o quadro de hiperglicemia.<sup>7</sup>

Um dos primeiros achados associando o processo de O-GlcNAcilação com o diabetes ocorreu pela hipótese do envolvimento da via biossintética das hexosaminas a partir da inibição da enzima GPT1, que resultou na observação do desenvolvimento de resistência à insulina em culturas de células primárias de adipócitos. A superexpressão da enzima OGT em células musculares e adipócitos também levou a observação do aparecimento do fenótipo associado ao DM2, reforçando ainda mais um possível papel da O-GlcNAcilação no desenvolvimento da resistência à insulina e surgimento da DM2.<sup>8</sup> O armazenamento e secreção de insulina nas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas é controlado pela expressão do gene da insulina (*Ins1/2*), sendo ele regulado pela ação sinérgica de duas proteínas, o fator de transcrição PDX1 (*pancreatic/duodenal homeobox-1*) e o fator de diferenciação neurogênica (*NeuroD1*).<sup>9</sup> Estudos demonstraram dois sítios de O-GlcNAcilação no PDX-1, estando eles glicosilados em condições de concentração elevada de glicose, o que intensifica sua atividade sobre o DNA causando aumento na expressão da insulina. A ampliação da expressão dos genes da insulina parece estar relacionada também com a localização celular do *NeuroD1*, o qual encontra-se em baixos níveis de glicose no citosol, porém a inibição da enzima OGA induz sua translocação para o núcleo, justificando o aumento da expressão gênica de *Ins1/2*.<sup>10</sup>

Em relação a via de sinalização da insulina diversas proteínas que participam deste processo foram identificadas em sua forma O-GlcNAcilada, incluindo os substratos 1 e 2 do receptor de insulina (*IRS1* e 2), a proteína quinase dependente de fosfoinositídeos-1 (*PDK1*), a fosfoinositídeo 3-quinase (*PI3K*) e a proteína quinase B (*AKT*). A glicosilação de todas essas proteínas parece atenuar a sinalização celular da insulina, podendo justificar o desenvolvimento da resistência em pessoas com DM2. Entretanto, outros estudos devem ser realizados para auxiliar

na compreensão do papel real da O-GlcNAcilação como causa do diabetes ou como um efeito em virtude de toda a disfunção ocasionada pela doença.<sup>11</sup>

## 2.2. O-GlcNAcilação e o câncer

O câncer é um conjunto de doenças multifatoriais caracterizadas, essencialmente, por instabilidade genômica e mutações cumulativas que resultam na perda do controle da divisão celular, promovendo crescimento rápido e invasivo de células neoplásicas à tecidos e órgãos.<sup>12</sup>

A transformação de células sadias em neoplásicas passa por uma readequação de todo seu metabolismo e vias de sinalização visando favorecer a manutenção de seu crescimento, sobrevivência e proliferação. Diante da grande necessidade energética por adenosina trifosfato (ATP) as células neoplásicas passam a produzir preferencialmente ATP pela via glicolítica (glicólise) em detrimento da fosforilação oxidativa mitocondrial, mesmo em condições aeróbicas adequadas. Essa modificação metabólica foi observada por Otto Warburg em 1926, recebendo a denominação de “efeito Warburg”. Além disso as células neoplásicas passam também a direcionar seu metabolismo celular para a via biossintética das hexosaminas aumentando o aporte celular de glutamina e consequente O-GlcNAcilação intracelular.<sup>13</sup>

Diversas enzimas relacionadas ao metabolismo celular são passíveis de sofrer o processo de O-GlcNAcilação tendo sua atividade modificada devido a essa glicosilação. Isso ocorre, por exemplo, com a enzima mais importante reguladora da glicólise, a fosfofrutoquinase-1 (*PFK-1*), que catalisa a conversão de frutose-6-fosfato à frutose-1,6-bifosfato e tem sua atividade inibida ao ser O-GlcNAcilada em seu resíduo de serina 529. Com a *PFK-1* inibida a célula passa a direcionar o metabolismo da glicose para a via das pentoses-fosfato (*PPP*) promovendo condições para a sobrevivência e proliferação de células neoplásicas.<sup>14</sup> Ainda favorecendo a via das pentoses-fosfato, a O-GlcNAcilação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (*G6PD*) em seu resíduo de serina 84 faz com que sua atividade seja aumentada, impulsionando ainda mais o fluxo da glicose para esta via. Por fim, a O-GlcNAcilação desestabiliza a enzima piruvato quinase M2 (*PKM2*) causando a translocação nuclear da *PKM2*, o que gera um aumento no consumo de glicose e na produção de lactato intracelular. Esses fatores são favoráveis à síntese lipídica e de DNA, processos importantíssimos para a proliferação acelerada de células cancerígenas.<sup>15</sup> A O-GlcNAcilação ainda está relacionada a glicosilação de muitos outros alvos celulares ligados a progressão do câncer, como o fator nuclear  $\kappa\beta$  (*NF- $\kappa\beta$* ) relacionado ao processo de neangiogênese e metástase e o fator de transcrição *c-Myc*, que em geral apresenta superexpressão em diversos tipos de células neoplásicas.<sup>16</sup> Além desses, outros fatores vêm sendo estudados como indicativos da interação do processo de O-GlcNAcilação com o câncer.<sup>11</sup>

### 2.3. O-GlcNAcilação e as doenças neurodegenerativas

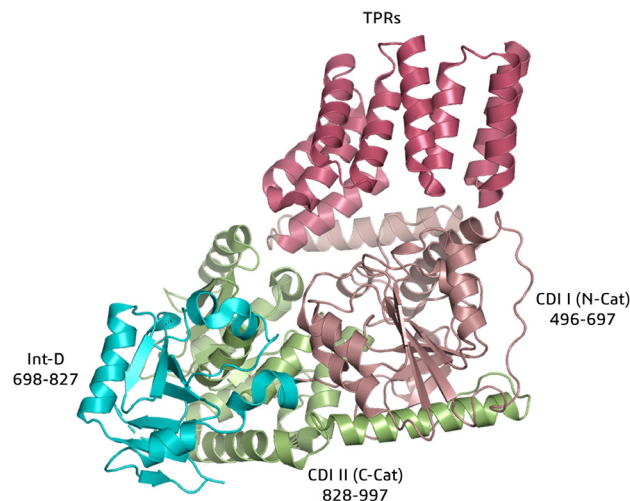
As doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA) e a Doença de Parkinson (DP), apresentam O-GlcNAcilação de algumas proteínas citoplasmáticas e nucleares reduzida, devido a diminuição dos níveis de UDP-GlcNAc, um metabólito da glicose produzido pela via biossintética das hexosaminas. Dessa forma, o hipometabolismo da glicose presente na DA vem sendo relacionado com sintomas da demência observada na doença. Assim, o processo da O-GlcNAcilação vem sendo considerado um alvo importante para o desenvolvimento de novas terapias para o tratamento da DA.<sup>17</sup>

