

Optische Kontrolle der Insulinsekretion mit einem Inkretinschalter

Johannes Broichhagen, Tom Podewin, Helena Meyer-Berg, Yorrick von Ohlen,
Natalie R. Johnston, Ben J. Jones, Stephen R. Bloom, Guy A. Rutter, Anja Hoffmann-Röder,*
David J. Hodson* und Dirk Trauner*

Abstract: Inkretin-Mimetika sind auf dem besten Weg, sich zu einer tragenden Säule in der Typ-2-Diabetes-Behandlung zu entwickeln. Durch ihre Wirkung auf die Bauchspeicheldrüse und das Gehirn verstärken sie die Insulinsekretion, induzieren einen Gewichtsverlust und halten die Normoglykämie aufrecht. Allerdings wird die Inkretin-Therapie mit Nebenwirkungen wie Übelkeit und Magen-Darm-Störungen in Verbindung gebracht. Hier stellen wir ein neuartiges photoschaltbares Inkretin-Mimetikum vor, das auf Liraglutid, einem spezifischen Agonisten des Glucagon-artigen Peptid-1-Rezeptors (GLP-1R), basiert. Dieses Peptid, genannt **LirAzo**, enthält eine Azobenzoleinheit, wodurch der GLP-1R mit Lichtempfindlichkeit und isomerabhangigen Signaleigenschaften ausgestattet wird. Während das trans-Isomer in erster Linie den Ca^{2+} -Einstrom in das Zytosol beeinflusst, begünstigt das cis-Isomer vorwiegend die Bildung von cAMP. Somit ermöglicht **LirAzo** die optische Kontrolle der Insulinsekretion und des Zellenüberlebens.

Typ-2-Diabetes (T2D) betrifft zurzeit ca. 8% der erwachsenen Weltbevölkerung. Diese Krankheit kann am besten als Unvermögen pankreatischer β -Zellen, eine Insulinresistenz

durch Sekretion von ausreichend Insulin zu kompensieren, beschrieben werden.^[1] Als Folge des dis regulierten Glukose- und Fettmetabolismus resultieren zudem oft Herz-, Gefäß- und Nierenerkrankungen.^[2] In den meisten Fällen kann eine angemessene Kontrolle über T2D durch eine lebenslange medizinische Behandlung in Kombination mit Diät und Sport erreicht werden. Zur Aufrechterhaltung der Normoglykämie haben sich Inkretin-Mimetika, das sind Medikamente welche auf Blutzuckerspiegel senkenden Darmhormonen basieren, als herausragende Antidiabetika etabliert.^[3] Es konnte gezeigt werden, dass lang wirkende Analoga des endogenen Inkretins Glucagon-artiges Peptid-1 (GLP-1) 1) die Insulinfreisetzung in einer glukoseabhängigen Weise wirksam verstärken, 2) einen merklichen Gewichtsverlust durch Wirkung auf das Gehirn induzieren und 3) das Versagen der β -Zellen aufgrund von überlebensfördernden/anti-apoptotischen Effekten verringern.^[4] Während solche Eigenschaften Inkretine ohne Zweifel zu attraktiven Kandidaten für die Behandlung von T2D machen, wurden bereits Nebenwirkungen wie ein erhöhtes Risiko für Pankreatitis (Kausalität unklar),^[5] Magen-Darm-Störung und Übelkeit mit deren Einsatz in Verbindung gebracht.^[6] Daher wären Methoden, mit denen die Wirkstoffaktivität auf das Zielgewebe gelenkt würde, eine wünschenswerte Verbesserung der Behandlung von T2D mit Inkretinen. Für diesen Zweck ist die Photopharmakologie hervorragend geeignet, da biologische Prozesse durch Licht räumlich und zeitlich präzise gesteuert werden können (siehe Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen)^[7] und zudem eine Anwendung an der Bauchspeicheldrüse möglich ist.^[8]

