



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



## ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

**«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»**



# Ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων

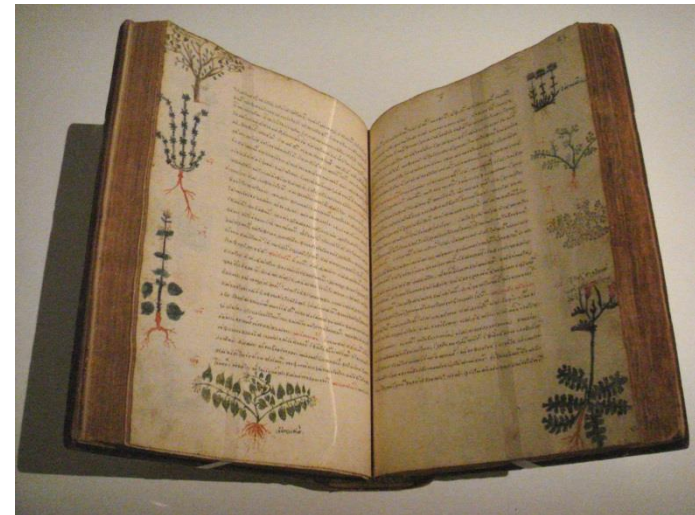
Δημήτρης Δ. Λεωνίδας  
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας  
[ddleonidas@bio.uth.gr](mailto:ddleonidas@bio.uth.gr)



## Ανακάλυψη φαρμάκων

Ο άνθρωπος ανακάλυπτε, μέσω της μεθόδου δοκιμής και λάθους, ποιά μούρα, ρίζες, βότανα ή φύλλα θα μπορούσε να χρησιμοποιήσει για να ανακουφίσει τα συμπτώματα μιας ασθένειας.

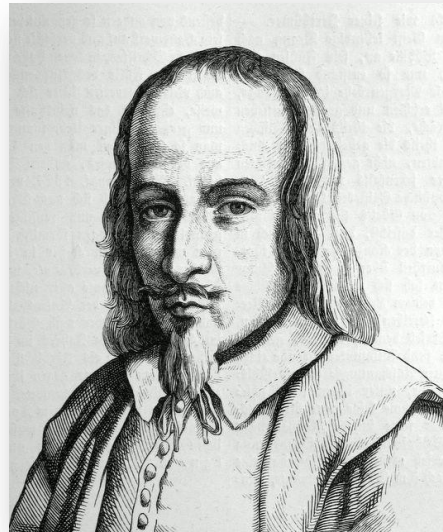
Όλοι οι αρχαίοι πολιτισμοί έκαναν ανακαλύψεις σε αυτόν τον τομέα και τα Κινέζικα βότανα είναι ίσως το πλέον γνωστά .





## Ανακάλυψη φαρμάκων

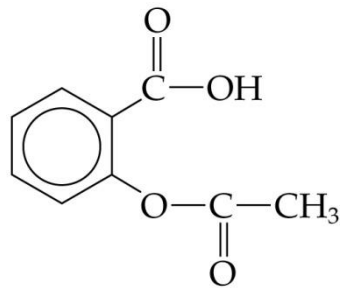
Ο Παράκελσος (1493-1541) και ο Jakob Böhme (1575-1624) εισήγαγαν την ιδέα ότι ο Θεός έχει «δώσει σε κάθε είδος χαρακτηριστικές θεραπευτικές ιδιότητες τις οποίες ο άνθρωπος έπρεπε να αποκαλύψει »



π.χ. πέταλα αγριόκρινου – για τη θεραπεία σε μώλωπες  
Βρύα - για τη θεραπεία ηπατικών παθήσεων  
Χρυσόβεργες – για τη θεραπεία του ίκτερου



# αναλγητικά: ασπιρίνη



Acetylsalicylic acid  
(Aspirin)

- αναλγητικό
- αντιπυρετικό
- αντιφλεγμονώδες
- αντισυγκολλητικό αιμοπεταλίων

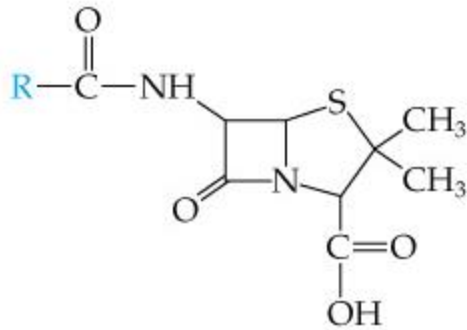
## Ιστορία της Ασπιρίνης

- Ο Ιπποκράτης περιγράφει το φλοιό της ιτιάς (Salix) (ο οποίος, σήμερα, είναι γνωστό ότι περιέχει μια ουσία που ονομάζεται σαλικιλίνη) και τον συνιστά ως ίαμα κατά του πυρετού και των πόνων
- Henri Leroux & Raffaele Piria: απομόνωση της βιοδραστικής ένωσης από το φυτό
- 1899 Hoffman: σύνθεση και κατοχύρωση διπλώματος ευρεσιτεχνίας

