



Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο  
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο  
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο  
Πατρών



Πανεπιστήμιο  
Κρήτης



Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

**«ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ  
ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΣΤΟΧΟΥΣ – ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ  
ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΟΥΣ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ»**

**ΝΤΑΦΛΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΘΩΜΑΣ ΜΑΥΡΟΜΟΥΣΤΑΚΟΣ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2024**





Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο  
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο  
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο  
Πατρών



Πανεπιστήμιο  
Κρήτης



Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

**«ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ  
ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΟΥΣ ΣΤΟΧΟΥΣ – ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ  
ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΟΥΣ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ»**

**ΝΤΑΦΛΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΘΩΜΑΣ ΜΑΥΡΟΜΟΥΣΤΑΚΟΣ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ, 2024**



**Εισαγωγή στο ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
(Δ.Π.Μ.Σ.) «ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

**του κ. Σωτηρίου Χατζηκακού**

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Θωμάς Μαυρομούστακος

Θέμα: «Υπολογιστική μελέτη των αλληλεπιδράσεων παραγώγων κινναμωμικού οξέος σε διάφορους στόχους – Μελέτη των φυσικοχημικών και τοξικολογικών τους ιδιοτήτων»

Ορισμός Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής από την Επιτροπή Προγράμματος Σπουδών (ΕΠΣ)::....<sup>A</sup>/...-...-....

1. Θωμάς Μαυρομούστακος
2. Σωτήριος Χατζηκακού
3. Νικόλαος Κουρκουμέλης

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις

---

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.

Καθηγητής \_\_\_\_\_

Ο/Η Γραμματέας



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα παράγωγα κινναμωμικού οξέος και τη χρήση τους στον σχεδιασμό νέων φαρμάκων, έχει προσανατολιστεί τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, εξαιτίας της μεγάλης ποικιλίας των φαρμακολογικών δραστηριοτήτων και των πιθανών θεραπευτικών εφαρμογών, που παρουσιάζουν. Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, παρουσιάζει αναλυτικά τη βιολογική δράση διαφόρων κινναμωμικών παραγώγων, μελετώντας τη σχέση δομής-δραστηριότητας και προσφέροντας, κατ' αυτόν τον τρόπο, σημαντικές πληροφορίες για τον ορθολογικό σχεδιασμό νέων ενώσεων με ενισχυμένη αποτελεσματικότητα και μειωμένες παρενέργειες. Επίσης, εμβαθύνει στη σημασία του υπολογιστικού σχεδιασμού των νέων υποψηφίων φαρμάκων, μέσω πειραμάτων μοριακής πρόσδεσης (molecular docking). Τα πειράματα μοριακής πρόσδεσης πραγματοποιήθηκαν μεταξύ 18 κινναμωμικών παραγώγων και 5 ενζύμων, με τη χρήση του λογισμικού Autodock 4. Μέσω του Autodock 4 εντοπίστηκαν οι ευνοϊκότερες διαμορφώσεις μορίου-στόχου και υπολογίστηκαν οι τιμές της ενέργειας πρόσδεσης στις αντίστοιχες θέσεις. Στη συνέχεια, με τη χρήση των λογισμικών SwissADME, pkCSM και ProTOX-II, εμβαθύναμε στην κατανόηση και στην πρόβλεψη των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων (ADME: απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμός και απέκκριση), καθώς και της τοξικότητας των υποψηφίων φαρμάκων. Ακολούθησε επεξεργασία και σύγκριση των αποτελεσμάτων, με σκοπό την διεξαγωγή συμπερασμάτων, τα οποία παρουσιάζονται αναλυτικά στο τέλος της εργασίας.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Παράγωγα κινναμωμικού οξέος, Υπολογιστικός σχεδιασμός φαρμάκων, Μοριακή μοντελοποίηση

**ΛΕΞΕΙΣ – ΚΛΕΙΔΙΑ:** Παράγωγα κινναμωμικού οξέος, Βιολογική δράση, Υποψήφια φάρμακα, Υπολογιστικός σχεδιασμός φαρμάκων, Μοριακή μοντελοποίηση, Αλληλεπιδράσεις μορίου-στόχου, Μοριακή πρόσδεση, Ενέργεια πρόσδεσης, Φαρμακοκινητικές ιδιότητες, Τοξικότητα, Autodock 4, SwissADME, pkCSM, ProTOX-II



## ABSTRACT

In recent years, there has been a growing interest in the derivatives of cinnamic acid and their potential application in drug design due to their diverse pharmacological activities. This master's thesis provides a detailed analysis of the biological actions of various cinnamic acid derivatives, investigating the structure-activity relationships to offer valuable insights for the rational design of novel compounds with enhanced efficacy and reduced side effects. The study further emphasizes the importance of computational design in drug discovery, specifically through molecular docking experiments using Autodock 4 software. Molecular docking experiments were conducted between 18 cinnamic acid derivatives and 5 enzymes, identifying favorable configurations of molecule-target interactions and calculating binding energy values at respective positions. Additionally, the research delves into the prediction of pharmacokinetic properties (ADME: absorption, distribution, metabolism, and excretion) and toxicity of the candidate drugs using SwissADME, pkCSM, and ProTOX-II softwares. The results were processed and compared to draw conclusions, providing a comprehensive understanding of the potential pharmacological properties and toxicological aspects of the studied compounds. The results were processed and compared, in order to draw conclusions, which are presented in detail at the end of the paper.

**SUBJECT AREA:** Cinnamic acid derivatives, Molecular Modelling, Computational Drug Design

**KEYWORDS:** Cinnamic acid derivatives, Biological activity, Candidate drugs, Computational drug design, Molecular modeling, Ligand-target interactions, Molecular docking, Binding energy, Pharmacokinetic properties, Toxicity, Autodock 4, SwissADME, pkCSM, ProTOX-II



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα Καθηγητή μου κ.Θωμά Μαυρομούστακο για την ανάθεση του θέματος, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την καθοδήγηση, που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια της υλοποίησης της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τους καθηγητές κ. Χατζηκακού Σωτήρη και κ. Κουρκουμέλη Νικόλαο για το χρόνο, που διέθεσαν και τις χρήσιμες συμβουλές και διορθώσεις τους.

Ευχαριστίες ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω στον υποψήφιο διδάκτορα Νικήτα Γεωργίου για τη συνεχή καθοδήγηση, την πολύτιμη βοήθεια και τη συμβολή του στην ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής εργασίας μου, καθώς επίσης και στα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας και ιδιαιτέρως του Εργαστηρίου μας, για την άριστη συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για τη συνεχή ενθάρρυνση και την αμέριστη στήριξη, που μου έχουν προσφέρει όλα τα χρόνια των σπουδών μου, συντελώντας στην επίτευξη των στόχων μου, όπως στην πραγματοποίηση της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	xxi
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 .....	1
ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟ ΟΞΥ .....	1
1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.2. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ .....	3
1.3. ΦΥΣΙΚΑ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ [4] .....	4
1.4. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ .....	5
1.4.1. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	5
1.4.2. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	7
1.4.3. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	9
1.4.4. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	11
1.4.5. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	14
1.4.6. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ALZHEIMER.....	16
1.4.7. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΔΡΑΣΗ .....	19
1.4.8. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ UV-ΠΡΟΣΤΕΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ .....	22
1.4.9. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HIV .....	24
1.4.10. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ ..	26
1.4.11. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 .....	31
ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ – IN SILICO ΜΕΛΕΤΕΣ .....	31
2.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ .....	31
2.2. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ .....	32
2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΦΑΡΜΑΚΩΝ .....	33
2.4. ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ .....	35
2.5. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ .....	37
2.6. AUTODOCK.....	39
2.7. ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ 41	
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 .....	51

<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....</b>	<b>51</b>
3.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	51
<b>3.1.1. ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1.2. ΜΕΛΕΤΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ.....</b>	<b>52</b>
3.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ .....	53
3.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	90
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	93

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<b>Σχήμα 1.</b> Η χημική δομή του κινναμωμικού οξέος. ....	1
<b>Σχήμα 2.</b> Οι χημικές δομές των trans- και cis- κινναμωμικών οξέων. ....	1
<b>Σχήμα 3.</b> Η ενζυματική απαμίνωση της φαινυλαλανίνης. ....	2
<b>Σχήμα 4.</b> Οι χημικές δομές των πιο γνωστών κινναμωμικών παραγώγων. ....	3
<b>Σχήμα 5.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων a-p. ....	5
<b>Σχήμα 6.</b> Η χημική δομή της ένωσης I. ....	6
<b>Σχήμα 7.</b> Η χημική δομή του παραγώγου 4-υδροξυκινναμωμικού οξέος. ....	7
<b>Σχήμα 8.</b> Η χημική δομή του ροσμαρινικού οξέος. ....	8
<b>Σχήμα 9.</b> Οι χημικές δομές των 8 κινναμωμικών παραγώγων. ....	8
<b>Σχήμα 10.</b> Οι χημικές δομές κινναμωμικών οξέων με αντιδιαβητική δράση. ....	10
<b>Σχήμα 11.</b> Οι χημικές δομές της μαλτόζης και της σακχαρόζης. ....	10
<b>Σχήμα 12.</b> Η χημική δομή της δισεκτουμόζης. ....	11
<b>Σχήμα 13.</b> Οι χημικές δομές των υβριδίων χαρμίνης-κινναμωμικού οξέος. ....	12
<b>Σχήμα 14.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων με αντιλεϊσμανοκτόνο δράση. ....	12
<b>Σχήμα 15.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων, που αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητά τους έναντι του <i>Psoroptes cuniculi</i> . ....	13
<b>Σχήμα 16.</b> Η χημική δομή της βιοδραστικής ένωσης του φυτού <i>Viola betonicifolia</i> . ....	14
<b>Σχήμα 17.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων, που μελετήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση. ....	15
<b>Σχήμα 18.</b> Η χημική δομή της γκαγκαμίνης. ....	16
<b>Σχήμα 19.</b> Η χημική δομή της ένωσης, που δρα ως αναστολέας χολινεστεράσων. ....	17
<b>Σχήμα 20.</b> Η γενική δομή του υβριδίου κινναμωμικού οξέος-τρυπταμίνης. ....	17
<b>Σχήμα 21.</b> Οι χημικές δομές των παραγώγων τακρίνης-κινναμωμικού οξέος. ....	18
<b>Σχήμα 22.</b> (a) Η χημική δομή της ρεσβερατρόλης (b) Η χημική δομή της ένωσης με την ισχυρότερη καταστολή παραγωγής NO στα κύτταρα. ....	19
<b>Σχήμα 23.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων, που αξιολογήθηκαν για την ανασταλτική τους δράση έναντι των COX-1 και COX-2. ....	21
<b>Σχήμα 24.</b> Οι χημικές δομές των κινναμωμικών παραγώγων, που χρησιμοποιούνται ως UV-φίλτρα. ....	22
<b>Σχήμα 25.</b> Η χημική δομή των κινναμωμικών παραγώγων, που χρησιμοποιούνται ως UV-απορροφητές. ....	23
<b>Σχήμα 26.</b> Οι χημικές δομές της βαρφαρίνης και της φαινπροκουμόνης. ....	24
<b>Σχήμα 27.</b> Η χημική δομή της σουκντορφίνης. ....	24
<b>Σχήμα 28.</b> Οι χημικές δομές των L-χιχορικού οξέος, 3,5-δικαφεϊκού οξέος και 1-μεθοξυοξαλ-3,5-δικαφεϊκού οξέος. ....	25
<b>Σχήμα 29.</b> Οι χημικές δομές του 6'-νιτρο- ροσμαρινικού οξέος (a) και 6',6''-δινιτρο-ροσμαρινικού οξέος (b). ....	25
<b>Σχήμα 30.</b> Οι χημικές δομές των παραγώγων του L-χιχορικού οξέος, με δράση κατά του HIV. ....	25
<b>Σχήμα 31.</b> Οι χημικές δομές φαρμάκων κατά της φυματίωσης. ....	26

<b>Σχήμα 32.</b> Η χημική δομή της ριφαμπικίνης SV. ....	27
<b>Σχήμα 33.</b> Οι χημικές δομές των ενώσεων, που μελετήθηκαν για την αντιφυματική τους δράση. ....	27
<b>Σχήμα 34.</b> Οι χημικές δομές της οσλοπόνης και των παραγώγων της. ....	28
<b>Σχήμα 35.</b> Οι χημικές δομές των φαινολικών γλυκοσιδών, που μελετήθηκαν για την ανθελονοσιακή τους δράση. ....	29

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1.</b> Η μοριακή πρόσδεση της ένωσης 25(b) στο ενεργό κέντρο του COX-2.....	20
<b>Εικόνα 2.</b> Συνοπτικό διάγραμμα του CADD. ....	34
<b>Εικόνα 3.</b> Τυπικό διάγραμμα ροής για τη μοριακή πρόσδεση. ....	36
<b>Εικόνα 4. (A)</b> Απεικόνιση του μοντέλου κλειδιού-κλειδαριάς <b>(B)</b> Απεικόνιση του μοντέλου Επαγόμενης Προσαρμογής.....	38
<b>Εικόνα 5.</b> Το μοντέλο BOILED-Egg. ....	42
<b>Εικόνα 6.</b> Το ραντάρ βιοδιαθεσιμότητας. ....	43
<b>Εικόνα 7.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 2Z5X. ....	75
<b>Εικόνα 8.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 14 με την 2Z5X. ....	76
<b>Εικόνα 9.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 7 με την 1S3B. ....	76
<b>Εικόνα 10.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 9 με την 1S3B. ....	77
<b>Εικόνα 11.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 4EY7. ....	77
<b>Εικόνα 12.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 4 με την 4EY7. ....	78
<b>Εικόνα 13.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 18 με την 4EY7. ....	78
<b>Εικόνα 14.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 4YEK. ....	79
<b>Εικόνα 15.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 18 με την 4YEK. ....	79
<b>Εικόνα 16.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 13 με την 5DYW. ....	80
<b>Εικόνα 17.</b> Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 14 με την 5DYW. ....	80
<b>Εικόνα 18.</b> Σχηματική αναπαράσταση της πορείας, που ακολουθήθηκε. ....	90



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Συνοπτικός πίνακας της ανασταλτικής δράσης της χολιστερινάσης IC50 (μM) των ενώσεων 1a-1l.....	18
<b>Πίνακας 2.</b> Τυπικά κόστη πειραμάτων ανά ένωση.....	32
<b>Πίνακας 3.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 2Z5X.....	53
<b>Πίνακας 4.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 1S3B.....	56
<b>Πίνακας 5.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4EY7.....	59
<b>Πίνακας 6.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4YEK.....	62
<b>Πίνακας 7.</b> Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5DYW.....	65
<b>Πίνακας 8.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 1.....	68
<b>Πίνακας 9.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 2.....	68
<b>Πίνακας 10.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 3.....	68
<b>Πίνακας 11.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 4.....	69
<b>Πίνακας 12.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 5.....	69
<b>Πίνακας 13.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 6.....	69
<b>Πίνακας 14.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 7.....	70
<b>Πίνακας 15.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 8.....	70
<b>Πίνακας 16.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 9.....	70
<b>Πίνακας 17.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 10.....	71
<b>Πίνακας 18.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 11.....	71
<b>Πίνακας 19.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 12.....	71
<b>Πίνακας 20.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 13.....	72
<b>Πίνακας 21.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 14.....	72
<b>Πίνακας 22.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 15.....	72
<b>Πίνακας 23.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 16.....	73
<b>Πίνακας 24.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 17.....	73
<b>Πίνακας 25.</b> Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 18.....	73
<b>Πίνακας 26.</b> Οι αλληλεπιδράσεις των ενώσεων με τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου των 5 ενζύμων.....	81
<b>Πίνακας 27.</b> Οι κανόνες φαρμακομοιότητας των Lipinski, Ghose, Veber, Egan και Muegge.....	83
<b>Πίνακας 28.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 10, χρησιμοποιώντας το λογισμικό SwissADME.....	84
<b>Πίνακας 29.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 10, χρησιμοποιώντας το λογισμικό pkCSM.....	84
<b>Πίνακας 30.</b> Αποτελέσματα τοξικότητας για την ένωση 10 στην πλατφόρμα του ProTox-II.....	85

<b>Πίνακας 31.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 14, χρησιμοποιώντας το λογισμικό SwissADME.....	87
<b>Πίνακας 32.</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 14, χρησιμοποιώντας το λογισμικό pkCSM.....	87
<b>Πίνακας 33.</b> Αποτελέσματα τοξικότητας για την ένωση 14 στην πλατφόρμα του ProTox-II.....	88

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Διδρυματικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Ανόργανη Βιολογική Χημεία». Τα *in silico* πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη του καθηγητή Θωμά Μαυρομούστακου .



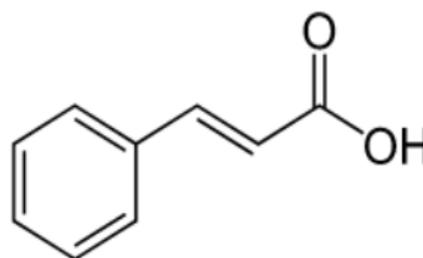
# ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟ ΟΞΥ

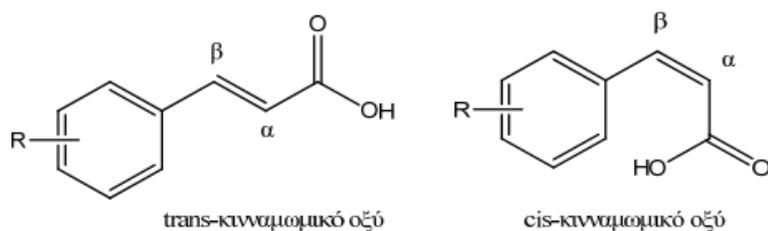
#### 1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κινναμωμικό οξύ έχει απασχολήσει ιδιαίτερα την επιστημονική κοινότητα, αποτελώντας αντικείμενο πολλών ερευνητικών μελετών, ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται για ένα φυσικό καρβοξυλικό οξύ χαμηλής τοξικότητας, το οποίο αποτελεί τη βασική χημική ουσία πολλών φυτών, όπως το *Cinnamomum cassia* (κινεζική κανέλα) και το *Panax ginseng*, διαφόρων φρούτων και λαχανικών, δημητριακών ολικής αλέσεως, καθώς και του μελιού. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά ως αρωματικό συστατικό σε διακοσμητικά καλλυντικά, σαπούνια, σαμπουάν, εκλεκτά αρώματα και άλλα είδη προσωπικής υγιεινής. [1]



Σχήμα 1. Η χημική δομή του κινναμωμικού οξέος.

Όσον αφορά τη χημική του δομή, πρόκειται για ένα αρωματικό ακόρεστο οξύ, που αποτελείται από έναν δακτύλιο φαινυλίου, παρουσία μίας ακρυλικής καρβοξυλικής ομάδας



υποκατεστημένης σε αυτόν. Εμφανίζεται σε δύο στερεοϊσομερείς μορφές, τη *cis* και την *trans*, με τη δεύτερη εξ αυτών να είναι η πιο κοινή και ενεργειακά σταθερότερη. [2]

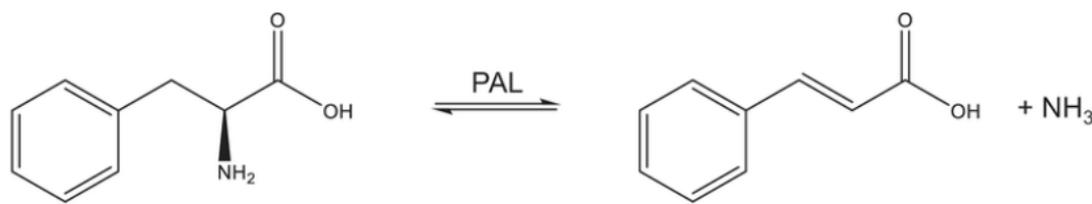
Σχήμα 2. Οι χημικές δομές των *trans*- και *cis*-κινναμωμικών οξέων.

Τα βινυλικά γειτονικά υδρογόνα όταν βρίσκονται σε θέση *trans* το ένα ως προς το άλλο (η γωνία, που σχηματίζεται μεταξύ των 2 H είναι περίπου 180°) συζευγνύονται με μεγαλύτερη τιμή σταθεράς σύζευξης σε σχέση με τα αντίστοιχα βινυλικά γειτονικά υδρογόνα, που βρίσκονται σε θέση *cis* το ένα ως προς το άλλο (η γωνία, που σχηματίζεται μεταξύ 2 τέτοιων H είναι μικρότερη των 180°). Επιπροσθέτως, τα βινυλικά υδρογόνα υφίστανται τη μαγνητική ανισοτροπία του διπλού δεσμού οπότε, επειδή βρίσκονται στον κώνο αποπροστασίας του διπλού δεσμού, εμφανίζονται σε χαμηλότερο πεδίο αποπροστασίας.

Όμως, το Ηβ υφίσταται και τη μαγνητική ανισοτροπία του αρωματικού δακτυλίου (ρεύμα δακτυλίου), με αποτέλεσμα να είναι πολύ περισσότερο αποπροστατευμένο σε σχέση με το Ηα (το οποίο βρίσκεται στον κώνο προστασίας του καρβονυλίου). Σ' αυτό τον λόγο οφείλεται και η διαφορά στις τιμές χημικής μετατόπισης μεταξύ του Ηβ και Ηα.

Συγκεκριμένα, η σταθερά σύζευξης μεταξύ των βυνιλικών υδρογόνων για το *trans*-ισομερές (12-18 Hz) είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη σταθερά σύζευξης των *cis*-αλκενίων (6-14 Hz).

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος παρασκευής του είναι μέσω ενζυματικής απαμίνωσης της φαινυλαλανίνης. [2]



PAL=αμμώνιο-λυάση της φαινυλαλανίνης

Σχήμα 3. Η ενζυματική απαμίνωση της φαινυλαλανίνης.

Ακόμη το κινναμωμικό οξύ, έχει την ιδιότητα να λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων, αντιδρώντας με ρίζες και μετατρέποντάς τες σε σταθερότερα προϊόντα, οδηγώντας κατ' αυτόν τον τρόπο στον τερματισμό των ριζικών αλυσιδωτών αντιδράσεων. [3]

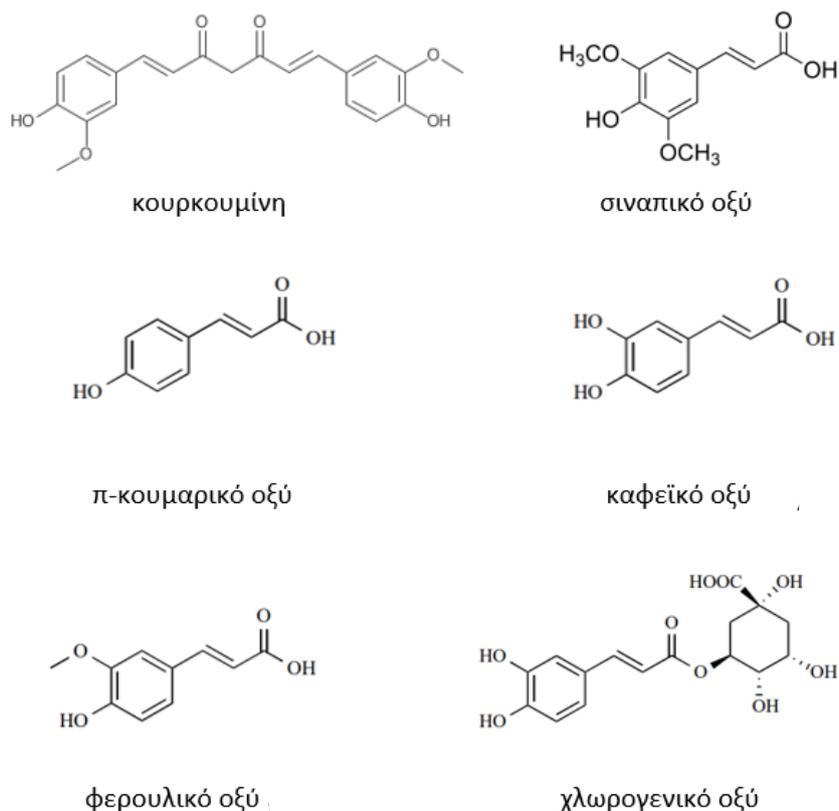
Μελέτες υποδεικνύουν ότι το κινναμωμικό οξύ παρουσιάζει πληθώρα βιολογικών δράσεων, όπως αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, νευροπροστατευτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιδιαβητικές κ.α.

## 1.2. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Η παρουσία του βενζολικού δακτυλίου και της υποκατεστημένης ομάδας οξέος καθιστά εφικτή την τροποποίησή του, γεγονός που οδηγεί στη σύνθεση παραγώγων κινναμωμικού οξέος. [2]

Τα παράγωγα κινναμωμικού οξέος εκτός από το γεγονός ότι αποτελούν ενδιάμεσα στην παραγωγή άλλων ενώσεων, όπως τα στυλβένια και τα στυρένια, έχει αποδειχθεί πως παρουσιάζουν και αυτά ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων, όπως αντιβακτηριακή, αντικαρκινική, αντιδιαβητική, αντιμυκητιασική, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Η διαφορετική βιολογική δράση που παρουσιάζει κάθε παράγωγο, οφείλεται στη διαφορετική φύση, αλλά και θέση των υποκαταστατών. [2], [3]

Τα πιο γνωστά παράγωγα κινναμωμικού οξέος, που έχουν αναφερθεί και μελετηθεί ευρέως από ερευνητές, είναι η κουρκουμίνη, το καφεϊκό οξύ, το π-υδροξυκινναμωμικό οξύ, το φερουλικό οξύ, το κουμαρικό και το χλωρογενικό οξύ. Η διαφοροποίηση μεταξύ αυτών στηρίζεται στην παρουσία των ομάδων υδροξυλίου στον φαινυλικό δακτύλιο, οι οποίοι είναι είτε ελεύθεροι είτε μεθοξυλιωμένοι. [2]



**Σχήμα 4.** Οι χημικές δομές των πιο γνωστών κινναμωμικών παραγώγων.

Τα κινναμωμικά οξέα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί από επιστήμονες με σκοπό να μεταβάλλουν την ισχύ, τη διαπερατότητα, τη διαλυτότητα ή άλλες παραμέτρους ενός επιλεγμένου φαρμάκου ή φαρμακοφόρου. [4]

Όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου, της μικροβιακής ανάπτυξης, των νευρολογικών διαταραχών και άλλων ασθενειών, τα τελευταία χρόνια, εξαιτίας της αυξανόμενης αντοχής στα φάρμακα, καθώς επίσης και της έλλειψης θεραπειών απουσία ανεπιθύμητων παρενεργειών, έχουν διεξαχθεί εντατικές έρευνες, με σκοπό την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών ενώσεων και τη δημιουργία πολυλειτουργικών φαρμάκων με βάση το κινναμωμικό οξύ. [2], [3]

### **1.3. ΦΥΣΙΚΑ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΑ ΟΞΕΑ [4]**

Το μέλι και η πρόπολη (φυσικό ρητινώδες μείγμα) είναι και τα δύο προϊόντα της μέλισσας (*Apis mellifera*), που παράγονται από το νέκταρ των λουλουδιών και εμφανίζουν αντιβακτηριδιακές (κατά του *Staphylococcus aureus* και *Escherichia coli*), αντιμυκητιακές (κατά του *Candida albicans*) και αντικές (κατά του ιού της γρίπης των πτηνών) ιδιότητες [5]. Η χημική σύσταση της προπόλης είναι πολύ περίπλοκη, ενώ μέχρι στιγμής έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 100 ενώσεις. Έχει αποδειχθεί ότι υπεύθυνη για τις βιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητές της είναι κυρίως η παρουσία του μεγάλου αριθμού πολυφαινολών (φλαβονοειδών, αρωματικών οξέων και φαινολικών ενώσεων). Μελέτες έδειξαν πως τα κινναμωμικά οξέα με ποικίλη υποκατάσταση στον αρυλικό δακτύλιο και οι εστέρες στην ιρανική πρόπολη, εμφανίζουν τιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) μεταξύ 125 και 500 mg/L έναντι βακτηρίων και μυκήτων. [6] Επίσης, εκτός από δευτερογενείς μεταβολίτες όπως τα φλαβονοειδή και τα σεσκι-τερπενοειδή, τα οποία δύναται να παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση, έχει αποδειχθεί ότι και τα κινναμωμικά οξέα μπορούν να συμβάλλουν εξίσου στο παρατηρούμενο αποτέλεσμα.

Οι τιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC), για τα φυσικά κινναμωμικά οξέα έναντι διαφορετικών βακτηρίων, συμφωνούν απολύτως μεταξύ διαφορετικών ερευνητών, που χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους. Ωστόσο, μεγάλη εντύπωση προκαλεί το γεγονός πως οι τιμές ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) για τα φυσικά κινναμωμικά οξέα έναντι των ίδιων βακτηρίων, παρουσιάζουν πολύ μεγάλες διαφορές από έρευνα σε έρευνα. Οι διαφορές αυτές μπορεί να αποδοθούν στην ποικιλομορφία των πειραματικών μεθόδων για τον προσδιορισμό του MIC, για παράδειγμα μετρώντας διαφορετικά τελικά σημεία, χρησιμοποιώντας διαφορετικές δόσεις (μεγέθη εμβολιασμού), διαφορετικά μέσα καλλιέργειας και συγκεκριμένα στελέχη με ποικίλη ευαισθησία. Παρά την ποικιλία στις MIC, υπάρχει σαφής τάση των μορίων αυτών να αναστέλλουν την ανάπτυξη μιας μεγάλης ποικιλίας μικροοργανισμών με μοριακούς μηχανισμούς, οι οποίοι παραμένουν ακόμη άγνωστοι. [4]

## 1.4. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

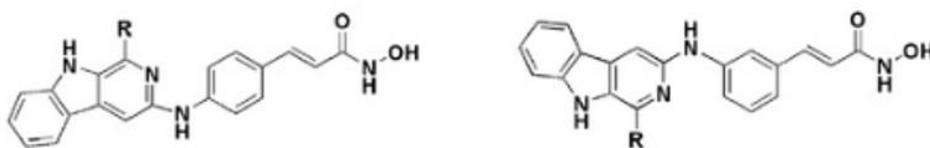
Τα κινναμωμικά οξέα και τα παράγωγά τους, παρουσιάζουν χαμηλή τοξικότητα κι ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δράσεων. Εξαιτίας αυτών των χαρακτηριστικών, έχουν εμφανιστεί σε πολλά φάρμακα, ενώ ακόμη και σήμερα αποτελούν αντικείμενο πληθώρας μελετών, που αφορούν την ανακάλυψη νέων, με βελτιωμένες αποδόσεις και μειωμένες παρενέργειες. [7] Το ευρύ φαρμακολογικό προφίλ των ενώσεων αυτών μπορεί να ταξινομηθεί στις ακόλουθες κατηγορίες:

### 1.4.1. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Το 2018 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ανακοίνωσε την ύπαρξη 18,1 εκατομμυρίων νέων περιστατικών καρκίνου και 9,6 εκατομμύριων θανάτων, που συνδέονται με τον καρκίνο, καθιστώντας τον μία από τις κύριες αιτίες θανάτου. Ο υψηλός αριθμός θανάτων από καρκίνο έχει οδηγήσει τους ερευνητές σε συνεχείς προσπάθειες για την ανάπτυξη ασφαλών και αποτελεσματικών αντικαρκινικών θεραπειών. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα πολλών από τα υπάρχοντα χημειοθεραπευτικά φάρμακα περιορίζεται σοβαρά λόγω της αντοχής των καρκινικών κυττάρων σε αυτά τα φάρμακα. [2] Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι αντικαρκινικοί παράγοντες, που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. [8]

Τα παράγωγα του κινναμωμικού οξέος έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντιπολλαπλασιαστική δράση κατά των καρκινικών όγκων. Πιο συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί πως είναι αποτελεσματικά εναντίον διάφορων τύπων καρκίνου, όπως ο καρκίνος του μαστού, του παχέος εντέρου και του πνεύμονα. [2]

Για να αντιμετωπιστεί η αντοχή στα φάρμακα, η επιστημονική ομάδα του Ling ανέπτυξε ενώσεις που περιλαμβάνουν β-καρβολίνη και N-υδροξικινναμαμίδιο (a-p, Σχήμα 5).



a) R=H, c) R=CH<sub>3</sub>, e) R=p-CH<sub>3</sub>-Ph

g) R=m-OCH<sub>3</sub>-Ph, i) R=p-OCH<sub>3</sub>-Ph

k) R=p-NO<sub>2</sub>-Ph, m) R=3,4,-di-OCH<sub>3</sub>-Ph

o) R=3,4,5-tri-OCH<sub>3</sub>-Ph

b) R=H, d) R=CH<sub>3</sub>, f) R=p-CH<sub>3</sub>-Ph

h) m-OCH<sub>3</sub>-Ph, j) R=p-OCH<sub>3</sub>-Ph

l) P-NO<sub>2</sub>-Ph, n) R=3,4,-di-OCH<sub>3</sub>-Ph

p) R=3,4,5-tri-OCH<sub>3</sub>-Ph

Σχήμα 5. Οι χημικές δομές των ενώσεων a-p.

Όλες αυτές οι ενώσεις έδειξαν την ικανότητά τους να αναστέλλουν την δραστηριότητα της ιστόνης 1 (HDAC1).

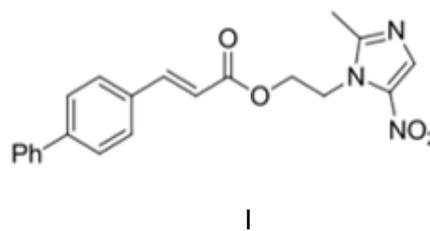
Οι HDACs είναι υπεύθυνες για την αφαίρεση των ακετυλικών ομάδων από τις ιστόνες. Ειδικότερα, η HDAC1, ανήκει στην υποοικογένεια I των HDACs και είναι γνωστή για τον ρόλο της στον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης. Οι αναστολείς HDAC, χρησιμοποιούνται στην έρευνα και τη θεραπεία του καρκίνου, καθώς μπορούν να επηρεάσουν την γονιδιακή έκφραση και να αναστείλλουν την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. [9]

Ειδικότερα, η ένωση **ρ** εμφάνισε την υψηλότερη ανασταλτική δραστηριότητα με τιμή μέσης ανασταλτικής συγκέντρωσης (IC50) ίση με 1,3 nM, ενώ ο αναστολέας SAHA, ο οποίος είναι εγκεκριμένος για χρήση στη θεραπεία ορισμένων τύπων καρκίνου, παρουσίασε IC50 ίση με 142 nM.

Γενικά, η παρουσία μιας ομάδας R, που προσφέρει ηλεκτρόνια, όπως η μεθόξυ-ομάδα (g-j), αυξάνει τη δραστηριότητα αναστολής σε σύγκριση με ενώσεις που περιλαμβάνουν υδρογόνο (a,b) ή μεθύλιο (c,d). Μάλιστα, η προσθήκη περισσότερων από μία μεθόξυ-ομάδων (m-p), συντελεί σε περαιτέρω αύξηση της ανασταλτικής δραστηριότητας. [2], [10]

Επίσης, μελέτες έχουν δείξει πως ότι το κινναμωμικό οξύ έχει τη δυνατότητα να μειώνει τον παλλαπλασιασμό των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος, του μελανώματος, του προστάτη και του καρκινώματος του πνεύμονα κατά 50% σε συγκεντρώσεις μεταξύ 1,0 και 4,5 mM [11], ενώ ο φαιναιθυλεστέρας του καφεϊκού οξέος παρουσιάζει κυτταροτοξική δράση σε διαφορετικά κύτταρα καρκινώματος του στόματος. [12]

Ο ανθρώπινος υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) και η κινάση του (HER-2) διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη μετάσταση όγκων, όπως ο καρκίνος στο κεφάλι, στο παχύ έντερο, στον μαστό και στον πνεύμονα. Για το λόγο αυτό αποτελούν συχνά στόχο για θεραπευτικές επεμβάσεις στον καρκίνο, στοχεύοντας στον περιορισμό του πολλαπλασιασμού και της εξάπλωσης των καρκινικών κυττάρων. Ήδη οι νιτροϊμιδαζόλες λειτουργούν ως αντικαρκινικοί παράγοντες, στοχεύοντας στην αναστολή της κινάσης HER2. Πρόσφατη μελέτη, αποκάλυψε την αντικαρκινική δράση εστερικών παραγώγων κινναμωμικού οξέος με την μετρονιδαζόλη μέσω της αναστολής του EGFR και της HER-2. Η ένωση **I** παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα και την ισχυρότερη ανασταλτική δράση κατά της HER-2 και του EGFR, περιορίζοντας την ανάπτυξη και μετάσταση των καρκινικών όγκων. Ως εκ τούτου, η ένωση **I** παρουσιάζει ελπιδοφόρες προοπτικές για περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη ως ένα εν δυνάμει μελλοντικό αποτελεσματικό εργαλείο στην καταπολέμηση του καρκίνου. [13]

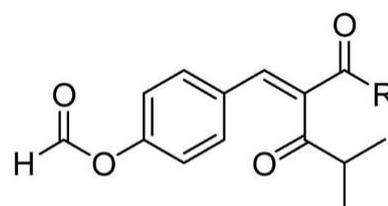


Σχήμα 6. Η χημική δομή της ένωσης **I**.