Aus früheren Studien,^[9] in denen photoschaltbares Chigolin, nNOS-Derivate und Fluoreszenz-Reporterpeptide verwendet wurden, folgerten wir, dass die optische Kontrolle der Inkretinachse durch den Einbau eines photoresponsive Elements in Liraglutid, einem stabilisiertem GLP-1-Analog (Abbildung 1 a,b), möglich ist.^[6,10] Um den GLP-1R lichtempfindlich zu machen, wurde die photoschaltbare Aminosäure [3-(3-Aminomethyl)phenylazo]phenylessigsäure (AMPP)^[9b,11] in Liraglutid eingefügt. **LirAzo** wurde über Festphasen-Peptidsynthese hergestellt, wobei AMPP zur Minimierung von störenden Einflüssen auf die Helixfaltung als Brücke zwischen die beiden α -Helices von Liraglutid (pdb: 4apd; Abbildung 1a) eingesetzt wurde, wo es die beiden zentralen Aminosäuren $^{22}\text{G}-^{23}\text{Q}$ ersetzt (Abbildung 1c). Um die Aggregation des Peptids zu vermeiden, wurden wie bereits berichtet NMR-Spektren in 35% wässriger [D_3]Trifluorethanol-Lösung aufgenommen (pdb: 1d0r).^[12] Die NMR-Spektren liefern Indizien für eine korrekte Faltung und ein geeignetes In-vitro-Verhalten von **LirAzo**.

[*] Dr. J. Broichhagen,^[+] M. Sc. T. Podewin,^[+] H. Meyer-Berg,
Prof. Dr. A. Hoffmann-Röder, Prof. Dr. D. Trauner
LMU München, Department Chemie und
Centre for Integrated Protein Science (CIPSM)
Butenandtstraße 5–13, 81377 München (Deutschland)
E-Mail: anja.hoffmann-roeder@cup.lmu.de
dirk.trauner@cup.lmu.de

Y. von Ohlen, N. R. Johnston, Prof. Dr. G. A. Rutter, Dr. D. J. Hodson
Imperial College London, Section of Cell Biology and Functional
Genomics, Division of Diabetes, Endocrinology and Metabolism
Department of Medicine
Hammersmith Hospital, Du Cane Road, London W12 0NN (UK)
E-Mail: d.hodson@imperial.ac.uk

Dr. B. J. Jones, Prof. Dr. S. R. Bloom
Imperial College London, Section of Investigative Medicine
Division of Diabetes, Endocrinology and Metabolism
Hammersmith Hospital, Du Cane Road, London W12 0NN (UK)

[+] Diese Autoren haben gleichermaßen zu dieser Arbeit beigetragen.

ⓘ Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (experimentelle Details zu Festphasen-Peptidsynthese, spektroskopischer und spektrometrischer Charakterisierung und biologischen Experimenten) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201506384> zu finden.

ⓘ © 2015 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

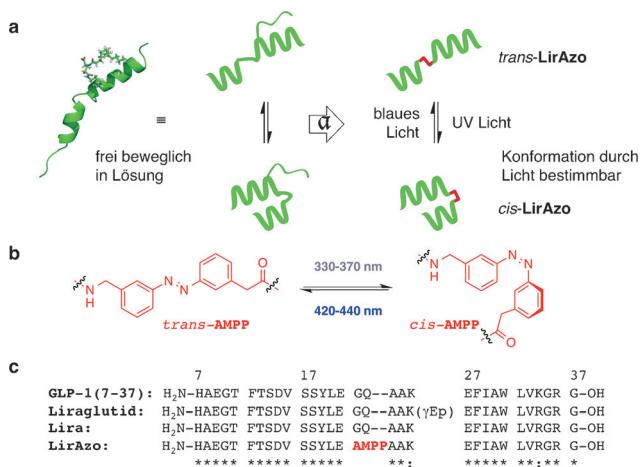


Abbildung 1. Logik, Design und Primärsequenz von **LirAzo**. a) Die NMR-Struktur von Liraglutid (pdb: 4apd) diente als Vorlage für die Synthese von **LirAzo**, das sich durch den Einbau von AMPP (rot) zwischen die beiden Helices unterscheidet (a = Azologisierung). b) *cis*-AMPP und *trans*-AMPP werden durch Bestrahlung mit UV-Licht oder blauem Licht gebildet. c) Die Aminosäuresequenz von **LirAzo** zeigt den Austausch von $^{22}G\text{-}^{37}Q$ durch AMPP (p = Palmitoyl).