### 3. A Enzima $\beta$ -N-Acetil-D-Glicosaminiltransferase (OGT)

A enzima responsável pelo processo intracelular de O-GlcNAcilação foi descoberta na década de 1990 e pertence a superfamília de glicosiltransferases metalo-independentes chamada GT-B.<sup>18</sup> A OGT humana apresenta duas regiões principais, uma região longa N-terminal contendo unidades de repetições do tipo tetratricopeptídicas (TPR) e uma região C-terminal onde encontra-se seu domínio catalítico e um intermediário de função até o momento desconhecido.<sup>19</sup> A OGT apresenta 3 isoformas: a núcleo-citoplasmática (ncOGT) que possui 13,5 TPRs e um total de 1028 aminoácidos (110 kDa) em sua estrutura e função relacionada a transcrição de genes e estabilidade proteica; a isoforma mitocondrial (mOGT) que possui 9 TPRs, com uma estrutura total de 875 aminoácidos (103 kDa) e relaciona-se com a função pró-apoptótica de forma seletiva; e a terceira e menor isoforma (sOGT), também de localização citoplasmática, que apresenta 2,5 TPRs, totalizando 654 aminoácidos (75 kDa) e também relacionada a função de apoptose.<sup>20</sup>

Em relação ao domínio catalítico as isoformas não apresentam diferenças, sendo dividido em subdomínios CDI (*catalytic domain I*) e CDII (*catalytic domain II*) divididos por um domínio intermediário (Int-D). Cada subdomínio responde pela interação com um dos elementos envolvidos no complexo ternário (Peptídeo–OGT–UDP-GlcNAc), desta forma o CDI (N-Cat) possui resíduos de interação com a proteína a ser glicosilada, enquanto que o CDII (C-Cat) apresenta resíduos que interagem com o substrato doador do açúcar (Figura 3).<sup>21</sup> Por utilizar o UDP, um nucleotídeo, como doador do açúcar GlcNAc, a enzima OGT recebe a classificação de glicosiltransferase do tipo Leloir. Além disso, é considerada uma GT inversora pertencente a superfamília das GT-B que difere das glicosiltransferases A (GT-A) por apresentarem dois domínios catalíticos (CD) semelhantes, enquanto que as GT-A possuem dois CD distintos. Estes domínios semelhantes apresentam-se na forma de Rossmann, comum em proteínas que se ligam a nucleotídeos e sendo

caracterizados por uma dobra composta por 6 fitas  $\beta$  que se alternam em segmentos de  $\alpha$ -hélice, e assim as fitas  $\beta$  se unem umas às outras por ligação de hidrogênio, formando uma folha  $\beta$  do tipo estendida enquanto as  $\alpha$ -hélices envolvem ambas as faces da folha para produzir um “sanduíche” de três camadas.<sup>22,23</sup>



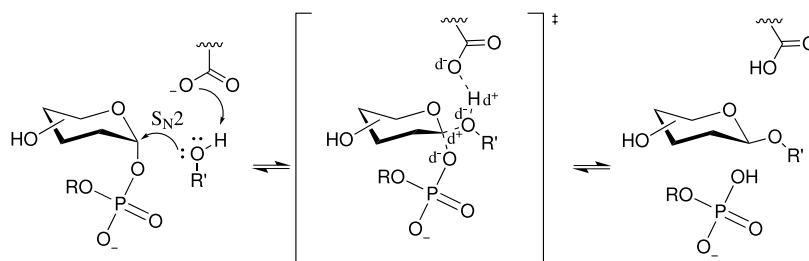
**Figura 3.** Representação esquemática da estrutura da OGT humana (PDB 5NPS), subdomínios CDI I (verde), CDI II (rosa claro), Int-D (azul) e TPRs (rosa escuro)

#### 3.1. O mecanismo catalítico da OGT

As enzimas GT inversoras catalisam reações de substituição nucleofílica do tipo  $S_N2$ , que envolvem o ataque nucleofílico ao carbono anomérico do carboidrato pelo lado oposto ao grupo de saída, resultando na inversão do açúcar. O processo começa com a desprotonação da hidroxila do resíduo de serina ou treonina do peptídeo aceptor por resíduos básicos do sítio catalítico, ativando o nucleófilo ao ataque no carbono quiral do açúcar e gerando um estado de transição semelhante ao íon oxocarbênio e formando a ligação glicosídica, finalizando assim a glicosilação (Figura 4).<sup>24</sup>

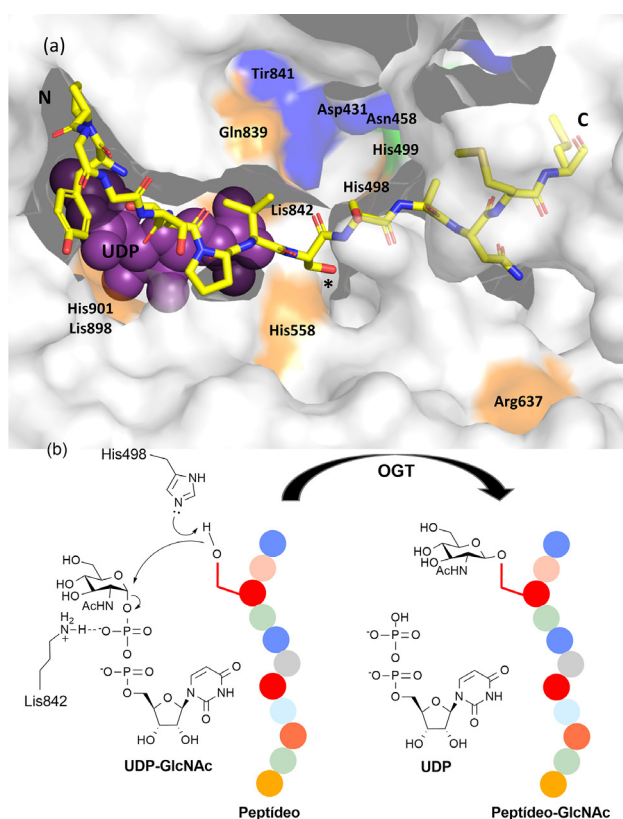
Na OGT o substrato peptídico se liga acima do substrato doador de UDP, sugerindo um mecanismo bi-bi ordenado onde o UDP-GlcNAc interage primeiro no domínio catalítico II através de interações de hidrogênio do grupo fosfato com os resíduos de Lis634, Asn838, Gln839, Lis842 e Asp925 e interações do tipo empilhamento  $\pi$ - $\pi$  com o importante resíduo de His901, que estabilizam o UDP no sítio catalítico.<sup>25</sup> Lazarus e colaboradores,<sup>26</sup> descrevem os resíduos de His498, His558, Arg637, Gln839, Lis842, Lis898, His901 como os mais importantes, sendo os resíduos mais próximos da Lis842 associados ao sítio catalítico de interação com o UDP e os mais próximos da His498 com o peptídeo aceptor do açúcar (Figura 5). O complexo ternário (peptídeo–OGT–UDP-GlcNAc) é formado pela interação do peptídeo substrato no domínio catalítico I (N-Cat), o qual se liga sobre o UDP-GlcNAc formando uma extensa interface de interação entre ambos. Após a formação do complexo a





**Figura 4.** Mecanismo geral via substituição nucleofílica do tipo  $S_N2$  das GT inversoras de açúcar

cadeia lateral aceptora ataca o carbono anomérico levando a saída do UDP e formando a ligação β-glicosídica. Por fim ocorre a dissociação do glicopeptídeo e do UDP de seus respectivos domínios catalíticos.<sup>26</sup>



**Figura 5.** (a) Superfície (cinza) do sítio ativo OGT (PDB 3TAX) com o peptídeo CKII representado em bastão (átomos de carbono em amarelo) com o UDP (esferas em roxo). A serina reativa está indicada por um asterisco. O peptídeo se liga na fenda entre a região TPR e a região catalítica e se estende ao longo da interface entre o C-Cat e N-Cat. Os resíduos implicados na atividade catalítica são coloridos em laranja, verde ou azul. (b) Mecanismo catalítico proposto para OGT.