#### 1.4.2. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), οι λοιμώξεις που οφείλονται σε μύκητες, ιούς και βακτήρια απειλούν την παγκόσμια υγεία, κυρίως σε φτωχές και αναπτυσσόμενες χώρες. Μάλιστα, ο αριθμός των θανάτων από μολυσματικές ασθένειες ανέρχεται σε περίπου 3,5 εκατομμύρια παγκοσμίως. Το 2018, περίπου 37,9 εκατομμύρια άνθρωποι ζούσαν με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), με 770.000 από αυτούς να χάνουν τη ζωή τους λόγω ασθενειών που συνδέονται με το AIDS, ενώ το 2019 αναφέρθηκαν περίπου 10.000.000 περιπτώσεις φυματίωσης και 1,2 εκατομμύρια θάνατοι. Η ανθεκτικότητα των μικροβιακών στελεχών στα φάρμακα καθιστούν ιδιαίτερως δύσκολη τη θεραπεία ασθενειών όπως η φυματίωση και η ελονοσία [2]. Είναι ευρέως γνωστή η αντιμικροβιακή δράση του κινναμωμικού οξέος και των παραγώγων του έναντι παθογόνων βακτηρίων, που προκαλούν αλλοιώσεις, ωστόσο, εξαιτίας της χαμηλής υδατοδιαλυτότητας του η χρήση του περιορίζεται σημαντικά [14]. Ήδη οι ερευνητές εξετάζουν παράγοντες, οι οποίοι να είναι πιο αποτελεσματικοί από τα συνηθισμένα φάρμακα, που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος.

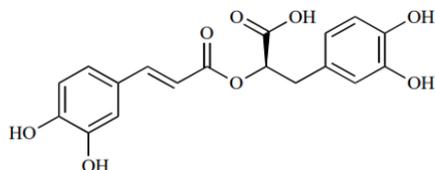
Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το παράγωγο 4-υδροξυκινναμωμικού οξέος, ο 2-[(E)-2-[4-(φορμυλοξυ)φαινυλο]αιθενυλο]-4-μεθυλ-ο3-οξοπεντανοϊκός μεθυλεστέρας, που απομονώθηκε για μελέτη από έναν φυτικό μύκητα, τον *Pyronema sp.* Η βιολογική δραστηριότητα της ένωσης αξιολογήθηκε *in vitro* σ' ένα μη φυματιώδες μυκοβακτηρίδιο, το *Mycobacterium marinum*, το οποίο είναι υπεύθυνο για δερματικές λοιμώξεις. Το ανασταλτικό αποτέλεσμα της συγκεκριμένης ένωσης κρίθηκε αρκετά σημαντικό, με IC<sub>50</sub> 64 μΜ. [2]



Σχήμα 7. Η χημική δομή του παραγώγου 4-υδροξυκινναμωμικού οξέος.

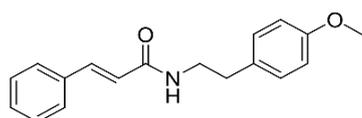
Το κινναμωμικό, το κουμαρικό, το φερουλικό και το σιναπικό οξύ αναστέλλουν τα Gram θετικά και τα Gram-αρνητικά βακτήρια *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* και *Pseudomonas syringae*. Επίσης, αρκετά εκχυλίσματα *Capsicum annuum L.*, τα οποία συνήθως περιέχουν παράγωγα κινναμωμικού οξέος (*trans*-κινναμικό οξύ, *o*- και *m*-κουμαρικό οξύ, φερουλικό οξύ και καφεϊκό οξύ), έχουν αποδειχτεί επίσης ικανά να αναστέλλουν και να αδρανοποιούν ορισμένα παθογόνα βακτήρια, καθώς και βακτήρια που προκαλούν αλλοιώσεις. Ακόμη, έχει αναφερθεί ότι το καφεϊκό οξύ είναι δραστικό έναντι των σπορίων του *C. Botulinum* και έχει την ισχυρότερη βακτηριοκτόνο δράση κατά του *L. monocytogenes*. Από τη σύγκριση της αντιβακτηριακής δράσης του κινναμωμικού οξέος και των παραγώγων ενώσεων, έχει προκύψει το συμπέρασμα πως η δράση ενισχύεται από την παρουσία ενός διπλού δεσμού αβ ως προς μία καρβονυλομάδα και ότι η αποτελεσματικότητα μειώνεται κατά τη σειρά: αλδεΰδη>αλκοόλη>οξύ. [14]

Ένα ακόμη γνωστό για την αντιβακτηριακή του δράση οξύ, είναι το ροσμαρινικό οξύ, το οποίο παρουσιάζει αξιοσημείωτη αντιβακτηριακή δράση κατά των *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* και *Micrococcus luteus*. Πολλές μελέτες κάνουν αναφορά στην αντιμικροβιακή δράση του δενδrolίβανου και άλλων φυτικών εκχυλισμάτων και ελαίων, τα οποία περιέχουν ροσμαρινικό οξύ. [15]

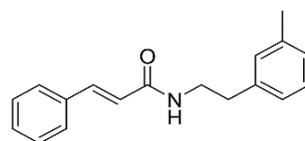


**Σχήμα 8.** Η χημική δομή του ροσμαρινικού οξέος.

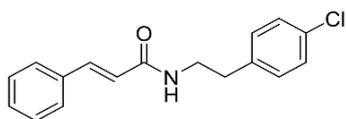
Σε μία άλλη έρευνα, συντέθηκαν και μελετήθηκαν 8 παράγωγα κινναμωμικού οξέος, που παρουσιάζονται στο σχήμα 9.



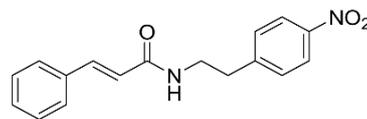
N-[2-(4-μεθοξυφαινυλο)αιθυλο]-3-φαινυλο-ακρυλαμίδη (1)



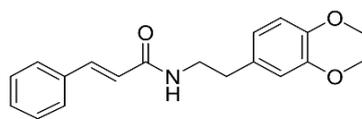
3-φαινυλο-N-(2-m-τολυλοαιθυλο)-ακρυλαμίδη (2)



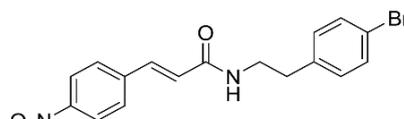
N-[2-(4-χλωροφαινυλο)αιθυλο]-3-φαινυλο-ακρυλαμίδη (3)



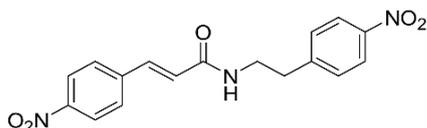
N-[2-(4-νιτροφαινυλο)αιθυλο]-3-φαινυλο-ακρυλαμίδη (4)



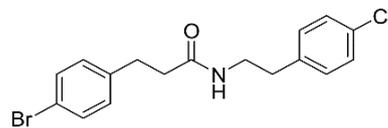
N-[2-(3,4-διμεθοξυφαινυλο)αιθυλο]-3-φαινυλο-ακρυλαμίδη (5)



N-[2-(4-βρωμοφαινυλο)αιθυλο]-3-(4-νιτροφαινυλο)-ακρυλαμίδη (6)



3-(4-νιτροφαινυλο)-N-[2-(4-νιτροφαινυλο)αιθυλο]-ακρυλαμίδη (7)



3-(4-βρωμοφαινυλο)-N-[2-(4-χλωροφαινυλο)αιθυλο]-προπιοναμίδη (8)

**Σχήμα 9.** Οι χημικές δομές των 8 κινναμωμικών παραγώγων.

Και τα 8 αμίδια παρουσίασαν σημαντική δυνατότητα αντιμετώπισης και παρεμπόδισης της ανάπτυξης του παρασίτου *Toxoplasma Gondii*. Ωστόσο, από όλες τις ενώσεις, εκείνες που έδωσαν τα ευνοϊκότερα αποτελέσματα ήταν οι ενώσεις 3 και 4. Οι ενώσεις 2 και 5 έδειξαν δραστηριότητα έναντι δύο στελεχών *S. aureus* (ATCC 25923 και LSA 88) σε συγκέντρωση 250 µg/mL. Μάλιστα ο συνδυασμός των τελευταίων ενώσεων με διάφορα αντιβιοτικά έχει αποδειχθεί πως επιφέρει ενισχυμένη θεραπευτική απόκριση σε σχέση με τη χρήση των αντιβιοτικών μόνων τους. Αυτός ο τύπος συνεργικής δράσης, είναι πολύ σημαντικός στον τομέα της αντιμικροβιακής θεραπείας, καθιστώντας αυτομάτως τις ενώσεις αυτές ως πιθανούς φαρμακολογικούς παράγοντες. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι αυτές οι κατηγορίες αναλόγων είναι πιθανοί φαρμακολογικοί παράγοντες. [16]

#### 1.4.3. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης έχει αναδειχθεί ως η πιο διαδεδομένη μεταβολική πάθηση, που συχνά αναφέρεται ως «σύγχρονη επιδημία», θέτοντας μια σημαντική παγκόσμια ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Πρόκειται για μία μη μεταδοτική ασθένεια, που οφείλεται στην ανεπαρκή παραγωγή ινσουλίνης από το πάγκρεας ή στην μη αποτελεσματική χρήση της παραγόμενης ινσουλίνης. Οι διαταραχές στον μεταβολισμό της γλυκόζης, αλλά και των λιπιδίων, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του διαβήτη. [16]

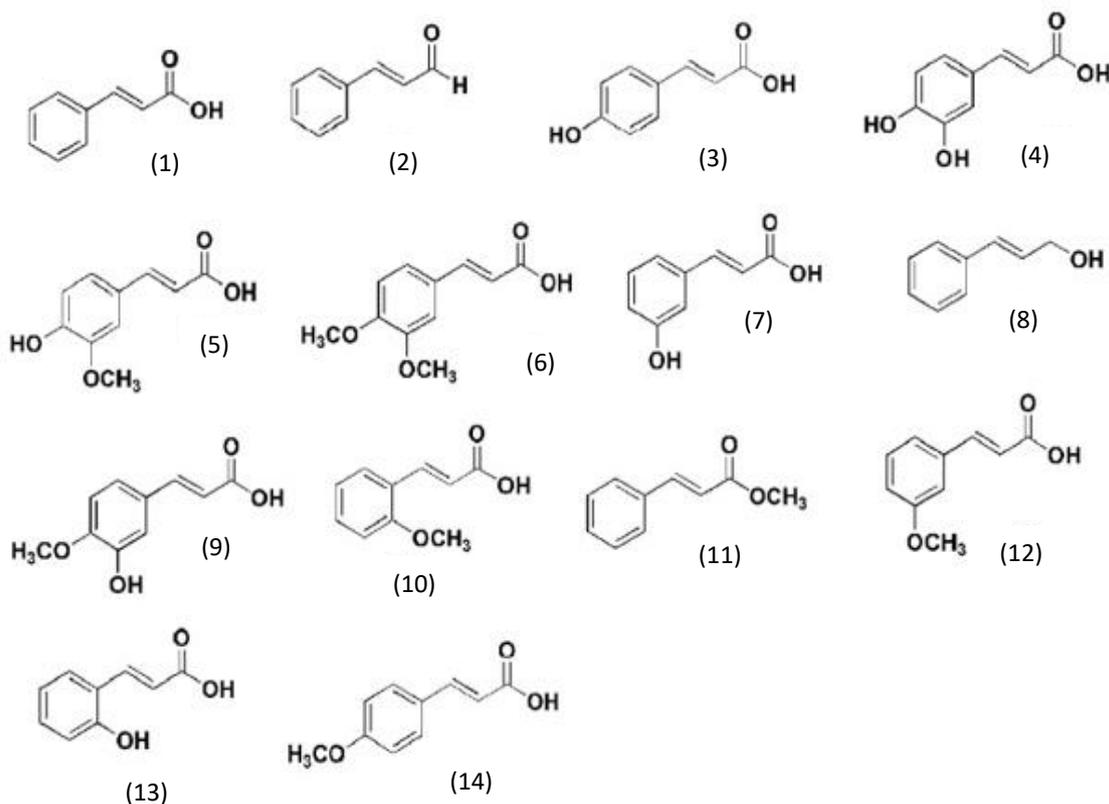
Η αντιδιαβητική επίδραση του κινναμωμικού οξέος και των παραγώγων του λειτουργεί μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως η διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης, η ενίσχυση της λειτουργίας των β-κυττάρων του παγκρέατος, η αναστολή της γλυκονεογένεσης, η προώθηση της πρόσληψης γλυκόζης, η επιβράδυνση της πέψης των υδατανθράκων, η απορρόφηση της γλυκόζης, και αναστολή της γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών και της ινσουλίνης. Η αντιοξειδωτική δράση αυτών των ενώσεων πηγάζει από την ικανότητά τους να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες με διάσπαση ατόμου υδρογόνου. [17]

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το p-CA βελτιώνει τα επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα, ρυθμίζει τα επίπεδα γλυκόζης, αποτρέπει την υπεροξειδωση των λιπιδίων και ενισχύει την αντιοξειδωτική κατάσταση σε αρουραίους με διαβήτη, που προκαλείται από στρεπτοζοτοκίνη. [16]

Η αδυναμία ρύθμισης της γλυκόζης στο αίμα προκαλεί επίσης πολλές επιπλοκές, όπως αγγειοπάθεια, αμφιβληστροειδοπάθεια και νευροπάθεια. Ένας από τους πολλούς τρόπους ρύθμισης της γλυκόζης στο αίμα ήταν η ανασταλτική δράση των παραγώγων κινναμωμικού οξέος στην Πρωτεϊνική Τυροσίνη Φωσφατάση 1B (PTP1B).

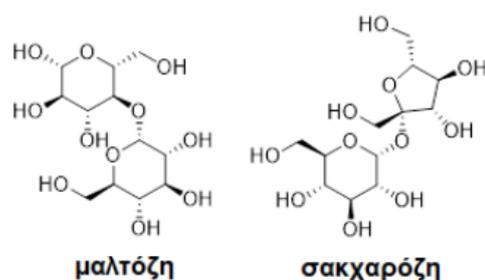
Μελέτες αναφέρουν την ικανότητα της ένωσης 5 να μειώνει τη γλυκόζη στο αίμα και να βελτιώνει τα επίπεδα ινσουλίνης. Επίσης, οι ενώσεις 13 και 8 ανέστειλαν την υδρόλυση p-NPP, που καταλύθηκε από την PTP1B με τιμές IC50 137,74 και 168,40 ηΜ. Για τι ίδιες ενώσεις, οι κινητικές μελέτες απέδειξαν ότι αποτελούν μη ανταγωνιστικούς αναστολείς, με την ικανότητα να αναπτύσσονται σε εξαιρετικά εκλεκτικούς αναστολείς PTP1B. Ως εκτούτου τα

παράγωγα κινναμωμικού οξέος μπορούν να διερευνηθούν περαιτέρω ως αναστολείς PTP1B, με σκοπό τη θεραπεία του διαβήτη. Τέλος, τα αποτελέσματα της δοκιμασίας δέσμευσης υποχλωρικού οξέος (HOCl) και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> έδειξαν ότι η ένωση 14 παρουσιάζει την αντιοξειδωτική ικανότητα να δεσμεύει ελεύθερες ρίζες και αντιδρώντα είδη, όπως το O<sub>2</sub><sup>-</sup> και το HOCl/OCl<sup>-</sup>, που προκαλούν βλάβη στα όργανα του σώματος. [2]



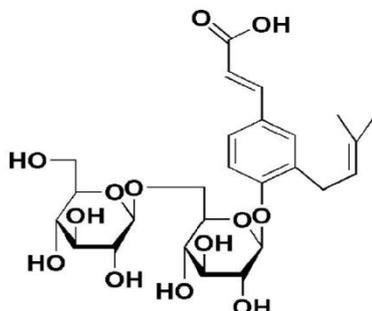
**Σχήμα 10.** Οι χημικές δομές κινναμωμικών οξέων με αντιδιαβητική δράση.

Στη συνέχεια, οι ενώσεις 1, 3-5, 7-10 και 12-13 αξιολογήθηκαν για την ανασταλτική τους δράση έναντι της εντερικής α-γλυκοσιδάσης (μαλτάση και σακχαρόζη), η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετατροπή γλυκόζης σε γλυκοπρωτεΐνες. Στην περίπτωση του διαβήτη η δραστηριότητά της είναι αυξημένη, συμβάλλοντας σε συσσώρευση υπερβολικού σακχάρου στον οργανισμό, οδηγώντας σε πολλά προβλήματα στα αιμοφόρα αγγεία και στα νεύρα. Έτσι λοιπόν, οι παραπάνω ενώσεις αποδείχθηκαν σημαντικές στον έλεγχο και την πρόληψη επιπλοκών, που σχετίζονται με τον διαβήτη.



**Σχήμα 11.** Οι χημικές δομές της μαλτόζης και της σακχαρόζης.

Επίσης, ερευνητές αξιολόγησαν την επίδραση της δισεκτουμόζιδης, ενός παραγώγου του κινναμωμικού οξέος, στη συσσώρευση τριγλυκεριδίων στα λιποκύτταρα 3T3-L1. Η ένωση εμφάνισε αντιδιαβητική δράση, που αποδίδεται στην ικανότητά της να μεταφέρει αποτελεσματικά τη γλυκόζη εντός των λιποκυττάρων και των τριγλυκεριδίων. [18]



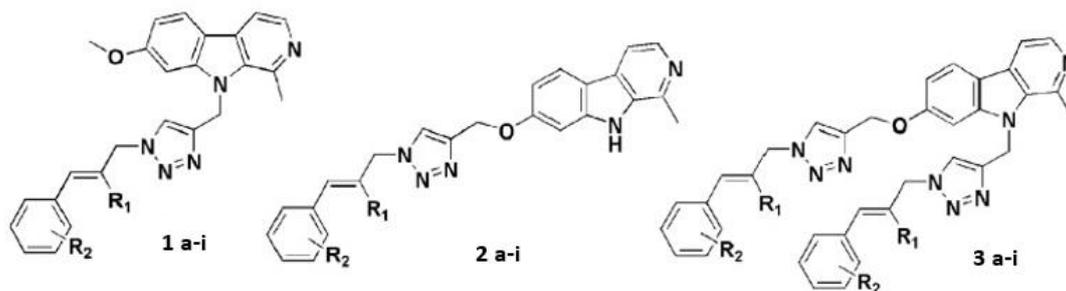
Σχήμα 12. Η χημική δομή της δισεκτουμόζης.

#### 1.4.4. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΠΑΡΑΣΙΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Τα παράσιτα αποτελούν σημαντική απειλή για την υγεία των ανθρώπων, καθώς ευθύνονται για σοβαρές ασθένειες με πλήθος αρνητικών επιπτώσεων, για εκατομμύρια ανθρώπους. [19] Αν και αρκετές θεραπείες έχουν αποδεχτεί αποτελεσματικές, κάποιες παρουσιάζουν σοβαρούς περιορισμούς, με αποτέλεσμα ορισμένες ασθένειες να χρήζουν άμεσης αναζήτησης θεραπευτικών παραγόντων. Για παράδειγμα, τα φάρμακα για ασθένειες όπως η λεισμανίαση και η νόσος Chagas έχουν περιορισμούς, όπως το υψηλό κόστος και σημαντικές ανεπιθύμητες παρενέργειες. Το κυριότερο όμως πρόβλημα και σε αυτή την περίπτωση, είναι η αυξανόμενη αντοχή, που παρουσιάζουν οι οργανισμοί στις ήδη υπάρχουσες θεραπείες, γεγονός που τις καθιστά ανεπαρκείς και αναποτελεσματικές. [20]

Τα προβλήματα που προκαλούν οι παρασιτικές ασθένειες, τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, έχουν στρέψει την επιστημονική κοινότητα στην αναζήτηση νέων θεραπειών, με παράγωγα κινναμωμικών οξέων. [2]

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε, συντέθηκαν υβρίδια χαρμίνης και κινναμωμικού οξέος (1a-3i) (Εικόνα 16) και αξιολογήθηκαν για την αντιπλασμοδιακή τους δράση, τόσο έναντι του ερυθροκυτταρικού σταδίου του *Plasmodium falciparum* (συμπεριλαμβανομένων των ευαίσθητων στη χλωροκίνη στελεχών Pf3D7 και ανθεκτικών στη χλωροκίνη στελεχών PfDd2), όσο και του ηπατικού σταδίου του *P. berghei*. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως οι πιο δραστικές, έναντι του στελεχούς Pf3D7, ενώσεις ήταν οι 2c, 2g, 2h και 3b, ενώ η 3b παρουσίαζε τη μεγαλύτερη δραστικότητα και έναντι του PfDd2.



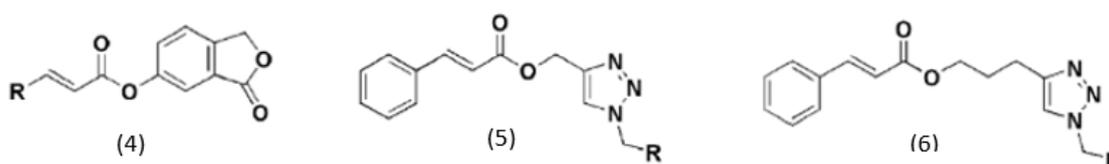
1, 2, 3	a	b	c	d	e	f	g	h	i
R <sub>1</sub>	H	H	H	H	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>
R <sub>2</sub>	H	p-OCH <sub>3</sub>		m-F	p-F	m-F p-F	p-Cl	m-Br	H

**Σχήμα 13.** Οι χημικές δομές των υβριδίων χαρμίνης-κινναμωμικού οξέος.

Η σειρά δραστηριότητας των ενώσεων ήταν  $2 > 3 > 1$ , εκτός από την υποκατεστημένη σειρά p-OCH<sub>3</sub>, στην οποία το 37b αποδείχθηκε η πιο δραστική ένωση. Για τις σειρές 1 και 3, ο όγκος του R<sub>2</sub> ενίσχυσε την αντιπλασμοδική τους δράση *in vitro*. Η αντικατάσταση του υδρογόνου με φθόριο στις θέσεις m- και p- του δακτυλίου κινναμωμικού οξέος είχε ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της αντιπλασμοδικής δράσης των ενώσεων των σειρών 1 και 2, αλλά όχι της 3.

Συμπερασματικά, η σύζευξη χαρμίνης με παράγωγα κινναμωμικού οξέος μέσω τριαζόλης, παρήγαγε υβρίδια με εξαιρετική αντιπλασμοδική δράση στα ερυθροκυτταρικά και ηπατικά στάδια της λοίμωξης από *Plasmodium*.

Επίσης, σε άλλη έρευνα μελετήθηκαν οι ενώσεις 4a-6d για την αντιλεισμνοκτόνο δράση τους.

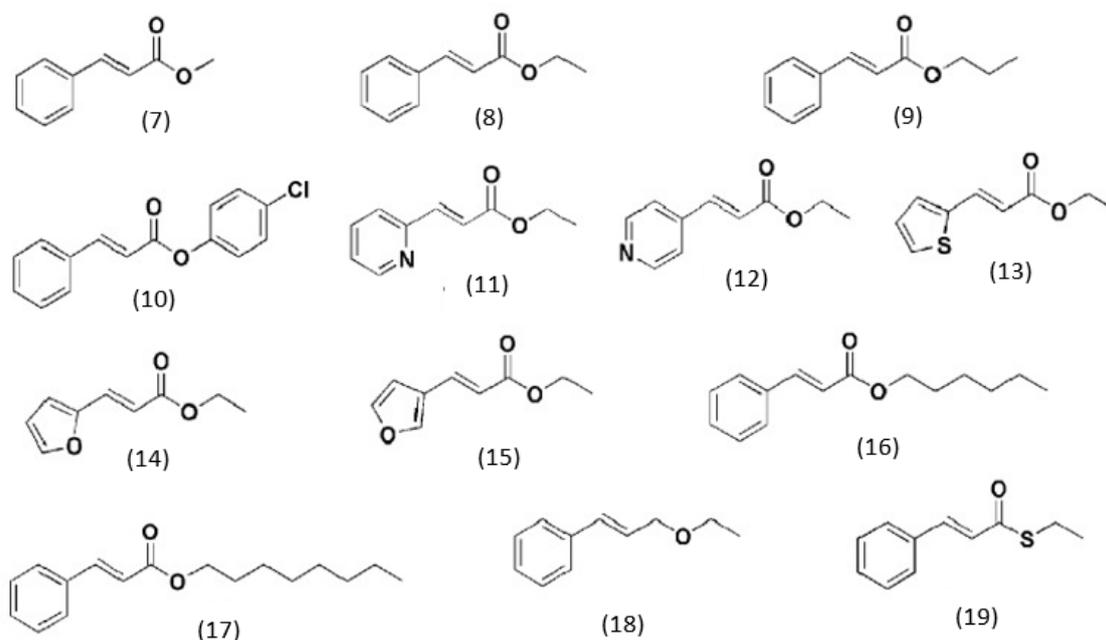


- |                               |                              |                                |
|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| 4a) R=4-φθοροφαινύλιο         | 5a) R=φαινύλιο               | 6a) R=4-βρωμοφαινύλιο          |
| 4b) R=3,4,5-τριμεθοξυφαινύλιο | 5b) R=3,4-διφθοροφαινύλιο    | 6b) R=4-φθοροφαινύλιο          |
| 4c) R=4-νιτροφαινύλιο         | 5c) R=4-φθοροφαινύλιο        | 6c) R=4-τριφθορομεθυλοφαινύλιο |
| 4d) R=βρωμοφαινύλιο           | 5d) R=2,4,6-τριχλωροφαινύλιο | 6d) R=2-φθοροφαινύλιο          |

**Σχήμα 14.** Οι χημικές δομές των ενώσεων με αντιλεισμνοκτόνο δράση .

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παρουσία μίας ομάδας, που έλκει ηλεκτρόνια στον φαινυλικό δακτύλιο, ενίσχυε τη δράση αυτή. Συνεπώς, η αλογόνωση του φαινυλικού δακτυλίου της τριαζόλης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντι-λεισμανοκτόνο δράση των ενώσεων, ενισχυοντας το ενδιαφέρον για περισσότερες μελέτες, με σκοπό τη δημιουργία νέων αποτελεσματικότερων αντιλεισμανοκτόνων φαρμάκων.

Τέλος, μία σειρά, κινναμωμικών παραγώγων, που περιελάμβαναν θειολεστέρες, εστέρες, κετόνες, αμίδια και ανάλογα με ετεροαρωματικό δακτύλιο (ενώσεις 7-19), συντέθηκαν και αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητά τους έναντι του *Psoroptes cuniculi*, ενός ακάρεου του αυτιού.



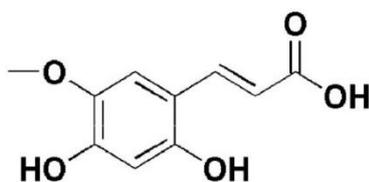
**Σχήμα 15.** Οι χημικές δομές των ενώσεων, που αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητά τους έναντι του *Psoroptes cuniculi*.

Η βιολογική δραστηριότητα των κινναμωμικών εστέρων (7-10), διέφερε αρκετά εξαιτίας του μήκους της αλυσίδας, του τύπου της αλκυλομάδας και του βαθμού διακλάδωσης. Πιο συγκεκριμένα, η στερική παρεμπόδιση κοντά στην εστερική ομάδα οδήγησε σε μείωση της δραστηριότητας της ένωσης. Από τη σύγκριση των ενώσεων 8 και 18, προκύπτει πως η μετατροπή ενός καρβονυλίου της εστερικής ομάδας σε μια ομάδα μεθυλενίου μειώνει σημαντικά τη δραστηριότητα, όπως και η υποκατάσταση του εστέρα (8) με θειολεστέρα (19). Αντιθέτως, η αντικατάσταση της ομάδας φαινυλίου (18) με 2-πυριδινύλιο (11) ή 2-φουρανύλιο (14) ενισχύει τη δραστηριότητα. Από τη συγκεκριμένη μελέτη, δραστηκότερες αποδείχθηκαν οι ενώσεις 8, 11, 13 και 14.

#### 1.4.5. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

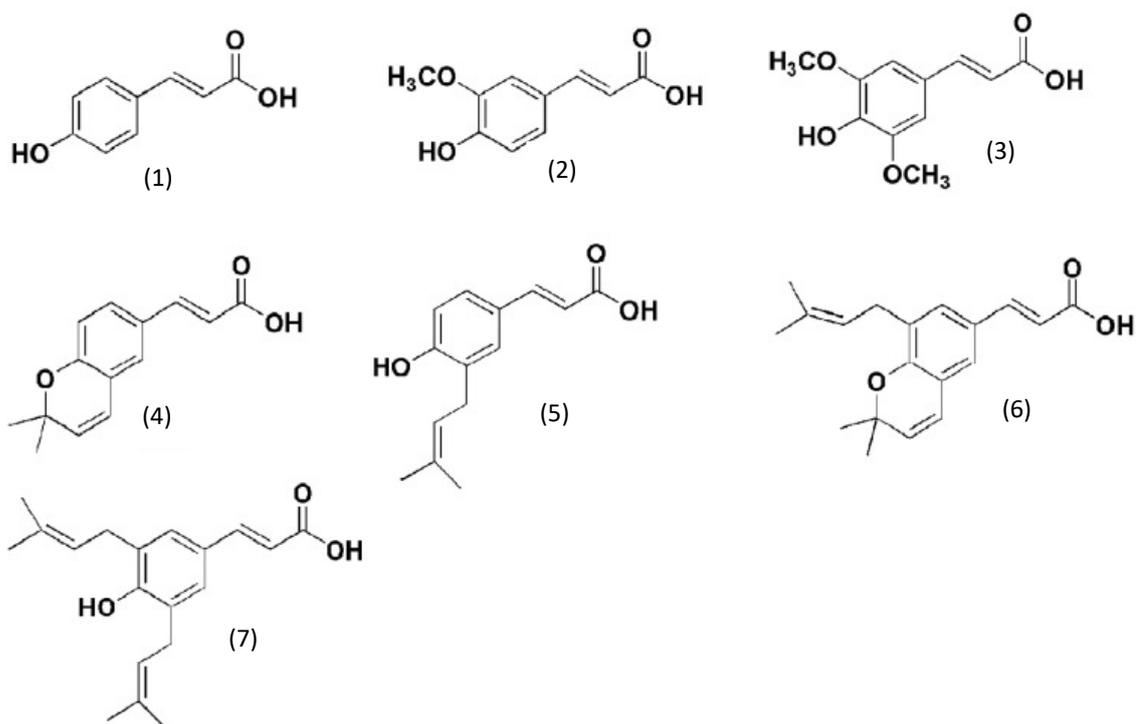
Οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού, παρ'όλα αυτά η υπερβολική παραγωγή τους μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ελεύθερων ριζών. Η συσσώρευση ελεύθερων ριζών δύναται να βλάψει τις μεμβράνες, να προκαλέσει εγκοπές στο DNA και να οδηγήσει σε άλλους οξειδωτικούς τραυματισμούς, προκαλώντας σοβαρές ζημιές στα κύτταρα και συμβάλλοντας στην καρκινογένεση. [2] Οι φαινολικές ενώσεις είναι ευρέως αναγνωρισμένες για τις ισχυρές αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, οι οποίες αποδίδονται στο υψηλό δυναμικό οξειδοαναγωγής τους. Μεταξύ των κοινών φαινολικών ενώσεων τα υδροξυκινναμωμικά οξέα ξεχωρίζουν για την αξιοσημείωτη αντιοξειδωτική τους δράση. [14]

Μία νέα βιοδραστική ένωση από το φυτό *Viola betonicifolia*, μελετήθηκε και αξιολογήθηκε για την αντιοξειδωτική της δράση. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η ένωση του σχήματος 16 παρουσιάζει τη δυνατότητα να δεσμεύει ελεύθερες ρίζες και μάλιστα με τιμή IC50 ελαφρώς υψηλότερη από τα κοινά αντιοξειδωτικά, όπως η α-τοκοφερόλη και η βιταμίνη C. [21]



**Σχήμα 16.** Η χημική δομή της βιοδραστικής ένωσης του φυτού *Viola betonicifolia*.

Για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες μελετήθηκαν και οι ενώσεις 1-7. Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης ενός αντιοξειδωτικού φαινόλης με λιπιδικές ρίζες σχηματίζονται ρίζες φαινοξυλίου, οι οποίες σταθεροποιούνται από ασύζευκτα ηλεκτρόνια, που αποεντοπίζονται γύρω από τον αρωματικό δακτύλιο. Η αντικατάσταση των ατόμων υδρογόνου στη θέση -ορθο με ομάδες πρενυλίου, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του τμήματος -OH, ενισχύοντας την αντιδραστικότητά του προς τις λιπιδικές ρίζες. Για το λόγο αυτό, οι ενώσεις 5 και 6 εμφάνισαν υψηλότερη δραστηριότητα σε σύγκριση με την ένωση 1. Ωστόσο, παρατηρήθηκε πως η αλλαγή της φαινολικής δομής στις ενώσεις 4 και 6 είχε ως αποτέλεσμα την απώλεια της αντιοξειδωτικής δράσης, εξαιτίας της απουσίας μιας ομάδας δότη υδρογόνου. [22]

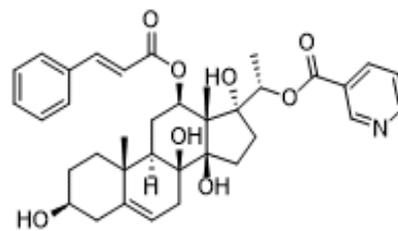


**Σχήμα 17.** Οι χημικές δομές των ενώσεων, που μελετήθηκαν για την αντιοξειδωτική τους δράση.

Επίσης, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε αρουραίους, βρέθηκε πως το καφεϊκό οξύ παρουσιάζει ευεργετικά αποτελέσματα κατά του οξειδωτικού στρες, καθώς αυξάνει ιδιαίτερα τη δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης, της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, ενώ ταυτόχρονα μειώνει τα επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των δραστικών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος στα ερυθροκύτταρα και το ήπαρ των ποντικών. [23]

Σε έρευνα σχετικά με τις ιδιότητες του ροσμαρινικού οξέος, αποδείχθηκε πως παρουσιάζει υψηλή αντιοξειδωτική δράση, ξεπερνώντας μάλιστα την αντίστοιχη του ασκορβικού οξέος, το οποίο αποτελεί ένα από τα πιο γνωστά φυσικά αντιοξειδωτικά. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι η παρουσία μιας ορθο-διυδροξυ-φαινυλικής ομάδας είναι πολύ σημαντική για την αποτελεσματική αντιοξειδωτική δράση, ενώ το αποτέλεσμα αυτό ενισχύεται και από την παρουσία ενός συζευγμένου διπλού δεσμού στην ανθρακική αλυσίδα C3. Επίσης, επιδεικνύει σημαντική αναστολή του ενδοκυτταρικού σχηματισμού υπεροξειδίου του υδρογόνου σε διαφοροποιημένα κύτταρα HL-60, υποδεικνύοντας την ισχυρή αντιοξειδωτική του δράση σε βιολογικά συστήματα. [24]

Για τη διερεύνηση της σχέσης δομής-δραστικότητας, που σχετίζονται με τις αντιοξειδωτικές επιδράσεις της γκαγκαμίνης, ενός στεροειδούς αλκαλοειδούς που απομονώθηκε από τις ρίζες *Cynanchum wilfordi*, συντέθηκαν και μελετήθηκαν δύο παράγωγα, γνωστά ως σαρκοσίνη και πενουπογενίνη, μέσω υδρόλυσης και αναγωγής της γκαγκαμίνης. Τα ευρήματα της μελέτης υπογραμμίζουν της σημασία της ομάδας κινναμοϋλίου στη δομή της, η οποία αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την αναστολή της δραστηριότητας της οξειδάσης της αλδεΐδης, ενζύμου υπεύθυνου για τη δημιουργία ελεύθερων δραστικών ριζών (ROS). [25]



Σχήμα 18. Η χημική δομή της γκαγκαμίνης.

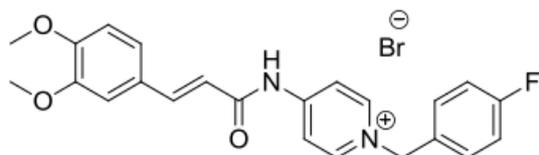
#### 1.4.6. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ALZHEIMER

Η νόσος Alzheimer (AD) αποτελεί μια θανατηφόρα νευροεκφυλιστική κατάσταση, που χαρακτηρίζεται από γνωστική εξασθένηση, απώλεια γλωσσικών δεξιοτήτων και άνοια. Οι τρέχουσες εκτιμήσεις της νόσου δείχνουν ότι η άνοια επηρεάζει πάνω από 50 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως, με τις προβλέψεις να υποδεικνύουν τριπλασιασμό των περιπτώσεων AD έως το 2050. Διάφοροι παράγοντες όπως οι εναποθέσεις νευροτοξικής πρωτεΐνης αμυλοειδούς-β (Aβ), τα μειωμένα επίπεδα μεθοδοιοχολίνης (ACh), η συσσώρευση τ-πρωτεΐνης, οι διαταραχές στη βιομεταλλική ισορροπία, όπως ο υπερβολικός ή ανεπαρκής εφοδιασμός ορισμένων μετάλλων στον οργανισμό και το οξειδωτικό στρες, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.