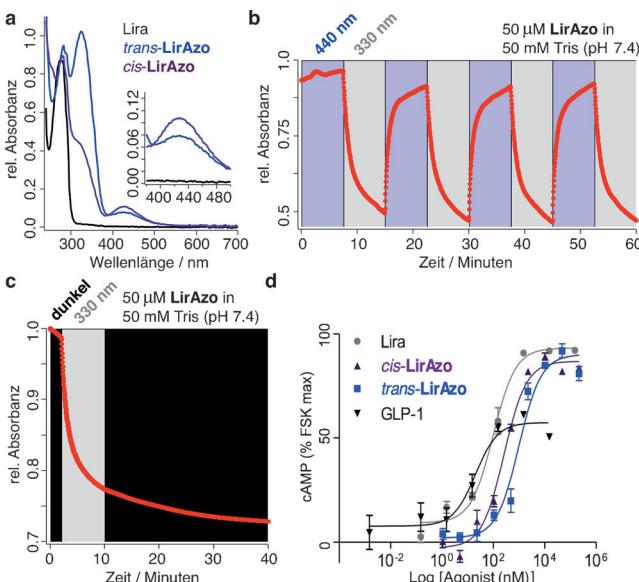


Abbildung 2. Photoisomerisierung und Wirkung von **LirAzo**. a) UV/Vis-Spektren von *cis*- (lila) und *trans*-**LirAzo** (blau) sowie von Lira (schwarz); Einschub: Vergrößerung der $n-\pi^*$ -Bande. b) Reversibles und wiederholtes Schalten zwischen den *cis*- und *trans*-Isomeren von **LirAzo** mit blauem Licht ($\lambda = 440$ nm) und UV-Licht ($\lambda = 330$ nm). c) Bistabilität des *cis*-Zustandes über 30 min. d) cAMP-Konzentrations-Wirkungs-Studien in CHO-GLP-1R-Zellen (Promega cAMP-Glo Assay Kit). $n=3$ Wiederholungen, angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung.

Zum Vergleich von **LirAzo** mit Liraglutid synthetisierten wir das Vergleichspeptid „Lira“, in welchem der Palmitoylrest (γ Ep) an ^{26}K fehlt. Dieser Rest wurde ursprünglich zur Verbesserung der Plasmabindung und In-vivo-Halbwertszeit eingeführt^[6] und ist unerheblich für In-vitro-Studien.

Die *cis-trans*-Isomerisierung von **LirAzo** wurde zunächst durch UV/Vis-Spektroskopie untersucht (Abbildung 2a). Die Schaltprozesse als Reaktion auf Bestrahlung mit blauem ($\lambda = 440$ nm; $cis \rightarrow trans$) und UV-Licht ($\lambda = 330$ nm; $trans \rightarrow cis$) waren robust und schnell, ohne Anzeichen für einen Abbau oder eine lichtinduzierte Zersetzung (siehe Abbildung 2b sowie Abbildung S2 und Tabelle S2). **LirAzo** zeigte eine bemerkenswerte Bistabilität nach der Schaltung in den *cis*-Zustand und anschließender Aufbewahrung im Dunkeln (Abbildung 2c), wodurch die direkte Anwendung von vorbestrahltem **LirAzo** auf Gewebe ermöglicht wird. GLP-1 bindet an den GLP-1R über Wechselwirkungen zwischen den extrazellulären ($^{22}G\text{-}^{37}G$) und den die Zellmembran durchspannenden Bereichen (7TM-Domäne; siehe Abbildung S3).^[13] Daher kann angenommen werden, dass *cis*- und *trans*-**LirAzo** durch Änderung einer bzw. beider Helix-Wechselwirkungen unterschiedliche Signalwirkungen des Rezeptors aktivieren, anstatt über einen simplen An/Aus-Mechanismus zu wirken.

Als nächsten Schritt wollten wir die Photoschalt-eigenschaften von **LirAzo** in einem relevanten System bestimmen, sprich in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, in denen GLP-1 mithilfe von cAMP und Ca^{2+} die Insulinsekretion steigert.^[16] Unter Verwendung intakter Langerhans-Inseln konnten wir zeigen, dass eine exakte zeitliche Kontrolle der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration möglich ist (Abbildung 2d). Die EC₅₀-Werte für *cis*-**LirAzo** (EC₅₀ = 262.0 nM) und *trans*-**LirAzo** (EC₅₀ = 993.6 nM) waren dabei nur geringfügig höher als für Lira (EC₅₀ = 98.9 nM) und GLP-1 (EC₅₀ = 20.3 nM; siehe Abbildung 2d und Tabelle S4). Zusammengenommen zeigen diese Daten, dass die Anwesenheit von AMPP keinen signifikanten Einfluss auf die GLP-1R-Ligandenbindungen hat.