## 4. Inibidores da OGT

Diante da relação da OGT e da *O*-GlcNAcilação com diversos processos fisiopatológicos é fundamental que hajam estudos que possibilitem a descoberta de inibidores dessa importante enzima, tanto para ampliar os conhecimentos sobre sua influência na fisiologia celular

quanto para possibilitar a exploração deste alvo potencial no tratamento de diversas patologias.

O desenvolvimento de inibidores enzimáticos pode ser bastante complexo, uma vez que eles necessitam preencher requisitos mínimos como permeabilidade celular, afinidade e especificidade pelo alvo. Estudos sobre o sítio ativo da OGT tem ajudado bastante o desenvolvimento de inibidores, porém a literatura ainda apresenta de forma modesta compostos que sejam potentes e que apresentem todas as características necessárias para sua utilização na prática clínica.

A seguir, estão resumidos os principais inibidores da OGT descritos na literatura até o momento, agrupados por classes.<sup>27,28</sup>

### 4.1. Inibidores do tipo análogos do substrato UDP-GlcNAc

O aloxano (Figura 6), um antigo e conhecido análogo da uracila, foi o primeiro inibidor da OGT descrito no início dos anos 2000.<sup>29</sup> Apesar de seu potencial inibitório e sua permeabilidade celular este composto se mostrou tóxico, principalmente devido a produção de espécies reativas de oxigênio, além da falta de especificidade e sua afinidade por outros alvos celulares como a enzima OGA e a glicosinase de células β pancreáticas. Estudos com roedores e animais de outras espécies correlacionaram sua toxicidade com sinais típicos do DM1 em humanos, chegando a receber o nome de Diabetes aloxônica.<sup>30</sup> Seu mecanismo inibitório ocorre de maneira competitiva pelo sítio de ligação da UDP-GlcNAc e também pela oxidação do grupo tiol de resíduos de cisteína da enzima.<sup>29</sup>

Outros compostos com características inibitórias competitivas da OGT são o próprio UDP, subproduto da reação de *O*-GlcNAcilação e seu análogo, a uridina-α,β-metileno bifosfonato (C-UDP).<sup>26,31</sup> Estes dois compostos apresentam múltiplos pontos de interação com diversos resíduos do sítio ativo da OGT, entretanto também interagem com uma ampla variedade de outras glicosiltransferases além de não apresentarem permeabilidade celular.<sup>31</sup>

O composto benzil-2-acetamido-2-deoxi-α-D-galactopiranosídeo (BADGP) (Figura 6) é um inibidor da OGT com boa permeabilidade celular que, apesar de ainda não apresentar um mecanismo de inibição elucidado, possui a capacidade de reduzir a *O*-GlcNAcilação intracelular e reverter os efeitos celulares tóxicos induzidos pelo aumento do fluxo da via biossintética das hexosaminas.<sup>32</sup>

Dois inibidores não hidrolisáveis planejados pela substituição do oxigênio anomérico da UDP-GlcNAc por uma unidade metilênica ou por um átomo de enxofre, UDP-C-GlcNAc ( $IC_{50} = 41 \mu M$ ) e o UDP-S-GlcNAc ( $IC_{50} = 93 \mu M$ ) respectivamente, demonstraram bons valores inibitórios da OGT (Figura 6). Ambos os compostos interagem de forma semelhante no sítio ativo da enzima, porém apresentam uma afinidade diminuída pois somente a porção uridina ocupa posição similar ao substrato natural, enquanto as porções do açúcar e pirofosfato ocupam diferentes sítios de ligação com a OGT. Eles também interagem com outras GTs, assim como outros análogos da UDP-GlcNAc, e não apresentam permeabilidade celular.<sup>31</sup>

Com a descoberta do potencial inibitório do UDP-S-GlcNAc outros tio-análogos da UDP-GlcNAc foram preparados como o UDP-5-tio-*N*-acetilglucosamina (UDP-5S-GlcNAc), um análogo resistente a hidrólise e inibidor competitivo da OGT (Figura 6). Seu modo de interação no sítio ativo da OGT ocorre da mesma maneira

que o UDP-GlcNAc, a partir da unidade de UDP que faz mais ligações de hidrogênio que o açúcar. Devido a sua semelhança com o doador de açúcar substrato da OGT, este composto pode sofrer epimerização à UDP-5S-GalNAc induzindo modificações celulares não desejáveis devido a interação com outras GT.<sup>33</sup>

O UDP-5S-GlcNAc é formado a partir de dois precursores metabólicos, o Ac4-5S-GlcNAc que apresenta baixa solubilidade em meio aquoso limitando os estudos de atividade biológica *in vivo*, e o 5S-GlcNH<sub>ex</sub>, que foi desenvolvido para suprimir a baixa solubilidade aquosa do primeiro precursor. O 5S-GlcNH<sub>ex</sub> apresenta permeabilidade celular adequada, conversão intracelular ao UDP-5S-GlcNAc e inibição da OGT em células *in vivo*. Ambos os precursores são substrato da enzima GlcNAc quinase (GNK) que adiciona a unidade de GlcNAc a estes formando o inibidor da OGT.<sup>34</sup>

O inibidor UDP-ES1, planejado a partir dos resultados obtidos com o UDP-5S-GlcNAc, apresenta um substituinte