Οι τρέχουσες θεραπευτικές επιλογές για την AD περιλαμβάνουν έναν συνδυασμό ενός ανταγωνιστή του υποδοχέα N-μεθυλ- $\bar{u}$ -ασπαρτικού (NMDA) και τριών αναστολέων της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE). Πιο συγκεκριμένα, τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται είναι η μεμαντίνη, ως ανταγωνιστής του υποδοχέα NMDA και η donepezil, η ριβαστιγμίνη και η γκαλανταμίνη, ως αναστολείς της AChE. Ωστόσο, αυτά τα φάρμακα παρέχουν μέτρια ανακούφιση από τα συμπτώματα και δεν προσφέρουν θεραπεία για εγκεφαλική βλάβη ή την ικανότητα να σταματήσει ο εκφυλισμός των νευρώνων. [26], [27]

Αντιθέτως, επιστημονικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα παράγωγα κινναμωμικού οξέος διαθέτουν νευροπροστατευτικές ιδιότητες, ενθαρρύνοντας τη συνεχή έρευνα και διερεύνηση πιο αποτελεσματικών νευροπροστατευτικών παραγόντων, που παράγονται από το κινναμωμικό οξύ, με την ελπίδα ότι αυτή η κατεύθυνση έρευνας θα οδηγήσει σε πιο αποτελεσματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. [17]

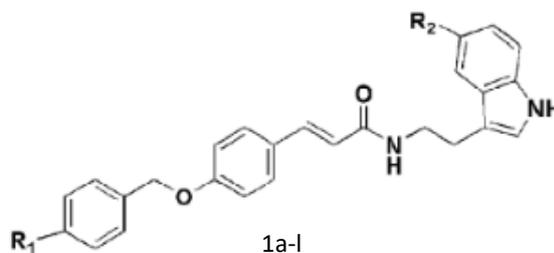
Σε μία μελέτη για την αντιμετώπιση της νόσου του Alzheimer, συντέθηκαν νέα παράγωγα κινναμωμικού οξέος που φέρουν τμήμα N-βενζυλοπυριδινίου και αξιολογήθηκαν ως πολυλειτουργικοί αναστολείς της χολινεστεράσης έναντι της AD. Μεταξύ των συντιθέμενων ενώσεων, τα περισσότερα παράγωγα εμφάνισαν ισχυρή ανασταλτική δράση της AChE και υψηλή εκλεκτικότητα για την AChE έναντι της BuChE. Η ένωση του σχήματος 19 εμφάνισε νευροπροστατευτική δράση, αποδείχτηκε με πειράματα *in vitro* και *ex vivo* ότι διεισδύει στον



**Σχήμα 19.** Η χημική δομή της ένωσης, που δρα ως αναστολέας χολινεστεράσων.

εγκέφαλο και παρουσίασε διπλή ανασταλτική δράση και στα δύο είδη χολινεστεράσων (AChE και BuChE). Συμπερασματικά, αυτή η ένωση θα μπορούσε να αναγνωριστεί ως ένας καινοτόμος πολυλειτουργικός αναστολέας της χολινεστεράσης και να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της νόσου. [26]

Επίσης, σε άλλη έρευνα συντέθηκαν υβρίδια κινναμωμικού οξέος-τρυπταμίνης και μελετήθηκε *in vitro* η ανασταλτική τους δράση έναντι της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) και της βουτυρυλοχολινεστεράσης (BChE), η οποία συγκρίθηκε με την αντίστοιχη της ντονεπεζίλης (φάρμακο αναφοράς). Δομικά, οι ενώσεις κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο σειρές: μη υποκατεστημένα παράγωγα τρυπταμίνης 1a–f και παράγωγα 5-μεθοξυτρυπταμίνης 1g–l.



**Σχήμα 20.** Η γενική δομή του υβριδίου κινναμωμικού οξέος-τρυπταμίνης.

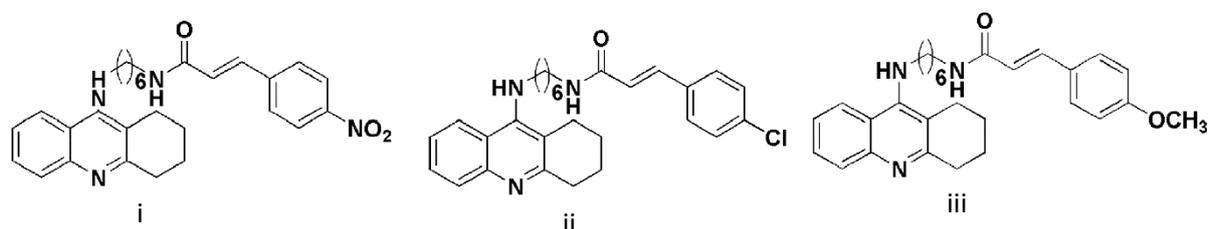
Οι συντιθέμενες ενώσεις εμφάνισαν μέτρια ανασταλτική δράση της AChE, με τιμές IC<sub>50</sub> που κυμαίνονται από 13,42 ± 1,19 έως 39,1 ± 2,37 μM, σε σύγκριση με τη ντονεπεζίλη (IC<sub>50</sub> = 0,027 ± 0,0013 μM). Ωστόσο, όλες οι συντιθέμενες ενώσεις, εκτός από τις 1b και 1k, εμφάνισαν ισχυρότερη ανασταλτική δράση της BChE σε σύγκριση με τη ντονεπεζίλη (IC<sub>50</sub> = 7,79 ± 0,81 μM). Πιο αναλυτικά, μεταξύ των μη υποκατεστημένων παραγώγων τρυπταμίνης 1a–f, η ένωση 1a εμφάνισε την υψηλότερη ανασταλτική δράση της AChE. Όσον αφορά την αναστολή της BChE, οι ενώσεις 1c και 1d εμφάνισαν την πιο ισχυρή δράση. Στη σειρά των παραγώγων 5-μεθοξυτρυπταμίνης, αποδείχθηκε πως οι ενώσεις με υποκαταστάτες που αποσπούν ηλεκτρόνια (4-χλωρό, 4-νιτρο και 4-φθόριο) έδειξαν ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι της BChE.

Οι συγκρίσεις των τιμών IC<sub>50</sub> μεταξύ των μη υποκατεστημένων παραγώγων τρυπταμίνης και των παραγώγων 5-μεθοξυτρυπταμίνης, αποκάλυψαν ότι ισχυρότερη ανασταλτική δράση έναντι της AChE, εμφάνισε η τελευταία κατηγορία ενώσεων, ενώ τα μη υποκατεστημένα παράγωγα τρυπταμίνης εμφάνισαν ισχυρότερη δράση έναντι της BChE, με εξαίρεση το 4-φθοροπαράγωγο. [28]

**Πίνακας 1.** Συνοπτικός πίνακας της ανασταλτικής δράσης της χολινεργικής IC50 (μM) των ενώσεων 1a-1l.

Ένωση	R1	R2	AChE	BChE
1a	H	H	14,93	2,12
1b	F	H	32,17	9,36
1c	Cl	H	24,70	0,89
1d	NO <sub>2</sub>	H	34,49	0,55
1e	CH <sub>3</sub>	H	39,10	7,73
1f	OCH <sub>3</sub>	H	34,95	2,51
1g	H	OCH <sub>3</sub>	14,18	6,63
1h	F	OCH <sub>3</sub>	29,67	5,89
1i	Cl	OCH <sub>3</sub>	13,42	2,86
1j	NO <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	31,45	4,28
1k	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	31,85	12,25
1l	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	25,11	7,69
Ντονεpezίλη			0,027	7,79

Τέλος, συντέθηκαν νέα υβριδικά παράγωγα τακρίνης-κινναμωμικού οξέος και μελετήθηκαν ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες για τη νόσο του Αλτσχάμερ, αξιολογώντας τις ανασταλτικές τους ιδιότητες έναντι της χολινεστεράσης. Οι τρεις ενώσεις, που αποδείχθηκαν ικανοί αναστολείς των AChE και BuChE, παριστάνονται στο σχήμα 21.



**Σχήμα 21.** Οι χημικές δομές των παραγώγων τακρίνης-κινναμωμικού οξέος.

Οι τιμές IC<sub>50</sub> για αυτές τις ενώσεις στην AChE και BuChE προσδιορίστηκαν: 10,2 nM και 6,3 nM για την ένωση 21(i), 16,5 nM και 5,7 nM για την 21(ii), και 15,7 nM και 8,0 nM για την ένωση 21 (iii). [29]

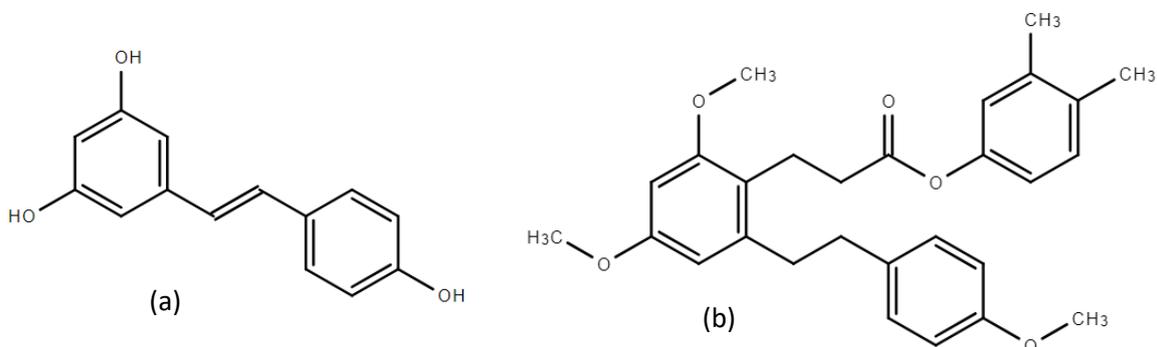
#### 1.4.7. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΔΡΑΣΗ

Η φλεγμονή αποτελεί μία φυσιολογική ανοσοαπόκριση έναντι πολλών ερεθισμάτων, όπως τραυματισμό ή μόλυνση, με στόχο την εξάλειψη των επιβλαβών παραγόντων και την αποκατάσταση της ομοιόστασης των ιστών. Η κλινική θεραπεία περιλαμβάνει συνήθως στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (SAIDs) και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ). Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) έχουν θεωρηθεί ως ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα για την ανακούφιση του πόνου, του πυρετού καθώς και των φλεγμονών. Ωστόσο, συνοδεύονται συχνά από σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη νέων θεραπευτικών παραγόντων με βελτιωμένα φαρμακευτικά προφίλ είναι πλέον επείγουσα ανάγκη. [30], [31]

Η αντιφλεγμονώδης δράση του κινναμωμικού οξέος, που έχει παρατηρηθεί, προσελκύει το ενδιαφέρον για την ενσωμάτωσή του στον σχεδιασμό αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Πράγματι, τα συνθετικά παράγωγα κινναμωμικού οξέος, αξιοποιώντας την προνομιακή δομή και την ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση του τμήματος κινναμουλίου, παρουσίασαν βελτιωμένη αποτελεσματικότητα. Ερευνητές έχουν συνθέσει με επιτυχία υβρίδια κινναμωμικού οξέος με άλλες ενώσεις, με αποτέλεσμα την επίτευξη ενισχυμένων αντιφλεγμονωδών αποτελεσμάτων σε σύγκριση με τ' αντίστοιχα μεμονωμένα συστατικά.

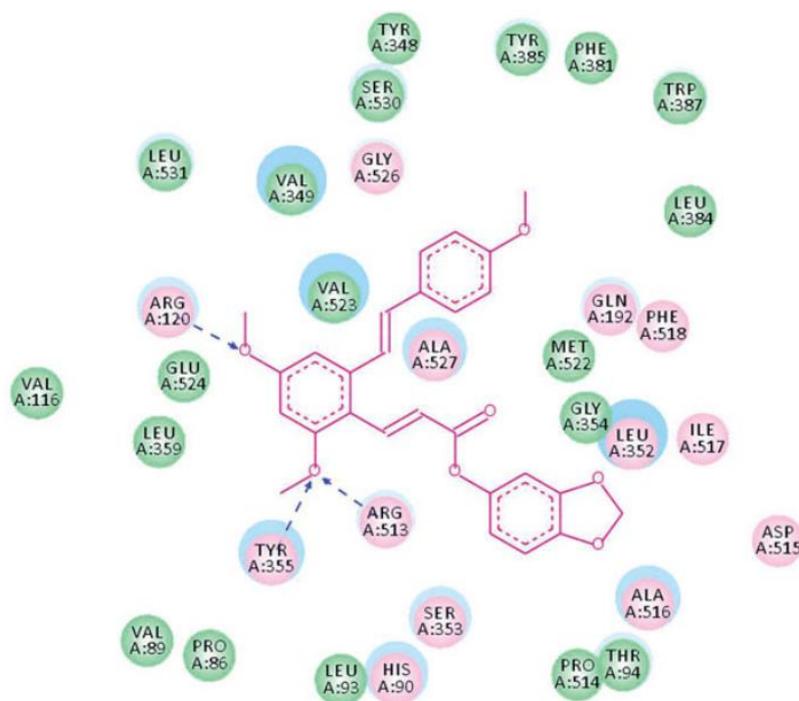
Η επαγωγίμη συνθάση μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) και η κυκλοοξυγονάση-2 (COX-2) είναι βασικές προφλεγμονώδεις πρωτεΐνες, οι οποίες σχετίζονται με τη σύνθεση του NO και του PGE<sub>2</sub>, αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια των φλεγμονωδών αποκρίσεων, τόσο το iNOS όσο και το COX-2 υπερεκφράζονται, συμβάλλοντας στη φλεγμονώδη διαδικασία. [30]

Σε μελέτη που διεξήχθη, σχεδιάστηκε, συντέθηκε και αξιολογήθηκε μια νέα σειρά υβριδίων κινναμωμικού εστέρα και ρεσβερατρόλης. Στη συγκεκριμένη μελέτη, κύτταρα της σειράς RAW264.7 εκτέθηκαν σε λιποπολυσακχαρίτη (LPS=συστατικό της εξωτερικής μεμβράνης αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, που επάγουν φλεγμονώδη απόκριση), με σκοπό την προσομοίωση μιας φλεγμονώδους απόκρισης. Μεταξύ των συντιθέμενων ενώσεων, η ένωση b του σχήματος 22, αποδείχθηκε ότι παρουσίασε την ισχυρότερη καταστολή παραγωγής NO στα κύτταρα.



**Σχήμα 22.** (a) Η χημική δομή της ρεσβερατρόλης (b) Η χημική δομή της ένωσης με την ισχυρότερη καταστολή παραγωγής NO στα κύτταρα.

Η μοριακή μοντελοποίηση, που πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Discovery Studio 2017, έδειξε ισχυρή σύνδεση της ένωσης (b) στη θέση δέσμευσης COX-2, με ενέργεια δέσμευσης -43,35 kcal/mol. Το μοντέλο αναφέρει τον σχηματισμό υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μεταξύ της ένωσης και του COX-2. Επίσης, οι δύο μεθοξυ-ομάδες του Α-δακτυλίου της ρεσβερατρόλης σχηματίζουν τρεις αλληλεπιδράσεις δεσμού υδρογόνου με τα αμινοξέα ARG120, TYR355 και ARG513.

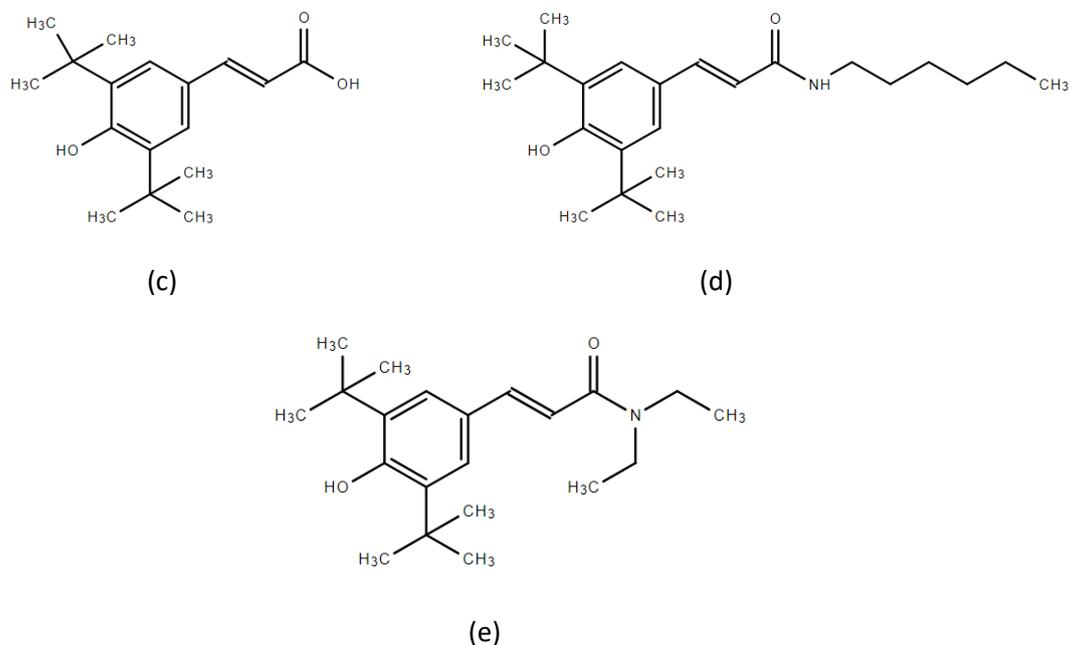


**Εικόνα 1.** Η μοριακή πρόσδεση της ένωσης 25(b) στο ενεργό κέντρο του COX-2.

Συνοπτικά, η ένωση 25(b) θα μπορούσε δυνητικά να δράσει ως αναστολέας της COX-2 μέσω μιας συνεργιστικής δράσης, εντείνοντας το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας σε περαιτέρω έρευνες, με σκοπό τη βελτιστοποίηση αντιφλεγμονώδων φαρμάκων, που βασίζονται στη ρεσβερατρόλη. [31]

Σε γενικές γραμμές, οι αναστολείς COX μπορούν να συντελέσουν στη μείωση των φλεγμονωδών συμπτωμάτων και του πόνου. Ωστόσο, αν και ορισμένοι από αυτούς σε κλινική χρήση φαίνεται να είναι εξαιρετικά ισχυροί, δεν είναι λίγες οι φορές, κατά τις οποίες είναι υπαίτιοι πολλών ανεπιθύμητων παρενεργειών.

Σε άλλη έρευνα, που πραγματοποιήθηκε, σχεδιάστηκαν και συντέθηκαν νέα κινναμωμικά παράγωγα, τα οποία στη συνέχεια αξιολογήθηκαν στο ανθρώπινο αίμα για την ανασταλτική τους δράση έναντι των ενζύμων COX-1 και COX-2.



**Σχήμα 23.** Οι χημικές δομές των ενώσεων, που αξιολογήθηκαν για την ανασταλτική τους δράση έναντι των COX-1 και COX-2.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παρουσία φαινολικών ομάδων διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αναστολή, τόσο της COX-1 όσο και της COX-2. Παράλληλα, παρατηρήθηκε πως η προσθήκη ογκώδων υδρόφοβων δι-τριτυλο-βουτυλικών ομάδων στον φαινυλικό δακτύλιο συντελεί στην εκλεκτική αναστολή της COX-2.

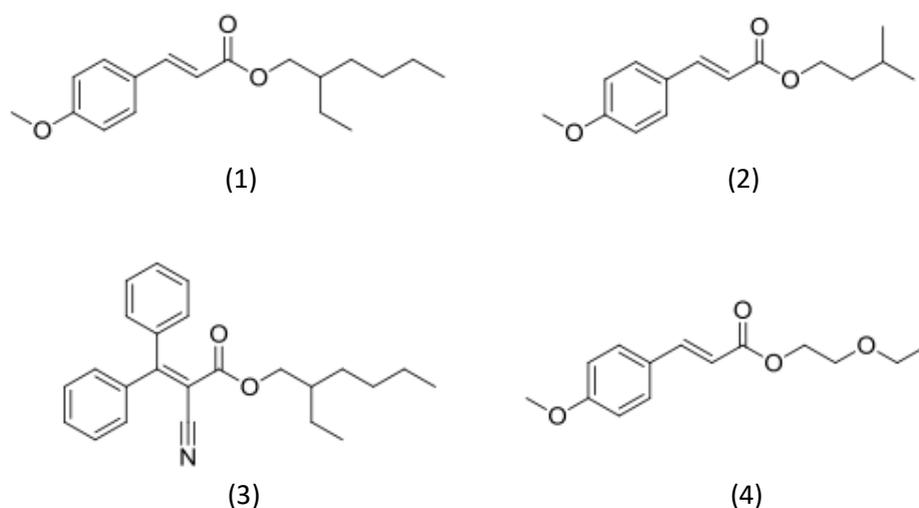
Τελικά, οι ενώσεις 23 (c), 23 (d) και 23 (d) αποδείχθηκαν εκλεκτικοί αναστολείς COX-2, με τιμές IC<sub>50</sub>:  $3,0 \pm 0,3 \mu\text{M}$ ,  $2,4 \pm 0,6 \mu\text{M}$  και  $1,09 \pm 0,09 \mu\text{M}$ , αντίστοιχα, γεγονός που τις καθιστά ελπιδοφόρα σημεία εκκίνησης για περαιτέρω βελτιστοποίηση ως μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα. [32]

#### 1.4.8. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ UV-ΠΡΟΣΤΕΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ευθύνεται, τόσο για οξείες όσο και για χρόνιες παθήσεις του δέρματος, όπως εγκαύματα, ερυθρισμό, πρόωρη γήρανση, φωτοδερματώσεις, ανοσοκαταστολή και καρκινογένεση. Για το λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια, έχει προκληθεί παγκόσμια ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Όπως γίνεται αντιληπτό, η προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία, κατά την έκθεση στον ήλιο, είναι ζωτικής σημασίας. [33]

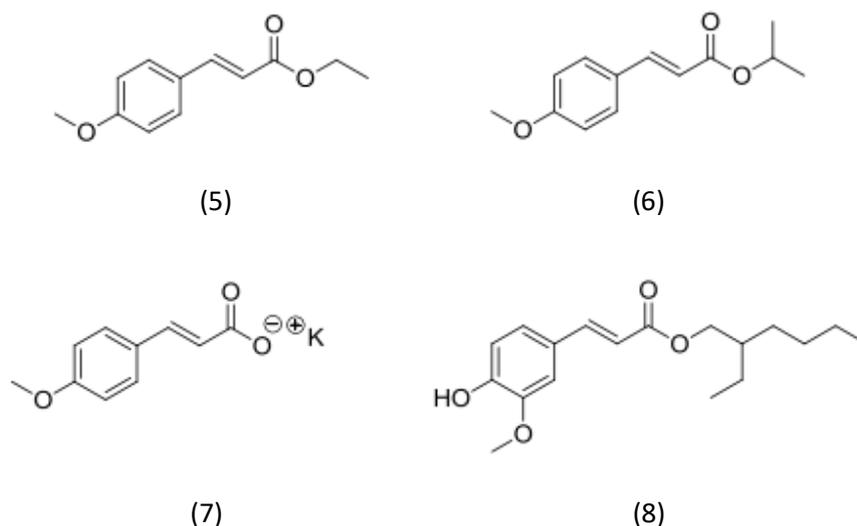
Η προστασία αυτή επιτυγχάνεται μέσω δύο κατηγοριών ενώσεων: τα φίλτρα UV και τους απορροφητές UV. Τα φίλτρα UV είναι ουσίες, που φιλτράρουν ορισμένες ακτίνες υπεριώδους ακτινοβολίας, με σκοπό την προστασία του δέρματος και των μαλλιών. Ενώ, οι απορροφητές UV χρησιμοποιούνται για την προστασία των καλλυντικών προϊόντων από την υπεριώδη ακτινοβολία.

Τα παράγωγα κινναμωμικού οξέος, που χρησιμοποιούνται ευρέως σε καλλυντικά προϊόντα και αντηλιακά ως UV φίλτρα, είναι: ο p-μεθοξυ-κινναμωμικός αιθυλεξυλεστέρας (οκτινοξάτη) (ένωση 1, σχήμα 24), ο P-μεθοξυ-κινναμωμικός ισοαμυλεστέρας (αμιλοξάτη) (ένωση 2, σχήμα 24), το οκτοκυρλένιο (ένωση 3, σχήμα 24) και η κινόξάτη (ένωση 4, σχήμα 24).



**Σχήμα 24.** Οι χημικές δομές των κινναμωμικών παραγώγων, που χρησιμοποιούνται ως UV-φίλτρα.

Επιπλέον, γνωστά κινναμωμικά παράγωγα, που χρησιμοποιούνται ως UV-απορροφητές αποτελούν τα προαναφερθέντα UV-φίλτρα, καθώς επίσης και κάποιες άλλες ενώσεις όπως ο p-μεθοξυ-κινναμωμικός αιθυλεστέρας (ένωση 5, σχήμα 25), ο p-μεθοξυ-κινναμωμικός ισοπροπυλεστέρας (ένωση 6, σχήμα 25), το μετά καλίου άλας του p-μεθοξυ-κινναμωμικού οξέος (ένωση 7, σχήμα 25) και ο 2-αιθυλεξυλεστέρας του φερουλικού οξέος (ένωση 8, σχήμα 25). [33], [34]



**Σχήμα 25.** Η χημική δομή των κινναμωμικών παραγώγων, που χρησιμοποιούνται ως UV-απορροφητές.

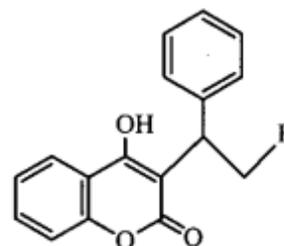
Ο συνδυασμός κάποιων από τις παραπάνω ενώσεις μεταξύ τους έδειξε συνεργική δράση, σε ορισμένες περιπτώσεις, αυξάνοντας έτσι τον παράγοντα αντηλιακής οριστασίας (SPF). Ωστόσο, η σταθερότητα και η τοξικότητα είναι δύο σημαντικοί, αλλά αμφισβητήσιμοι παράμετροι, που χρήζουν άμεσης διερεύνησης.

#### 1.4.9. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΟΥ HIV

Το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (AIDS), που προκαλείται από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), οδηγεί σε σοβαρές λοιμώξεις και κακοήθειες. Ο ιός καταστρέφει και βλάπτει το ανοσοποιητικό σύστημα, καθιστώντας τον οργανισμό ανίκανο να καταπολεμήσει αποτελεσματικά τις λοιμώξεις. Οι συμβατικές θεραπείες είναι συχνά δαπανηρές, στρέφοντας τους ερευνητές στην εξερεύνηση εναλλακτικών θεραπειών. [35]

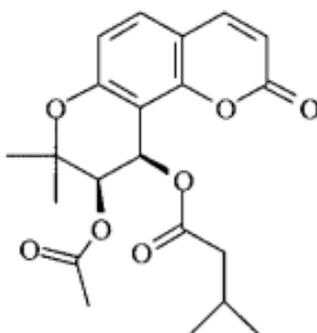
Η πρωτεάση HIV-1 έχει αναδειχθεί ως ένα κρίσιμο ένζυμο-στόχος στην έρευνα για το AIDS και τα ημισυνθετικά αντιπηκτικά, όπως η βαρφαρίνη και η φαινπροκουμόνη επέδειξαν ισχυρή αναστολή. Αυτές οι ενώσεις λειτουργούν ως ανταγωνιστικοί αναστολείς της πρωτεάσης HIV-1, με την ομάδα πυραν-2-όνη, την ομάδα 4 υδροξυλίου και τον υποκαταστάτη στη θέση 3 να αναγνωρίζονται ως απαραίτητα στοιχεία για αυτή τους τη δράση.

Επιπλέον, οι κουμαρίνες χελακτόνης, μία υποκατηγορία της οικογένειας των κουμαρινών, είναι αξιοσημείωτες για τις ποικίλες βιολογικές δράσεις, μία εκ των οποίων είναι και αυτή κατά του HIV. Σημαντική εκπρόσωπος της κατηγορίας είναι η σουκντορφίνη, η οποία απομονώθηκε από το μεθανολικό εκχύλισμα *Lomatium suksdorfii* και επέδειξε σημαντικές αντιικές ιδιότητες έναντι οξειών λοιμώξεων HIV-1 σε διάφορους κυτταρικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένων των H9 λεμφοκυττάρων, των μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος, των μονοκυττάρων/μακροφάγων και των κυττάρων U937. Πρόκειται για μία σημαντική ένωση, η οποία είναι υπό συνεχή έρευνα και μπορεί να ανοίξει το δρόμο σε μία νέα κατηγορία ισχυρών αντι-HIV παραγόντων, αποτελεσματικότερων και λιγότερο τοξικών σε σύγκριση με τα υπάρχοντα φάρμακα κατά του AIDS. [36]



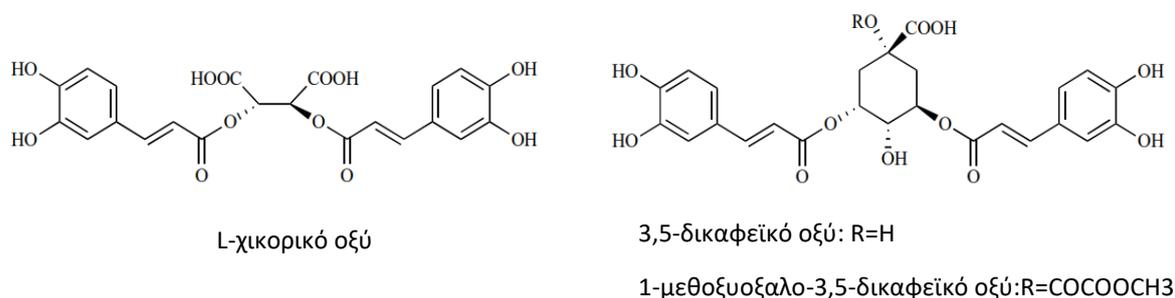
βαρφαρίνη: R=COCH<sub>3</sub>  
φαινπροκουμόνη: R=H

**Σχήμα 26.** Οι χημικές δομές της βαρφαρίνης και της φαινπροκουμόνης.



**Σχήμα 27.** Η χημική δομή της σουκντορφίνης.

Επίσης, φυσικά παράγωγα κινναμωμικού οξέος, όπως το L-χικορικό οξύ, το 3,5-δικαφεϊκό οξύ και το 1-μεθοξυοξαλο-3,5-δικαφεϊκό οξύ, έχουν επιδείξει ισχυρά ανασταλτικά αποτελέσματα στην ιντεγκράση HIV-1. [14]

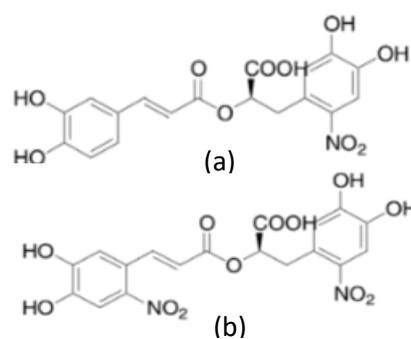


**Σχήμα 28.** Οι χημικές δομές των L-χικορικού οξέος, 3,5-δικαφεϊκού οξέος και 1-μεθοξυοξαλο-3,5-δικαφεϊκού οξέος.

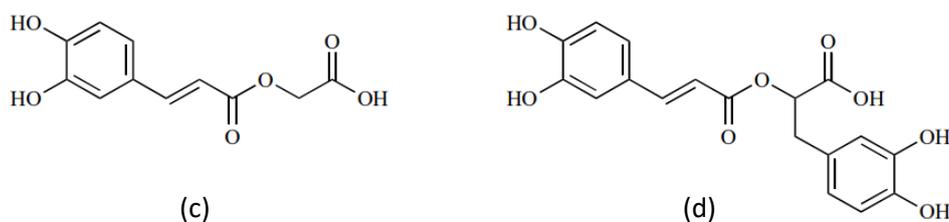
Επίσης, το ροσμαρινικό οξύ αποτελεί ακόμη έναν ισχυρό αναστολέα ιντεγκράσης HIV-1, ενώ έχει αποδειχθεί πως τα οξέα που προκύπτουν από νίτρωση (6'-νιτρο- και 6',6''-δινιτρο- ροσμαρινικά οξέα) ενισχύουν σημαντικά την αναστολή αυτή, χωρίς να έχει παρατηρηθεί αύξηση της τοξικότητας. [37]

Τόσο το ροσμαρινικό οξύ όσο και το χικορικό οξύ θεωρούνται πιθανοί πολλαπλοί στόχοι κατά του HIV, χωρίς να αναμένεται να αντικαταστήσουν την υπάρχουσα θεραπεία, αλλά συμπληρώνοντας και μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις των τρεχουσών θεραπειών.

Σε άλλη έρευνα, μελετήθηκαν παράγωγα του L-χικορικού οξέος. Δύο από αυτά τα παράγωγα (ενώσεις 30(c), 30(d)) έδειξαν ανασταλτική δράση ιντεγκράσης HIV-1 ίση ή ελαφρώς μεγαλύτερη από αυτή του χικορικού οξέος, υποδηλώνοντας πως η ανασταλτική δράση μπορεί να διατηρηθεί ή ακόμα και να ενισχυθεί, μέσω της απλοποίησης του αρχικού μορίου του χικορικού οξέος σε ημιμερείς δομές. [14]



**Σχήμα 29.** Οι χημικές δομές του 6'-νιτρο- ροσμαρινικού οξέος (a) και 6',6''-δινιτρο- ροσμαρινικού οξέος (b).

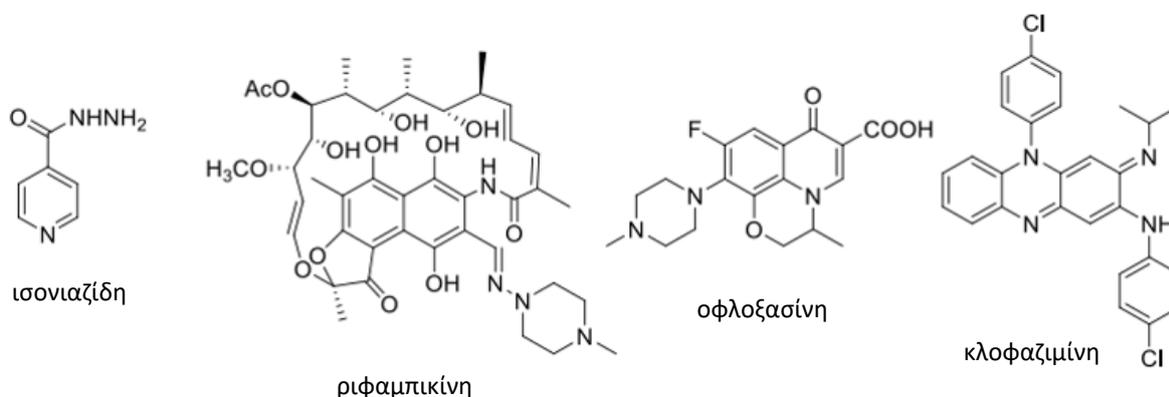


**Σχήμα 30.** Οι χημικές δομές των παραγώγων του L-χικορικού οξέος, με δράση κατά του HIV.

#### 1.4.10. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

Η φυματίωση (TB), που προκαλείται από το *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), αποτελεί μια εξαιρετικά καταστροφική μολυσματική ασθένεια, η οποία κατατάσσεται μεταξύ των δέκα κορυφαίων αιτιών θανάτου παγκοσμίως και αποτελεί την κύρια αιτία θνησιμότητας, που αποδίδεται σ' έναν μόνο μολυσματικό παράγοντα. [38] Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, ο αριθμός των ανθρώπων παγκοσμίως, που χάνουν τη ζωή τους εξαιτίας της φυματίωσης, ξεπερνά τα τρία εκατομμύρια ετησίως. Παρά τις διαθέσιμες αποτελεσματικές θεραπείες, παράγοντες όπως η αυξημένη ευαισθησία των ατόμων με λοίμωξη από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), η αύξηση των πολυανθεκτικών στελεχών (MDR-TB) και η εμφάνιση ανθεκτικών στα φάρμακα (XDR-TB) στελεχών, έχουν ωθήσει τους ερευνητές στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων και θεραπευτικών στρατηγικών, που υπόσχονται πιο αποτελεσματικές θεραπείες με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες σε σύγκριση με τα σημερινά διαθέσιμα φάρμακα. [39]

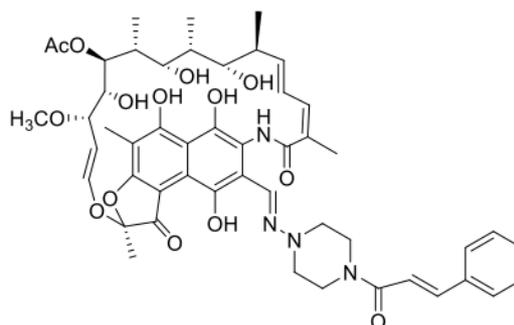
Το κινναμωμικό οξύ και τα παράγωγά του έχουν μια ιστορία αιώνων ως αντιφυματικοί παράγοντες. Σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης της πολυανθεκτικής φυματίωσης, διερευνήθηκε η χρήση του *trans*-κινναμωμικού οξέος σε συνδυασμό με καθιερωμένα αντιφυματικά φάρμακα όπως η ισονιαζίδη, η ριφαμπικίνη, η οφλοξασίνη και η κλοφαζιμίνη. [39]



**Σχήμα 31.** Οι χημικές δομές φαρμάκων κατά της φυματίωσης.

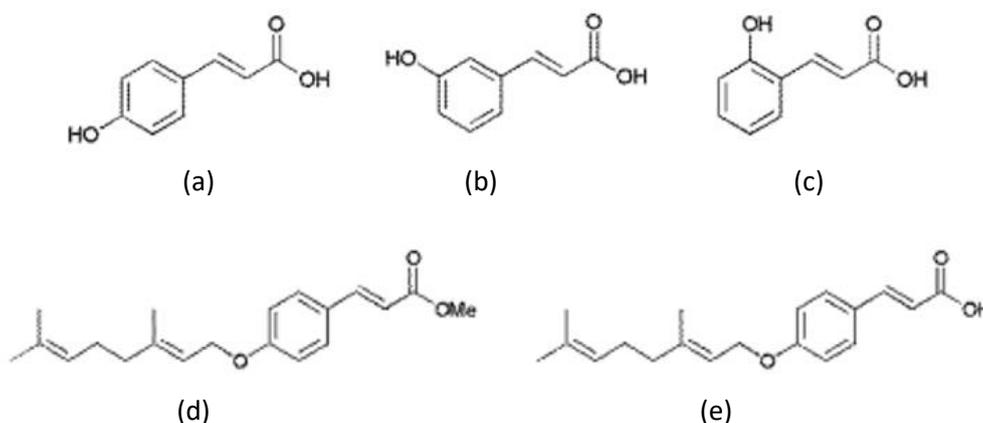
Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το παράγωγο 3-4-κινναμυλοπιπεραζινολυμινομεθυλο-ριφαμυκίνη (ριφαμπικίνη SV), το οποίο μελετήθηκε για αντιμυκοβακτηριακές δράσεις του έναντι 20 ευαίσθητων και ανθεκτικών σε πολλά φάρμακα στελεχών του *Mycobacterium tuberculosis*.