Als nächsten Schritt wollten wir die Photoschalt-eigenschaften von **LirAzo** in einem relevanten System bestimmen, sprich in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse, in denen GLP-1 mithilfe von cAMP und Ca^{2+} die Insulinsekretion steigert.^[16] Unter Verwendung intakter Langerhans-Inseln konnten wir zeigen, dass eine exakte zeitliche Kontrolle der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration möglich ist (Abbildung 2d). Die EC₅₀-Werte für *cis*-**LirAzo** (EC₅₀ = 262.0 nM) und *trans*-**LirAzo** (EC₅₀ = 993.6 nM) waren dabei nur geringfügig höher als für Lira (EC₅₀ = 98.9 nM) und GLP-1 (EC₅₀ = 20.3 nM; siehe Abbildung 2d und Tabelle S4). Zusammengenommen zeigen diese Daten, dass die Anwesenheit von AMPP keinen signifikanten Einfluss auf die GLP-1R-Ligandenbindungen hat.

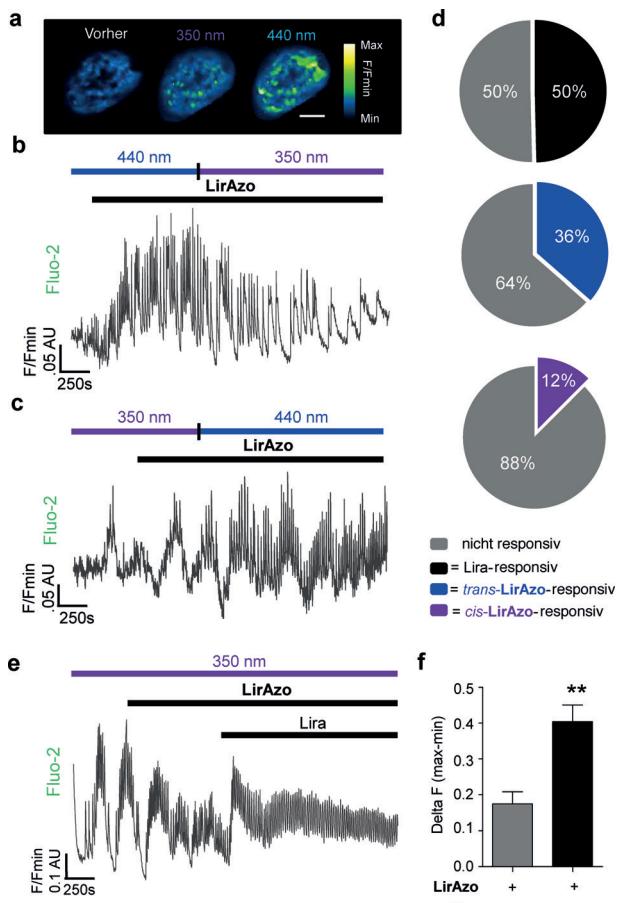


Abbildung 3. Photoschaltung von Ionenfluss in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse. a–c) Zytosolische Ca^{2+} -Anstiege sind höher in mit **LirAzo** behandelten Langerhans-Inseln, die mit blauem Licht (*trans*) statt UV-Licht (*cis*) bestrahlt wurden; $n=8$ Aufnahmen. d) Kuchendiagramme zeigen die Zahl von β -Zellen in intakten Langerhans-Inseln, die auf Lira-, *trans*-**LirAzo** (blaues Licht) und *cis*-**LirAzo** (UV-Licht) reagieren; $n=8$ Langerhans-Inseln. e–f) Positivkontrolle zeigt die Stimulation von zytosolischen Ca^{2+} -Spiegeln nach der Anwendung von Lira, im Gegensatz zu *cis*-**LirAzo**; $n=5$ Aufnahmen. ** $P<0.01$ gegen **LirAzo**, angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung.

dung 3a). Während *trans*-**LirAzo eine Zunahme der basalen Amplitude und Frequenz des vielzelligen Ca^{2+} -Spikings induzierte, wurde das Signal nach UV-Bestrahlung ($\lambda=350 \text{ nm}$) und Akkumulation von *cis*-**LirAzo ($P<0.01$; Abbildung 3b–f) reduziert.****

Durch abwechselnde Bestrahlung mit blauem ($\lambda=440 \text{ nm}$) und UV ($\lambda=350 \text{ nm}$) Licht konnten Ca^{2+} -Schwankungen in β -Zellen – von denen angenommen wird, dass sie Insulin-Impulsen unterliegen – gesteuert werden (siehe Abbildung S5a,b). Die Effekte von *trans*-**LirAzo auf den intrazellulären Ca^{2+} -Anstieg konnten durch Blockieren des GLP-1R mit dem spezifischen Antagonisten Exendin 9–39 aufgehoben**