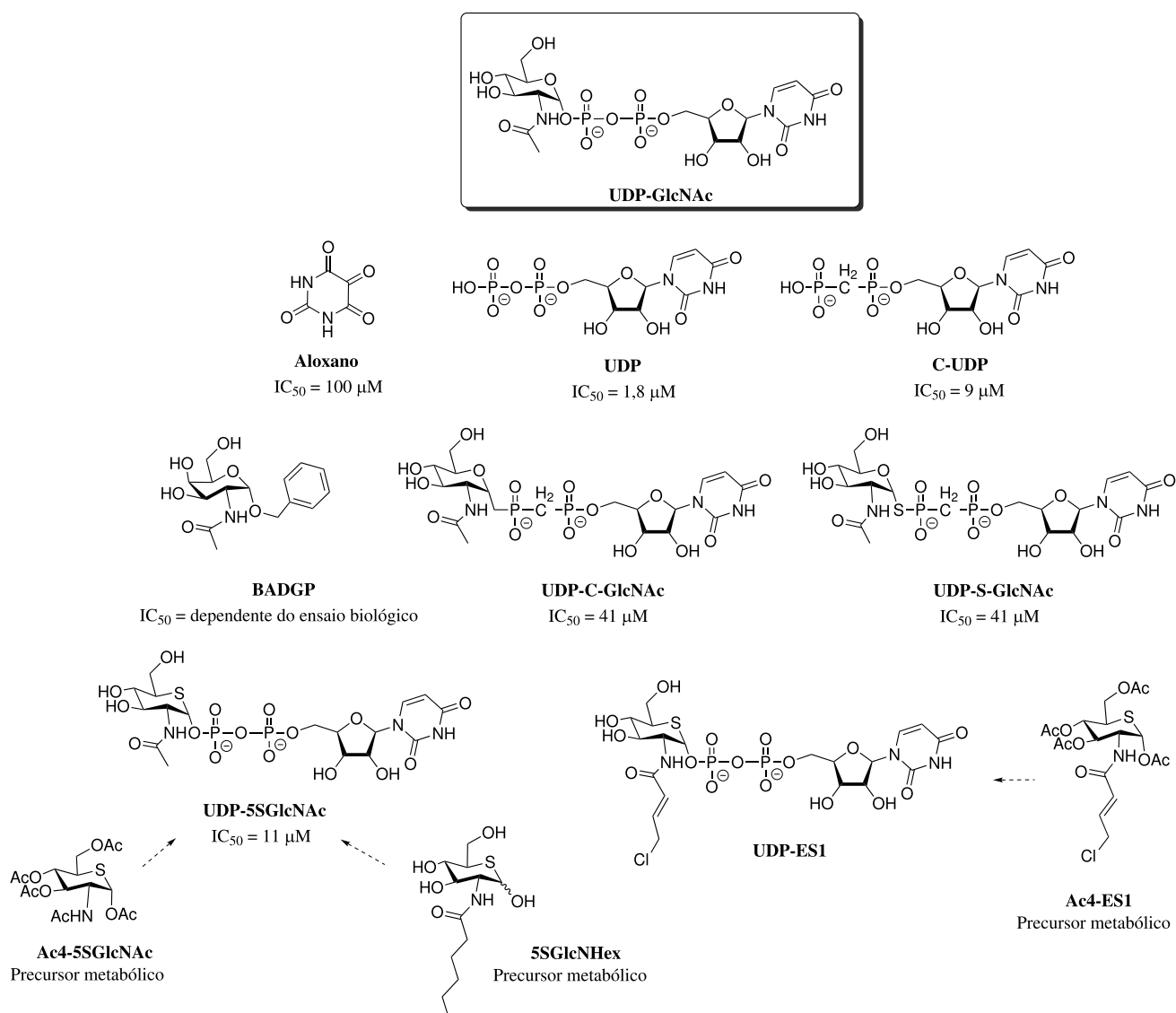


Figura 6. Inibidores da OGT análogos do UDP-GlcNAc

cloreto de alquênica eletrofílico no grupo *N*-acila do açúcar (Figura 6). Assim como acontece para o UDP-5S-GlcNAc, o UDP-ES1 também é obtido por conversão intracelular pela utilização do precursor permeável Ac4-ES1 e é capaz de reduzir os níveis de O-GlcNAc em células. O inibidor atua pela formação de uma ligação covalente com o resíduo de cisteína 917 do sítio ativo da OGT levando a uma inibição irreversível da enzima.<sup>35</sup>

#### 4.2. Inibidores do tipo bissubstrato

Os inibidores do tipo bissubstrato apresentam estruturas baseadas na junção da unidade de UDP ao resíduo da cadeia lateral de serina de derivados peptídicos conhecidos previamente como aceptores de GlcNAc pela OGT.

Os primeiros inibidores do tipo bissubstrato descritos foram a globina1 e a globina2 (*OGT bisubstrate-linked inhibitors 1 and 2*) (Figura 7).<sup>36</sup> A estrutura desses inibidores possui a sequência de aminoácidos Val-Tre-Pro-Val-Ser\*-Tre-Ala (VTPVSTA), como porção de interação com o sítio do substrato acceptor da OGT, e uma unidade de UDP conectada ao aminoácido serina por unidades metilênicas, variando de 3 unidades para a globina1 e 4 unidades para a globina2. Devido ao tamanho de suas estruturas e natureza iônica ambos não apresentam permeabilidade celular, apesar de exibirem melhores seletividades quando comparados a outros inibidores da OGT.

O terceiro inibidor do tipo bissubstrato foi desenvolvido como um análogo da globina1 tendo como diferença a substituição do resíduo serina por uma cisteína, chamado de globina1-S-ligada (Figura 7). A globina1-S-ligada inibe a OGT com valor de  $IC_{50}$  de 2  $\mu$ M, menor que o da globina1, possivelmente justificado pela conformação adotada no sítio ativo da enzima. Enquanto a globina1 assume uma conformação sinclinal, a globina1-S-ligada adota uma conformação antiperiplanar, energeticamente mais favorável.<sup>37</sup>

Em 2020, Rudrawar e colaboradores descreveram o quarto inibidor do tipo bissubstrato apresentando uma estrutura do

tipo uridina-peptídeo conjugada através de um link éter. Esse composto apresentou uma atividade inibitória efetiva, porém menor que a globina1-S-ligada. Estudos de modelagem molecular mostraram que o composto uridina-peptídeo-éter-ligada apresenta um mecanismo de inibição competitiva, pois ocupa o sítio de ligação do UDP na enzima.<sup>38</sup>

#### 4.3. Inibidores descobertos por triagem de alto desempenho e outros métodos

A triagem de alto desempenho (*HTS - High-Throughput Screening*) de grandes quimiotecas consiste em uma estratégia de descoberta de moléculas bioativas bastante utilizada. Diversos inibidores da OGT foram identificados através da HTS, como o composto 3-(2-adamantanilil)-2-[(4-clorofenil)azametileno]-4-oxo-1,3-tiazaper-hidroina-6-ácido carboxílico, o ST045849 (Figura 8).<sup>39</sup> Além desse composto, o fenil 5-cloro-2-oxobenzo[d]oxazol-3(2*H*)-carboxilato (BZX) também foi identificado usando a HTS de substituição de doador, onde os compostos competem com a ligação do UDP-GlcNAc. Tanto o ST045849 quanto o BZX apresentam permeabilidade celular e valores de  $IC_{50}$  = 53  $\mu$ M e 10  $\mu$ M, respectivamente. O BZX é descrito como um inibidor covalente e suicida com efeitos colaterais potencialmente tóxicos, que juntamente com sua reatividade química impedem seu uso em modelos *in vivo*.<sup>39</sup>

O derivado BZX2 foi desenvolvido a partir do BZX e identificado também como um inibidor permeável e irreversível da OGT em ensaios com células isoladas ( $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M) (Figura 8). A melhor atividade inibitória em comparação com o BZX pode ser justificada pela modificação estrutural consistindo na substituição do átomo de cloro no núcleo benzoxazolinona por um grupo acetila e pela adição do grupo *p*-metoxila no anel fenila. Esses dois inibidores do tipo benzoxazolinona se ligam no mesmo local da OGT em que se liga a porção difosfato do UDP-GlcNAc, através das duas carbonilas da função dicarbamato e os resíduos de Lis842 e Cis917 do sítio ativo.<sup>40</sup>