Τα αποτελέσματα έδειξαν, πως η ένωση επέδειξε εξαιρετική *in vivo* αποτελεσματικότητα έναντι του *M.tb*, ενισχύοντας την αντιμυκοβακτηριακή δραστηριότητα της ριφαμπικίνης και υπογραμμίζοντας την πολλά υποσχόμενη θεραπευτική δυνατότητα της ένωσης στη θεραπεία κατά της φυματίωσης.



**Σχήμα 32.** Η χημική δομή της ριφαμπικίνης SV.

Πρόσφατη έρευνα διερεύνησε και αξιολόγησε για την αντιφυματική τους δράση, τα υδροξυ-κινναμωμικά οξέα (33a-c), το Ο-γερανυλο-4-κουμαρικό οξύ (33d) και τον μεθυλεστέρα (33e). [40]



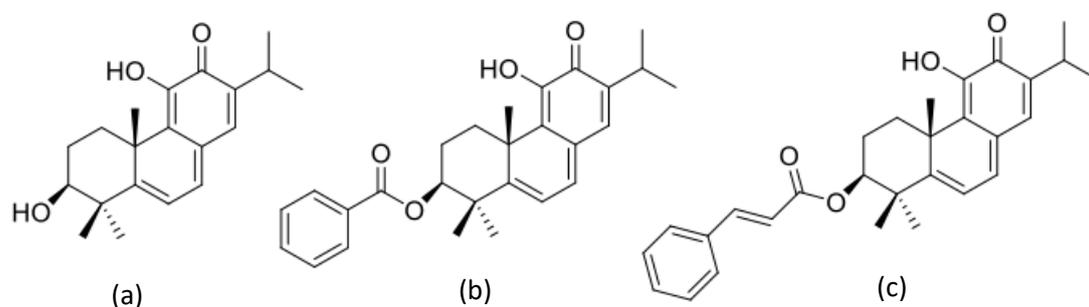
**Σχήμα 33.** Οι χημικές δομές των ενώσεων, που μελετήθηκαν για την αντιφυματική τους δράση.

Μεταξύ των υδροξυ-κινναμωμικών οξέων, την υψηλότερη δράση έναντι του *M. tuberculosis* H37Rv, εμφάνισε το *ορθο*-υποκατεστημένο οξύ (33c), ακολουθούμενο από το *παρα*-υποκατεστημένο (33a) και το *μετα*-υποκατεστημένο (33b). Το Ο-γερανυλο 4-κουμαρικό οξύ αποδείχθηκε δραστικότερο έναντι του *M. tuberculosis* H37Rv, σε σχέση με τον μεθυλεστέρα, ωστόσο παρουσίασε υψηλότερη τοξικότητα. Συμπερασματικά, η παρουσία ενός ακορέστου στην αλυσίδα προπενυλίου, ενισχύει σημαντικά τη δράση κατά της φυματίωσης.

#### 1.4.11. ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΙΝΝΑΜΩΜΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΟΝΟΣΙΑΣ

Η ελονοσία αποτελεί μία ακόμα σοβαρή απειλή για την παγκόσμια υγεία, προκαλώντας τον θάνατο περίπου 3 εκατομμυρίων ατόμων ετησίως. Προκαλείται από διάφορα είδη παρασίτων, με το *Plasmodium falciparum* να προκαλεί τις περισσότερες σοβαρές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Τα κινναμωμικά παράγωγα έχουν αποδειχθεί ως μία πολλά υποσχόμενη κατηγορία φαρμάκων για την αντιμετώπιση της συγκεκριμένης ασθένειας [39].

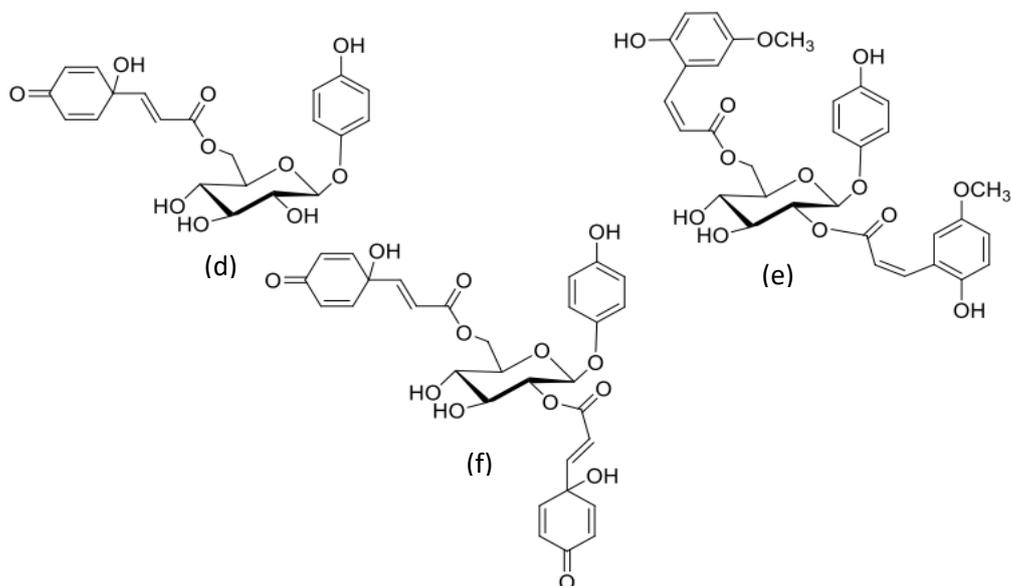
Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 1992, απομονώθηκαν δύο νέα παράγωγα οσλοπόνης (34b, 34c), από τον φλοιό της ρίζας του ανθελονοσιακού φυτού *Hoslundia Vahl*. Orrosita. [39]



**Σχήμα 34.** Οι χημικές δομές της οσλοπόνης και των παραγώγων της.

Οι ενώσεις έδειξαν σημαντικές *in vitro* δραστηριότητες έναντι του πολυανθεκτικού στελέχους K1 του *P. Falciparum*. Μεταξύ των ενώσεων 33a, 33b, 33c ισχυρότερη ανθελονοσιακή δράση παρουσίασε η 33c, το οποίο μπορεί να αποδωθεί στην παρουσία του τμήματος κινναμοϋλίου. Αυτή η ομάδα θεωρείται πως υποβάλλεται σε αντίδραση Michael με πυρηνόφιλες θέσεις στα μόρια DNA του παρασιτικού κυττάρου, αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη του *P. Falciparum*.

Σε άλλη μελέτη, απομονώθηκε ένα μεθανολικό εκχύλισμα από τα φύλλα και τα κλαδιά μιας ποικιλίας *Grevillea*, τη *Grevillea* «Rooringda Queen», με σημαντική ανθελονοσιακή δράση, στο οποίο ταυτοποιήθηκαν τρεις νέες φαινολικές γλυκοσίδες (35d, 35e, 35f). [39]



**Σχήμα 35.** Οι χημικές δομές των φαινολικών γλυκοσιδών, που μελετήθηκαν για την ανθελονοσιακή τους δράση.

Οι ενώσεις 35d και 35e παρουσίασαν μέτρια *in vitro* δραστηριότητα έναντι του *P. Falciparum* (IC<sub>50</sub> 55,4 μM και 14,7 μM), ενώ η 35f επέδειξε τη μεγαλύτερη δραστηριότητα (IC<sub>50</sub> 4,7 μM). Ωστόσο, ο μηχανισμός δράσης αυτών των ενώσεων και οι παρατηρούμενες διαφορές στην ανθελονοσιακή δράση παραμένουν ακόμα άγνωστα.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ – *IN SILICO* ΜΕΛΕΤΕΣ

#### 2.1. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Η ανάπτυξη ενός φαρμακευτικού προϊόντος και η κυκλοφορία του στην αγορά αποτελεί μια εκτεταμένη και δαπανηρή διαδικασία, η οποία διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην πρόληψη και τη θεραπεία ασθενειών, που απειλούν την ανθρώπινη ζωή. Από το 2014, το Tufts Center for the Study of Drug Development ανέφερε ότι το συνολικό κόστος αυτής της διαδικασίας ανέρχεται περίπου στα 2,6 δισεκατομμύρια δολάρια. Δυστυχώς, αυτή η διαδικασία ανακάλυψης και ανάπτυξης φαρμάκων παρουσιάζει υψηλό ποσοστό αποτυχίας, με το 90% περίπου των φαρμάκων που εισέρχονται σε κλινικές δοκιμές να αποτυγχάνουν να λάβουν έγκριση από τον FDA, καθώς και να φτάσουν στην καταναλωτική αγορά. Η αναζήτηση για το ιδανικό φάρμακο λοιπόν, αποτελεί μια διαρκή πρόκληση, η οποία απαιτεί μια αποτελεσματική μέθοδο ανάπτυξης φαρμάκων και περιλαμβάνει την εξέταση διαφόρων παραγόντων. [41], [42]

Πιο αναλυτικά, η διαδικασία ανάπτυξης φαρμάκων τυπικά περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια: [43]

- (1) τη φάση ανακάλυψης, που επικεντρώνεται στον εντοπισμό μοριακών στόχων και δραστικών μορίων.
- (2) τη φάση ανάπτυξης, που περιλαμβάνει την αξιολόγηση ενώσεων που χρησιμοποιούν μοντέλα *in vitro* και *in vivo*, που εκτείνονται σε προκλινικά, κλινικά στάδια I, II και III.
- (3) τη ρυθμιστική φάση, που επιτρέπει τη διανομή στην αγορά και την κλινική χρήση των φαρμάκων.

Επίσης, μία βασική έννοια στην ανάπτυξη φαρμάκων είναι η αναγνώριση των φαρμάκων-στόχων. Τα φάρμακα-στόχοι είναι βιομόρια ή μοριακές δομές, που συνδέονται με συγκεκριμένα φάρμακα, προκαλώντας θεραπευτικά αποτελέσματα. Η πρόβλεψη αλληλεπιδράσεων φαρμάκου-στόχου (DTIs) είναι ζωτικής σημασίας για τη θεραπεία της νόσου, προσφέροντας πληροφορίες για τους μηχανισμούς δράσης των φαρμάκων, την παθολογία της νόσου και τις πιθανές παρενέργειες. [44]

Αξίζει να σημειωθεί πως η πρόοδος στην ανακάλυψη φαρμάκων έχει διευκολυνθεί από τριδιάστατες δομές βιομορίων που είναι διαθέσιμες στην Τράπεζα Δεδομένων Πρωτεϊνών (PDB), καθώς και από μεθοδολογίες με τη βοήθεια υπολογιστή. [41]

## 2.2. ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Κατά τη διάρκεια του υπολογιστικού σχεδιασμού φαρμάκων, οι ερευνητές αντιμετωπίζουν πληθώρα προβλημάτων, όπως είναι η αποτελεσματικότητα, η τοξικότητα, η δραστικότητα, η βιοδιαθεσιμότητα, ακόμη και η πνευματική ιδιοκτησία. Με το συνολικό κόστος της ανάπτυξης φαρμάκων να ανέρχεται σε εκατομμύρια δολάρια και με τα τεράστια χρηματικά ποσά που δαπανώνται καθημερινά, οι χημικοί που ασχολούνται με τον ορθολογικό σχεδιασμό και τη σύνθεση φαρμάκων βρίσκονται υπό συνεχή πίεση για την παραγωγή επιτυχημένων αποτελεσμάτων. Ως εκ τούτου κρίνεται απαραίτητη η αποτελεσματική χρήση κάθε υπολογιστικού εργαλείου, το οποίο μπορεί να συντελέσει στο καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

Έχουν υπάρξει αρκετές δημοσιεύσεις, οι οποίες εκτιμούν το κόστος της κυκλοφορίας ενός φαρμάκου. Μάλιστα, πρόσφατες εκτιμήσεις αναφέρουν πολύ υψηλά ποσά, που κυμαίνονται από 300 εκατομμύρια έως και 1,7 δισεκατομμύρια δολάρια. Ορισμένα τυπικά περαματικά κόστη αναφέρονται στον πίνακα. [43]

Πίνακας 2. Τυπικά κόστη πειραμάτων ανά ένωση.

Πείραμα	Τυπικό κόστος ανά ένωση (\$)
Υπολογιστική χημεία	10
Βιοχημική δοκιμή	400
Δοκιμή σε κυτταρική καλλιέργεια	4.000
Τοξικότητα σε ποντίκια	12.000
Κρυσταλλική δομή πρωτεΐνης	100.000
Δοκιμή αποτελεσματικότητας σε ποντίκια	300.000
Διετείς δοκιμές τοξικότητας σε ποντίκια	800.000
Ανθρώπινες κλινικές δοκιμές	500.000.000

## 2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΦΑΡΜΑΚΑΚΩΝ

Με σκοπό λοιπόν τόσο τη μείωση του κόστους, όσο και την εξοικονόμηση χρόνου, αναπτύσσονται συνεχώς μεθοδολογίες σχεδιασμού φαρμάκων με τη βοήθεια ενός υπολογιστή, CADD (COMPUTER AIDED DRUG DISCOVERY). Αυτό είναι χρήσιμο κυρίως στη φάση ανακάλυψης, στοχεύοντας στην ορθή επιλογή ενώσεων για πειραματική σύνθεση ή δοκιμή. Επίσης, παρέχεται η δυνατότητα εντοπισμού νέων πιθανών χρήσεων για φάρμακα, τα οποία έχουν ήδη εγκριθεί για άλλες χρήσεις (στρατηγική επαναχρησιμοποίησης φαρμάκων). Με πιο απλά λόγια, ο υπολογιστικός σχεδιασμός φαρμάκων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της έρευνας σχετικά με μόρια που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος σε κλινικές εφαρμογές. [43]

Οι μεθοδολογίες CADD μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες: [43], [45]

### ✓ Μέθοδοι με βάση τη δομή

Οι συγκεκριμένες μέθοδοι βασίζονται στην τριδιάστατη δομή του μοριακού στόχου (υποδοχέας), για τη δημιουργία ή τη διαλογή πιθανών προσδετών, ακολουθούμενη από σύνθεση, βιολογική δοκιμή και βελτιστοποίηση. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της κατηγορίας, αποτελούν η Μοριακή Πρόσδεση και η Μοριακή Δυναμική (MD). Οι εφαρμογές μεθόδων που βασίζονται στη δομή περιλαμβάνουν τον χαρακτηρισμό των θέσεων δέσμευσης, την αποσαφήνιση του μηχανισμού δράσης σε μοριακό επίπεδο και την αξιολόγηση της κινητικής και της θερμοδυναμικής, που εμπλέκονται στην αναγνώριση συνδέτη-στόχου.

### ✓ Μέθοδοι που βασίζονται σε προσδέτες

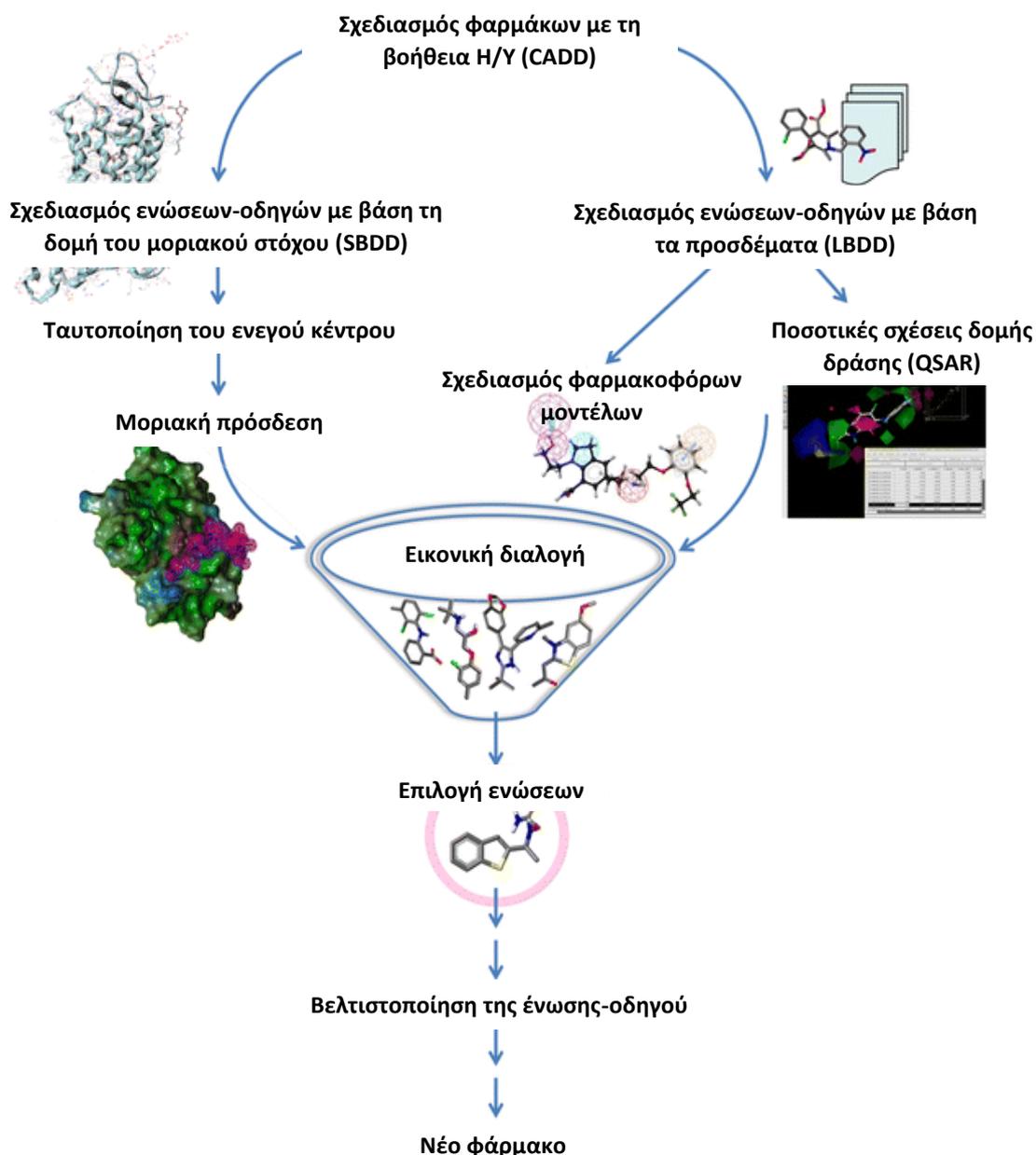
Αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούν πληροφορίες για τις χημικές δομές ενός συνόλου προσδετών με γνωστή βιολογική δράση, για την ανάπτυξη θεωρητικών μοντέλων πρόβλεψης. Βασικός στόχος των μεθόδων που βασίζονται σε προσδέτες είναι η ταυτοποίηση βιοδραστικών ενώσεων ή η ενίσχυση της δραστηριότητας των δραστικών μορίων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της κατηγορίας, περιλαμβάνουν η αναζήτηση ομοιότητας και η μοντελοποίηση QSAR.

### ✓ Υβριδικές μέθοδοι

Σε περιπτώσεις κατά τις οποίες είναι γνωστές, τόσο η δομή του στόχου, όσο και η δομή των δραστικών μορίων, εφαρμόζονται υβριδικές μέθοδοι, που περιλαμβάνουν τον συνδυασμό μεθόδων που βασίζονται στη δομή και μεθόδων που βασίζονται σε προσδέτες. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της προσέγγισης αποτελούν η μοντελοποίηση φαρμακοφόρων και οι *in silico* μελέτες, οι οποίες προβλέπουν τη βιοδραστικότητα με βάση το βιολογικό προφίλ των ενώσεων που μελετώνται, έναντι ενός ή πολλαπλών στόχων.

Αν και οι δύο πρώτες κατηγορίες προσεγγίσεων σχεδιασμού φαρμάκων αναπτύσσονται συνεχώς με την πάροδο του χρόνου, ο συνδυασμός τους έχει αποδειχθεί πιο αποτελεσματικός από κάθε προσέγγιση ξεχωριστά, καθώς καθεμία από τις μεθόδους έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα και κατ' αυτόν τον τρόπο αλληλοσυμπληρώνονται.

Στη συνέχεια, αυτά τα μοντέλα χρησιμοποιούνται για δομική βελτιστοποίηση και αναγνώριση νέων χημικών οντοτήτων, μέσω εικονικής εξέτασης (virtual screening) μίας μεγάλης ποικιλίας δεδομένων. [45]



Εικόνα 2. Συνοπτικό διάγραμμα του CADD.

## 2.4. ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ

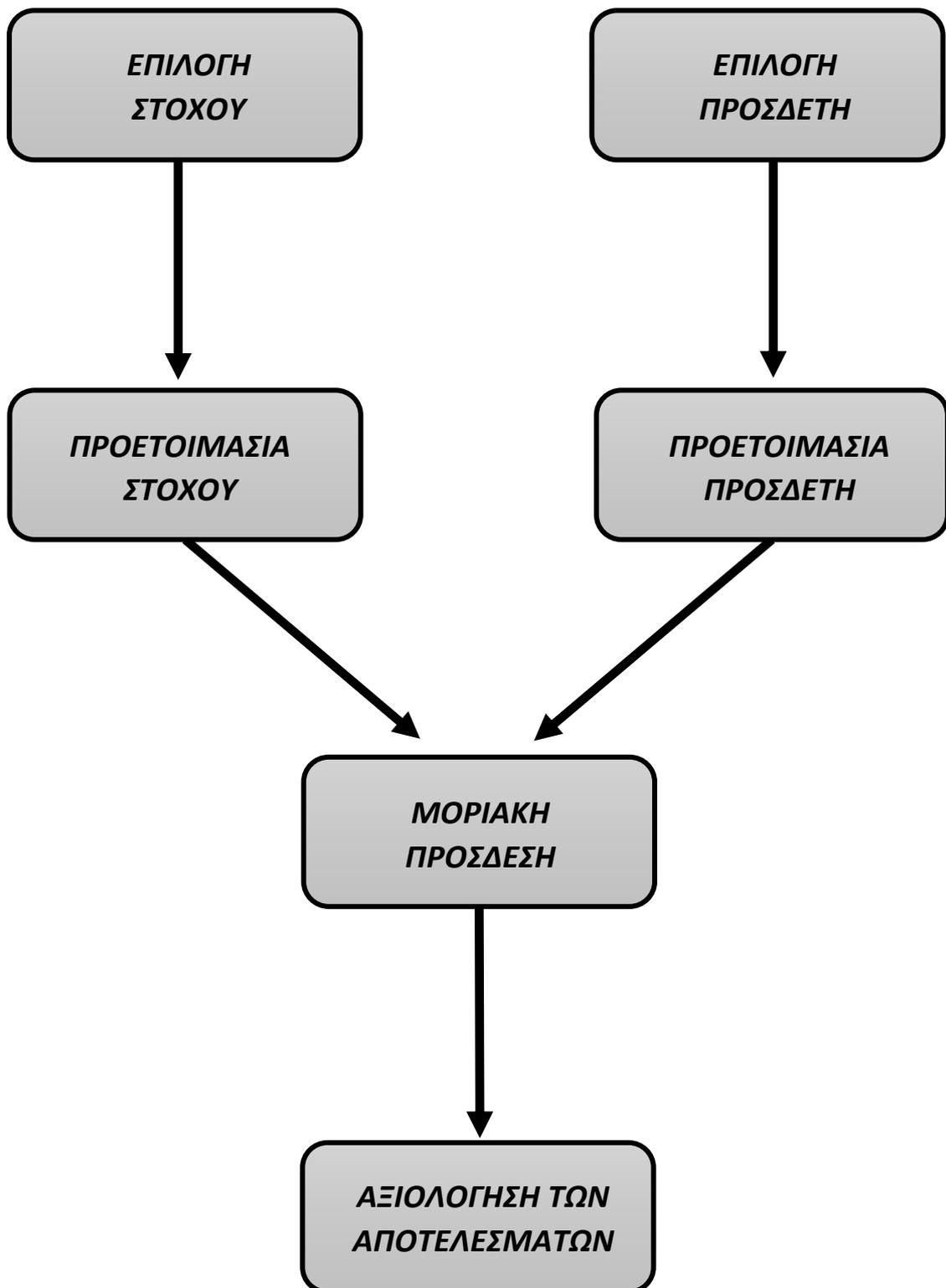
Η μοριακή πρόσδεση αποτελεί μία σημαντική μέθοδο στον τομέα σχεδιασμού φαρμάκων, που βασίζεται στη δομή του μοριακού στόχου και αποσκοπεί στην πρόβλεψη του βέλτιστου προσανατολισμού ενός προσδέτη σε σχέση με τον υποδοχέα (πρωτεΐνη) και κατ' επέκταση στον σχηματισμό ενός σταθερού συμπλόκου. Στη συνέχεια, αυτός ο προσανατολισμός χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της ισχύος της αλληλεπίδρασης και της συγγένειας δέσμευσης μεταξύ συνδέτη-πρωτεΐνης. Αυτή η τεχνολογία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην έρευνα σχεδιασμού φαρμάκων τα τελευταία χρόνια. Η ικανότητά της συγκεκριμένης μεθόδου, να εξετάζει πιθανά φαρμακοφόρα από βάσεις δεδομένων ενώσεων, προσφέρει ευκολία στους ερευνητές όσον αφορά την αγορά, τη σύνθεση και τη διεξαγωγή επακόλουθων φαρμακολογικών δοκιμών. [47], [48]

Η υπολογιστική πρόβλεψη της δομής του συμπλόκου προσδέτη-υποδοχέα περιλαμβάνει δύο στάδια: [48]

- Τη διερεύνηση των διαφόρων διαμορφώσεων του προσδέτη εντός του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης
- Την αξιολόγηση αυτών των διαμορφώσεων, χρησιμοποιώντας μια συνάρτηση βαθμολόγησης

Οι συναρτήσεις βαθμολόγησης αξιολογούν τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-προσδέματος υπολογιστικά, εκτιμώντας τον βαθμό στον οποίο κάθε πρόσδεση ενδέχεται να αντιστοιχεί σε μια πραγματική δομή. [49]

Η κατανόηση της θέσης, στην οποία θα γίνει η πρόσδεση πριν αυτή πραγματοποιηθεί, ενισχύει σημαντικά την αποτελεσματικότητά της. Σε πολλές περιπτώσεις, η θέση δέσμευσης είναι ήδη γνωστή πριν από την πρόσδεση του προσδέτη. Πληροφορίες σχετικά με τη θέση δέσμευσης μπορούν να ληφθούν συγκρίνοντας την πρωτεΐνη-στόχο με μια ομάδα πρωτεϊνών, που παρουσιάζουν παρόμοια λειτουργία ή με πρωτεΐνες που συν-κρυσταλλώνονται με άλλους προσδέτες. Σε περιπτώσεις έλλειψης γνώσης σχετικά με τη θέση δέσμευσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν προγράμματα ανίχνευσης κοιλότητας ή διαδικτυακοί διακομιστές όπως GRID, POCKET, SurfNet, PASS και MMC, με σκοπό τον εντοπισμό θέσεων πρόσδεσης εντός των πρωτεϊνών. Η σύνδεση, που πραγματοποιείται χωρίς υποθέσεις σχετικά με τη θέση πρόσδεσης, αναφέρεται ως τυφλή σύνδεση. [48]



**Εικόνα 3.** Τυπικό διάγραμμα ροής για τη μοριακή πρόσδεση.

## 2.5. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ

### ΒΑΣΙΚΕΣ ΘΕΩΡΙΕΣ

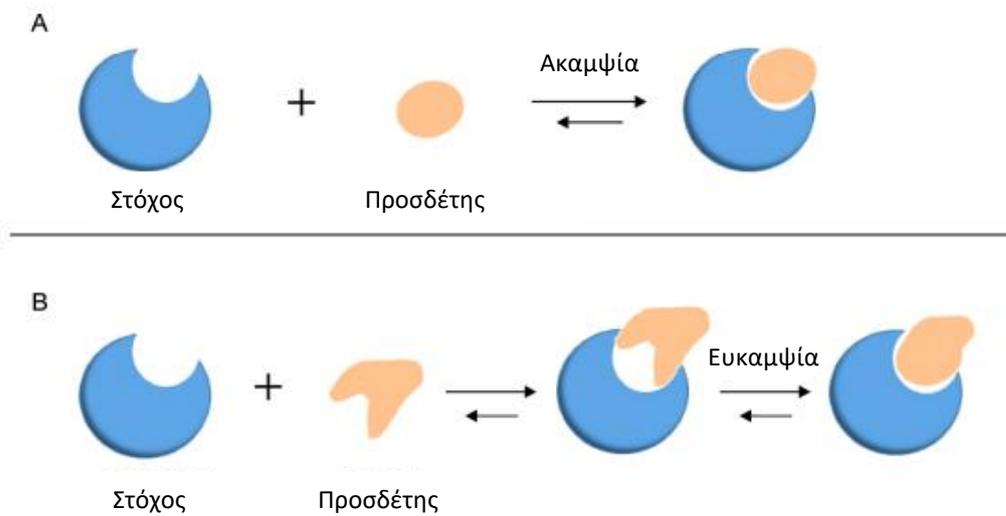
Υπάρχουν δύο βασικές θεωρίες, που περιγράφουν τη σχέση ενός υποδοχέα με έναν προσδέτη: [50], [51]

#### 1. Θεωρία κλειδαριάς-κλειδιού (Lock-key)

Το 1894 ο Emil Fischer πρότεινε ένα θεωρητικό πλαίσιο για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων υποδοχέα-προσδέτη. Σύμφωνα με το συγκεκριμένο μοντέλο, πρόκειται για μία στατική αλληλεπίδραση, η οποία είναι ανάλογη μ' ένα κλειδί σε μία κλειδαριά, όπου το ένζυμο δρα ως κλειδαριά και ο προσδέτης ως κλειδί. Σε αυτό το πλαίσιο, τόσο ο υποδοχέας όσο και ο προσδέτης αντιμετωπίζονται ως άκαμπτες δομές, συνεπώς γίνεται αντιληπτό πως ο προσδέτης θα πρέπει να έχει συμπληρωματικό γεωμετρικό σχήμα, ώστε να ταιριάζει τέλεια στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το μοντέλο κλειδαριά-κλειδί έχει τη δυνατότητα να περιγράφει αποτελεσματικά μικρές αλλαγές στην τριδιάστατη δομή και διαμόρφωση πριν και μετά τη σύνδεση φαρμάκου-υποδοχέα, ωστόσο μπορεί να μην εξηγεί πιο ουσιαστικές διαμορφωτικές αλλαγές, που σχετίζονται με τη σύνδεση αυτή.

#### 2. Θεωρία Επαγόμενης Προσαρμογής

Αναγνωρίζοντας τους περιορισμούς της Θεωρίας κλειδαριάς-κλειδιού, ο Daniel Koshland το 1958 εισήγαγε τη Θεωρία της «Επαγόμενης Προσαρμογής». Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, κατά την αλληλεπίδραση υποδοχέα-προσδέτη, μπορεί να αναμορφωθεί η χωρική διαμόρφωση είτε του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης, είτε του υποδοχέα, είτε και των δύο, υποδηλώνοντας ευελιξία τόσο στον προσδέτη όσο και στην ίδια την πρωτεΐνη. Αυτή η θεωρία οδήγησε στο συμπέρασμα ότι κατά τη διάρκεια της μοριακής πρόσδεσης ο προσδέτης και ο υποδοχέας θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως εύκαμπτες δομές, οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, ρυθμίζοντας κατάλληλα την τριδιάστατη διαμόρφωση τους, έτσι ώστε να προκύψει ένα, όσο το δυνατόν, σταθερότερο σύμπλοκο.



**Εικόνα 4. (A)** Απεικόνιση του μοντέλου κλειδιού-κλειδαριάς **(B)** Απεικόνιση του μοντέλου Επαγόμενης Προσαρμογής.

Ενώ το μοντέλο κλειδαριάς-κλειδιού έχει κυριαρχήσει στις προσεγγίσεις μοριακής πρόσδεσης, αναφέρεται πως η εφαρμογή της Επαγόμενης Προσαρμογής στις αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-υποδοχέα, κάποιες φορές προσφέρει πιο ακριβή αποτελέσματα.

## 2.6. AUTODOCK

Το λογισμικό, το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, με σκοπό την πρόβλεψη της αλληλεπίδρασης μεταξύ προσδέτη-πρωτεΐνης, βάσει κάποιων προκαθορισμένων παραμέτρων, καθώς και τον υπολογισμό της ενέργειας μοριακής πρόσδεσης, είναι το Autodock 4. Πρόκειται για ένα σχετικά εύχρηστο λογισμικό με δωρεάν πρόσβαση, το οποίο κυκλοφόρησε το 2009.

Το AutoDock 4 επιτρέπει την πλήρως ευέλικτη μοντελοποίηση συγκεκριμένων τμημάτων της πρωτεΐνης. Ο χρήστης επιλέγει συγκεκριμένες πλευρικές αλυσίδες, που απομονώνονται από την υπόλοιπη πρωτεΐνη. Τα τμήματα αυτά παρουσιάζουν ευελιξία κι εκεί θα πραγματοποιηθούν οι υπολογισμοί. Το Autodock έχει εφαρμοστεί με εξαιρετική επιτυχία στην πρόβλεψη διαμορφώσεων συμπλόκων ενζύμου-αναστολέα, συμπλόκων πεπτιδίων-αντισωμάτων και σε αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών.

Η μέθοδος, που χρησιμοποιείται, για τη διαμορφωτική αναζήτηση αναστολέων που συνδέονται με πεπτίδια, πρωτεΐνες και γονίδια είναι ένας Λαμαρκικός γενετικός αλγόριθμος (Lamarckian Genetic Algorithm). Η «Λαμαρκιανή-Lamarckian» διάσταση αποτελεί ένα πρόσθετο χαρακτηριστικό, που επιτρέπει σε μεμονωμένες διαμορφώσεις να εξερευνούν με ταχύτατους ρυθμούς τον διαμορφωτικό τους χώρο, να βρίσκουν τοπικά ελάχιστα και στη συνέχεια να μεταδίδουν αυτές τις πληροφορίες στις επόμενες γενιές. Επιπλέον, στην έκδοση Autodock 4 είναι διαθέσιμες κι άλλες μέθοδοι αναζήτησης, μια προσομοιωμένη μέθοδος αναζήτησης ανόπτησης και μια παραδοσιακή μέθοδος αναζήτησης με γενετικό αλγόριθμο [51].

Το λογισμικό αυτό χρησιμοποιεί μια μέθοδο, που βασίζεται σε πλέγμα, για να επιτρέπει την ταχεία αξιολόγηση της ενέργειας δέσμευσης των δοκιμαστικών διαμορφώσεων. Σε αυτή τη μέθοδο, η πρωτεΐνη στόχος είναι ενσωματωμένη σε ένα πλέγμα (gridbox). Στη συνέχεια, ένα άτομο προσδέτη τοποθετείται διαδοχικά σε κάθε σημείο του πλέγματος, υπολογίζεται η ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ του προσδέτη και του στόχου και η τιμή αποθηκεύεται στο πλέγμα. Αυτό το πλέγμα ενεργειών μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί ως πίνακας αναζήτησης κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης της σύνδεσης. [52]

Πιο αναλυτικά, αρχικά τα μόρια των πρωτεϊνών λαμβάνονται από την Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)). Στη συνέχεια αφαιρούνται τα μόρια νερού, ενώ προστίθενται άτομα υδρογόνου και φορτίο Kolman. Όσον αφορά τους προσδέτες, γίνεται προσθήκη φορτίου Gasteiger, αναγνώριση αρωματικών ανθράκων και ανίχνευση των περιστρεφόμενων δεσμών. Στη συνέχεια ορίζεται το κιβώτιο πλέγματος (gridbox), μέσα στο οποίο αναπτύσσονται οι αλληλεπιδράσεις του προσδέτη και των αμινοξέων του μακρομορίου και τέλος, πραγματοποιούνται όλες οι απαραίτητες μοριακές προσδέσεις. Μετά τη μοριακή πρόσδεση βαθμονομούνται και ανιχνεύονται οι πιο ευνοϊκές διαμορφώσεις των προσδετών με τον υποδοχέα, όπως αυτές προκύπτουν κατά τη διάρκεια των υπολογισμών.