werden (Abbildung S5c,d). Darüber hinaus war *trans*-**LirAzo nicht imstande, Veränderungen der β -Zell-Aktivität in Gegenwart von nicht-permissiven (d.h. niedrigen) Glukose-Konzentrationen (Abbildung S5e,f) zu stimulieren, was eine Voraussetzung für die ordnungsgemäße Inkretin-Wirkungsweise ist.^[4] In allen Fällen wurden die Ergebnisse aus Langerhans-Inseln mit immobilisierten MIN6- β -Zellen rekapituliert, die in Hochdurchsatz-Assays leichter handhabbar sind (Abbildung S5g,h). Obwohl *cis*-**LirAzo Ca^{2+} -Ströme stimulieren konnte, waren diese nur geringfügig höher als die beobachteten Ca^{2+} -Ströme nach Injektion der Kontrolle (d.h. bei hohen Glukose-Konzentration; Abbildung S6).****

Als nächstes untersuchten wir die Auswirkungen von **LirAzo** auf die cAMP-Bildung – ein weiterer Signalweg, über den Inkretine die Insulinsekretion verstärken. Wie aus Modellstudien von GLP-1-GLP-1R-Bindungswechselwirkungen zu erwarten war,^[13a,17] zeigt *cis*-**LirAzo eine andere Signalfunktion als das *trans*-Isomer. Die cAMP-Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist in MIN6- β -Zellen deutlich nach links verschoben, mit einer höheren maximalen Antwort für *cis*-LirAzo verglichen mit *trans*-**LirAzo (Abbildung 4a,b). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in CHO-GLP-1R-Zellen erzielt (siehe Abbildung S7 und Tabelle S4). Funktionelle Selektivität, eine bekannte Eigenschaft anderer GLP-1R-Agonisten,^[18] war bei allen **LirAzo**-Konzentrationen $>4 \text{ nM}$ vorhanden (Abbildung 4c). Tatsächlich begünstigt *cis*-**LirAzo die cAMP-Synthese, während *trans*-**LirAzo vor allem an Ca^{2+} -Signalen beteiligt ist. Mechanistisch gesehen steuern sowohl *trans*- als auch *cis*-**LirAzo über die cAMP-Bindungspartner Epac2 und PKA sowie IP3, einen sekundären Botenstoff, der die Freisetzung von Ca^{2+} aus dem endoplasmatischen Retikulum vermittelt. Jedoch war nur das erste Isomer in der Lage, korrekt an die Aktivität ATP-gesteuerter K^+ -Kanäle (K_{ATP}) und spannungsabhängiger Ca^{2+} -Kanäle (VDCC) zu koppeln (Abbildung S8a,b). Dagegen stimulierte Lira wie erwartet alle Signalwege (Abbildung S8c). Somit basiert der geringe Einfluss von *cis*-**LirAzo auf den Ionenfluss auf der Freisetzung von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern, wohingegen *trans*-**LirAzo den Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle stimuliert und**************

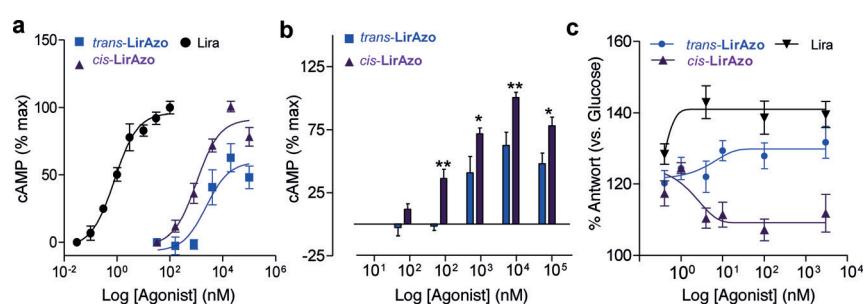


Abbildung 4. Isomerenabhängige Signalwirkung. a) Photoabhängigkeit von cAMP-Antworten in MIN6- β -Zellen mit Lira, *cis*-**LirAzo oder *trans*-**LirAzo (Cisbio HTRF cAMP Assay Kit); $n=7$ Wiederholungen. b) Wie (a), wobei *cis*-**LirAzo deutlich mehr cAMP erzeugt als *trans*-**LirAzo bei Konzentrationen $>10^2 \text{ nM}$; $n=7$ Wiederholungen. c) Isomerenabhängige Ca^{2+} -Signalwirkung durch **LirAzo** bei Konzentrationen $>10^1 \text{ nM}$; $n=8$ Wiederholungen, Lira dargestellt als Positivkontrolle. Zellen wurden mit permissiven Glukose-Konzentrationen ($>8 \text{ mM}$) und Lira/**LirAzo** (150 nM) stimuliert. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ und NS (=nicht signifikant) gegen *trans*-**LirAzo, angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung.**********