Compostos contendo o cerne quinolinona-6-sulfonamida (Q6S) também foram identificados como inibidores da OGT usando a técnica de HTS. Esse cerne interage com os mesmos resíduos do sítio ativo da enzima (Arg904, Ala896, Lis898) que a porção uridina do UDP, logo são considerados miméticos do UDP-GlcNAc. Walker e colaboradores descreveram alguns compostos do tipo Q6S que se mostraram com boa permeabilidade celular podendo ser usados em testes celulares. O primeiro composto do tipo Q6S descoberto foi o OSMI-1 que se liga no sítio ativo da OGT inibindo-a com um  $IC_{50}$  de 2,7  $\mu$ M *in vitro*.<sup>41</sup> A partir dele outros análogos estruturais foram desenvolvidos levando a descoberta de outros inibidores do tipo Q6S (OSMI-2, 3 e 4) (Figura 8), que apresentaram melhor atividade celular inibitória.<sup>42</sup> Estes análogos gerados pela otimização da estrutura do OSMI-1 ocupam o sítio ativo da enzima adquirindo um conformação na forma de U, se assemelhando a conformação empilhada formada entre

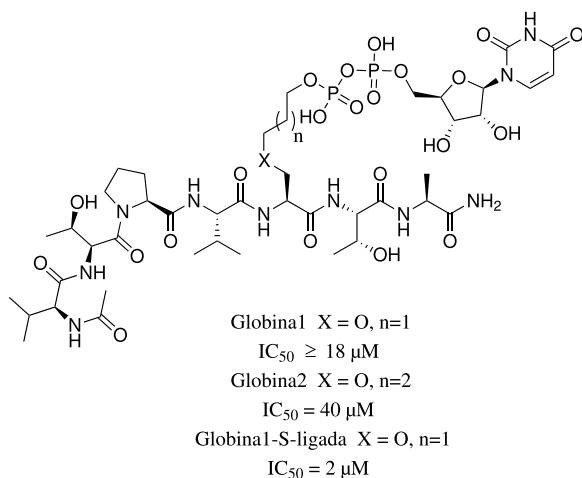


Figura 7. Inibidores da OGT do tipo bissubstrato

o substrato doador e receptor de açúcar natural da OGT, como observado na Figura 9. Desta forma, apresentam mais interações com os resíduos do sítio ativo da OGT preenchendo melhor uma região desocupada do sítio ativo quando comparados ao OSMI-1.<sup>41</sup> Os inibidores OSMI-3 e 4 apresentam maior número de pontos de interação com resíduos do sítio catalítico da OGT, o que pode justificar a grande diferença entre os valores da constante de dissociação ( $K_d$ ) destes inibidores, 5 nM e 8 nM, respectivamente, em relação ao OSMI-2, 140 nM. As formas ativas dos compostos OSMI-2, 3 e 4 são obtidas no meio intracelular a partir dos ésteres correspondentes que são permeáveis, OSMI-2e, 3e e 4e. Estes 3 inibidores reduziram drasticamente os níveis de O-GlcNAc em diversas linhagens celulares, sendo o inibidor 4e o mais potente com um  $EC_{50}$  de aproximadamente 3  $\mu$ M.<sup>42</sup>

O primeiro produto natural com atividade inibitória da OGT foi descoberto por triagem virtual baseada na estrutura. O 2,3,2'',3''-tetra-hidro-amentoflavona, ou L01 (Figura 8), foi identificado como um inibidor permeável inibindo a O-GlcNAcilação *in vivo* com  $IC_{50} = 21,8 \mu$ M.<sup>43</sup> Diante da associação entre OGT/O-GlcNAcilação e o câncer, a inibição de OGT por um análogo de amentoflavona como L01 pode ser um mecanismo para o entendimento da sua atividade antitumoral, uma vez que derivados flavonoides apresentam atividades antitumoral e anti-inflamatória.

Wang e colaboradores usaram reações click para desenvolver inibidores triazólicos permeáveis da OGT, o APNT e APBT (Figura 8), demonstrando a importância da *click chemistry* para o desenvolvimento de compostos protótipos. APNT e APBT apresentaram valores de  $IC_{50} = 66,7 \mu$ M e 139  $\mu$ M, respectivamente, e foram capazes de reduzir a O-GlcNAcilação celular. Além disso, mostraram ser inibidores da OGT não competitivos, diferente da maioria dos inibidores descritos.<sup>44</sup>

A partir de estudos de triagem farmacológica de diversas séries de compostos biologicamente ativos, os grupos de pesquisa de Todeschini e Muri identificaram compostos do tipo peptidomiméticos como inibidores da OGT (Figura 8).<sup>45</sup> Os compostos apresentam um cerne estrutural rígido do tipo *cis*-tetra-hidrofurano proveniente do isomanideo e isosorbideo, fixando uma conformação do tipo U, possivelmente mimetizando a ligação de substratos doadores e aceptores no sítio da OGT. Os compostos peptidomiméticos mais ativos foram o LQMED 269 e LQMED 330 apresentando valores de  $IC_{50} = 159 \mu$ M e  $IC_{50} = 11,7 \mu$ M, respectivamente, em ensaios *in vitro*. Estudos de modelagem molecular identificaram que o composto LQMED 330 forma ligações de hidrogênio tanto com o domínio N-catalítico (Asn557 e His562) quanto C-catalítico (Gln839, Lys898, Thr922 e Asp925), enquanto o LQMED 269 interage somente com a região C-terminal (Gln839, Lys898, Thr921 e Thr922).

Recentemente, Anderlueh e colaboradores realizaram um screening virtual baseado na estrutura química de uma extensa biblioteca de compostos disponíveis

comercialmente com propriedades *drug-like*. Esse trabalho teve como foco a importante ligação de hidrogênio que os inibidores fazem com o resíduo Ala896 no sítio ativo da OGT, para a descoberta de novos padrões estruturais que pudessem mimetizar a porção uridina e realizar tal interação com a enzima. Após o *screening* virtual, uma série de compostos foi testada identificando o composto Vs-51 (58% de inibição;  $IC_{50} = 68 \mu$ M) (Figura 8) como o mais ativo, selecionado para otimização. Dessa forma uma nova série de compostos foi sintetizada e testada, inclusive o Vs-51, o qual surpreendentemente foi 10 vezes mais ativo do que aquele comercialmente disponível ( $IC_{50} = 7 \mu$ M), porém não apresentou atividade em ensaios celulares.<sup>46</sup>

Tecnologias inovadoras de construção de peptídeos e pseudopeptídeos, tal como o sistema RaPID (*Random nonstandard Peptides Integrated Discovery*), estão sendo usadas para a descoberta de moléculas bioativas. Usando esse sistema, Vocadlo e colaboradores desenvolveram os primeiros inibidores macrocíclicos da OGT que agem através de um mecanismo alostérico de inibição. Essa série de compostos, apresentando uma estrutura do tipo tio éter cíclico, são os mais potentes inibidores da OGT publicados até o momento, com valores de  $IC_{50}$  da ordem de nanomolar, em testes enzimáticos, como observado para o representante D3-15 mostrado na Figura 8.<sup>47</sup>

Um dos últimos trabalhos publicados até o momento utilizou a triagem de alto desempenho do tipo fluorescência homogênea (*Homogeneous Time-Resolved Fluorescence, HTRF, high-throughput assay*) de grandes quimiotecas de compostos, método desenvolvido por Chen e colaboradores.<sup>48</sup> Esse trabalho identificou uma série de compostos inibidores da OGT com um novo padrão estrutural do tipo triterpeno pentacíclico, apresentando o CDDO (bardoxolona),  $IC_{50} = 6,56 \mu$ M, como protótipo da série e inibidor não competitivo sugerindo que o mesmo não se liga ao mesmo sítio de ligação na OGT do UDP-GlcNAc (Figura 8). Derivados do CDDO com diferentes substituintes em C-17 mostraram-se ainda mais ativos, como o omaveloxolona ( $IC_{50} = 1,65 \mu$ M) que possui átomos de flúor eletronegativos nessa posição, justificando sua maior atividade pela formação de ligações hidrogênio mais curtas e com maiores energias de ligação.