Μεταξύ όλων των διαμορφώσεων, πιο ευνοϊκή χαρακτηρίζεται εκείνη, στην οποία παρατηρείται η ελάχιστη ενέργεια δέσμευσης και συνεπώς η ισχυρότερη πρόσδεση. Σύμφωνα με το Autodock, η ενέργεια πρόσδεσης ( $\Delta G_{\text{binding}}$ ) είναι το άθροισμα των διαμοριακών δυνάμεων που αναπτύσσονται μεταξύ προσδέτη-υποδοχέα και δίνεται από τον τύπο:

$$\Delta G_{\text{binding}} = \Delta G_{\text{vdW}} + \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{hbond}} + \Delta G_{\text{desolv}} + \Delta G_{\text{tors}}$$
, όπου:

$\Delta G_{\text{vdW}}$ : Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας λόγω αλληλεπιδράσεων Van der Waals

$\Delta G_{\text{elec}}$ : Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας λόγω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων

$\Delta G_{\text{Hbond}}$ : Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας λόγω των δεσμών υδρογόνου

$\Delta G_{\text{desolv}}$ : Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας λόγω διαλυτικού περιβάλλοντος (συνήθως νερού) μεταξύ των μορίων, που αλληλεπιδρούν

$\Delta G_{\text{tors}}$ : Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας λόγω περιστροφών γύρω από μοριακούς δεσμούς

## 2.7. ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

Η κατανόηση και η πρόβλεψη των φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων (απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμός και απέκκριση: ADME), καθώς και της τοξικότητας των υποψηφίων φαρμάκων έχουν αποδειχθεί εξαιρετικά σημαντικοί παράγοντες στο στάδιο ανακάλυψης και ανάπτυξης φαρμάκων. Αυτές οι προβέψεις στα αρχικά στάδια του σχεδιασμού του φαρμάκου θα μπορούσαν να συντελέσουν στην αποφυγή μελλοντικών αποτυχιών σε κλινικές δοκιμές, με άμεσο αντίκτυπο στον ασθενή, αλλά και στην οικονομία της φαρμακευτικής βιομηχανίας.

Δεν έχει οριστεί ιδανική φαρμακοκινητική συμπεριφορά, που πρέπει να έχει ένα συγκεκριμένο υποψήφιο φάρμακο. Ωστόσο έχει αποδειχθεί από ορισμένες προσεκτικές αναλύσεις φυσικοχημικών ιδιοτήτων, πως υπό ορισμένες συνθήκες αυξάνεται το ποσοστό επιτυχίας μιας ένωσης ως φάρμακο. Για παράδειγμα, ένα φάρμακο το οποίο προορίζεται για την καταπολέμηση μίας χρόνιας νόσου, θα πρέπει να έχει υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και κατάλληλο χρόνο ημιζωής, που θα επιτρέπει τη χαμηλότερη δυνατή δόση από το στόμα, χωρίς να χρειάζεται ο ασθενής να μεταφερθεί σε νοσοκομείο για τη χορήγησή του. [53]

Για τον υπολογισμό των φαρμακοκινητικών και τοξικολογικών ιδιοτήτων των ενώσεων, υπάρχουν πολλές *in silico* μέθοδοι. Οι τρεις μέθοδοι, που χρησιμοποιήθηκαν και στην παρούσα εργασία είναι το SwissADME, το pkCSM και το proTOX-II.

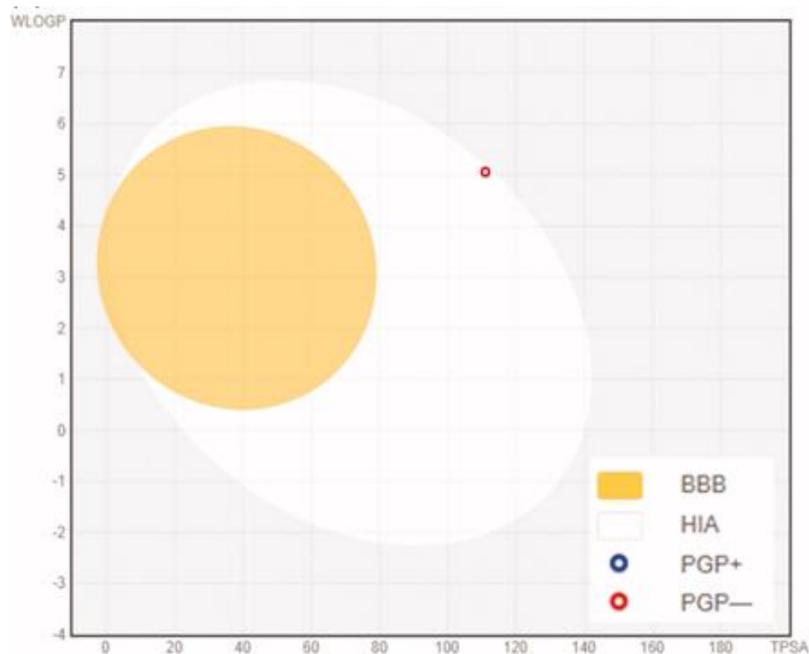
⇒ **SwissADME** [54], [55], [56]

Το SwissADME είναι ένα ελεύθερα προσβάσιμο διαδικτυακό εργαλείο, διαθέσιμο στην ηλεκτρονική διεύθυνση: <http://www.swissadme.ch/index.php>. Η απλή ανάλυση των αποτελεσμάτων, το καθιστά προσβάσιμο ακόμη και σε όσους δεν γνωρίζουν να εφαρμόζουν σχεδιασμό φαρμάκων με τη βοήθεια υπολογιστή (CADD), καθιστώντας το αρκετά φιλικό στον χρήστη. Ένα βασικό πλεονέκτημα σε σχέση με άλλα προγράμματα, είναι η δυνατότητα εμφάνισης, αποθήκευσης και κοινής χρήσης των αποτελεσμάτων για κάθε μόριο ξεχωριστά, καθώς και η εύρεση των πιθανών στόχων, που μπορεί να προσδεθεί το εκάστοτε μόριο.

Η γαστρεντερική απορρόφηση και η πρόσβαση στον εγκέφαλο είναι δύο φαρμακοκινητικές παράμετροι, που πρέπει να αξιολογούνται στα διάφορα στάδια ανακάλυψης φαρμάκων. Για την εκτίμηση των παραμέτρων αυτών, έχει προταθεί η μέθοδος διαπερατότητας Brain or IntestinL EstimateD (BOILED-Egg). Το μοντέλο BOILED-Egg υπολογίζει τη λιποφιλικότητα και την πολικότητα των μικρών μορίων, προβλέποντας έτσι τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) και την εντερική απορρόφηση (HIA), αντίστοιχα. Επίσης, φημίζεται για την ταχύτητα, την ακρίβεια, την απλότητα και τα σαφή αποτελέσματά του.

Όπως παρατηρούμε στην παρακάτω εικόνα, το μοντέλο αυτό αποτελείται από τον κρόκο και το ασπράδι. Ο κρόκος συμβολίζει την περιοχή με υψηλή πιθανότητα διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ενώ το ασπράδι την περιοχή με υψηλή διαπερατότητα γαστρεντερικής απορρόφησης. Στην εξωτερική γκριζα περιοχή, θα βρίσκονται μόρια με

μικρή πιθανότητα ΗΙΑ και BBB. Επίσης, το γράφημα αυτό, μέσω χρωματικής κωδικοποίησης, προσφέρει τη δυνατότητα πρόβλεψης της πιθανότητας του μορίου να αποτελέσει υπόστρωμα P-gr (P-glycoprotein), η οποία είναι πρωτεΐνη κυτταρικών μεμβρανών διαφόρων ιστών, που εμπλέκεται στη μεταφορά φαρμάκων. Πιο συγκεκριμένα, οι μπλε κουκίδες συμβολίζουν τα μόρια, που μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα P-gr (PGP+), ενώ οι κόκκινες για υποστρώματα που δεν μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα P-gr (PGP-).

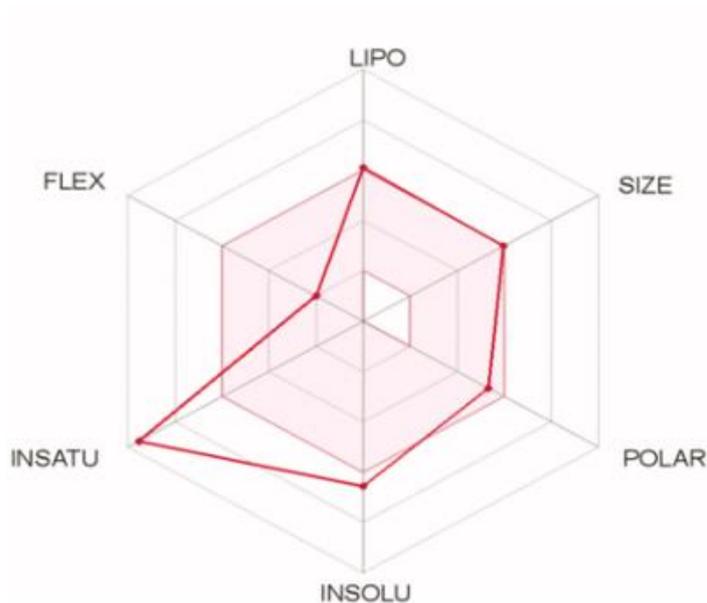


Εικόνα 5. Το μοντέλο BOILED-Egg.

### ΑΙΜΑΤΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ (BBB)

Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (BBB) είναι ένα σημαντικό ανατομικό και βιοχημικό φράγμα, που περικλείει τα τριχοειδή αγγεία του κυκλοφορικού συστήματος στον εγκέφαλο. Διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του μικροπεριβάλλοντος του εγκεφάλου και τον προστατεύει από δυνητικά επιβλαβείς ουσίες, οι οποίες υπάρχουν στο αίμα και μπορούν να διεισδύσουν μέσω παθητικής διάχυσης. Ωστόσο, κάποιες φορές παρεμποδίζεται η μεταφορά φαρμάκων στο ΚΝΣ (Κεντρικό Νευρικό Σύστημα) [57], [58]

Ένα άλλο σημαντικό γράφημα του λογισμικού αυτού, είναι και το radar βιοδιαθεσιμότητας, το οποίο παρουσιάζεται στην εικόνα 6. Το radar βιοδιαθεσιμότητας αποτελείται από έξι άξονες, που αντιπροσωπεύουν έξι βασικές ιδιότητες για τη βιοδιαθεσιμότητα ενός μορίου από το στόμα.



Εικόνα 6. Το ραντάρ βιοδιαθεσιμότητας.

Η ροζ περιοχή αντιπροσωπεύει τις βέλτιστες τιμές ιδιοτήτων, ενώ η κόκκινη γραμμή τις προβλεπόμενες ιδιότητες του εξεταζόμενου μορίου.

Οι ιδανικές τιμές κάθε παραμέτρου είναι οι εξής:

1. Πολικότητα (POLAR) ( $20 \text{ \AA}^2 < \text{TPSA} < 130 \text{ \AA}^2$ )
2. Διαλυτότητα (INSOLU) ( $0 < \text{LOGS(ESOL)} < 6$ )
3. Λιποφιλικότητα (LIPO) ( $-0.7 < \text{XLOGP3} < +5.0$ )
4. Ευκαμψία (FLEX)  $0 < \text{αριθμός περιστρεφόμενων δεσμών} < 9$ .
5. Ακορεστότητα (INSATU) ( $0.25 < \text{Csp3} < 1.00$ )
6. Μέγεθος (SIZE) ( $150\text{g/mol} < \text{MW} < 500\text{g/mol}$ )

## ⇒ pkCSM

Ένα ακόμα εργαλείο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για τον χαρακτηρισμό του φαρμακοκινητικού προφίλ των ενώσεων είναι το πρόγραμμα pkCSM. Στο συγκεκριμένο πρόγραμμα γίνεται χρήση γραφημάτων, τα οποία προκύπτουν βάσει προγνωστικών που κωδικοποιούνται από το μοτίβο των αποστάσεων μεταξύ των ατόμων. Η γραφική μοντελοποίηση προκύπτει από μια κατανοητή και καλά εδραιωμένη μαθηματική περιγραφή των χημικών οντοτήτων. Συνολικά, πρόκειται για ένα πρόγραμμα, ιδανικό για την πρόβλεψη της φαρμακοκινητικής των ενώσεων, βάσει της μοριακής δομής των μορίων και των ιδιοτήτων τους. [59]

Οι προγνωστικοί παράγοντες, που περιγράφουν τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες μιας ένωσης είναι 20 και χωρίζονται σε 4 βασικές κατηγορίες: [59]

1. Απορρόφηση (7 προγνωστικοί παράγοντες)
2. Κατανομή (4 προγνωστικοί παράγοντες)
3. Μεταβολισμός (7 προγνωστικοί παράγοντες)
4. Απέκκριση (2 προγνωστικοί παράγοντες)

Στη συνέχεια παρατίθενται κάποιοι βασικοί όροι προγνωστικών παραγόντων, που περιγράφουν τις φαρμακοκινητικές και τις τοξικολογικές ιδιότητες των ενώσεων: [56], [60]

## **ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ**

- Υδατοδιαλυτότητα:** Πρόκειται για τη διαλυτότητα του μορίου στο νερό στους 25° C. Τα λιποδιαλυτά φάρμακα απορροφώνται λιγότερο καλά από τα υδατοδιαλυτά, ειδικά όταν είναι εντερικά. Η προβλεπόμενη υδατοδιαλυτότητα μιας ένωσης δίνεται ως ο λογάριθμος της μοριακής συγκέντρωσης ( $\log \text{mol/L}$ ).
- Διαπερατότητα Caco-2:** Η μονοστιβάδα κυττάρων Caco-2 χρησιμοποιείται ευρέως ως *in vitro* μοντέλο για την πρόβλεψη της απορρόφησης φαρμάκων που χορηγούνται με το στόμα μέσω του ανθρώπινου εντερικού βλεννογόνου. Αυτό το μοντέλο προβλέπει τον λογάριθμο του συντελεστή φαινομενικής διαπερατότητας ( $\log P_{app}$  σε  $10^{-6} \text{ cm/s}$ ). Μια ένωση θεωρείται ότι έχει υψηλή διαπερατότητα Caco-2 εάν έχει  $P_{app} > 8 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ . Στο πλαίσιο του μοντέλου πρόβλεψης pkCSM,, η υψηλή διαπερατότητα Caco-2 αντιστοιχεί σε προβλεπόμενες τιμές  $> 0,90$ .
- Εντερική Απορρόφηση (Ανθρώπινη):** Το έντερο είναι συνήθως η κύρια θέση για την απορρόφηση ενός φαρμάκου, που χορηγείται μέσω ενός διαλύματος που παίρνουμε από το στόμα. Αυτός ο παράγοντας έχει σχεδιαστεί για να προβλέπει την αναλογία των ενώσεων που απορροφώνται μέσω του ανθρώπινου λεπτού εντέρου. Ενώ, για μια δεδομένη ένωση προβλέπει το ποσοστό που θα απορροφηθεί μέσω του ανθρώπινου εντέρου. Μόρια με απορροφήσεις μικρότερες του 30% θεωρείται ότι απορροφώνται ελάχιστα.

- iv. **Διαπερατότητα δέρματος:** Αποτελεί σημαντική παράμετρο για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας πολλών καταναλωτικών προϊόντων και είναι σημαντική για την ανάπτυξη διαδερμικής χορήγησης φαρμάκων. Προβλέπει εάν μία ένωση είναι πιθανό να είναι διαπερατή από το δέρμα, εκφραζόμενη ως σταθερά διαπερατότητας δέρματος  $\log K_p$  (cm/h). Μια ένωση θεωρείται ότι έχει σχετικά χαμηλή διαπερατότητα δέρματος εάν παρουσιάζει  $\log K_p > -2,5$ .
- v. **Υπόστρωμα P-γλυκοπρωτεΐνης:** Η P-γλυκοπρωτεΐνη είναι μία σημαντική πρωτεΐνη για τον μεταβολισμό του ανθρώπινου οργανισμού. Λειτουργεί ως αμυντικός φραγμός στη διείσδυση τοξίνων και φαρμάκων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, δια μέσου της παρουσίας της στα κύτταρα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Το μοντέλο προβλέπει την πιθανότητα μιας ένωσης να αποτελέσει υπόστρωμα της P-gr ή όχι.
- vi. **Αναστολείς της P-γλυκοπρωτεΐνης I/II:** Η τροποποίηση της μεταφοράς μέσω της P-γλυκοπρωτεΐνης παρουσιάζει σημαντικές φαρμακοκινητικές επιπτώσεις για τα υποστρώματα P-gr, τα οποία μπορεί να αξιοποιηθούν για συγκεκριμένα θεραπευτικά οφέλη. Ο συγκεκριμένος προγνωστικός παράγοντας καθορίζει την πιθανότητα μιας δεδομένης ένωσης να είναι αναστολέας της P-γλυκοπρωτεΐνης I/II.

## ΚΑΤΑΝΟΜΗ

- i. **Όγκος κατανομής (VDss):** Ο όγκος κατανομής (VDss) είναι ο όγκος, στον οποίο στον οποίο θεωρητικά διαλύεται το φάρμακο έτσι ώστε να έχει παντού την ίδια συγκέντρωση που έχει στο αίμα. Όσο υψηλότερη η κατανομή όγκου, τόσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα ενός φαρμάκου, που κατανέμεται στους ιστούς παρά στο πλάσμα. Ο προβλεπόμενος λογάριθμος του VDss μιας δεδομένης ένωσης δίνεται ως  $\log L/kg$ . Για τιμές  $\log VDss < -0,15$  η κατανομή θεωρείται χαμηλή, ενώ για τιμές  $\log VDss > 0,45$ , θεωρείται υψηλή.
- ii. **Κλάσμα μη δεσμευμένο (ανθρώπινο):** Η αποτελεσματικότητα ενός φαρμάκου μπορεί να επηρεαστεί από τον βαθμό, στον οποίο δεσμεύει πρωτεΐνες στο αίμα, καθώς όσο περισσότερο δεσμεύεται, τόσο λιγότερο αποτελεσματικά μπορεί να διασχίσει τις κυτταρικές μεμβράνες ή να διαχυθεί. Το μοντέλο αυτό υπολογίζει το προβλεπόμενο κλάσμα, που είναι αδέσμευτο στο πλάσμα.
- iii. **Διαπερατότητα αιματοεγκεφαλικού φραγμού:** Η ικανότητα ενός φαρμάκου να περνά στον εγκέφαλο είναι μια σημαντική παράμετρος, που πρέπει να ληφθεί υπόψη, με σκοπό τη μείωση των παρενεργειών και τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των φαρμάκων, των οποίων η φαρμακολογική δραστηριότητα βρίσκεται εντός του εγκεφάλου. Η διαπερατότητα αίματος-εγκεφάλου είναι η λογαριθμική αναλογία των συγκεντρώσεων του φαρμάκου στον εγκέφαλο προς το πλάσμα και εκφράζεται ως  $\log BB$ . Μια ένωση με τιμή  $\log BB > 0,3$  θεωρείται ότι διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, για τιμές  $\log BB < -1$ , θεωρείται ότι κατανέμονται ελάχιστα στον εγκέφαλο.
- iv. **Διαπερατότητα ΚΝΣ:** Η μέτρηση της διαπερατότητας του αίματος του εγκεφάλου είναι μία αρκετά δύσκολη και απαιτητική διαδικασία με συγχυτικούς παράγοντες. Η τιμή  $\log PS$  αντιπροσωπεύει το λογάριθμο του λόγου της συγκέντρωσης της ουσίας στον εγκέφαλο προς τη συγκέντρωσή της στο αίμα και αποτελεί την πιο άμεση μέτρηση. Ενώσεις με τιμές  $\log PS > -2$  θεωρείται ότι περνούν από το αίμα στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), ενώ για τιμές  $\log PS < -3$  οι ενώσεις θεωρείται ότι δεν μπορούν να διεισδύσουν στο ΚΝΣ.

## ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

- i. **Υπόστρωμα CYP2D6/CYP3A4:** Το κυτόχρωμα P450 είναι ένα σημαντικό ένζυμο, που βρίσκεται κυρίως στο ήπαρ και είναι υπεύθυνο για το μεταβολισμό πολλών φαρμάκων. Ωστόσο, οι αναστολείς του μπορούν να αλλάξουν δραματικά τη φαρμακοκινητική αυτών των φαρμάκων. Για τον λόγο αυτό, η εκτίμηση μιας ένωσης ως πιθανό υπόστρωμα του κυτοχρώματος P450, είναι πολύ σημαντική. Οι δύο κύριες μορφές, που είναι υπεύθυνες για το μεταβολισμό των φαρμάκων είναι η 2D6 και η 3A4. Ο προγνωστικός παράγοντας αξιολογεί την πιθανότητα μιας ένωσης να μεταβολιστεί από οποιαδήποτε από τις δύο μορφές.
- ii. **Αναστολείς του κυτοχρώματος P450:** Αρκετά φάρμακα απενεργοποιούνται από το κυτόχρωμα P450, ενώ κάποια μπορούν να ενεργοποιηθούν από αυτό. Οι αναστολείς αυτού του ενζύμου, μπορούν να επηρεάσουν τον μεταβολισμό του φαρμάκου και αντενδείκνυνται. Επομένως, κρίνεται σημαντική η αξιολόγηση της ικανότητας μιας ένωσης να αναστέλλει το κυτόχρωμα P450. Εάν η συγκέντρωση, που απαιτείται για να οδηγήσει σε 50% αναστολή, είναι μικρότερη από 10 Μμ, τότε η ένωση θεωρείται αναστολέας του κυτοχρώματος P450. Οι προγνωστικοί παράγοντες, λοιπόν, αξιολογούν την πιθανότητα ενός μορίου να είναι αναστολέας του κυτοχρώματος P450.

## ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ

- I. **Ολική κάθαρση:** Η απομάκρυνση του φαρμάκου εκφράζεται ως συνδυασμός ηπατικής κάθαρσης (μεταβολισμός στο ήπαρ και κάθαρση των χοληφόρων) και νεφρικής κάθαρσης (απέκκριση μέσω των νεφρών) και μετράται με τη σταθερά αναλογικότητας Cl<sub>tot</sub>. Σχετίζεται με τη βιοδιαθεσιμότητα και είναι σημαντική για τον προσδιορισμό των ρυθμών δοσολογίας και την επίτευξη συγκεντρώσεων σταθερής κατάστασης. Το προβλεπόμενο αποτέλεσμα της συνολικής κάθαρσης (Cl<sub>tot</sub>) μιας ένωσης εκφράζεται σε log (ml/min/kg).
- II. **Νεφρικό OCT2 υπόστρωμα:** Ο Κατιοντικός Οργανικός Μεταφορέας 2 είναι ένας μεταφορέας νεφρικής πρόσληψης, υπεύθυνος για τη διάθεση και τη νεφρική κάθαρση φαρμάκων και ενδογενών ενώσεων. Επίσης, τα υποστρώματα OCT2 έχουν τη δυνατότητα δημιουργίας ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων με συγχωρηγούμενους αναστολείς OCT2. Η κατανόηση του τρόπου αλληλεπίδρασης ενός φαρμάκου με το υπόστρωμα OCT2, μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση του σχεδιασμού φαρμάκων και στη μείωση των πιθανών ανεπιθύμητων ενεργειών. Ο συγκεκριμένος προγνωστικός παράγοντας, λοιπόν, αξιολογεί εάν ένα μόριο είναι πιθανό να είναι υπόστρωμα OCT2.

## ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

- i. **Τοξικότητα AMES:** Αποτελεί μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την αξιολόγηση της πιθανής μεταλλαξιογένεσης ενώσεων με τη χρήση βακτηρίων. Μια θετική δοκιμή δείχνει ότι η ένωση μπορεί να προκαλέσει γενετικές μεταλλάξεις και επομένως να παρουσιάσει καρκινογόνο δράση.
- ii. **Μέγιστη ανεκτή δόση (ανθρώπου):** Η μέγιστη συνιστώμενη ανεκτή δόση (MRTD) παρέχει μια εκτίμηση του ορίου τοξικής δόσης των χημικών ουσιών στον άνθρωπο. Το μοντέλο προβλέπει τον λογάριθμο του MRTD ( $\log \text{mg/kg/ημέρα}$ ). Αν μία ένωση έχει προβλεπόμενη τιμή  $\leq 0,477 \log (\text{mg/kg/ημέρα})$ , τότε η μέγιστη ανεκτή δόση θεωρείται χαμηλή, ενώ αν η τιμή είναι μεγαλύτερη από  $0,477 \log (\text{mg/kg/ημέρα})$ , θεωρείται υψηλή.
- iii. **Αναστολείς hERG I/II:** Οι αναστολείς των διαύλων καλίου, που κωδικοποιούνται από το ανθρώπινο γονίδιο hERG αποτελούν τις κύριες αιτίες ανάπτυξης του συνδρόμου Long QT (LQTS), το οποίο οδηγεί σε θανατηφόρα κοιλιακή αρρυθμία. Η αναστολή των διαύλων hERG οδηγεί πολλές ουσίες σε απόσυρση από τη φαρμακευτική αγορά. Το μοντέλο αυτό προβλέπει εάν μια ένωση είναι πιθανό να είναι αναστολέας hERG I/II.
- iv. **Οξεία τοξικότητα διά του στόματος (αρουραίων) (LD50):** Η τιμή της θανατηφόρου δόσης (LD50) αποτελεί μια τυπική μέτρηση της οξείας τοξικότητας, που χρησιμοποιείται στην αξιολόγηση της τοξικότητας διάφορων ενώσεων κι εκφράζει την ποσότητα μιας ένωσης, που μπορεί να προκαλέσει το θάνατο του 50% μιας ομάδας πειραματόζων. Το μοντέλο προβλέπει την LD50 κάθε ένωσης (σε  $\text{mol/kg}$ ).
- v. **Χρόνια τοξικότητα διά του στόματος (αρουραίων):** Για αρκετές θεραπευτικές στρατηγικές αποτελεί σημαντική ανησυχία το γεγονός της έκθεσης σε χαμηλές και μέτριες δόσεις χημικών για μεγάλες χρονικές περιόδους. Στόχος των χρόνιων μελετών είναι ο εντοπισμός της χαμηλότερης δόσης μιας ένωσης, που οδηγεί σε μια παρατηρούμενη ανεπιθύμητη ενέργεια (LOAEL) και της υψηλότερης δόσης, στην οποία δεν παρατηρούνται ανεπιθύμητες ενέργειες (NOAEL). Το μοντέλο αυτό λοιπόν, δημιουργεί για κάθε ένωση μία προβλεπόμενη καταγραφή για την χαμηλότερη παρατηρούμενη δυσμενή επίδραση (LOAEL) σε  $\log (\text{mg/kg}_{\text{bw}}/\text{ημέρα})$ . Τα αποτελέσματα LOAEL πρέπει πάντα να ερμηνεύονται σε σχέση με τη συγκέντρωση βιοδραστικής ένωσης και τη διάρκεια της θεραπείας που απαιτείται.
- vi. **Ηπατοτοξικότητα:** Η ηπατική βλάβη, που προκαλείται από φάρμακα αποτελεί προτεύον μέλημα ασφάλειας για την ανάπτυξη φαρμάκων, αλλά και σημαντική αιτία απόσυρσης από την αγορά. Μια ένωση χαρακτηρίζεται ως ηπατοτοξική, όταν διαταράσσει τη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος, προκαλώντας βλάβη στα ηπατικά κύτταρα. Αυτός ο προγνωστικός παράγοντας λοιπόν, προβλέπει εάν μια ένωση είναι πιθανό να σχετίζεται με κάποια διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας του ήπατος.
- vii. **Ευαισθητοποίηση του δέρματος:** Η ευαισθητοποίηση του δέρματος αποτελεί μια πιθανή αρνητική επίδραση προϊόντων, που εφαρμόζονται στο δέρμα. Η αξιολόγηση του κατά πόσο μία ένωση, όταν έρθει σε επαφή με το δέρμα, δύναται να προκαλέσει αλλεργική δερματίτιδα αποτελεί σημαντικό κριτήριο ασφάλειας. Το μοντέλο αυτό προβλέπει την πιθανότητα συσχέτισης μιας ένωσης, με την ευαισθητοποίηση του δέρματος.

- viii. **Τοξικότητα T. Pyriformis:** Το T. Pyriformis είναι ένα πρωτόζωο, το οποίο χρησιμοποιείται συχνά σε δοκιμές τοξικότητας, ως τελικό τοξικό σημείο. Για κάθε ένωση προβλέπεται ο αρνητικός λογάριθμος της συγκέντρωσης που απαιτείται για την αναστολή της ανάπτυξης κατά 50% σε  $\log \mu\text{g/L}$  ( $\text{pIGC50}$ ). Για τιμές μεγαλύτερες από  $-0,5 \log \mu\text{g/L}$ , οι ενώσεις θεωρούνται τοξικές.
- ix. **Τοξικότητα Minnow:** Η τιμή της θανατηφόρου συγκέντρωσης ( $\text{LC50}$ ) αντιπροσωπεύει τη συγκέντρωση ενός μορίου, που είναι απαραίτητη ώστε να προκαλέσει το θάνατο του 50% των Flathead Minnows (είδος ψαριού του γλυκού νερού). Αυτό το μοντέλο προβλέπει τον λογάριθμο  $\log\text{LC50}$  κάθε ένωσης. Τιμές  $\log \text{LC50} < -0,3$  μαρτυρούν ενώσεις υψηλής οξείας τοξικότητας.

### ⇒ ProTOX-II

Το proTox-II είναι η τρίτη πλατφόρμα, που χρησιμοποιήθηκε, στην παρούσα εργασία, με σκοπό την πρόβλεψη της τοξικότητας των ενώσεων. Πρόκειται για μία δωρεάν και σχετικά εύχρηστη πλατφόρμα, με μόνη απαίτηση τη δισδιάστατη δομή της ένωσης, για την οποία πρέπει να προβλεφθεί η τοξικότητα. [61]

Σε σχέση με τα υπάρχοντα υπολογιστικά μοντέλα, παρέχει αρκετά πλεονεκτήματα. Αρχικά, παρέχει γνώσεις τόσο για χημικούς, όσο και για μοριακούς στόχους. Επίσης, μία καινοτομία της πλατφόρμας αυτής είναι ότι το μοντέλο πρόβλεψης ταξινομείται σε 5 διαφορετικά στάδια τοξικότητας, παρέχοντας έτσι πληροφορίες για τον πιθανό μοριακό μηχανισμό. Τα στάδια τοξικότητας είναι τα εξής:

- Οξεία τοξικότητα (στοματική τοξικότητα)
- Τοξικότητα οργάνων (ηπατοτοξικότητα)
- Τοξικολογικά τελικά σημεία (μεταλλαξιογένεση, καρκινοτοξικότητα, κυτταροτοξικότητα, ανοσοτοξικότητα)
- Τοξικολογικές οδοί (Adverse outcome pathways-AOPs)
- Στόχοι τοξικότητας

Τα αποτελέσματα πρόβλεψης για τους στόχους τοξικότητας δημιουργούνται άμεσα και περιλαμβάνουν την προβλεπόμενη  $\text{LD50}$  σε  $\text{mg/kg}$  βάρους, την κατηγορία τοξικότητας (που κυμαίνεται από I έως VI), τη μέση ομοιότητα και την ακρίβεια πρόβλεψης. [62]

Στη συνέχεια, παρουσιάζονται οι κατηγορίες τοξικότητας σε περίπτωση κατάποσης, όπως αυτές έχουν οριστεί σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ): [63]

- i. Κατηγορία I: θανατηφόρο σε περίπτωση κατάποσης ( $LD50 \leq 5$ )
- ii. Κατηγορία II: εξαιρετικά τοξικό σε περίπτωση κατάποσης ( $5 < LD50 \leq 50$ )
- iii. Κατηγορία III: μέτρια τοξικό σε περίπτωση κατάποσης ( $50 < LD50 \leq 300$ )
- iv. Κατηγορία V: τοξικό σε περίπτωση κατάποσης ( $300 < LD50 \leq 2000$ )
- v. Κατηγορία VI: μπορεί να είναι επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης ( $2000 < LD50 \leq 5000$ )
- vi. Κατηγορία VI: μη τοξικό ( $LD50 > 5000$ )

Κάποιες βασικές παράμετροι τοξικότητας, που υπολογίζει αυτή η πλατφόρμα είναι: [62]

- ❖ **Ηπατοτοξικότητα:** Όπως προαναφέρθηκε και στο προηγούμενο μοντέλο, η ηπατοτοξικότητα που προκαλείται από φάρμακα (DILI) αποτελεί σημαντική αιτία οξείας ηπατικής ανεπάρκειας και έναν από τους κύριους λόγους απόσυρσης φαρμάκων από την αγορά. Η φαρμακευτική ηπατοτοξικότητα μπορεί να είναι, είτε μια χρόνια διαδικασία, είτε ένα μεμονωμένο συμβάν. Ωστόσο, η πρόβλεψη του DILI είναι σημαντική για την ασφάλεια των φαρμάκων. Συνήθως συμβαίνει κατά τη διάρκεια της θεραπείας, αλλά σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να συμβεί και μετά τη διακοπή ενός φαρμάκου. Επίσης, το μοντέλο πρόβλεψης ηπατοτοξικότητας ProTox-II παρουσιάζει ακρίβεια 82,00 % στη διασταυρούμενη επικύρωση και 86,00 % στην εξωτερική επικύρωση.
- ❖ **Καρκινογένεση:** Αναφέρεται στη δυνατότητα μιας χημικής ουσίας να προκαλέσει καρκίνο ή να αυξήσει τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου στα κύτταρα. Οι ουσίες, που μπορούν να προκαλέσουν καρκινογένεση ονομάζονται καρκινογόνες. Το μοντέλο πρόβλεψης καρκινογένεσης ProTox-II παρουσιάζει ακρίβεια 81,24 % στη διασταυρούμενη επικύρωση και 83,30 % στην εξωτερική επικύρωση.
- ❖ **Μεταλλαξιγένεση:** Η μεταλλαξιγένεση αφορά τις χημικές ουσίες που προκαλούν ανωμαλίες στο DNA ενός κυττάρου, γνωστές ως μεταλλάξεις. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβη των κυττάρων και συνδέονται με ασθένειες, όπως ο καρκίνος. Το μοντέλο πρόβλεψης μεταλλαξιγένεσης ProTox-II παρουσιάζει ακρίβεια 84,00 % στη διασταυρούμενη επικύρωση και 85,00 % στην εξωτερική επικύρωση.
- ❖ **Κυτταροτοξικότητα:** Η πρόβλεψη της κυτταροτοξικότητας αποτελεί σημαντικό τμήμα για τον έλεγχο ενώσεων που μπορούν να προκαλέσουν επιθυμητή ή ανεπιθύμητη κυτταρική βλάβη, ιδίως στην περίπτωση των καρκινικών κυττάρων. Όλες οι ενώσεις με τιμή IC50 μικρότερη ή ίση με 10  $\mu$ M στην *in vitro* δοκιμασία τοξικότητας έναντι των κυττάρων HepG2 θεωρούνται θετικά κυτταροτοξικές. Το μοντέλο πρόβλεψης κυτταροτοξικότητας ProTox-II παρουσιάζει ακρίβεια 85,00 % στη διασταυρούμενη επικύρωση και 83,60% στην εξωτερική επικύρωση.
- ❖ **Ανοσοτοξικότητα:** Η ανοσοτοξικότητα αναφέρεται στη δυσμενή επίδραση των ξενοβιοτικών στο ανοσοποιητικό σύστημα. Ενώσεις με τιμές αναστολής ανάπτυξης (GI50) μικρότερες από 10  $\mu$ M αναγνωρίζονται ως τοξικές. Το μοντέλο πρόβλεψης ανοσοτοξικότητας ProTox-II παρουσιάζει ακρίβεια 74,00 % στη διασταυρούμενη επικύρωση και 70,00 % στην εξωτερική επικύρωση.



# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

#### 3.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

##### 3.1.1. ΜΟΡΙΑΚΗ ΠΡΟΣΔΕΣΗ

Με σκοπό τους υπολογισμούς της μοριακής πρόσδεσης καθώς και την οπτικοποίηση των αποτελεσμάτων, όπως θα μελετήσουμε λεπτομερώς παρακάτω, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Autodock 4. Οι κρυσταλλικές δομές των πρωτεϊνικών μορίων αντλήθηκαν από την ηλεκτρονική βάση δεδομένων "Protein Data Bank - PDB".

Βάσει βιβλιογραφικών αναφορών επέλεξα 18 παράγωγα του κινναμωμικού οξέος. Στη συνέχεια, επιλέχθηκαν και μελετήθηκαν 5 μακρομόρια, που απασχολούν το εργαστήριό μας, ως πιθανοί στόχοι των κινναμωμικών παραγώγων. Σε όλα τα υποστρώματα χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιοι παράμετροι. Τα 5 αυτά μακρομόρια έχουν συνκρυσταλλωθεί με κάποιο μόριο. Με σκοπό, λοιπόν, την πραγματοποίηση των πειραμάτων μοριακής πρόσδεσης με τα κινναμωμικά παράγωγα, χρησιμοποιήθηκαν οι συντεταγμένες του εκάστοτε μορίου.

Για τη δημιουργία της περιοχής πλέγματος (gridbox), οι συντεταγμένες που χρησιμοποιήθηκαν για όλα τα πειράματα ήταν οι εξής:

- Οι τιμές για τον αριθμό των σημείων πλέγματος: X= 40, Y= 40, Z= 40 (προεπιλογή)
- Η απόσταση των κουκίδων: 0,375 Å (προεπιλογή)

Ως συντεταγμένες του κέντρου του πλέγματος, χρησιμοποιήθηκαν οι συντεταγμένες εκείνου του μορίου, που είχε προσδεθεί ήδη με το εκάστοτε μακρομόριο, όπως προαναφέρθηκε.