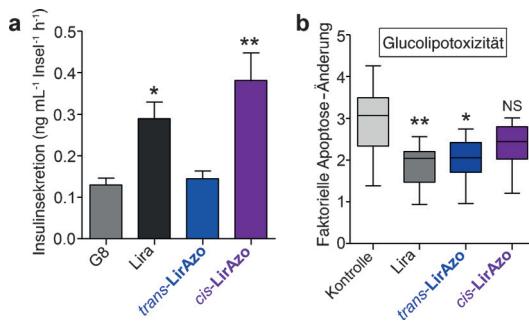


Abbildung 5. Insulinsekretion und Apoptose in β -Zellen der Bauchspeicheldrüse. a) Lira und *cis*-LirAzo, aber nicht *trans*-LirAzo, erhöhen die Glukose-stimulierte Insulinsekretion (G8; 8 mm d-Glukose); $n=12$ Tiere. Lira/LirAzo wurden mit 150 nm Konzentrationen in Anwesenheit von permissiver Glukose-Konzentration (>8 mM) angewendet. b) Lira und *trans*-LirAzo schützen besser gegen durch Glukolipotoxizität induzierte Apoptose als *cis*-LirAzo. $n=8$ Wiederholungen, obere und untere Bereiche zeigen das Maximum/Minimum-Verhältnis. Lira/LirAzo wurden mit 500 nm Konzentration aufgetragen. $*P<0.05$, $**P<0.01$ und NS (=nicht signifikant) gegen G8 oder Kontrolle, angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung.

somit die funktionelle Isomerenselektivität von Ca^{2+} \Rightarrow cAMP verstärkt.

Da **LirAzo** den GLP-1R mit Lichtempfindlichkeit ausstattet, stellte sich die Frage, ob auch eine lichtgesteuerte Insulinsekretion möglich ist. Um dies zu untersuchen, wurden Langerhans-Inseln aus Mäusen mit **LirAzo** inkubiert und entweder im Dunkeln gelagert oder Licht mit $\lambda = 350$ nm ausgesetzt. Während *cis*-**LirAzo** die Glukose-stimulierte Insulinsekretion äquivalent zu Lira (ca. 2.5-fach) steigerte, war *trans*-**LirAzo** wesentlich weniger wirksam (ca. 1.4-fach; Abbildung 5a). Das lag nicht an der Lebensfähigkeit der Zellen; da Zytotoxizität weder in „dead:live“-Assays noch in TUNEL-Assays bei dreistündiger Exposition der Zellen mit **LirAzo** detektiert werden konnte (siehe Abbildung S9). Außerdem war nur das *trans*-Isomer von **LirAzo** in der Lage, Schutz vor einem 24-stündigen glukolipotoxischen Schock zu bieten, der β -Zell-Versagen durch Apoptose induziert (Abbildung 5b).

Wir beschreiben hier einen Liraglutid-basierten photoschaltbaren GLP-1R-Agonisten, der erstmalig eine optische Kontrolle eines Klasse-B-GPCRs und die daraus resultierende Insulinsekretion von β -Zellen ermöglicht. Interessanterweise konnte eine isomerenabhängige funktionelle Selektivität beobachtet werden, die auf der Azobenzol-Orientierung im Peptid basiert. Das Phänomen der funktionellen Selektivität ist für GLP-1R bestens dokumentiert.^[15,18] Sie ist Gegenstand intensiver Forschung, da Arzneimittelnebenwirkungen von noch unbekannten Signalwechselwirkungen stammen können.^[19] Der GLP-1R ist an eine Vielzahl von Signalübertragungswege (z.B. über cAMP, PKA, Epac2, ERK und β -Arrestin) gekoppelt, wobei orthosterische Liganden unterschiedliche Rezeptorkonformationen binden und dadurch unterschiedliche Signalkaskaden auslösen können.^[15,18] Dies lässt sich am besten am Beispiel der Wirkung von Oxyntomodulin verdeutlichen, das im Vergleich zu GLP-1 (7–36) eine funktionelle Selektivität von cAMP-Bildung gegenüber ERK-Phosphorylierung aufweist.^[15,18] Solch

unterschiedliche Effekte stammen vermutlich von Wechselwirkungen mit spezifisch konservierten polaren Resten.^[20]