## 5. Conclusões

A O-GlcNAcilação é um processo biológico essencial e de ampla ocorrência. Cada vez mais a literatura mostra a relação da OGT com patologias de suma importância, tais como, diabetes, processos cancerígenos e neurodegenerativos, indicando-a como um alvo biológico de interesse.

Desde a descoberta do aloxano no ano 2000 observa-se um crescente interesse no desenvolvimento de inibidores da OGT, apesar da literatura ainda apresentar de forma tímida compostos efetivamente ativos em protocolos enzimáticos



O-β-N-acetil-D-glicosaminiltransferase (OGT)

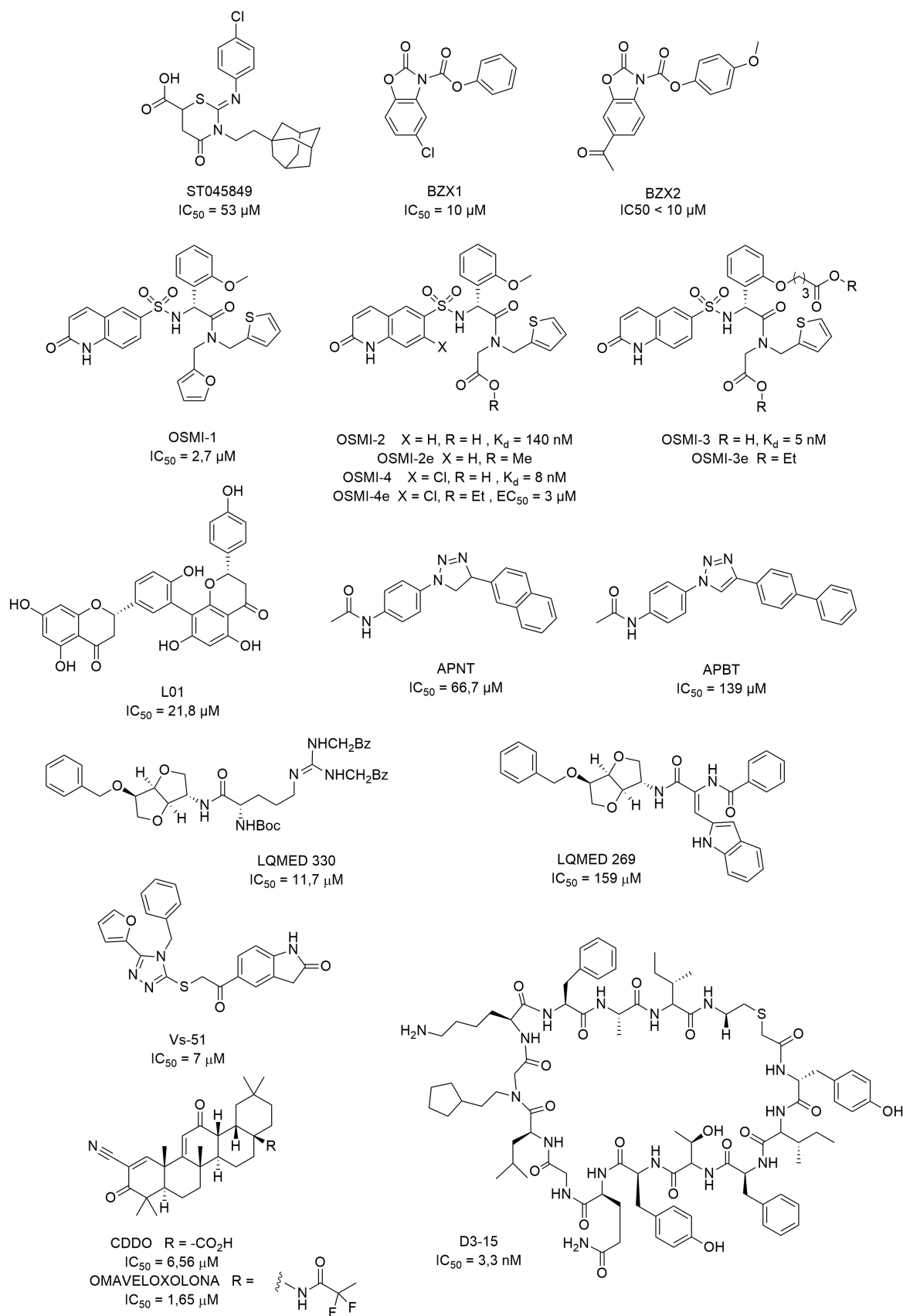
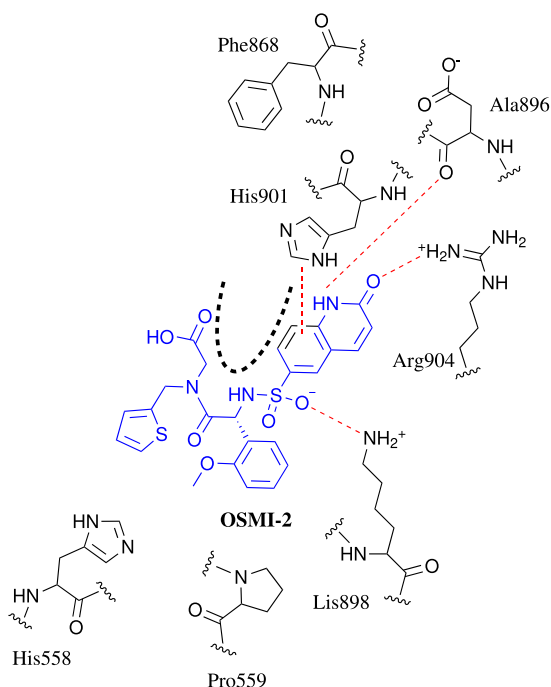


Figura 8. Inibidores da OGT identificados por HTS e outros métodos



**Figura 9.** Esquema do modo de ligação do inibidor OSMI-2 com a enzima hOGT

e celulares. Ainda não há no mercado nenhum fármaco cujo alvo biológico seja a enzima OGT, enfatizando, dentre outras razões, a dificuldade no desenvolvimento de compostos eficazes.

Neste trabalho observamos um avanço temporal na pesquisa por inibidores da OGT, mostrando as diferentes classes e padrões estruturais de moléculas capazes de apresentar atividade inibitória, porém obstáculos ainda precisam ser ultrapassados, tais como, falta de permeabilidade celular, de especificidade e potência.

## Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (código 001) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, através dos projetos E-26/205.966/2022, E-26/205.967/2022 e E-26/211.491/2021.