Οι συντεταγμένες λοιπόν, που βρέθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία ήταν οι εξής:

- 2Z5X (βιβλιογραφία): X=37,977 , Y=27,05 , Z= -17,761
- 1S3B (βιβλιογραφία): X=53,989 , Y=151,355 , Z=21,836
- 4EY7 (βιβλιογραφία): X=-18,53 , Y=-41,928 , Z=24,258
- 4YEK (βιβλιογραφία): X=231,106 , Y=57,224 , Z= -18,427
- 5DYW (βιβλιογραφία): X=14,209, Y=-26,367, Z=-41,477

### 3.1.2. ΜΕΛΕΤΗ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

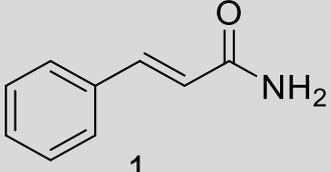
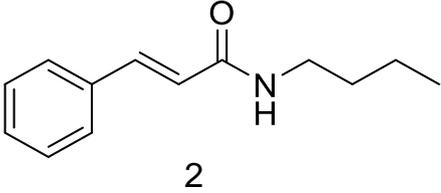
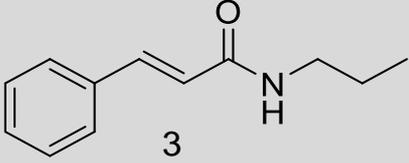
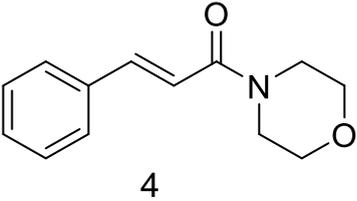
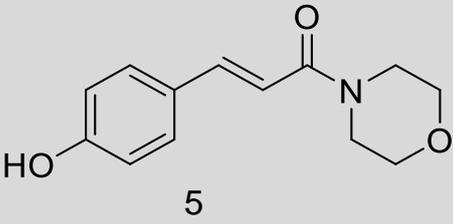
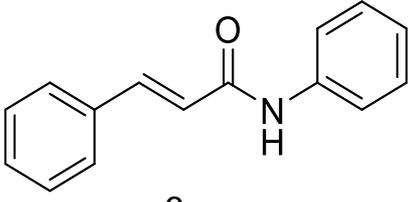
Οι δύο ενώσεις, που εμφάνισαν τις ευνοϊκότερες ενέργειες πρόσδεσης, σχεδιάστηκαν στο ChemDraw και μετατράπηκαν σε SMILES στα λογισμικά SwissADME, pKCSm και ProTOX-II. Τα δύο πρώτα λογισμικά χρησιμοποιήθηκαν για την εξέταση του βαθμού ομοιότητας του υπό εξέταση φαρμάκου με ένα ήδη εγκεκριμένο φάρμακο (ο κανόνας των 5 του Lipinski, οι κανόνες του Veber κλπ). Επιπλέον, μέσω των τριών λογισμικών εξετάστηκαν διάφορες παράμετροι τοξικότητας για τις δύο ενώσεις. Αυτή η διαδικασία είναι πολύ σημαντική για τον υπολογιστικό σχεδιασμό φαρμάκων, διότι ορισμένες φορές πιθανές βιολογικές ενώσεις αποτυγχάνουν να φτάσουν στις κλινικές δοκιμές λόγω των δυσμενών φαρμακοκινητικών παραμέτρων τους.

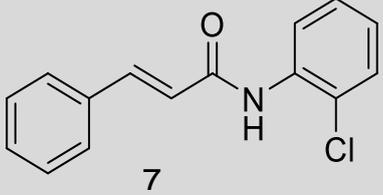
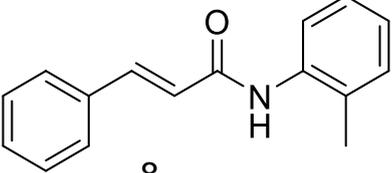
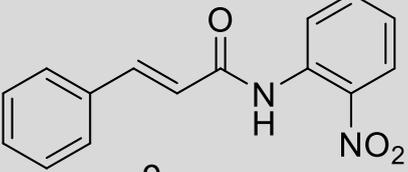
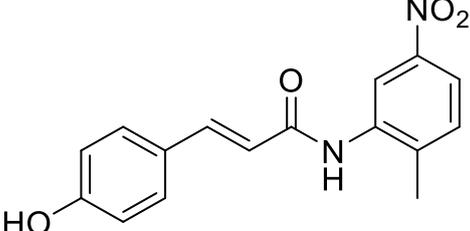
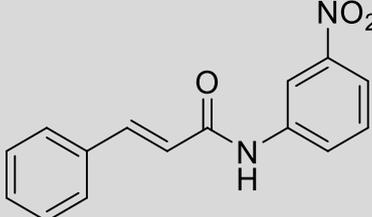
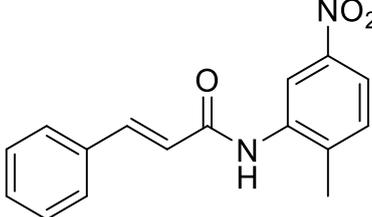
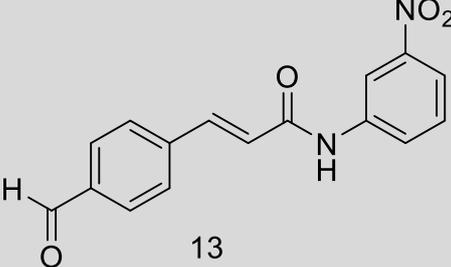
### 3.2. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

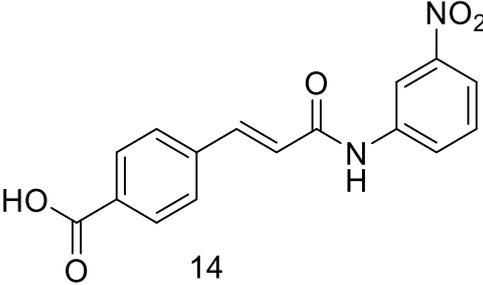
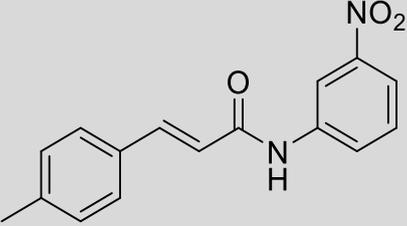
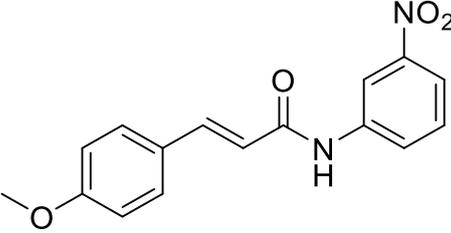
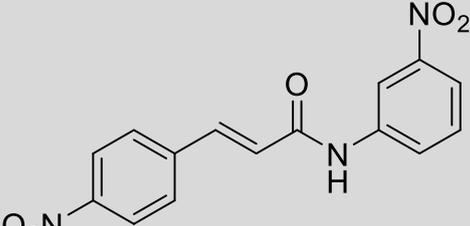
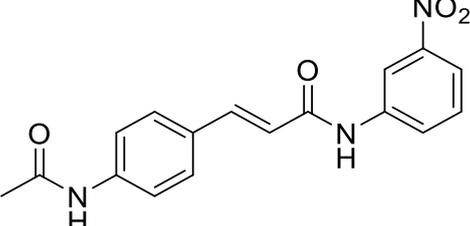
Στη συγκεκριμένη υποενότητα θα παρουσιάσουμε τα *in silico* αποτελέσματα των υπολογισμών μοριακής πρόσδεσης, καθώς και τις απεικονίσεις από την πρόσδεση των μορίων, που εμφάνισαν τις ευνοϊκότερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης.

Αρχικά, συνοψίζονται σε πίνακες τα αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης:

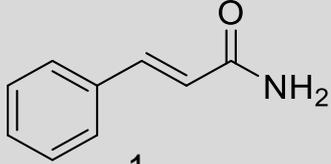
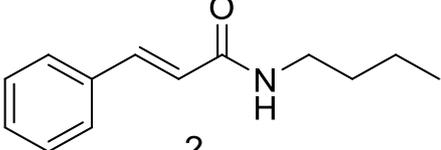
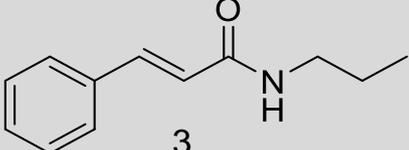
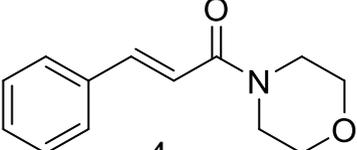
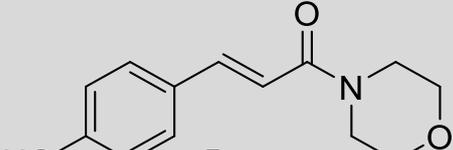
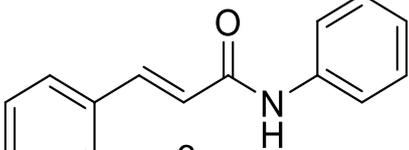
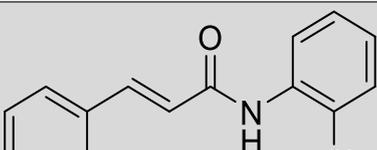
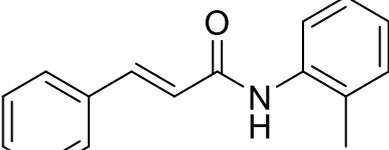
Πίνακας 3. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 2Z5X.

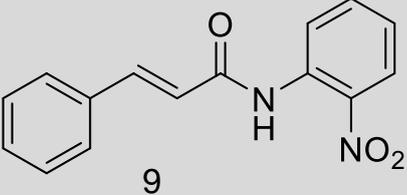
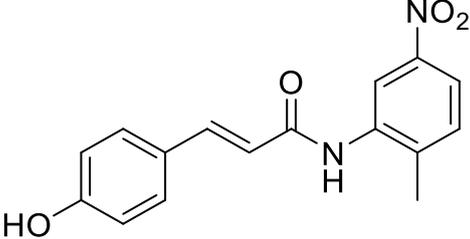
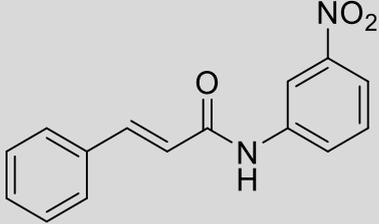
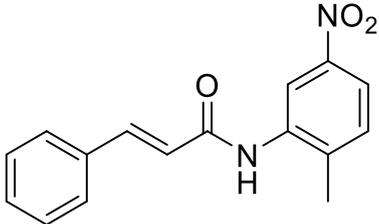
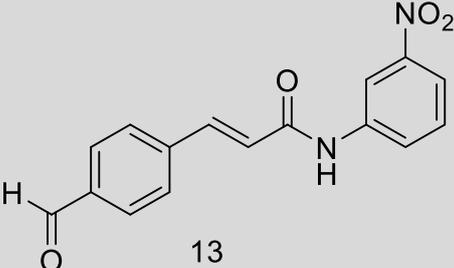
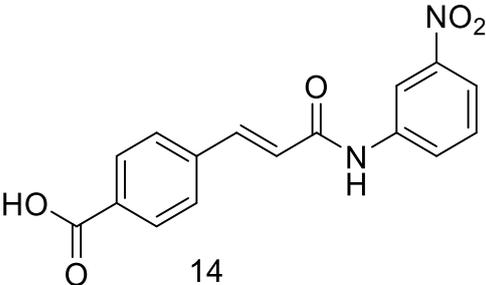
2Z5X (Μονοαμινοοξειδάση A)	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
 1	-5,98±0,5
 2	-6,94±0,5
 3	-6,80±0,5
 4	-6,58±0,5
 5	-7,45±0,5
 6	-7,83±0,5

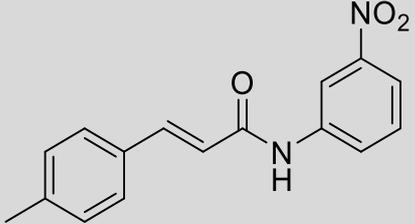
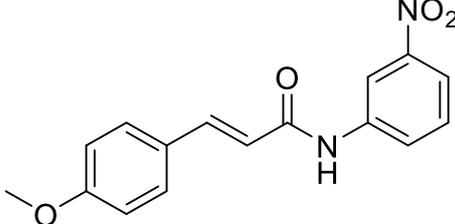
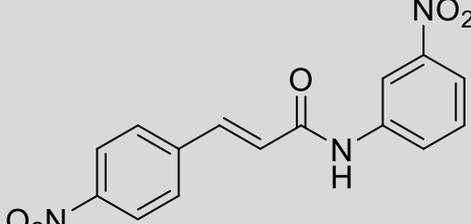
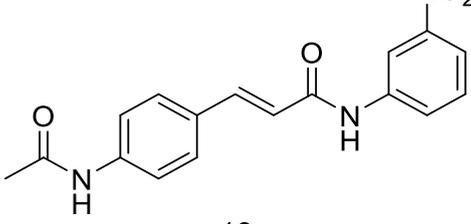
 <p>7</p>	<p><b>-8,43±0,5</b></p>
 <p>8</p>	<p><b>-8,40±0,5</b></p>
 <p>9</p>	<p><b>-8,84±0,5</b></p>
 <p>10</p>	<p><b>-10,19±0,5</b></p>
 <p>11</p>	<p><b>-8,92±0,5</b></p>
 <p>12</p>	<p><b>-9,57±0,5</b></p>
 <p>13</p>	<p><b>-9,43±0,5</b></p>

 <p>14</p>	<p><b>-10,71±0,5</b></p>
 <p>15</p>	<p><b>-8,93±0,5</b></p>
 <p>16</p>	<p><b>-9,12±0,5</b></p>
 <p>17</p>	<p><b>-7,97±0,5</b></p>
 <p>18</p>	<p><b>-6,21±0,5</b></p>

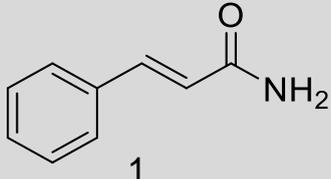
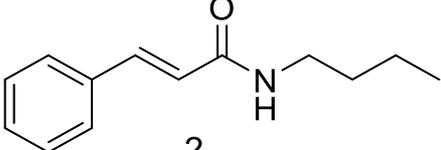
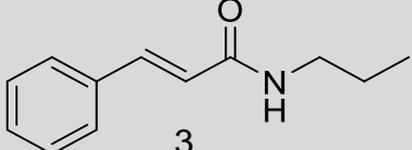
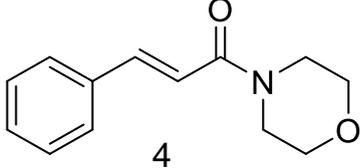
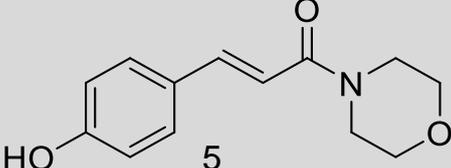
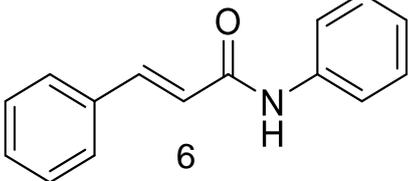
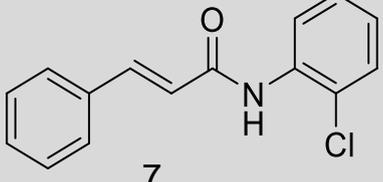
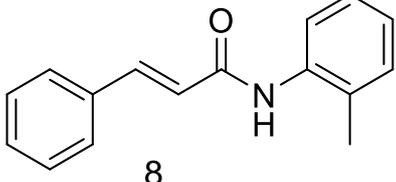
**Πίνακας 4.** Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 1S3B.

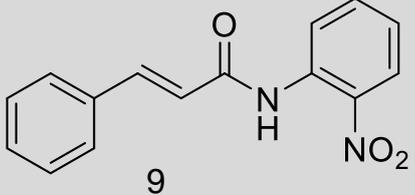
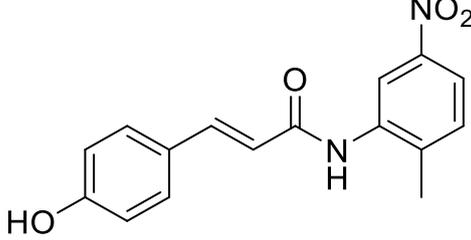
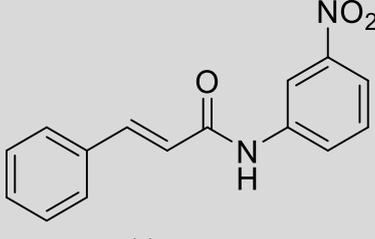
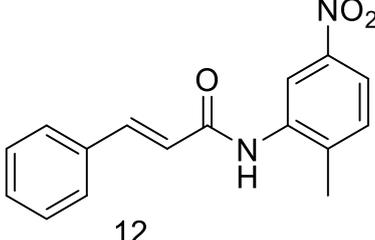
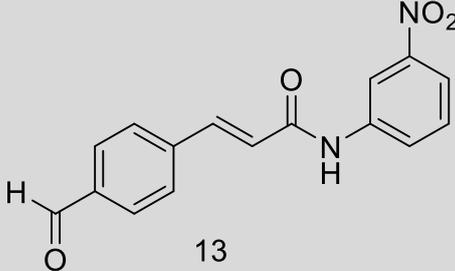
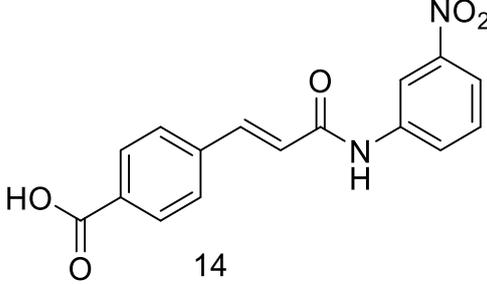
1S3B (Μονοαμινοοξείδωση Β)	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
 <p>1</p>	-6,17±0,5
 <p>2</p>	-6,93±0,5
 <p>3</p>	-6,87±0,5
 <p>4</p>	-6,89±0,5
 <p>5</p>	-6,78±0,5
 <p>6</p>	-7,41±0,5
 <p>7</p>	-8,02±0,5
 <p>8</p>	-7,84±0,5

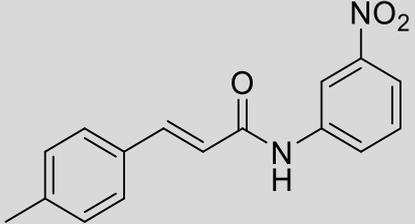
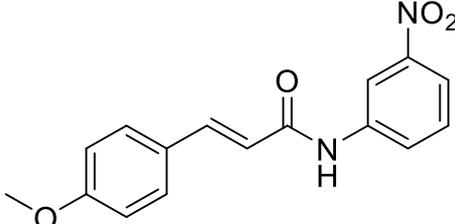
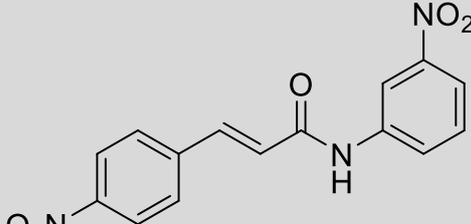
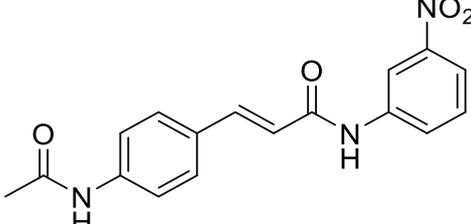
 <p>9</p>	<p><b>-8,17±0,5</b></p>
 <p>10</p>	<p><b>-6,53±0,5</b></p>
 <p>11</p>	<p><b>-6,94±0,5</b></p>
 <p>12</p>	<p><b>-6,81±0,5</b></p>
 <p>13</p>	<p><b>-5,46±0,5</b></p>
 <p>14</p>	<p><b>-5,18±0,5</b></p>

 <p>15</p>	<p><b>-5,42±0,5</b></p>
 <p>16</p>	<p><b>-5,07±0,5</b></p>
 <p>17</p>	<p><b>-0,65±0,5</b></p>
 <p>18</p>	<p><b>+8,34±0,5</b></p>

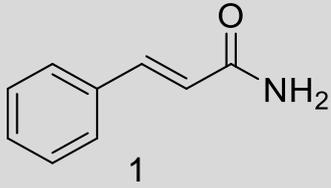
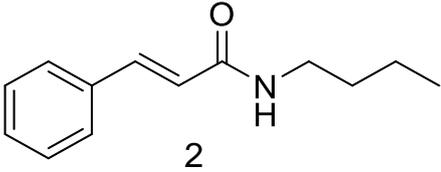
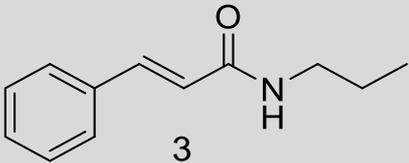
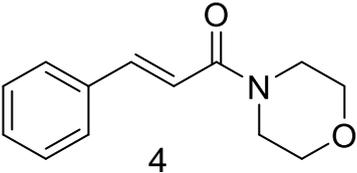
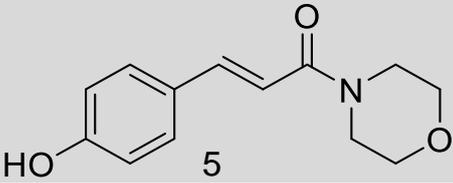
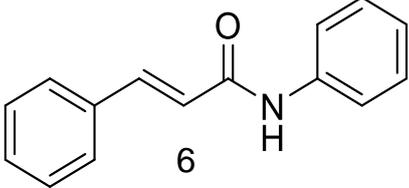
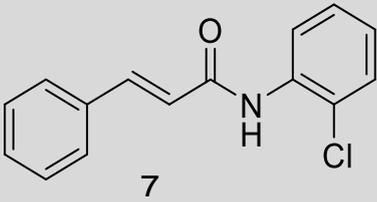
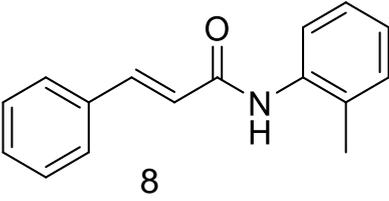
Πίνακας 5. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4EY7.

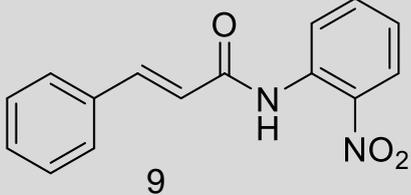
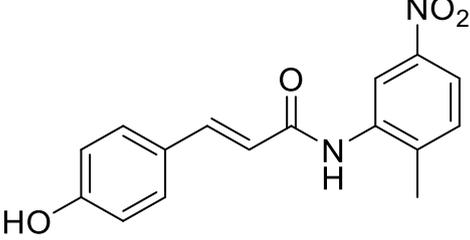
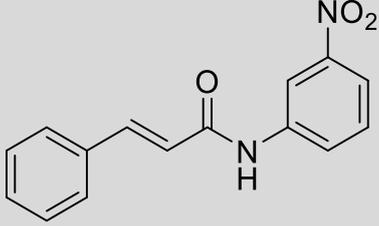
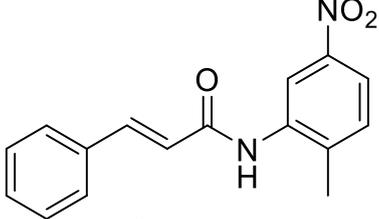
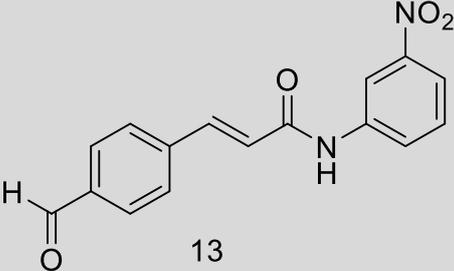
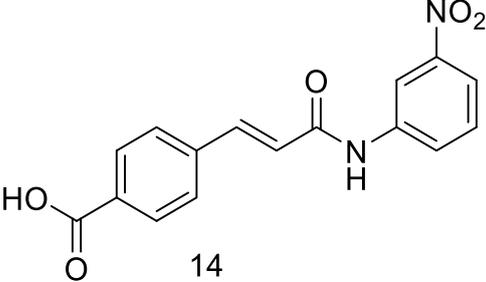
4EY7 (Ακετυλοχολινεστεράση)	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
 <p>1</p>	<b>-6,08±0,5</b>
 <p>2</p>	<b>-6,75±0,5</b>
 <p>3</p>	<b>-6,73±0,5</b>
 <p>4</p>	<b>-7,66±0,5</b>
 <p>5</p>	<b>-7,82±0,5</b>
 <p>6</p>	<b>-8,20±0,5</b>
 <p>7</p>	<b>-8,65±0,5</b>
 <p>8</p>	<b>-8,61±0,5</b>

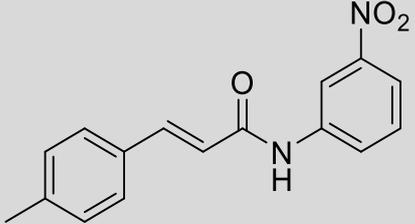
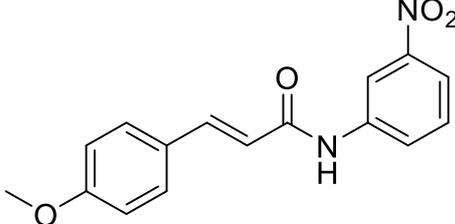
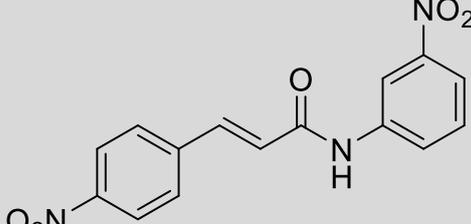
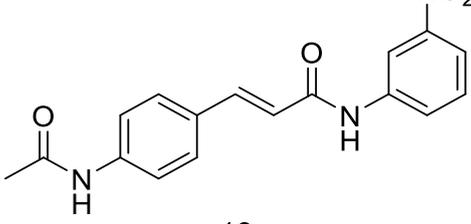
 <p>9</p>	<p><b>-9,29±0,5</b></p>
 <p>10</p>	<p><b>-10,11±0,5</b></p>
 <p>11</p>	<p><b>-9,14±0,5</b></p>
 <p>12</p>	<p><b>-9,43±0,5</b></p>
 <p>13</p>	<p><b>-9,84±0,5</b></p>
 <p>14</p>	<p><b>-10,35±0,5</b></p>

 <p>15</p>	<p><b>-9,44±0,5</b></p>
 <p>16</p>	<p><b>-9,66±0,5</b></p>
 <p>17</p>	<p><b>-8,94±0,5</b></p>
 <p>18</p>	<p><b>-10,87±0,5</b></p>

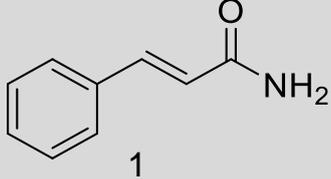
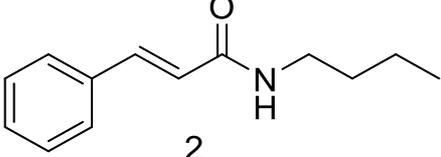
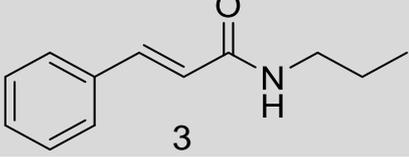
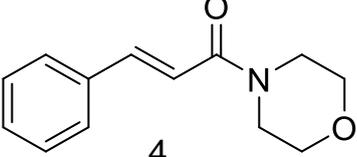
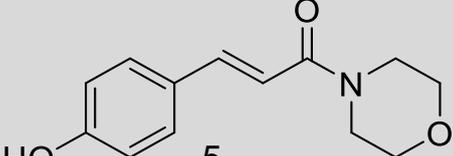
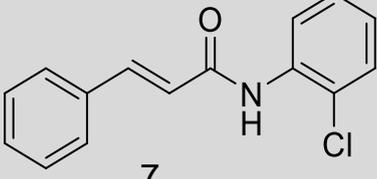
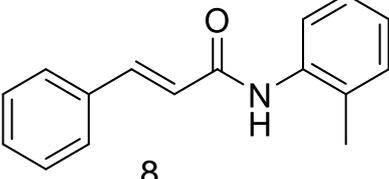
Πίνακας 6. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 4ΥΕΚ.

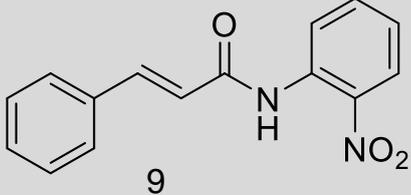
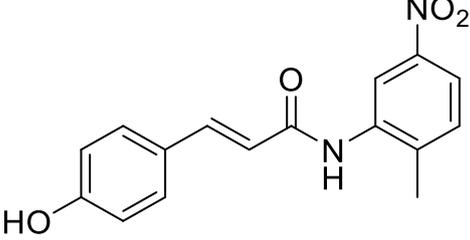
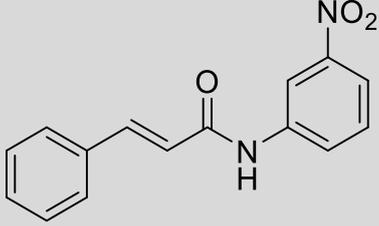
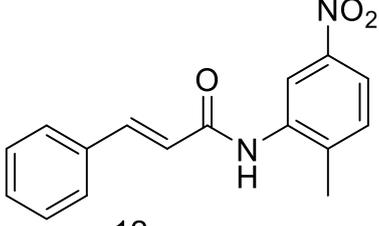
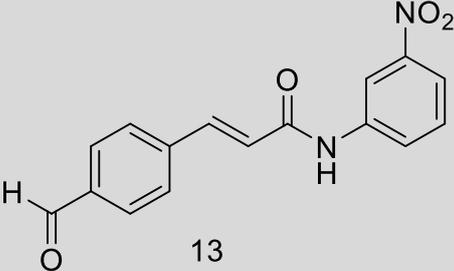
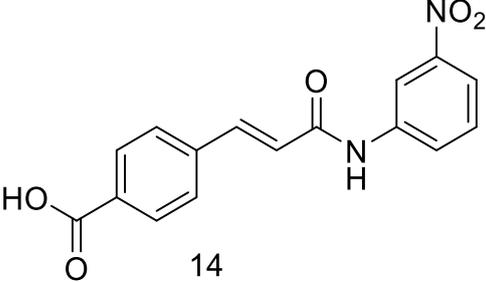
4ΥΕΚ (Φωσφορυλάση Θυμιδίνης)	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
 <p>1</p>	-4,93±0,5
 <p>2</p>	-5,87±0,5
 <p>3</p>	-5,73±0,5
 <p>4</p>	-5,47±0,5
 <p>5</p>	-5,93±0,5
 <p>6</p>	-6,87±0,5
 <p>7</p>	-6,48±0,5
 <p>8</p>	-6,78±0,5

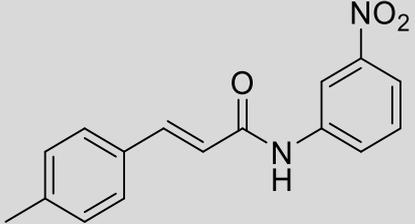
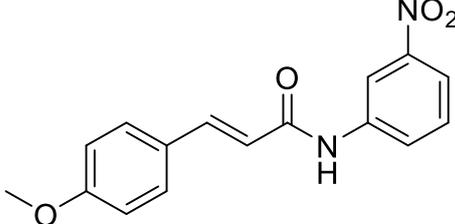
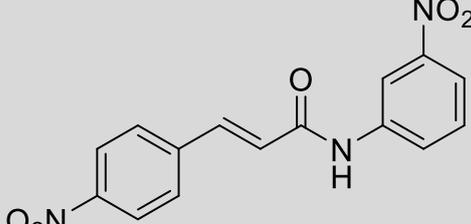
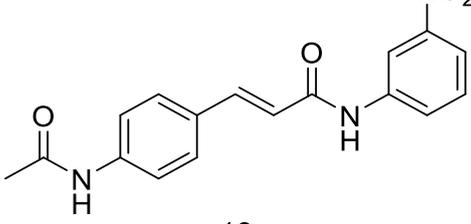
 <p>9</p>	<p><b>-7,36±0,5</b></p>
 <p>10</p>	<p><b>-8,61±0,5</b></p>
 <p>11</p>	<p><b>-8,39±0,5</b></p>
 <p>12</p>	<p><b>-8,42±0,5</b></p>
 <p>13</p>	<p><b>-8,63±0,5</b></p>
 <p>14</p>	<p><b>-8,60±0,5</b></p>

 <p>15</p>	<p><b>-8,18±0,5</b></p>
 <p>16</p>	<p><b>-8,57±0,5</b></p>
 <p>17</p>	<p><b>-7,68±0,5</b></p>
 <p>18</p>	<p><b>-9,21±0,5</b></p>

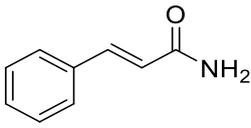
**Πίνακας 7.** Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων μοριακής πρόσδεσης μεταξύ των ενώσεων και του 5DYW.

5DYW (Βουτυρυλοχολινεστεράση)	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
 <p>1</p>	-5,62±0,5
 <p>2</p>	-6,39±0,5
 <p>3</p>	-6,17±0,5
 <p>4</p>	-6,84±0,5
 <p>5</p>	-7,01±0,5
 <p>6</p>	-7,13±0,5
 <p>7</p>	-7,70±0,5
 <p>8</p>	-7.74±0.5

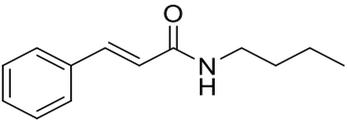
 <p>9</p>	<p><b>-7,79±0,5</b></p>
 <p>10</p>	<p><b>-8,66±0,5</b></p>
 <p>11</p>	<p><b>-7,95±0,5</b></p>
 <p>12</p>	<p><b>-8,27±0,5</b></p>
 <p>13</p>	<p><b>-9,17±0,5</b></p>
 <p>14</p>	<p><b>-9,14±0,5</b></p>

 <p>15</p>	<p><b>-7,73±0,5</b></p>
 <p>16</p>	<p><b>-7,73±0,5</b></p>
 <p>17</p>	<p><b>-7,28±0,5</b></p>
 <p>18</p>	<p><b>-8,39±0,5</b></p>

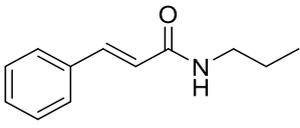
**Πίνακας 8.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 1.

 1	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-5,98±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,17±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-6,07±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-4,93±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-5,62±0,5</b>

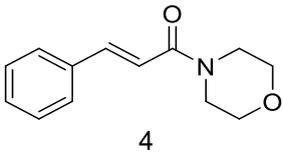
**Πίνακας 9.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 2.

 2	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-6,94±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,93±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-6,75±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-5,87±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-6,39±0,5</b>

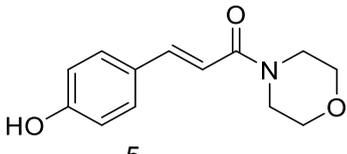
**Πίνακας 10.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 3.

 3	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-6,80±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,87±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-6,73±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-5,73±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-6,17±0,5</b>

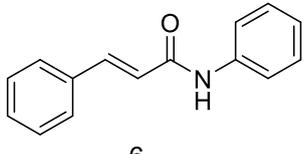
**Πίνακας 11.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 4.

 4	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-6,58±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,89±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-7,66±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-5,47±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-6,84±0,5</b>

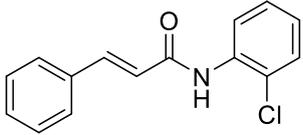
**Πίνακας 12.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 5.

 5	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-7,45±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,78±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-7,82±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-5,93±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,01±0,5</b>

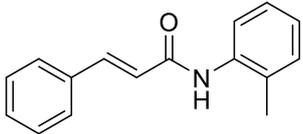
**Πίνακας 13.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 6.

 6	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-7,83±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-7,41±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-8,20±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-6,87±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,13±0,5</b>

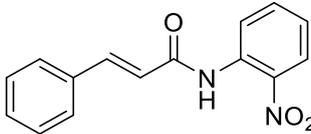
Πίνακας 14. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 7.

 7	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-8,43±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-8,02±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-8,65±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-6,48±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,7±0,5</b>

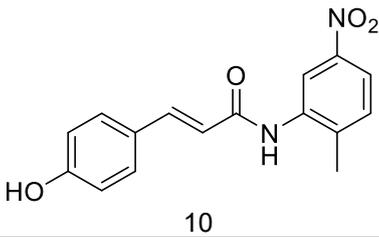
Πίνακας 15. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 8.

 8	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-8,40±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-7,84±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-8,61±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-6,78±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,74±0,5</b>

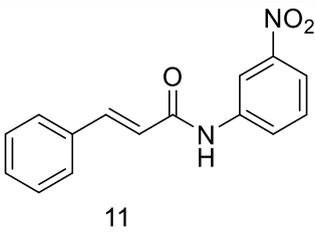
Πίνακας 16. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 9.

 9	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-8,84±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-8,17±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,29±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-7,36±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,79±0,5</b>

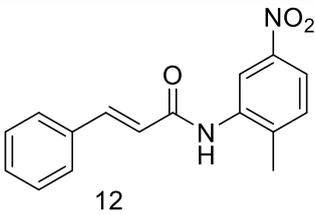
**Πίνακας 17.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 10.

 10	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-10,19±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,53±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-10,11±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,61±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-8,66±0,5</b>

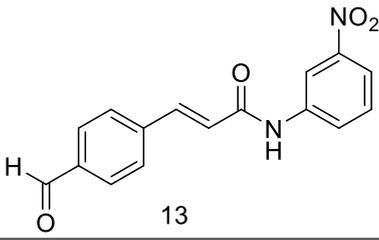
**Πίνακας 18.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 11.