Die präzise Steuerung der GLP-1R-Signaltransduktion durch **LirAzo** ermöglicht es, die zugrundeliegenden Mechanismen der funktionellen Selektivität in β -Zellen zu entschlüsseln und dadurch Inkretin-Mimetika zu optimieren bzw. zu verfeinern. Wir konnten hier zeigen, dass die cAMP Bildung die Hauptursache für die inkretinpotenzierte Insulinsekretion ist. Dagegen sind antiapoptotische Effekte ausgeprägter, wenn sowohl cAMP als auch Ca^{2+} vorhanden sind. Dies hat Auswirkungen auf das Design von spezifischen GLP-1R-Agonisten, da die Stimulation beider Signalwege von Vorteil für die Behandlung von T2D sein dürfte. Obwohl die Potenz von **LirAzo** geringer als die von nativem Liraglutid war, ist anzumerken, dass Konzentrations-Wirkungs-Studien in CHO- und MIN6-Zellen sich nicht gut auf Langerhans-Inseln, in denen Effekte von GLP-1 auf die Insulinsekretion im niedrigen pikomolaren Bereich nachgewiesen wurden, übertragen lassen.^[21] Außerdem zeigt **LirAzo** eine ausgezeichnete Bistabilität, wodurch komplexe Bildgebungsverfahren sowie teure Lichtquellen unnötig sind und der Einsatz in biologischen Untersuchungen erheblich erleichtert wird.

Zusammenfassend kann man sagen, dass **LirAzo** ein Modell für das Design von Anti-Diabetes-Peptiden ist, in denen durch Licht ausgelöste Änderungen der Peptidfaltung – hervorgerufen durch eine zwischen die Helices eingebaute Azobenzoleinheit – die GPCR-Aktivität beeinflusst wird. Wir gehen davon aus, dass diese oder zukünftige Varianten nützlich für die funktionale Erfassung der GLP-1R-Signalwirkung in (patho)physiologischen Kontexten sein werden.

Danksagung

J.B. dankt einem EFSD Albert Renold Young Scientist Fellowship und der Studienstiftung des deutschen Volkes für ein Promotionsstipendium. T.P. dankt dem Center for Integrated Protein Science Munich (CIPSM), H.M.B. dankt dem Bavarian Grant for Studies und N.R.J. dankt dem Diabetes UK RW und JM Collins Stipendium. G.A.R. dankt dem Wellcome Trust Senior Investigator (WT098424AIA), MRC Programme (MR/J0003042/1), Diabetes UK Project Grant (11/0004210) und den Royal Society Wolfson Research Merit Awards. B.J.J. dankt einem RC Clinical Research Training Fellowship. S.R.B. wird gefördert durch die RC, BBSRC, IHR, einem Integrative Mammalian Biology (MB) Capacity Building Award, einem FP7-HEALTH-2009-241592 EuroCHIP grant und wird unterstützt vom NIHR Imperial Biomedical Research Centre Funding Scheme. A.H.R. dankt CIPSM und SFB 749. D.J.H. wurde gefördert durch ein Diabetes UK R.D. Lawrence (12/0004431) und EFSD/Novo Nordisk Rising Star Stipendium, sowohl von einem MRC project grant (MR/N00275X/1). D.J.H. und G.A.R. wurden weiterhin unterstützt von Imperial Confidence in Concept (ICiC) Grants. D.T. dankt einem Advanced Grant des European Research Council (268795). Wir bedanken uns bei Dr. David Stephenson und Claudia Dubler für NMR-spektroskopische Assistenz.

Stichwörter: Insulin · Liraglutid · Photopharmakologie · Typ-2-Diabetes · β -Zellen

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 15565–15569
Angew. Chem. **2015**, *127*, 15786–15790