## Referências Bibliográficas

- Schjoldager, K. T.; Narimatsu, Y.; Joshi, H. J.; Clausen, H.; Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2020**, *21*, 729. [Crossref] [PubMed]
- Ma, J.; Wu, C.; Hart, G. W.; Analytical and Biochemical Perspectives of Protein O-GlcNAcylation. *Chemical Reviews* **2021**, *121*, 1513. [Crossref] [PubMed]
- Torres, C.-R.; Hart, G. W.; Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the

surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *Journal of Biological Chemistry* **1984**, *259*, 3308. [Crossref] [PubMed]

- Marshall, S.; Nadeau, O.; Yamasaki, K.; Dynamic Actions of Glucose and Glucosamine on Hexosamine Biosynthesis in Isolated Adipocytes. *Journal of Biological Chemistry* **2004**, *279*, 35313. [Crossref] [PubMed]
- a) Bolanle, I. O.; Riches-Suman, K.; Williamson, R.; Palmer, T. M.; Emerging Roles of Protein O-GlcNAcylation in Cardiovascular Diseases: Insights and Novel Therapeutic Targets. *Pharmacological Research* **2021**, *165*, 105467. [Crossref] [PubMed] b) Ma, X.; Li, H.; He, Y.; Hao, J.; The Emerging Link Between O-GlcNAcylation and Neurological Disorders. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2017**, *74*, 3667. [Crossref] [PubMed] c) Morino, K.; Maegawa, H.; Role of O-linked N-acetylglucosamine in the Homeostasis of Metabolic Organs, and its Potential Links with Diabetes and its Complications. *Journal of Diabetes Investigation* **2021**, *12*, 130. [Crossref] [PubMed] d) Parker, M. P.; Peterson, K. R.; Slawson, C.; O-GlcNAcylation and O-GlcNAc Cycling Regulate Gene Transcription: Emerging Roles in Cancer. *Cancers* **2021**, *13*, 1666. [Crossref] [PubMed]
- Saeedi, P.; Petersohn, I.; Salpea, P.; Malanda, B.; Karuranga, S.; Unwin, N.; Colagiuri, S.; Guariguata, L.; Motala, A. A.; Ogurtsova, K.; Shaw, J. E.; Bright, D.; Williams, R.; Global and Regional Diabetes Prevalence Estimates for 2019 and Projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9<sup>th</sup> edition. *Diabetes Research and Clinical Practice* **2019**, *157*, 107843. [Crossref] [PubMed]
- Moini, J.; Em *Pathophysiology of Diabetes in Epidemiology of Diabetes*; Broderick, T. K., eds.; Elsevier: United Kingdom, 2019, cap. 3.
- McClain, D. A.; Lubas, W. A.; Cooksey, R. C.; Hazel, M.; Parker, G. J.; Love, D. C.; Hanover, J. A.; Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 10695. [Crossref] [PubMed]
- Peterson, S. B.; Hart, G. W.; New insights: A role for O-GlcNAcylation in diabetic complications. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **2016**, *51*, 150. [Crossref] [PubMed]
- Andrali, S. S.; Qian, Q.; Özcan, S.; Glucose Mediates the Translocation of NeuroD1 by O-Linked Glycosylation. *Journal of Biological Chemistry* **2007**, *282*, 15589. [Crossref] [PubMed]
- Nie, H.; Yi, W.; O-GlcNAcylation, a sweet link to the pathology of diseases. *Journal of Zhejiang University: Science B* **2019**, *20*, 437. [Crossref] [PubMed]
- Marques, C.; *Oncologia: uma abordagem multidisciplinar*, 1a ed., Carpe Diem: Recife, 2015.
- a) Liberti, M. V.; Locasale, J. W.; The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences* **2016**, *41*, 211. [Crossref] [PubMed] b) Warburg, O.; Wind, F.; Negelein, E.; The metabolism of tumors in the body. *Journal of General Physiology* **1927**, *8*, 519. [Crossref] [PubMed]
- Yi, W.; Clark, P. M.; Mason, D. E.; Keenan, M. C.; Hill, C.; Goddard III, W. A.; Peters, E. C.; Driggers, E. M.; Hsieh-Wilson, L. C.; Phosphofructokinase 1 Glycosylation Regulates Cell