 11	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-8,92±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,94±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,14±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,39±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,95±0,5</b>

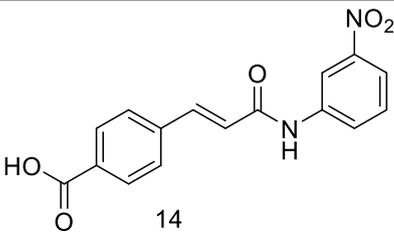
**Πίνακας 19.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 12.

 12	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-9,57±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-6,81±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,43±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,42±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-8,27±0,5</b>

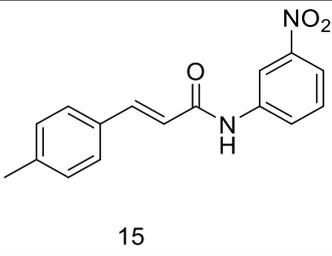
**Πίνακας 20.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 13.

 13	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-9,43±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-5,46±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,84±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,63±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-9,17±0,5</b>

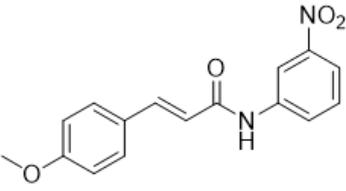
**Πίνακας 21.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 14.

 14	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-10,71±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-5,18±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-10,35±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,60±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-9,14±0,5</b>

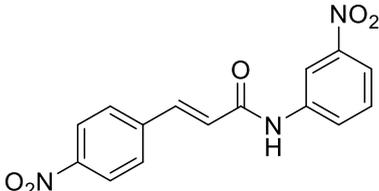
**Πίνακας 22.** Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 15.

 15	<b>Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)</b>
<b>2Z5X</b>	<b>-8,93±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-5,42±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,44±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,18±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,73±0,5</b>

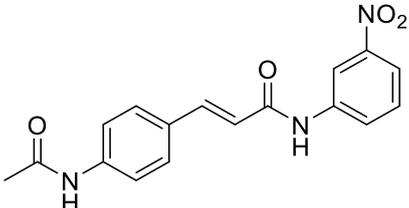
Πίνακας 23. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 16.

 16	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-9,12±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-5,07±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-9,66±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-8,57±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,73±0,5</b>

Πίνακας 24. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 17.

 17	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-7,97±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>-0,65±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-8,94±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-7,68±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-7,28±0,5</b>

Πίνακας 25. Αποτελέσματα μοριακής πρόσδεσης της ένωσης 18.

 18	Ενέργεια πρόσδεσης (kcal/mol)
<b>2Z5X</b>	<b>-6,21±0,5</b>
<b>1S3B</b>	<b>+8,34±0,5</b>
<b>4EY7</b>	<b>-10,87±0,5</b>
<b>4YEK</b>	<b>-9,21±0,5</b>
<b>5DYW</b>	<b>-8,39±0,5</b>

Σχετικά με το μακρομόριο 2Z5X οι τιμές ενέργειας πρόσδεσης κυμαίνονται από -10,71 kcal/mol (ένωση 14) έως -5,98 kcal/mol (ένωση 1). Σε γενικές γραμμές, θα λέγαμε πως με την αύξηση του αριθμού και της ηλεκτραρνητικότητας των υποκαταστατών, αυξάνεται και η ισχύς της πρόσδεσης. Μάλιστα, παρατηρούμε πως η προσθήκη του δεύτερου δακτυλίου ευνοεί την πρόσδεση, δίνοντας υψηλότερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης. Εξαιτίας των παραπάνω, όπως παρατηρούμε και στον πίνακα 3, προκύπτει πως οι ενώσεις 10, 14 παρουσιάζουν τις μέγιστες ενέργειες δέσμευσης, διαθέτοντας στη δομή δύο υποκατεστημένους με ηλεκτρονιοδέκτες βενζολικούς δακτυλίους, τον έναν με -NO<sub>2</sub> και τον άλλον με -OH και -COOH, αντίστοιχα.

Όσον αφορά το μακρομόριο 1S3B, οι τιμές ενέργειας πρόσδεσης για τις ενώσεις 1-16 κυμαίνονται μεταξύ -8,17 kcal/mol (ένωση 9) και -5,07 kcal/mol (ένωση 16). Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων, διαπιστώνουμε πως οι προσδέσεις των κινναμωμικών παραγώγων με αυτό το ένζυμο, παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές ενέργειας, σε σχέση με τα υπόλοιπα. Επίσης, παρατηρούμε πως οι ενώσεις 17 και 18 παρουσιάζουν ασυνήθιστα υψηλές τιμές ενέργειας πρόσδεσης, -0,65 kcal/mol και +8,34 kcal/mol, αντίστοιχα, καθιστώντας δύσκολο τον σχηματισμό δεσμού μεταξύ των κινναμωμικών παραγώγων και του μακρομορίου.

Προχωρώντας, μπορούμε εύκολα να διαπιστώσουμε πως η συμπεριφορά των 18 ενώσεων ως προς τον τρόπο σύνδεσης στο μακρομόριο 4EY7 είναι ίδια με εκείνη που παρατηρείται στο μακρομόριο 2Z5X, με αποτέλεσμα οι αντίστοιχες τιμές ενέργειας πρόσδεσης να ομοιάζουν αρκετά, ξεκινώντας από -10,87 kcal/mol (ένωση 18), φτάνοντας έως -6,07 kcal/mol (ένωση 1).

Όσον αφορά το μακρομόριο 4YEK, η μέγιστη ενέργεια πρόσδεσης παρατηρείται στην πρόσδεση με την ένωση 1, αγγίζοντας τα -4,93 kcal/mol, ενώ η ελάχιστη τιμή αποδίδεται στη σύνδεση με την ένωση 18, φτάνοντας τα -9,21 kcal/mol. Σε γενικές γραμμές, παρατηρούμε πως οι προσδέσεις του ενζύμου με τα κινναμωμικά παράγωγα 1-8, παρουσιάζουν ενέργειες πρόσδεσης μεγαλύτερες του -7 kcal/mol, σε αντίθεση με τις ενώσεις 9-18, οι οποίες εμφανίζουν ενέργειες πρόσδεσης μικρότερες του -7 kcal/mol, υποδηλώνοντας αρκετά ισχυρές προσδέσεις.

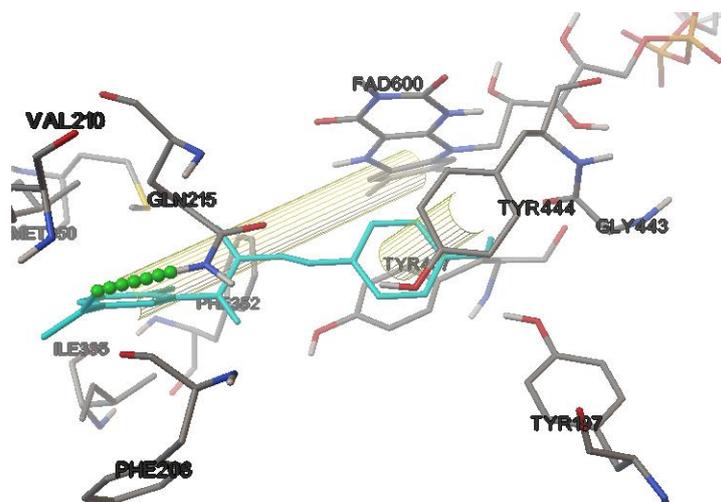
Για τους ίδιους λόγους που προαναφέρθηκαν, όσον αφορά τον αριθμό και την ηλεκτραρνητικότητα των υποκαταστατών, παρόμοια αποτελέσματα ισχύουν και για το τελευταίο μακρομόριο, 5DYW. Στο συγκεκριμένο μακρομόριο, η μέγιστη ενέργεια πρόσδεσης παρατηρείται στην πρόσδεση με την ένωση 1 και είναι ίση με -5,62 kcal/mol, ενώ οι ελάχιστες ενέργειες παρατηρούνται με τις ενώσεις 13 και 14, με τιμές -9,17 kcal/mol και -9,14 kcal/mol, αντίστοιχα.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ προσδέτων και υποδοχέων επιτυγχάνεται μέσω χημικών δεσμών, οι οποίοι σχηματίζονται όταν ο προσδέτης και ο υποδοχέας βρεθούν σε κατάλληλη απόσταση. Οι δεσμοί αυτοί είναι διαφόρων τύπων δεσμοί, όπως δεσμοί υδρογόνου, ομοιοπολικοί και ιοντικοί δεσμοί, δεσμοί μεταφοράς φορτίου, υδροφοβικοί δεσμοί, δεσμοί Van der Waals και αλληλεπιδράσεις διπόλου διπόλου.

Όσον αφορά την ενέργεια πρόσδεσης ( $\Delta G_{bind}$ ), είναι η ενέργεια που απαιτείται για τη δημιουργία του χημικού δεσμού μεταξύ των δυο μορίων. Όσο χαμηλότερη τιμή έχει, τόσο ευνοϊκότερη είναι η πρόσδεση και άρα τόσο ευκολότερος ο σχηματισμός δεσμού. Πιο συγκεκριμένα, έχει βρεθεί πως όταν η τιμή της είναι χαμηλότερη από  $-7$  kcal/mol, τότε η πρόσδεση θεωρείται ισχυρή. Όταν κυμαίνεται από  $-7$  έως  $-6$  kcal/mol, η πρόσδεση θεωρείται μέτριας ισχύος, ενώ για τιμές μεγαλύτερες από  $-6$  kcal/mol, η πρόσδεση δε θεωρείται ευνοϊκή, καθιστώντας δύσκολο τον σχηματισμό συμπλόκων.

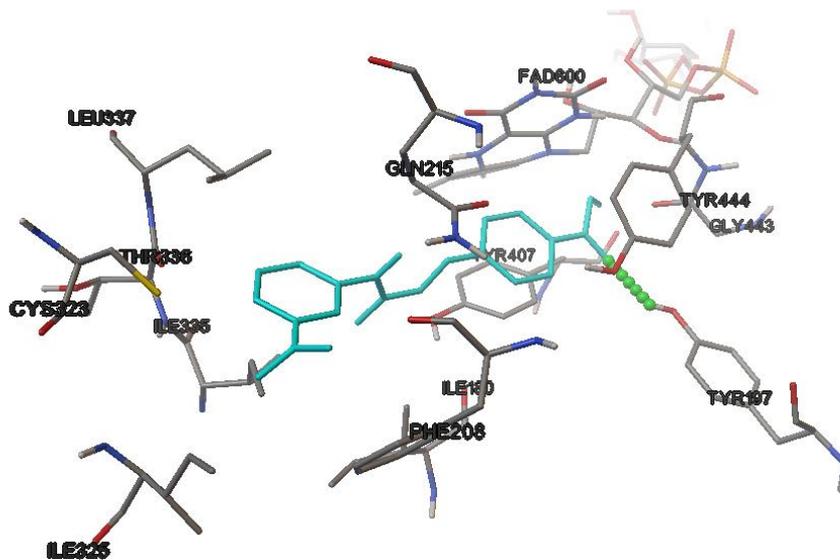
Στη συνέχεια της εργασίας, παρατίθενται οπτικοποιημένα τα αποτελέσματα των μοριακών προσδέσεων των μορίων με τις ευνοϊκότερες τιμές πρόσδεσης:

- **2Z5X**



Εικόνα 7. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 2Z5X.

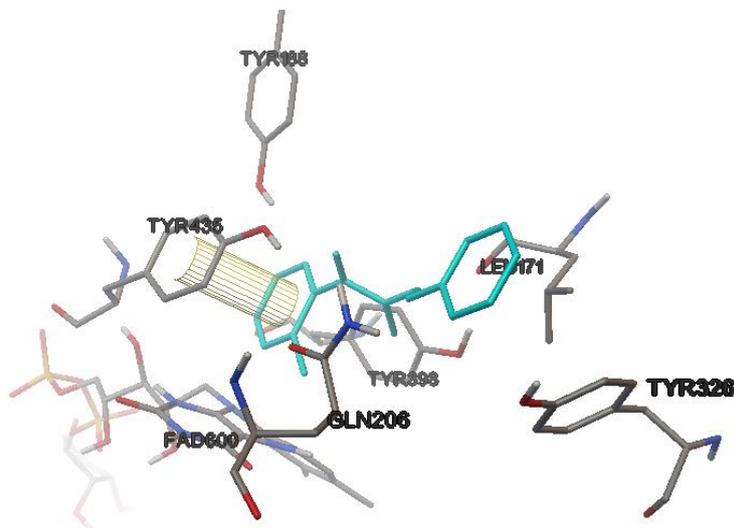
Σύμφωνα με την εικόνα 7, η ένωση 10 παρουσιάζει ένα δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ GLN215 και π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους των αμινοξέων TYR444 και FAD600.



Εικόνα 8. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 14 με την 2Z5X.

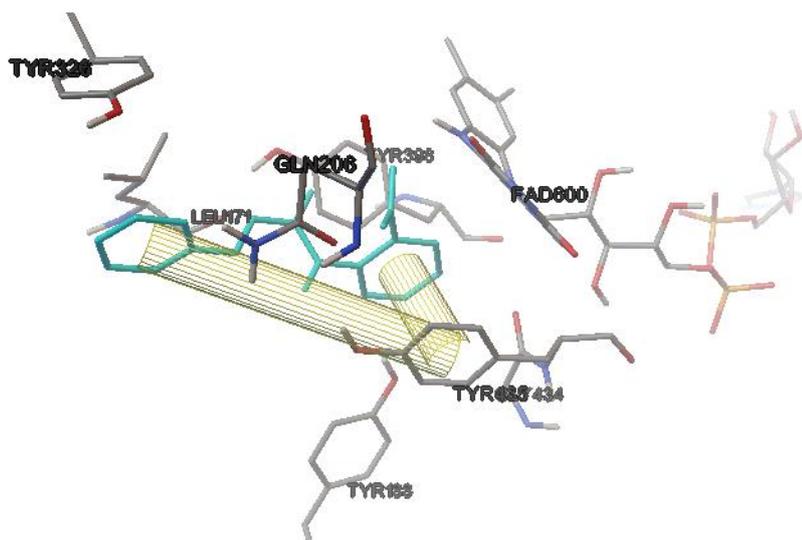
Όπως παρατηρούμε στην παραπάνω εικόνα, η ένωση 14 παρουσιάζει έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ TYR197.

- **1S3B**



Εικόνα 9. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 7 με την 1S3B.

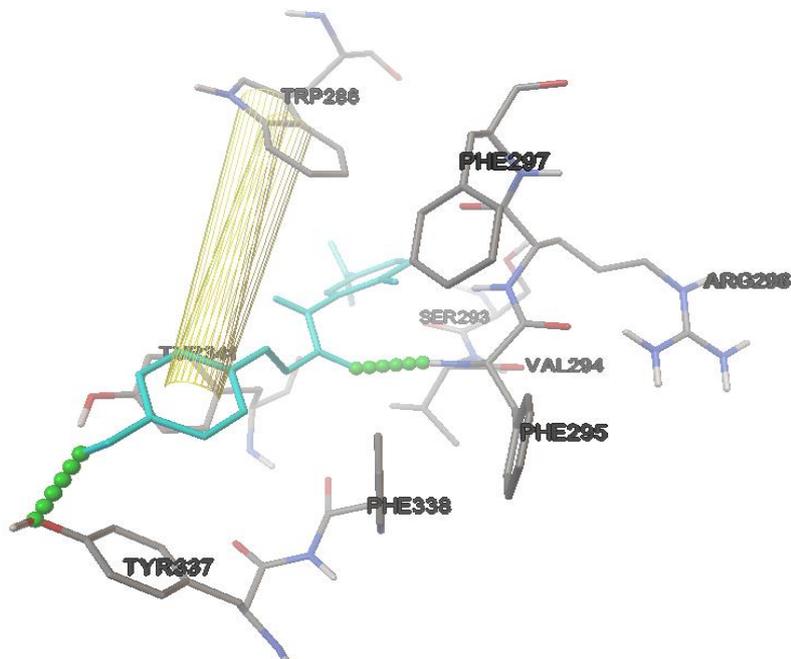
Σύμφωνα με την εικόνα 9, η ένωση 7 δεν παρουσιάζει δεσμούς υδρογόνου, ωστόσο παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τον αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος TYR435.



Εικόνα 10. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 9 με την 1S3B.

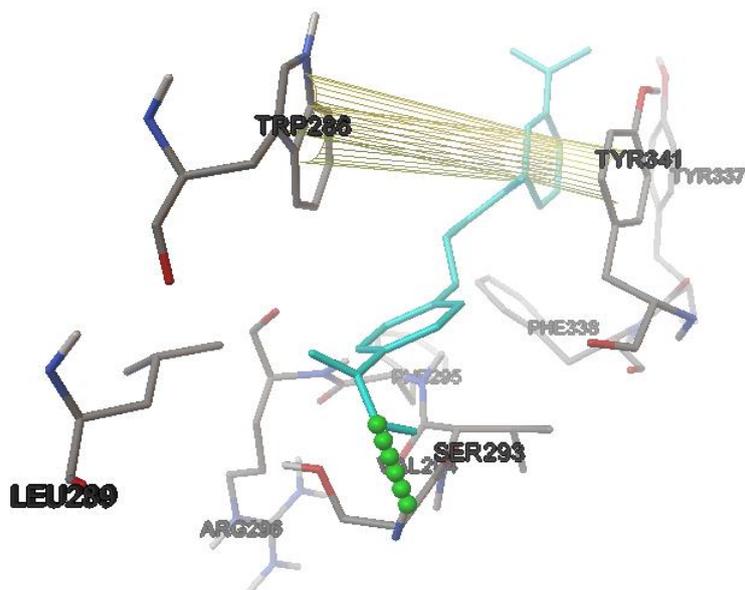
Αντίστοιχα με την ένωση 7, παρατηρούμε πως ούτε η ένωση 9 παρουσιάζει δεσμούς υδρογόνου, αλλά παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τον αρωματικό δακτύλιο του αμινοξέος TYR435.

- **4EY7**



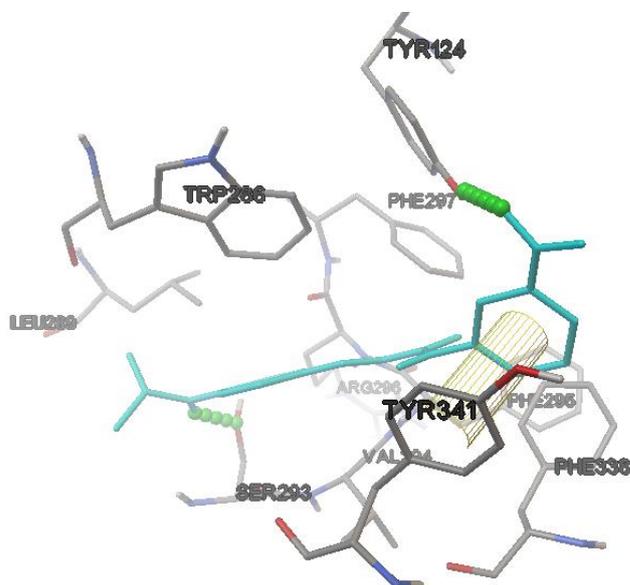
Εικόνα 11. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 4EY7.

Σύμφωνα με την παραπάνω εικόνα, η ένωση 10 παρουσιάζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα TYR337 και VAL 294. Επίσης, παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους του αμινοξέος TRP286.



Εικόνα 12. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 4 με την 4EY7.

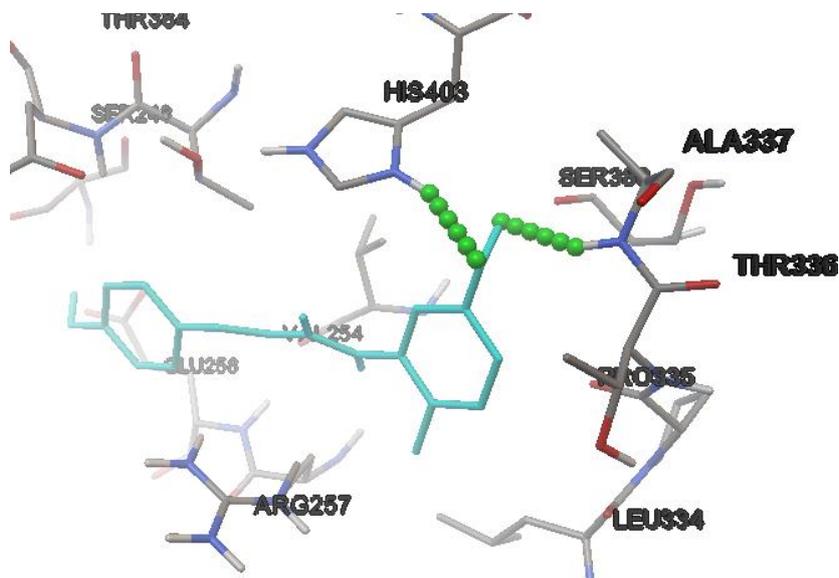
Όπως φαίνεται στην εικόνα 12, η ένωση 14 παρουσιάζει έναν δεσμό υδρογόνου με το αμινοξύ SER293. Επίσης, παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους των αμινοξέων TRP286 και TYR341.



Εικόνα 13. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 18 με την 4EY7.

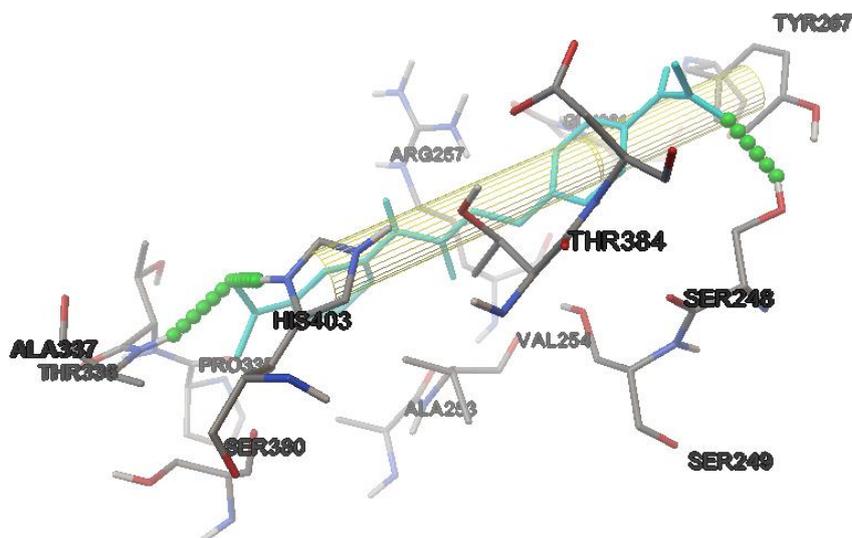
Όπως παρατηρούμε στην παραπάνω εικόνα, η ένωση 18 σχηματίζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα TYR124, SER293 και παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τον αρωματικό δακτυλίο του αμινοξέος TYR341.

- 4YEK



Εικόνα 14. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 10 με την 4YEK.

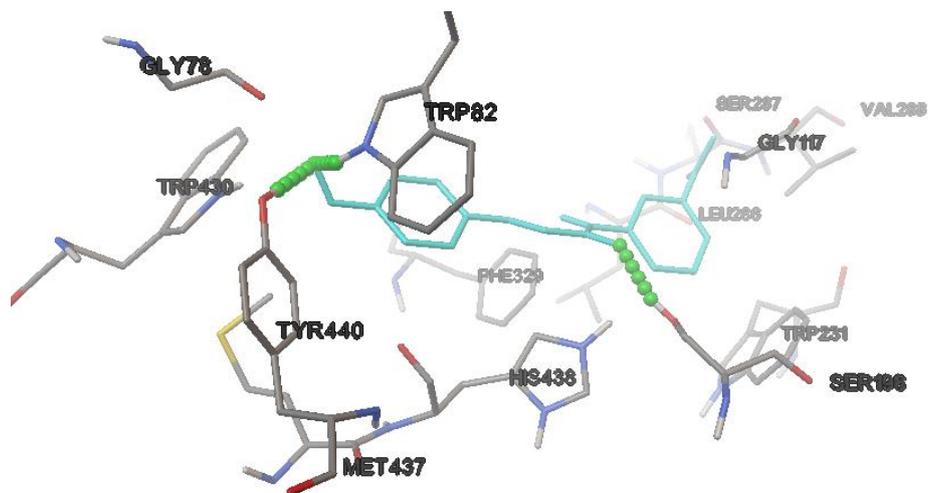
Σύμφωνα με την εικόνα 14, η ένωση 10 σχηματίζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα HIS403 και ALA337.



Εικόνα 15. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 18 με την 4YEK.

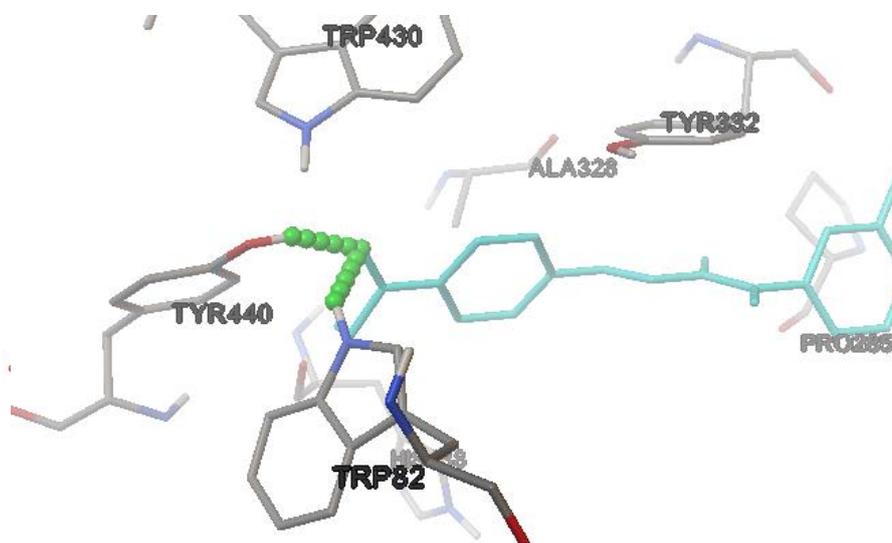
Η ένωση 18 παρουσιάζει τρεις δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα ALA337, HIS403 και SER248. Επίσης, παρουσιάζει π-π αλληλεπιδράσεις με τους αρωματικούς δακτυλίους των αμινοξέων TYR267 και HIS403.

- 5DYW



Εικόνα 16. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 13 με την 5DYW.

Όπως παρατηρούμε στην εικόνα 16, η ένωση 13 σχηματίζει τρεις δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα TRP82, TYR440 και SER196.



Εικόνα 17. Αλληλεπιδράσεις της ένωσης 14 με την 5DYW.

Αντίστοιχα με την ένωση 13, η ένωση 14 σχηματίζει δύο δεσμούς υδρογόνου με τα αμινοξέα TRP82 και TYR440.

**Πίνακας 26.** Οι αλληλεπιδράσεις των ενώσεων με τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου των 5 ενζύμων.

Ένωση	Ένζυμο	π-π αλληλεπιδράσεις	Δεσμοί Υδρογόνου
Mol 10	Μονοαμινοοξειδάση A (MAO-A)	TYR444 FAD600	GLN215
Mol14	Μονοαμινοοξειδάση A (MAO-A)	-	TYR197
Mol 7	Μονοαμινοοξειδάση B (MAO-B)	TYR435	-
Mol 9	Μονοαμινοοξειδάση B (MAO-B)	TYR435 TYR435	-
Mol 10	Ακετυλοχολινεστεράση (rhAChE)	TRP286 TRP286	TYR337 VAL294
Mol 14	Ακετυλοχολινεστεράση (rhAChE)	TRP286 TYR341	SER293
Mol 18	Ακετυλοχολινεστεράση (rhAChE)	TYR341	TYR124 SER293
Mol 10	Φωσφορυλάση Θυμιδίνης (TP)	-	HIS403 ALA337

<b>Mol 18</b>	Φωσφορυλάση Θυμιδίνης (TP)	TYR267 HIS403	ALA337 HIS403 SER248
<b>Mol 13</b>	Βουτυρυλο- Χολινεστεράση (BuChE)	-	TRP82 TYR440 SER196
<b>Mol 14</b>	Βουτυρυλο- χολινεστεράση (BuChE)	-	TRP82 TYR440

Στη συνέχεια, μελετήθηκαν με τη χρήση 3 λογισμικών, οι φυσικοχημικές ιδιότητες, τα προβλεπόμενα φαρμακοκινητικά αποτελέσματα και η τοξικότητα των δύο προσδετών, που εμφάνισαν τις καλύτερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης, των ενώσεων 10 και 14. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι πιθανές παραβιάσεις των κανόνων φαρμακομοιότητας, που προτάθηκαν από τους Lipinski, Ghose, Veber, Egan και Muegge, με ιδιαίτερη έμφαση στο μοριακό βάρος, τη λιποφιλικότητα, την πολικότητα και την πιθανή αναστολή των ενζύμων του κυτοχρώματος P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4). Επίσης, μελετήθηκε η ικανότητά τους να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, να απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα, καθώς και ο βαθμός πρόκλησης ευαισθησίας στο δέρμα. Τέλος, μελετήθηκαν πιθανές τοξικές ιδιότητες, που θα μπορούσαν να εμφανίσουν, ενώ προσδιορίστηκε η μέση θανατηφόρος δόση (LD50), καθώς και η τάξη τοξικότητας, στην οποία ανήκει καθεμιά από τις ενώσεις.

**Πίνακας 27.** Οι κανόνες φαρμακομοιότητας των Lipinski, Ghose, Veber, Egan και Muegge.

Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
Μοριακό Βάρος $\leq$ 500 DA	$160 \leq$ Μοριακό Βάρος $\leq$ 480 DA	Περιστρεφόμενοι δεσμοί $\leq$ 10	$WlogP \leq 5,88$	$200 \leq$ Μοριακό Βάρος $\leq$ 600 DA
$MlogP \leq 4,15$	$-0,4 \leq WlogP \leq 5,6$	Τοπολογική Πολική Επιφάνεια $\leq 140$	Τοπολογική Πολική Επιφάνεια $\leq 131,6$	$-2 \leq XlogP \leq 5$
Αριθμός N/H $\leq 10$	$40 \leq$ Μοριακή διαθλαστικότητα $\leq 130$			Τοπολογική Πολική Επιφάνεια $\leq 150$
Αριθμός NH/OH $\leq 5$	$20 \leq$ Αριθμός ατόμων $\leq 70$			Δακτύλιοι $\leq 7$
				Άτομα C $\leq 4$
				Ετεροάτομα $\leq 1$
				Περιστρεφόμενοι δεσμοί $\leq 15$
				Ηλεκτρονιοδέκτες $\leq 10$
				Ηλεκτρονιοδότες $\leq 5$

Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στους παρακάτω πίνακες:

**Πίνακας 28.** Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 10, χρησιμοποιώντας το λογισμικό SwissADME.

Χημικός Τύπος	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
<b>Μοριακό Βάρος</b>	298,29 g/mol
<b>Αριθμός βαρέων ατόμων</b>	22
<b>Αριθμός αρωματικών βαρέων ατόμων</b>	12
<b>Κλάσμα Csp<sup>3</sup></b>	0,06
<b>Περιστρεφόμενοι δεσμοί</b>	5
<b>Δέκτες δεσμών υδρογόνου</b>	4
<b>Δότες δεσμών υδρογόνου</b>	2
<b>Διαλυτότητα, Log S (ESOL)</b>	-3,67
<b>Τοπολογική Πολική Επιφάνεια (TPSA)</b>	95,15 Å <sup>2</sup>
<b>Λιποφιλικότητα (XLOGP)</b>	3,02

**Πίνακας 29.** Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 10, χρησιμοποιώντας το λογισμικό pkCSM.

Ιδιότητες	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
<b>Απορρόφηση</b>	
Διαλυτότητα στο νερό	-4<-3,478<-2 (log mol/L)
Διαπερατότητα κυττάρων Caco2	0,581 (<0,90) (logPapp σε 10 <sup>-6</sup> cm/s)
Εντερική απορρόφηση (ανθρώπινη)	86,787 (>30) (% που απορροφήθηκε)
Διαπερατότητα δέρματος	-2,749 (<-2,5) (logKp)
Υπόστρωμα P-γλυκοπρωτεΐνης	Ναι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης I	Όχι
Αναστολέας P-γλυκοπρωτεΐνης II	Όχι
<b>Κατανομή</b>	
VD <sub>ss</sub> (ανθρώπου)	0,108 (<0,45) (log L/kg)
Αδέσμευτο κλάσμα (ανθρώπινο)	0,16 (Fu)
BBB διαπερατότητα	0,035 (logBB)
ΚΝΣ διαπερατότητα	-2,104 (<-2) (logPS)
<b>Μεταβολισμός</b>	
Υπόστρωμα CYP2D6	Όχι
Υπόστρωμα CYP3A4	Όχι
Αναστολέας CYP1A2	Ναι
Αναστολέας CYP2C19	Ναι
Αναστολέας CYP2C9	Ναι
Αναστολέας CYP2D6	Όχι
Αναστολέας CYP3A4	Ναι
<b>Απέκκριση</b>	
Ολική Απομάκρυνση	0,153 (log ml/min/kg)
Νεφρικό OCT2 υπόστρωμα	Όχι
<b>Τοξικότητα</b>	
Τοξικότητα AMES	Ναι

Μέγιστη ανεκτή δόση (ανθρώπου)	-0,001 (log mg/kg/day)
Αναστολέας hERG I	Όχι
Αναστολέας hERG II	Όχι
Στοματική οξεία τοξικότητα αρουραίων	2,718 (mol/kg)
Στοματική χρόνια τοξικότητα αρουραίων (LOAEL)	2,4 (log mg/kg bw/day)
Ηπατοτοξικότητα	Όχι
Ευαισθητοποίηση του δέρματος	Όχι
Τοξικότητα T.Pyriformis	0,867>-5 (log ug/L)
Τοξικότητα Minnow	-0,508>-0,3 (log mM)

**Πίνακας 30.** Αποτελέσματα τοξικότητας για την ένωση 10 στην πλατφόρμα του ProTox-II.

$C_{16}H_{14}N_2O_4$	Πρόβλεψη	Πιθανότητα (%)
<b>Τοξικότητα οργάνου</b>		
Ηπατοτοξικότητα	Ανενεργή	0,50
<b>Τοξικότητα και σημεία</b>		
Καρκινογένεση	Ανενεργή	0,60
Ανοσοτοξικότητα	Ανενεργή	0,94
Μεταλλαξιogenese	Ενεργή	0,83
Κυτταροτοξικότητα	Ανενεργή	0,83
<b>Τοx21-Μονοπάτια σηματοδότησης πυρηνικών υποδοχέων</b>		
Υποδοχέας αρυλο-υδρογονάνθρακα (AhR)	Ενεργή	0,73
Υποδοχέας ανδρογόνων (AR)	Ανενεργή	0,95
Περιοχή δέσμευσης του προσδέτη στον υποδοχέα ανδρογόνων (AR-LBD)	Ανενεργή	0,98
Αρωματάση	Ανενεργή	0,92
Υποδοχέας (άλφα) α-οιστρογόνων (ER)	Ενεργή	0,57
Περιοχή δέσμευσης του προσδέτη στον υποδοχέα οιστρογόνων (ER-LBD)	Ανενεργή	0,98
Ενεργοποιημένος υποδοχέας Γ πολλαπλασιασμού των υπεροξεισωμάτων (PPAR-Gamma)	Ανενεργή	0,97
<b>Τοx21-Οδός ανταπόκρισης στο στρες</b>		
Πυρηνικός παράγοντας (προερχόμενος από το ερυθροϊδές 2)/ αντιοξειδωτικά ευαίσθητο στοιχείο (nrf2/ARE)	Ανενεργή	0,78

Παράγοντας απόκρισης στοιχείου σε θερμικό σοκ (HSE)	Ανενεργή	0,78
Δυναμικό Μιτοχονδριακής Μembrάνης(MMP)	Ενεργή	0,90
Φωσφοπρωτεΐνη (Καταστολέας όγκου) p53	Ανενεργή	0,75
Οικογένεια ATP-άσης που περιέχει πρωτεΐνη 5 της περιοχής AAA (ATAD5)	Ανενεργή	0,73

### Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του λογισμικού SwissADME έδειξαν πως η ένωση 10 διαθέτει κατάλληλη πολικότητα ( $20 \text{ \AA}^2 < \text{TPSA} < 130 \text{ \AA}^2$ ), μέγεθος ( $150 \text{ g/mol} < \text{MV} < 500 \text{ g/mol}$ ) λιποφιλικότητα ( $-0,7 < \text{XLOGP3} < +5,0$ ), διαλυτότητα ( $\text{LogS(ESOL)} < 0$ ) και ευκαμψία ( $0 < \text{αριθμός περιστρεφόμενων δεσμών} < 9$ ). Διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, ωστόσο δε διαθέτει κατάλληλη ακορεστότητα ( $0,25 < \text{κλάσμα } C_{sp3} < 1$ ). Επίσης, προσδιορίζεται ως αναστολέας των ενζύμων ένζυμα CYP1A2, CYP2C9 και CYP3A4. Στη συνέχεια, με τη χρήση του λογισμικού ProTox-II, η ένωση προβλέπεται ότι έχει Τάξη Τοξικότητας 5 και LD50 2400mg/kg, με μέση ομοιότητα 56,5% και ακρίβεια πρόβλεψης 67,38 %. Επιπλέον, μέσω του λογισμικού pkCSM φαίνεται πως το ποσοστό απορρόφησής της από το γαστρεντερικό σύστημα είναι 86,8 % και πως διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό ( $-1 < \text{logBB} < 0,3$ ). Επίσης, δεν προκαλεί ευαισθησία στο δέρμα, ενώ προσδιορίζεται ως αναστολέας των ενζύμων CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 και CYP3A4. Τέλος, το συγκεκριμένο λογισμικό εμφανίζει την ένωση τοξική ως προς την δοκιμασία T.Pyrgiformis ( $\text{log ug/L} > -0,5$ ), ενώ ως προς την δοκιμασία Minnow μη τοξική ( $\text{logmM} > -0,3$ ). Σύμφωνα με τα προγράμματα pkCSM και ProTox-II, η ένωση φαίνεται να μην παρουσιάζει καρκινογόνο και ηπατοτοξική δράση, ωστόσο εμφανίζει αρκετά υψηλό ποσοστό μεταλλαξιγένεσης (83 %).