- [1] a) F. M. Ashcroft, P. Rorsman, *Cell* **2012**, *148*, 1160–1171; b) M. Prentki, F. M. Matschinsky, S. R. Madiraju, *Cell Metab.* **2013**, *18*, 162–185.
- [2] C. J. Nolan, P. Damm, M. Prentki, *The Lancet* **2011**, *378*, 169–181.
- [3] D. J. Drucker, S. I. Sherman, F. S. Gorelick, R. M. Bergenstal, R. S. Sherwin, J. B. Buse, *Diabetes Care* **2010**, *33*, 428–433.
- [4] J. E. Campbell, D. J. Drucker, *Cell Metab.* **2013**, *17*, 819–837.
- [5] a) A. G. Egan, E. Blind, K. Dunder, P. A. de Graeff, B. T. Hummer, T. Bourcier, C. Rosebraugh, *N. Engl. J. Med.* **2014**, *370*, 794–797; b) J. J. Meier, M. A. Nauck, *Diabetologia* **2014**, *57*, 1320–1324.
- [6] a) L. B. Knudsen, P. F. Nielsen, P. O. Huisfeldt, N. L. Johansen, K. Madsen, F. Z. Pedersen, H. Thogersen, M. Wilken, H. Agerso, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1664–1669; b) J. J. Meier, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2012**, *8*, 728–742.
- [7] a) W. A. Velema, W. Szymanski, B. L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2178–2191; b) J. Broichhagen, J. A. Frank, D. Trauner, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *8*, 1947–1960..
- [8] a) J. Broichhagen, J. A. Frank, N. R. Johnston, R. K. Mitchell, K. Šmid, P. Marchetti, M. Bugliani, G. A. Rutter, D. Trauner, D. J. Hodson, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 6018–6021; b) J. Broichhagen, M. Schönberger, S. C. Cork, J. A. Frank, P. Marchetti, M. Bugliani, A. M. J. Shapiro, S. Trapp, G. A. Rutter, D. J. Hodson, D. Trauner, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5116.
- [9] a) C. Hoppmann, S. Seedorff, A. Richter, H. Fabian, P. Schmieder, K. Rück-Braun, M. Beyermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6636–6639; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6763–6766; b) C. Renner, L. Moroder, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 868–878; c) C. Hoppmann, P. Schmieder, P. Domaing, G. Vogelreiter, J. Eichhorst, B. Wiesner, I. Morano, K. Rück-Braun, M. Beyermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7699–7702; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 7841–7845; d) T. Podewin, M. S. Rampp, I. Turkmanovic, K. L. Karaghiosoff, W. Zinth, A. Hoffmann-Röder, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 4001–4004.
- [10] J. Eng, W. A. Kleinman, L. Singh, G. Singh, J. P. Raufman, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 7402–7405.
- [11] A. Aemisegger, V. Kräutler, W. F. van Gunsteren, D. Hilvert, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2929–2936.
- [12] X. Chang, D. Keller, S. Björn, J. J. Led, *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 477–483.
- [13] a) C. R. Underwood, P. Garibay, L. B. Knudsen, S. Hastrup, G. H. Peters, R. Rudolph, S. Reedtz-Runge, *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 723–730; b) L. J. Miller, Q. Chen, P. C. Lam, D. I. Pinon, P. M. Sexton, R. Abagyan, M. Dong, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 15895–15907.
- [14] G. Haberhauer, C. Kallweit, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2418–2421; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 2468–2471.
- [15] C. Koole, D. Wootten, J. Simms, C. Valant, R. Sridhar, O. L. Woodman, L. J. Miller, R. J. Summers, A. Christopoulos, P. M. Sexton, *Mol. Pharmacol.* **2010**, *78*, 456–465.
- [16] C. A. Leech, I. Dzhura, O. G. Chepurny, G. Kang, F. Schwede, H. G. Genieser, G. G. Holz, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2011**, *107*, 236–247.
- [17] F. Y. Siu, M. He, C. de Graaf, G. W. Han, D. Yang, Z. Zhang, C. Zhou, Q. Xu, D. Wacker, J. S. Joseph, W. Liu, J. Lau, V. Cherezov, V. Katritch, M. W. Wang, R. C. Stevens, *Nature* **2013**, *499*, 444–449.
- [18] C. Koole, E. E. Savage, A. Christopoulos, L. J. Miller, P. M. Sexton, D. Wootten, *Mol. Endocrinol.* **2013**, *27*, 1234–1244.
- [19] C. Weston, D. Poyner, V. Patel, S. Dowell, G. Ladds, *Br. J. Pharmacol.* **2014**, *171*, 3651–3665.
- [20] D. Wootten, J. Simms, L. J. Miller, A. Christopoulos, P. M. Sexton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 5211–5216.
- [21] a) D. J. Hodson, R. K. Mitchell, E. A. Bellomo, G. Sun, L. Vinet, P. Meda, D. Li, W. H. Li, M. Bugliani, P. Marchetti, D. Bosco, L. Piemonti, P. Johnson, S. J. Hughes, G. A. Rutter, *J. Clin. Invest.* **2013**, *123*, 4182–4194; b) M. Shigeto, M. Katsura, M. Matsuda, S. Ohkuma, K. Kaku, *J. Pharmacol. Sci.* **2008**, *108*, 274–279.

Eingegangen am 10. Juli 2015,
veränderte Fassung am 11. August 2015
Online veröffentlicht am 2. November 2015