- Growth and Metabolism. *Science* **2012**, *337*, 975. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Singh, J. P.; Qian, K.; Lee, J.-S.; Zhou, J.; Han, X.; Zhang, B.; Ong, Q.; Ni, W.; Jiang, M.; Ruan, H.-B.; Li, M.-D.; Zhang, K.; Ding, Z.; Lee, P.; Singh, K.; Wu, J.; Herzog, R. I.; Kaech, S.; Wendel, H.-G.; Yates III, J. R.; Han, W.; Sherwin, R. S.; Nie, Y.; Yang, X.; O-GlcNAcase targets pyruvate kinase M2 to regulate tumor growth. *Oncogene* **2019**, *39*, 560. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  16. Patel, M.; Horgan, P. G.; McMillan, D. C.; Edwards, J.; NF- $\kappa$ B pathways in the development and progression of colorectal cancer. *Translational Research* **2018**, *197*, 43. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  17. Dias, W. B.; Hart, G. W.; O-GlcNAc modification on diabetes and Alzheimer's disease. *Molecular BioSystems* **2007**, *3*, 766. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  18. Haltiwanger, R. S.; Holt, G. D.; Hart, G. W.; Enzymatic addition of O-GlcNAc to nuclear and cytoplasmic proteins. Identification of a uridine diphospho-N-acetylglucosamine: Peptide  $\beta$ -N-acetylglucosaminyltransferase. *Journal of Biological Chemistry* **1990**, *265*, 2563. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  19. Kreppel, L. K.; Blomberg, M. A.; Hart, G. W.; Dynamic Glycosylation of Nuclear and Cytosolic Proteins. *Journal of Biological Chemistry* **1997**, *272*, 9308. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  20. Kim, E. J.; Abramowitz, L. K.; Bond, M. R.; Love, D. C.; Kang, D. W.; Leucke, H. F.; Kang, D. W.; Ahn, J.-S.; Hanover, J. A.; Versatile O-GlcNAc transferase assay for high-throughput identification of enzyme variants, substrates, and inhibitors. *Bioconjugate Chemistry* **2014**, *25*, 1025. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  21. Roos, M. D.; Hanover, J. A.; Structure of O-Linked GlcNAc Transferase: Mediator of Glycan-Dependent Signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2000**, *271*, 275. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  22. Rao, S. T.; Rossmann, M. G.; Comparison of super-secondary structures in proteins. *Journal of Molecular Biology* **1973**, *76*, 241. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  23. Janetzko, J.; Walker, S.; The making of a sweet modification: Structure and function of O-GlcNAc transferase. *Journal of Biological Chemistry* **2014**, *289*, 34424. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  24. Lairson, L. L.; Henrissat, B.; Davies, G. J.; Withers, S. G.; Glycosyltransferases: Structures, Functions, and Mechanisms. *Annual Review of Biochemistry* **2008**, *77*, 521. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  25. She, N.; Zhao, Y.; Hao, J.; Xie, S.; Wang, C.; Uridine diphosphate release mechanism in O-N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) transferase catalysis. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* **2019**, *1863*, 609. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  26. Lazarus, M. B.; Nam, Y.; Jiang, J.; Sliz, P.; Walker, S.; Structure of human O-GlcNAc transferase and its complex with a peptide substrate. *Nature* **2011**, *469*, 564. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  27. Kim, E. J.; O-GlcNAc Transferase: Structural Characteristics, Catalytic Mechanism and Small-Molecule Inhibitors. *ChemBioChem* **2020**, *21*, 3026. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  28. Zhang, N.; Jiang, H.; Zhang, K.; Zhu, J.; Wang, Z.; Long, Y.; He, Y.; Feng, F.; Liu, W.; Ye, F.; Qu, W.; OGT as potential novel target: structure, function and inhibitors. *Chemico-Biological Interactions* **2022**, *357*, 109886. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  29. Konrad, R. J.; Zhang, F.; Hale, J. E.; Knierman, M. D.; Becker, G. W.; Kudlow, J. E.; Alloxan is an inhibitor of the enzyme O-linked N-acetylglucosamine transferase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2002**, *293*, 207. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  30. Lukens, F. D. W.; Alloxan Diabetes. *Physiological Reviews* **1948**, *28*, 304. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  31. Dorfmueller, H. C.; Borodkin, V. S.; Blair, D. E.; Pathak, S.; Navratilova, I.; van Aalten, D. M. F.; Substrate and product analogues as human O-GlcNAc transferase inhibitors. *Amino Acids* **2011**, *40*, 781. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  32. Pantaleon, M.; Tan, H. Y.; Kafer, G. R.; Kaye, P. L.; Toxic Effects of Hyperglycemia Are Mediated by the Hexosamine Signaling Pathway and O-Linked Glycosylation in Early Mouse Embryos. *Biology of Reproduction* **2010**, *82*, 751. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  33. Gloster, T. M.; Zandberg, W. F.; Heinonen, J. E.; Shen, D. L.; Deng, L.; Vocadlo, D. J.; Hijacking a biosynthetic pathway yields a glycosyltransferase inhibitor within cells. *Nature Chemical Biology* **2011**, *7*, 174. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  34. Liu, T.-W.; Zandberg, W. F.; Gloster, T. M.; Deng, L.; Murray, K. D.; Shan, X.; Vocadlo, D. J.; Metabolic Inhibitors of O-GlcNAc Transferase That Act In Vivo Implicate Decreased O-GlcNAc Levels in Leptin-Mediated Nutrient Sensing. *Angewandte Chemie* **2018**, *130*, 7770. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  35. Worth, M.; Hu, C.-W.; Li, H.; Fan, D.; Estevez, A.; Zhu, D.; Wang, A.; Jiang, J.; Targeted covalent inhibition of O-GlcNAc transferase in cells. *Chemical Communications* **2019**, *55*, 13291. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  36. Borodkin, V. S.; Schimpl, M.; Gundogdu, M.; Rafie, K.; Dorfmueller, H. C.; Robinson, D. A.; van Aalten, D. M. F.; Bisubstrate UDP-peptide conjugates as human O-GlcNAc transferase inhibitors. *Biochemical Journal* **2014**, *457*, 497. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  37. Rafie, K.; Gorelik, A.; Trapannone, R.; Borodkin, V. S.; van Aalten, D. M. F.; Thio-Linked UDP-Peptide Conjugates as O-GlcNAc Transferase Inhibitors. *Bioconjugate Chemistry* **2018**, *29*, 1834. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  38. Makwana, V.; Ryan, P.; Malde, A. K.; Anoopkumar-Dukie, S.; Rudrawar, S.; Bisubstrate ether-linked uridine-peptide conjugates as O-GlcNAc transferase inhibitors. *ChemMedChem* **2021**, *16*, 477. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  39. Gross, B. J.; Kraybill, B. C.; Walker, S.; Discovery of O-GlcNAc transferase inhibitors. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 14588. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  40. Jiang, J.; Lazarus, M. B.; Pasquina, L.; Sliz, P.; Walker, S.; A neutral diphosphate mimic crosslinks the active site of human O-GlcNAc transferase. *Nature Chemical Biology* **2012**, *8*, 72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  41. Ortiz-Meoz, R. F.; Jiang, J.; Lazarus, M. B.; Orman, M.; Janetzko, J.; Fan, C.; Duveau, D. Y.; Tan, Z.-W.; Thomas, C. J.; Walker, S.; A Small Molecule that Inhibits OGT Activity in Cells. *ACS Chemical Biology* **2015**, *10*, 1392. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  42. Martin, S. E. S.; Tan, Z.-W.; Itkonen, H. M.; Duveau, D. Y.; Paulo, J. A.; Janetzko, J.; Boutz, P. L.; Törk, L.; Moss, F. A.; Thomas, C. J.; Gygi, S. P.; Lazarus, M. B.; Walker, S.; Structure-Based Evolution of Low Nanomolar O-GlcNAc Transferase Inhibitors.

- Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 13542. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Liu, Y.; Ren, Y.; Cao, Y.; Huang, H.; Wu, Q.; Li, W.; Wu, S.; Zhang, J.; Discovery of a Low Toxicity O-GlcNAc Transferase (OGT) Inhibitor by Structure-based Virtual Screening of Natural Products. *Scientific Reports* **2017**, *7*, 12334. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Wang, Y.; Zhu, J.; Zhang, L.; Discovery of cell-permeable O-GlcNAc transferase inhibitors via tethering in Situ click chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2017**, *60*, 263. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Albuquerque, S. O.; Barros, T. G.; Dias, L. R. S.; Lima, C. H. S.; Azevedo, P. H. R. A.; Flores-Junior, L. A. P.; dos Santos, E. G.; Loponte, H. F.; Pinheiro, S.; Dias, W. B.; Muri, E. M. F.; Todeschini, A. R.; Biological evaluation and molecular modeling of peptidomimetic compounds as inhibitors for O-GlcNAc transferase (OGT). *European Journal of Pharmaceutical Science* **2020**, *154*, 105510. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
46. Loi, E. M.; Tomašić, T.; Balsollier, C.; van Eekelen, K.; Weiss, M.; Gobec, M.; Alteen, M. G.; Vocadlo, D. J.; Pieters, R. J.; Anderluh, M.; Discovery of a New Drug-like Series of OGT Inhibitors by Virtual Screening. *Molecules* **2022**, *27*, 1996. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
47. Alteen, M. G.; Peacock, H.; Meek, R. W.; Busmann, J. A.; Zhu, S.; Davies, G. J.; Suga, H.; Vocadlo, D. J.; Potent De Novo Macrocyclic Peptides That Inhibit O-GlcNAc Transferase through an Allosteric Mechanism. *Angewandte Chemie International Edition* **2023**, *62*, e202215671. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Wu, X.; Wang, M.; Cao, Y.; Xu, Y.; Yang, Z.; Ding, Y.; Lu, J.; Zheng, J.; Luo, C.; Zhao, K.; Chen, S.; Discovery of a novel OGT inhibitor through high-throughput screening based on Homogeneous Time-Resolved Fluorescence (HTRF). *Bioorganic Chemistry* **2023**, *139*, 106726. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]