**Πίνακας 31.** Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 14, χρησιμοποιώντας το λογισμικό SwissADME.

Χημικός Τύπος	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
<b>Μοριακό Βάρος</b>	312,28 g/mol
<b>Αριθμός βαρέων ατόμων</b>	23
<b>Αριθμός αρωματικών βαρέων ατόμων</b>	12
<b>Κλάσμα Csp<sup>3</sup></b>	0,00
<b>Περιστρεφόμενοι δεσμοί</b>	6
<b>Δέκτες δεσμών υδρογόνου</b>	5
<b>Δότες δεσμών υδρογόνου</b>	2
<b>Διαλυτότητα, Log S (ESOL)</b>	-3,37
<b>Τοπολογική Πολική Επιφάνεια (TPSA)</b>	112,22 Å <sup>2</sup>
<b>Λιποφιλικότητα (XLOGP)</b>	2,54

**Πίνακας 32.** Φυσικοχημικές ιδιότητες για την ένωση 14, χρησιμοποιώντας το λογισμικό pkCSM.

Ιδιότητες	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
<b>Απορρόφηση</b>	
Διαλυτότητα στο νερό	-4<-3,591<-2 (log mol/L)
Διαπερατότητα κυττάρων Caco2	1,004 (<0,90) (logPapp σε 10 <sup>-6</sup> cm/s)
Εντερική απορρόφηση (ανθρώπινη)	64,564 (>30) (% που απορροφήθηκε)
Διαπερατότητα δέρματος	-2,735 (<-2,5) (logKp)
Υπόστρωμα Ρ-γλυκοπρωτεΐνης	Ναι
Αναστολέας Ρ-γλυκοπρωτεΐνης I	Όχι
Αναστολέας Ρ-γλυκοπρωτεΐνης II	Όχι
<b>Κατανομή</b>	
VD <sub>ss</sub> (ανθρώπου)	-1,126 (<0,45) (log L/kg)
Αδέσμευτο κλάσμα (ανθρώπινο)	0,09 (Fu)
BBB διαπερατότητα	0,284 (logBB)
ΚΝΣ διαπερατότητα	-2,351 (<-2) (logPS)
<b>Μεταβολισμός</b>	
Υπόστρωμα CYP2D6	Όχι
Υπόστρωμα CYP3A4	Όχι
Αναστολέας CYP1A2	Όχι
Αναστολέας CYP2C19	Όχι
Αναστολέας CYP2C9	Όχι
Αναστολέας CYP2D6	Όχι
Αναστολέας CYP3A4	Όχι
<b>Απέκκριση</b>	
Ολική Απομάκρυνση	0,368 (log ml/min/kg)
Νεφρικό OCT2 υπόστρωμα	Όχι
<b>Τοξικότητα</b>	
Τοξικότητα AMES	Όχι
Μέγιστη ανεκτή δόση (ανθρώπου)	-0,207 (log mg/kg/day)
Αναστολέας hERG I	Όχι

Αναστολέας hERG II	Όχι
Στοματική οξεία τοξικότητα αρουραίων	1,952 (mol/kg)
Στοματική χρόνια τοξικότητα αρουραίων (LOAEL)	2,368 (log mg/kg bw/day)
Ηπατοτοξικότητα	Όχι
Ευαισθητοποίηση του δέρματος	Όχι
Τοξικότητα T.Pyiformis	0,295 (log ug/L)
Τοξικότητα Minnow	-0,323 (log mM)

**Πίνακας 33.** Αποτελέσματα τοξικότητας για την ένωση 14 στην πλατφόρμα του ProTox-II.

C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Πρόβλεψη	Πιθανότητα (%)
<b>Τοξικότητα οργάνου</b>		
Ηπατοτοξικότητα	Ανενεργή	0,50
<b>Τοξικότητα και σημεία</b>		
Καρκινογένεση	Ανενεργή	0,60
Ανοσοτοξικότητα	Ανενεργή	0,98
Μεταλλαξιογένεση	Ενεργή	0,91
Κυτταροτοξικότητα	Ανενεργή	0,76
<b>Τοx21-Μονοπάτια σηματοδότησης πυρηνικών υποδοχέων</b>		
Υποδοχέας αρυλο-υδρογονάνθρακα (AhR)	Ανενεργή	0,56
Υποδοχέας ανδρογόνων (AR)	Ανενεργή	0,98
Περιοχή δέσμευσης του προσδέτη στον υποδοχέα ανδρογόνων (AR-LBD)	Ανενεργή	0,97
Αρωματάση	Ανενεργή	0,95
Υποδοχέας (άλφα) α-οιστρογόνων (ER)	Ανενεργή	0,58
Περιοχή δέσμευσης του προσδέτη στον υποδοχέα οιστρογόνων (ER-LBD)	Ανενεργή	0,97
Ενεργοποιημένος υποδοχέας Γ πολλαπλασιασμού των υπεροξεισωμάτων (PPAR-Gamma)	Ανενεργή	0,94
<b>Τοx21-Οδός ανταπόκρισης στο στρες</b>		
Πυρηνικός παράγοντας (προερχόμενος από το ερυθροϊδές 2)/αντιοξειδωτικά ευαίσθητο στοιχείο (nrf2/ARE)	Ανενεργή	0,82

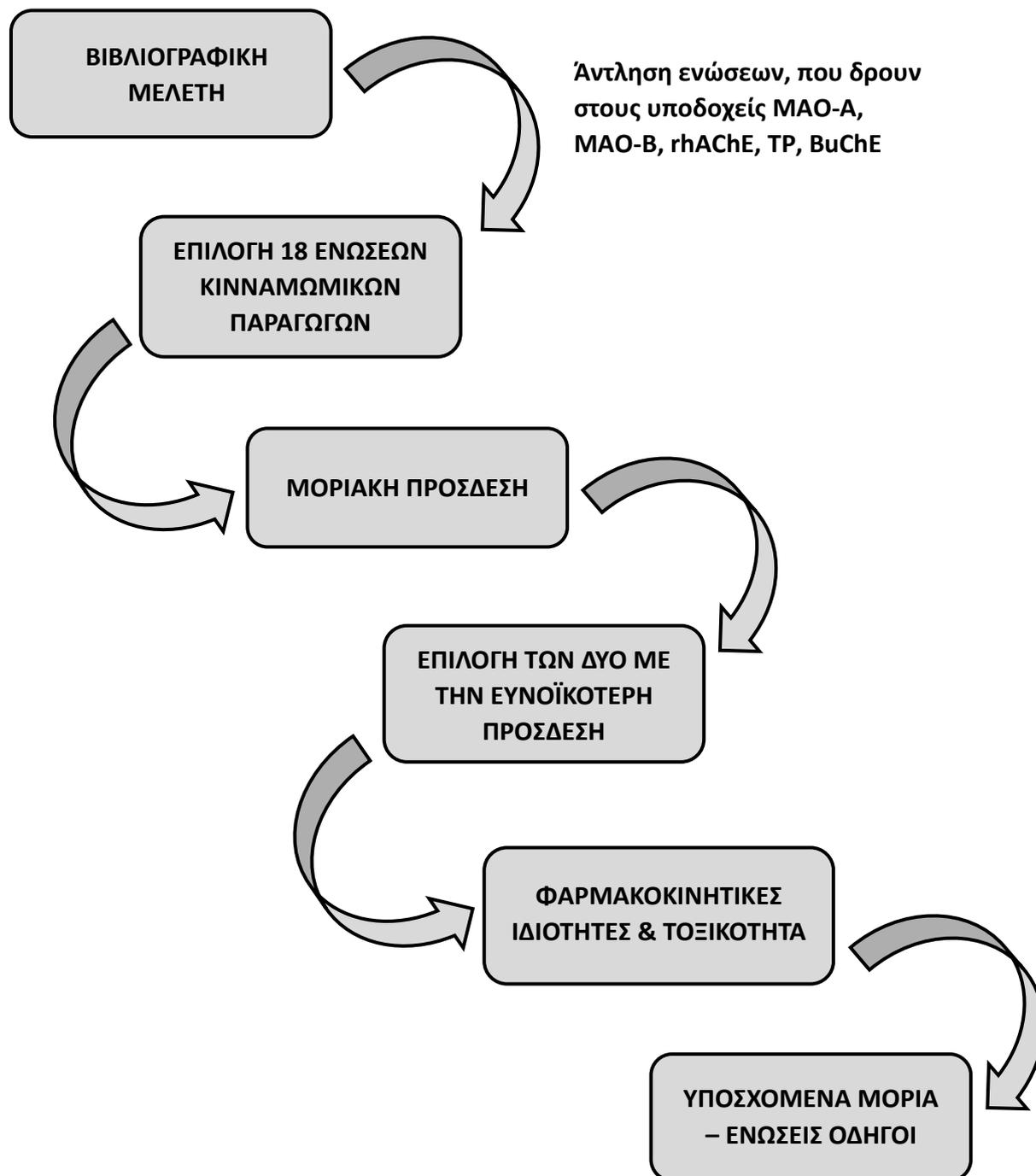
Παράγοντας απόκρισης στοιχείου σε θερμικό σοκ (HSE)	Ανενεργή	0,82
Δυναμικό Μιτοχονδριακής Μembrάνης(MMP)	Ενεργή	0,58
Φωσφοπρωτεΐνη (Καταστολέας όγκου) p53	Ανενεργή	0,86
Οικογένεια ATP-άσης που περιέχει πρωτεΐνη 5 της περιοχής AAA (ATAD5)	Ανενεργή	0,73

### Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

Σύμφωνα με το λογισμικό SwissADME, η ένωση 14 διαθέτει κατάλληλη πολικότητα ( $20 \text{ \AA}^2 < \text{TPSA} < 130 \text{ \AA}^2$ ), μέγεθος ( $150 \text{ g/mol} < \text{MV} < 500 \text{ g/mol}$ ), λιποφιλικότητα ( $-0,7 < \text{XLOGP3} < +5,0$ ), διαλυτότητα ( $\text{LogS(ESOL)} < 0$ ) και ευκαμψία ( $0 < \text{αριθμός περιστρεφόμενων δεσμών} < 9$ ). Ομοίως με την ένωση 10, διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, ωστόσο δε διαθέτει κατάλληλη ακορεστότητα ( $0,25 < \text{κλάσμα Csp3} < 1$ ). Επιπλέον, προσδιορίζεται ως αναστολέας του ενζύμου CYP2C9. Βάσει του λογισμικού ProTox-II, η ένωση ανήκει στην Τάξη Τοξικότητας 6 και παρουσιάζει LD50 10000 mg/kg, με μέση ομοιότητα 61,1 % και ακρίβεια πρόβλεψης 68,07 %. Τα αποτελέσματα του λογισμικού pkCSM έδειξαν πως το ποσοστό απορρόφησής της από το γαστρεντερικό σύστημα είναι 64,6 % και πως διαπερνά καλύτερα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, σε σχέση με την ένωση 10 ( $-1 < \text{logBB} < 0,3$ ). Επίσης, δεν προκαλεί ευαισθησία στο δέρμα, ενώ σε αντίθεση με το SwissADME, δεν προσδιορίζεται ως αναστολέας για κανένα από τα ένζυμα CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 και CYP3A4. Ως προς την δοκιμασία T.Pyrgiformis η ένωση παρουσιάζει τοξικότητα ( $\text{log ug/L} > -0,5$ ), σε αντίθεση με την δοκιμασία Minnow, ως προς την οποία αποδείχθηκε μη τοξική ( $\text{logmM} > -0,3$ ). Τέλος, παρατηρήθηκε πως δεν παρουσιάζει καρκινογόνο, ούτε ηπατοτοξική δράση, ωστόσο η πιθανότητα για μεταλλαξιγόνο δράση αγγίζει το 91 %.

### 3.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία ακολουθήθηκε η παρακάτω πορεία σε μια σειρά παραγώνων κινναμωμικού οξέος, ως προς τις πιθανές φαρμακολογικές τους ιδιότητες.



Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση της πορείας, που ακολουθήθηκε.

Αρχικά, μέσω βιβλιογραφικών αναφορών επιλέχθηκαν 18 κινναμωμικά παράγωγα, των οποίων ελέγχθηκε η ικανότητα πρόσδεσης σε πέντε πιθανούς υποδοχείς:

1. Μονοαμινοοξειδάση Α, MAO-A
2. Μονοαμινοοξειδάση Β, MAO-B
3. Ακετυλοχολινεστερινάση, rhAChE
4. Φωσφορυλάση Θυμιδίνης, (TP)
5. Βουτυρυλοχολινεστεράση, (BuChE)

Τα *in silico* πειράματα μοριακής πρόσδεσης των 18 ενώσεων στο ενεργό κέντρο των προαναφερθέντων ενζύμων πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού Autodock 4. Αξίζει να αναφέρουμε, πως δεν προσδέονται όλα τα μόρια το ίδιο ευνοϊκά σε όλους τους στόχους. Κάποια μόρια είναι εκλεκτικά σε κάποιες πρωτεΐνες, ενώ κάποια άλλα σε άλλες. Όσον αφορά το ένζυμο MAO-A, όλες οι ενώσεις εκτός από την 1 παρουσιάζουν αρκετά ισχυρή πρόσδεση, με τιμές πρόσδεσης μικρότερες του -6 kcal/mol. Μάλιστα, οι τιμές πρόσδεσης για τις ενώσεις 7-16 είναι μικρότερες από -7 kcal/mol, ενώ οι ενώσεις 10, 14 παρουσιάζουν την ισχυρότερη συνδέσεις με τιμές μικρότερες από -10 kcal/mol. Εξίσου αποτελεσματικά προσδέονται οι ενώσεις 10, 14, 18 στο ενεργό κέντρο της rhAChE, με παρόμοιες ενέργειες πρόσδεσης. Επίσης, ισχυρή είναι η πρόσδεση των ενώσεων 10-16 στο ενεργό κέντρο της TP με ενέργειες μικρότερες του -7 kcal/mol, ενώ η ένωση 8 παρουσιάζει την ισχυρότερη πρόσδεση με ενέργεια πρόσδεσης μικρότερη του -8 kcal/mol. Ακόμη, ισχυρά προσδέονται στο ενεργό κέντρο της BuChE οι ενώσεις 10, 13, 14, 18 με τιμές μικρότερες του -8 kcal/mol. Τις μεγαλύτερες τιμές ενέργειας πρόσδεσης μεταξύ όλων των ενζύμων, παρουσίασε η MAO-B, με εξαίρεση τις ενώσεις 6-9, οι οποίες προσδέονται αρκετά ισχυρά με ενέργειες μικρότερες από -7 kcal/mol. Ωστόσο οι ενέργειες των 17, 18 δεν αποκαλύπτουν ισχυρή σύνδεση. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα όλων των μοριακών προσδέσεων, που πραγματοποιήθηκαν, μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα πως τα μόρια 10, 14 μπορούν να αναστείλουν ισχυρά την Μονοαμινοοξειδάση Α (MAO-A), την Ακετυλοχολινεστεράση (rhAChE), την Φωσφορυλάση Θυμιδίνης (TP) και τη Βουτυρυλοχολινεστεράση (BuChE), σχηματίζοντας ισχυρές αλληλεπιδράσεις με τα αμινοξέα των ενεργών κέντρων των τεσσάρων αυτών ενζύμων, καθιστώντας τα κατ' αυτόν τον τρόπο πιθανά πολυδύναμα μόρια.

Στη συνέχεια, οι δύο ενώσεις μελετήθηκαν ως προς τις φαρμακοκινητικές τους ιδιότητες και την φαρμακομοιότητά τους με το λογισμικό SwissADME. Πιο αναλυτικά, εξετάστηκε εάν μπορούν να αποτελέσουν αναστολείς των κυττοχρωμάτων CYP (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), βάσει ενδεχόμενων αλληλεπιδράσεων με τα ενεργά κέντρα τους. Επίσης, ελέγχθηκε εάν παραβιάζουν κάποιους από τους κανόνες φαρμακομοιότητας, συγκεκριμένα τους κανόνες Lipinski, Veber, Ghose Egan και Muegge, προσδιορίζοντας παράλληλα τη λιποφιλικότητα, το μέγεθος, την πολικότητα, την διαλυτότητα, τον αριθμό των ελεύθερων περιστρεφόμενων δεσμών και δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στο αν οι ενώσεις διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως και οι δύο ενώσεις διαθέτουν κατάλληλη λιποφιλικότητα, πολικότητα, διαλυτότητα, μέγεθος και αριθμό ελεύθερων περιστροφών. Επίσης, διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Ωστόσο, η ένωση 10

προσδιορίζεται ως αναστολέας των ενζύμων CYP1A2, CYP2C9 και CYP3A4, σε αντίθεση με την ένωση 14, η οποία προσδιορίζεται μόνο ως αναστολέας του ενζύμου CYP2C9.

Επιπλέον, οι δύο ενώσεις μελετήθηκαν για την τοξικότητά τους μέσω του λογισμικού proTox-II. Η ένωση 10 προβλέπεται ότι μπορεί να είναι τοξική σε περίπτωση κατάποσης, ανήκοντας στην τάξη τοξικότητας 5 με LD50 2400 mg/kg, σε αντίθεση με την ένωση 14, η οποία με τάξη τοξικότητας 6, προβλέπεται ότι δεν παρουσιάζει τοξικότητα, ενώ εμφανίζει LD50 10000 mg/kg. Τα ποσοστά μέσης ομοιότητας και ακρίβειας πρόβλεψης τοξικότητας, τα οποία χρησιμοποιούνται για να αξιολογηθεί η απόδοση των μοντέλων πρόβλεψης της τοξικότητας και να προσδιοριστεί η ακρίβεια των προβλέψεων, είναι και για τις δύο ενώσεις περίπου 60% και 68%, αντίστοιχα. Ακόμη, οι ενώσεις δεν παρουσιάζουν ηπατοτοξική και καρκινογόνο δράση, ωστόσο παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά μεταλλαξιγένεσης.

Τέλος, οι ενώσεις μελετήθηκαν ως προς τις πιθανές τοξικές τους ιδιότητες και μέσω του λογισμικού pkCSM. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως δεν προκαλούν ευαισθησία στο δέρμα, ενώ διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, με την ένωση 14 να παρουσιάζει καλύτερη διαπερατότητα, με  $\log_{BB}$  σχεδόν 0,3. Επίσης, σύμφωνα με το συγκεκριμένο λογισμικό, η ένωση 10 προσδιορίζεται ως αναστολέας των ενζύμων CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 και CYP3A4, ενώ η ένωση 14 δεν προσδιορίζεται ως αναστολέας κάποιου από τα παραπάνω ένζυμα. Επιπλέον, η ένωση 10 παρουσιάζει αρκετά υψηλότερο ποσοστό απορρόφησης από το γαστρεντερικό σύστημα, σε σχέση με την ένωση 14. Βάσει του συγκεκριμένου λογισμικού, καμία από τις δύο ενώσεις δεν προσδιορίζεται ως ηπατοτοξική, ενώ η 10 προσδιορίζεται ως μεταλλαξιγόνο, σε αντίθεση με την 14. Ως προς την δοκιμασία T. Pyriformis και οι δύο ενώσεις παρουσιάζουν τοξικότητα, σε αντίθεση με την δοκιμασία Minnow, ως προς την οποία αποδείχθηκαν μη τοξικές.

Εν κατακλείδι, από τα 18 κινναμωμικά παράγωγα, που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία, οι ενώσεις 10, 14 εμφανίζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως προς την ικανότητα τους να προσδένονται ισχυρά στο ενεργό κέντρο 4 υποδοχέων με ιδιαίτερο φαρμακολογικό ενδιαφέρον. Τα αποτελέσματα των φαρμακολογικών και τοξικολογικών μελετών επιβεβαίωσαν το παραπάνω πόρισμα, καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως πρόκειται για δύο πολλά υποσχόμενες ενώσεις, οι οποίες μπορούν να αποτελέσουν το εναρκτήριο λάκτισμα για τη σύνθεση νέων σημαντικών, βιολογικά και φαρμακολογικά, ενώσεων.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Yilmaz, M. Sova, and S. Ergün, 'Antimicrobial activity of trans-cinnamic acid and commonly used antibiotics against important fish pathogens and nonpathogenic isolates', *Journal of Applied Microbiology*, vol. 125, no. 6, pp. 1714–1727, Dec. 2018, doi: 10.1111/jam.14097.
- [2] N. Ruwizhi and B. A. Aderibigbe, 'Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 16, 2020, doi: 10.3390/ijms21165712.
- [3] E. Ugazio, M. E. Carlotti, S. Sapino, M. Trotta, D. Vione, and C. Minero, 'Photodegradation of Cinnamic Acid in Different Media', *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 29, no. 5, pp. 641–652, Apr. 2008, doi: 10.1080/01932690701758491.
- [4] J. D. Guzman, 'Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity', *Molecules*, vol. 19, no. 12, pp. 19292–19349, 2014, doi: 10.3390/molecules191219292.
- [5] A. Kujumgiev, I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov, and S. Popov, 'Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin', *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 64, no. 3, pp. 235–240, Mar. 1999, doi: 10.1016/S0378-8741(98)00131-7.
- [6] S. Mohammadzadeh, M. Shariatpanahi, M. Hamed, R. Ahmadkhaniha, N. Samadi, and S. N. Ostad, 'Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis', *Food Chemistry*, vol. 103, no. 4, pp. 1097–1103, Jan. 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.006.
- [7] H. Deng *et al.*, 'Application of cinnamic acid in the structural modification of natural products: A review', *Phytochemistry*, vol. 206, p. 113532, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.phytochem.2022.113532.
- [8] M. Sachweh, C. Drummond, M. Higgins, J. Campbell, and S. Laín, 'Incompatible effects of p53 and HDAC inhibition on p21 expression and cell cycle progression', *Cell death & disease*, vol. 4, p. e533, Mar. 2013, doi: 10.1038/cddis.2013.61.
- [9] E. Seto and M. Yoshida, 'Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes.', *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, vol. 6 4, p. a018713, 2014.
- [10] Y. Ling *et al.*, 'β-Carboline and N-hydroxycinnamamide hybrids as anticancer agents for drug-resistant hepatocellular carcinoma', *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 168, pp. 515–526, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.02.054.
- [11] E. L. de O. Niero and G. M. Machado-Santelli, 'Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells', *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, vol. 32, no. 1, p. 31, May 2013, doi: 10.1186/1756-9966-32-31.

- [12] Y.-J. Lee, P.-H. Liao, W.-K. Chen, and C.-C. Yang, 'Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells', *Cancer Letters*, vol. 153, no. 1, pp. 51–56, May 2000, doi: 10.1016/S0304-3835(00)00389-X.
- [13] Y. Qian, H.-J. Zhang, H. Zhang, C. Xu, J. Zhao, and H.-L. Zhu, 'Synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of cinnamic acid metronidazole ester derivatives as novel anticancer agents', *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 18, no. 14, pp. 4991–4996, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.bmc.2010.06.003.
- [14] M. Sova, 'Antioxidant and Antimicrobial Activities of Cinnamic Acid Derivatives', *Mini reviews in medicinal chemistry*, vol. 12, pp. 749–67, Apr. 2012, doi: 10.2174/138955712801264792.
- [15] M. Kuhnt, A. Pröbstle, H. Rimpler, R. Bauer, and M. Heinrich, 'Biological and Pharmacological Activities and Further Constituents of Hyptis verticillata', *Planta medica*, vol. 61, pp. 227–32, Jul. 1995, doi: 10.1055/s-2006-958061.
- [16] G. R. Silveira *et al.*, 'In Vitro Anti-Toxoplasma gondii and Antimicrobial Activity of Amides Derived from Cinnamic Acid', *Molecules*, vol. 23, no. 4, 2018, doi: 10.3390/molecules23040774.
- [17] A. Savych, 'CINNAMIC ACID AND ITS DERIVATIVES IN THE HERBAL MIXTURES AND THEIR ANTIDIABETIC ACTIVITY', *FARMACIA*, vol. 69, pp. 595–601, Jun. 2021, doi: 10.31925/farmacia.2021.3.23.
- [18] Z.-G. Wang *et al.*, 'A new cinnamic acid glycoside from roots of *Heracleum dissectum*', *Natural Product Research*, vol. 32, no. 2, pp. 133–140, Jan. 2018, doi: 10.1080/14786419.2017.1340285.
- [19] G. L. P. I. Andreu Natalia M; Pellón, Rolando F; Docampo, Maite L; Fascio, Mirta L; D'Accorso, Norma B; Vercesi, Anibal E., 'In vitro Effect of a New Cinnamic Acid Derivative Against the Epimastigote Form of *Trypanosoma cruzi*', *Arzneimittelforschung*, vol. 59, no. 04, pp. 207–211, Dec. 2011, doi: 10.1055/s-0031-1296387.
- [20] L. Paula *et al.*, 'Antiparasitic properties of propolis extracts and their compounds: a review', *Chemistry & Biodiversity*, vol. 18, Jul. 2021, doi: 10.1002/cbdv.202100310.
- [21] N. Muhammad, M. Saeed, A. Adhikari, K. M. Khan, and H. Khan, 'Isolation of a new bioactive cinnamic acid derivative from the whole plant of *Viola betonicifolia*', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 28, no. 5, pp. 997–1001, Oct. 2013, doi: 10.3109/14756366.2012.702344.
- [22] V. D. Kortenska, M. P. Velikova, N. V. Yanishlieva, I. R. Totzeva, V. S. Bankova, and M. C. Marcucci, 'Kinetics of lipid oxidation in the presence of cinnamic acid derivatives', *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 104, no. 1, pp. 19–28, Jan. 2002, doi: 10.1002/1438-9312(200201)104:1<19::AID-EJLT19>3.0.CO;2-Q.

- [23] Un Ju Jung, Mi-Kyung Lee, Yong Bok Park, Seon-Min Jeon, and Myung-Sook Choi, 'Antihyperglycemic and Antioxidant Properties of Caffeic Acid in *db/db* Mice', *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 318, no. 2, p. 476, Aug. 2006, doi: 10.1124/jpet.106.105163.
- [24] Y. Nakamura, Y. Ohto, A. Murakami, and H. Ohigashi, 'Superoxide Scavenging Activity of Rosmarinic Acid from *Perilla frutescens* Britton Var. *acuta* f. *viridis*', *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46, no. 11, pp. 4545–4550, Nov. 1998, doi: 10.1021/jf980557m.
- [25] D. U. Lee, U. S. Shin, and K. Huh, 'Structure-activity relationships of gagaminine and its derivatives on the inhibition of hepatic aldehyde oxidase activity and lipid peroxidation', *Archives of Pharmacal Research*, vol. 21, no. 3, pp. 273–277, Jun. 1998, doi: 10.1007/BF02975287.
- [26] J.-S. Lan *et al.*, 'Design, synthesis and evaluation of novel cinnamic acid derivatives bearing N-benzyl pyridinium moiety as multifunctional cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 32, no. 1, pp. 776–788, Jan. 2017, doi: 10.1080/14756366.2016.1256883.
- [27] K. Wang *et al.*, 'Design, synthesis and evaluation of cinnamic acid hybrids as multi-target-directed agents for the treatment of Alzheimer's disease', *Bioorganic Chemistry*, vol. 112, p. 104879, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.bioorg.2021.104879.
- [28] S. Ghafary *et al.*, 'Novel cinnamic acid–tryptamine hybrids as potent butyrylcholinesterase inhibitors: Synthesis, biological evaluation, and docking study', *Archiv der Pharmazie*, vol. 351, no. 10, p. 1800115, Oct. 2018, doi: 10.1002/ardp.201800115.
- [29] Y. Chen *et al.*, 'Synthesis and bioevaluation of new tacrine-cinnamic acid hybrids as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 33, no. 1, pp. 290–302, Jan. 2018, doi: 10.1080/14756366.2017.1412314.
- [30] X. Li *et al.*, 'Design, synthesis and evaluation of ursodeoxycholic acid-cinnamic acid hybrids as potential anti-inflammatory agents by inhibiting Akt/NF- $\kappa$ B and MAPK signaling pathways', *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 260, p. 115785, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.ejmech.2023.115785.
- [31] B.-F. Ruan, W.-W. Ge, H.-J. Cheng, H.-J. Xu, Q.-S. Li, and X.-H. Liu, 'Resveratrol-based cinnamic ester hybrids: synthesis, characterization, and anti-inflammatory activity', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 32, no. 1, pp. 1282–1290, Jan. 2017, doi: 10.1080/14756366.2017.1381090.
- [32] D. Ribeiro *et al.*, 'New phenolic cinnamic acid derivatives as selective COX-2 inhibitors. Design, synthesis, biological activity and structure-activity relationships', *Bioorganic Chemistry*, vol. 91, p. 103179, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.bioorg.2019.103179.
- [33] A. Gunia-Krzyżak, K. Słoczyńska, J. Popiół, P. Koczurkiewicz, H. Marona, and E. Pękała, 'Cinnamic acid derivatives in cosmetics: current use and future prospects', *International Journal of Cosmetic Science*, vol. 40, no. 4, pp. 356–366, Aug. 2018, doi: 10.1111/ics.12471.

- [34] G. Nitulescu, D. Lupuliasa, I. Adam-Dima, and G. M. Nitulescu, 'Ultraviolet Filters for Cosmetic Applications', *Cosmetics*, vol. 10, no. 4, 2023, doi: 10.3390/cosmetics10040101.
- [35] K. M, R. P, V. V, G. Ashok, A. S, and P. R., 'HIV-1 reverse transcriptase inhibition by Vitex negundo L. leaf extract and quantification of flavonoids in relation to anti-HIV activity', *Journal of Cell and Molecular Biology*, vol. 10, pp. 53-59., Jan. 2012.
- [36] D. Yu, M. Suzuki, L. Xie, S. L. Morris-Natschke, and K.-H. Lee, 'Recent progress in the development of coumarin derivatives as potent anti-HIV agents', *Medicinal Research Reviews*, vol. 23, no. 3, pp. 322–345, May 2003, doi: 10.1002/med.10034.
- [37] M. Dubois *et al.*, 'Reaction of Rosmarinic Acid with Nitrite Ions in Acidic Conditions: Discovery of Nitro- and Dinitrorosmarinic Acids as New Anti-HIV-1 Agents', *J. Med. Chem.*, vol. 51, no. 8, pp. 2575–2579, Apr. 2008, doi: 10.1021/jm7011134.
- [38] C. Teixeira, C. Ventura, J. R. B. Gomes, P. Gomes, and F. Martins, 'Cinnamic Derivatives as Antitubercular Agents: Characterization by Quantitative Structure–Activity Relationship Studies', *Molecules*, vol. 25, no. 3, 2020, doi: 10.3390/molecules25030456.
- [39] F. B.-B. Prithwiraj De Corinne Vanucci-Bacque, Michel Baltas ,, 'Cinnamic Acid Derivatives in Tuberculosis, Malaria and Cardiovascular Diseases - A Review', *Current Organic Chemistry*, vol. 16, no. 6, pp. 747–768, 2012, doi: 10.2174/138527212799958020.
- [40] J. D. Guzman *et al.*, '2-Hydroxy-substituted cinnamic acids and acetanilides are selective growth inhibitors of Mycobacterium tuberculosis', *Med. Chem. Commun.*, vol. 5, no. 1, pp. 47–50, 2014, doi: 10.1039/C3MD00251A.
- [41] S. Mandal, M. Moudgil, and S. K. Mandal, 'Rational drug design', *European Journal of Pharmacology*, vol. 625, no. 1, pp. 90–100, Dec. 2009, doi: 10.1016/j.ejphar.2009.06.065.
- [42] S. P. Leelananda and S. Lindert, 'Computational methods in drug discovery', *Beilstein J. Org. Chem.*, vol. 12, pp. 2694–2718, 2016, doi: 10.3762/bjoc.12.267.
- [43] F. D. Prieto-Martínez, E. López-López, K. Eurídice Juárez-Mercado, and J. L. Medina-Franco, 'Chapter 2 - Computational Drug Design Methods—Current and Future Perspectives', in *In Silico Drug Design*, K. Roy, Ed., Academic Press, 2019, pp. 19–44. doi: 10.1016/B978-0-12-816125-8.00002-X.
- [44] H. Wang, J. Wang, C. Dong, Y. Lian, D. Liu, and Z. Yan, 'A Novel Approach for Drug-Target Interactions Prediction Based on Multimodal Deep Autoencoder', *Frontiers in Pharmacology*, vol. 10, Jan. 2020, doi: 10.3389/fphar.2019.01592.
- [45] S. J. Y. Macalino, V. Gosu, S. Hong, and S. Choi, 'Role of computer-aided drug design in modern drug discovery', *Archives of Pharmacal Research*, vol. 38, no. 9, pp. 1686–1701, Sep. 2015, doi: 10.1007/s12272-015-0640-5.
- [46] J. Fan, A. Fu, and L. Zhang, 'Progress in molecular docking', *Quantitative Biology*, vol. 7, no. 2, pp. 83–89, Jun. 2019, doi: 10.1007/s40484-019-0172-y.

- [47] K. Chaudhary and N. Mishra, 'A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery', *JSM Chemistry*, vol. 4, p. 1029, Aug. 2016.
- [48] X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, and M. Cui, 'Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery', *Current Computer-Aided Drug Design*, vol. 7, no. 2, pp. 146–157, 2011, doi: 10.2174/157340911795677602.
- [49] J. Liu and R. Wang, 'Classification of Current Scoring Functions', *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 55, no. 3, pp. 475–482, Mar. 2015, doi: 10.1021/ci500731a.
- [50] A. Tripathi and V. A. Bankaitis, 'Molecular Docking: From Lock and Key to Combination Lock', *J Mol Med Clin Appl*, vol. 2, no. 1, Feb. 2017, doi: 10.16966/2575-0305.106.
- [51] N. T. Nguyen *et al.*, 'Autodock Vina Adopts More Accurate Binding Poses but Autodock4 Forms Better Binding Affinity', *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 60, no. 1, pp. 204–211, Jan. 2020, doi: 10.1021/acs.jcim.9b00778.
- [52] G. M. Morris *et al.*, 'AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility', *Journal of Computational Chemistry*, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791, Dec. 2009, doi: 10.1002/jcc.21256.
- [53] G. Chen, A. J. Seukep, and M. Guo, 'Recent Advances in Molecular Docking for the Research and Discovery of Potential Marine Drugs', *Marine Drugs*, vol. 18, no. 11, 2020, doi: 10.3390/md18110545.
- [54] A. Daina, O. Michielin, and V. Zoete, 'SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules', *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 42717, Mar. 2017, doi: 10.1038/srep42717.
- [55] S. T. Al-Rashood *et al.*, 'Antitumor properties of certain spirooxindoles towards hepatocellular carcinoma endowed with antioxidant activity', *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 35, no. 1, pp. 831–839, Jan. 2020, doi: 10.1080/14756366.2020.1743281.
- [56] P. Mavroeidi *et al.*, 'In silico Prognostic Methods for Physicochemical Properties and Toxicity of Propargylamine Derivatives, Inhibitors of Monoaminoxidase', *Pharmakeftiki*, vol. 34, no. II, pp. 70-72, 2022
- [57] N. J. Abbott, A. A. K. Patabendige, D. E. M. Dolman, S. R. Yusof, and D. J. Begley, 'Structure and function of the blood–brain barrier', *Neurobiology of Disease*, vol. 37, no. 1, pp. 13–25, Jan. 2010, doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.030.
- [58] E. Chin and E. Goh, 'Chapter 9 - Blood–brain barrier on a chip', in *Methods in Cell Biology*, vol. 146, J. Doh, D. Fletcher, and M. Piel, Eds., Academic Press, 2018, pp. 159–182. doi: 10.1016/bs.mcb.2018.06.003.
- [59] Y. Yeni and R. A. Rachmania, 'The Prediction of Pharmacokinetic Properties of Compounds in *Hemigraphis alternata* (Burm.F.) T. Ander Leaves Using pkCSM', *Indonesian Journal of Chemistry*, vol. 22, no. 4, pp. 1081–1089, 2022, doi: 10.22146/ijc.73117.

- [60] D. E. V. Pires, T. L. Blundell, and D. B. Ascher, 'pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures', *J. Med. Chem.*, vol. 58, no. 9, pp. 4066–4072, May 2015, doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104.
- [61] M. N. Drwal, P. Banerjee, M. Dunkel, M. R. Wettig, and R. Preissner, 'ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity', *Nucleic Acids Research*, vol. 42, no. W1, pp. W53–W58, Jul. 2014, doi: 10.1093/nar/gku401.
- [62] P. Banerjee, A. O. Eckert, A. K. Schrey, and R. Preissner, 'ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals', *Nucleic Acids Research*, vol. 46, no. W1, pp. W257–W263, Jul. 2018, doi: 10.1093/nar/gky318.
- [63] M. der, M. Wulansari, and I. Koomen, *Occupational pesticide exposure in vegetable production : A literature and policy review with relevance to Indonesia*. 2014.