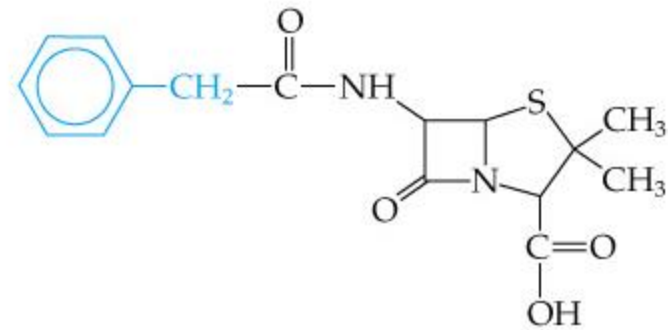
*Αναστέλλει τη σύνθεση  
προσταγλανδινών  
(αγγελιοφόροι του  
πόνου)*



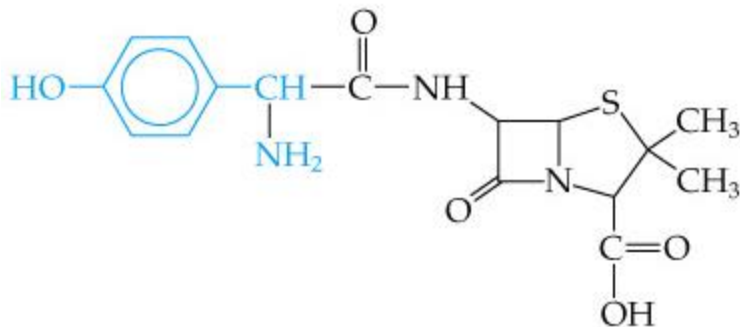
# Αντιβιοτικά φάρμακα: πενικιλίνες



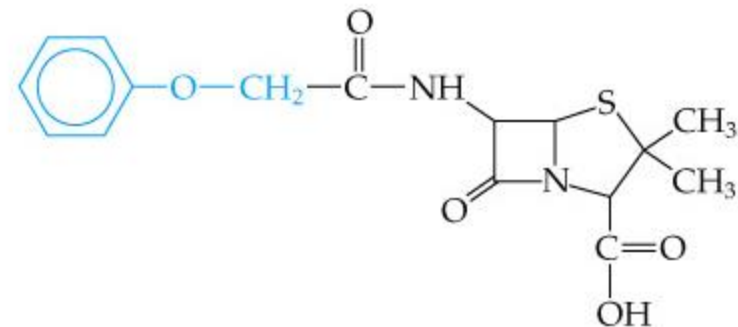
Penicillin  
(a general formula)



Penicillin G



Amoxicillin



Penicillin V  
(may be taken orally)

1941

Εμποδίζει τη σύνδεση των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης των βακτηρίων



## Η Ανάπτυξη νέων φαρμάκων σήμερα

- ❑ Πολύπλοκη
- ❑ Χρονοβόρα (10 -15 έτη για την είσοδο ενός φαρμάκου στην αγορά)
- ❑ Ακριβή (€ 300 – 400 εκ. για ένα εντελώς νέο φάρμακο)
- ❑ Πολύ χαμηλό ποσοστό επιτυχίας στη μετατροπή σε φάρμακο μίας αρχικής ένωσης
- ❑ <2% των υπό εξέταση νέων ενώσεων μπορεί να παρουσιάσει σημαντική βιολογική δραστηριότητα
- ❑ Μόλις το 1% των φαρμάκων οδηγείται ύστερα από τροποποίηση σε νέες βιοδραστικές ενώσεις
- ❑ <10% των ενώσεων αυτών περνούν με επιτυχία τις κλινικές δοκιμές και οδηγούνται στην αγορά.



# Example of research and development timescales

SYNTHESIS	IND*	NDA <sup>\$</sup>	LAUNCH	PATENT EXPIRY
1982	1986	1992	1994	2002
DISCOVERY RESEARCH	CLINICAL DEVELOPMENT	REGULATORY REVIEW	POST MARKETING DEVELOPMENT	



\*INVESTIGATIONAL NEW DRUG APPLICATION

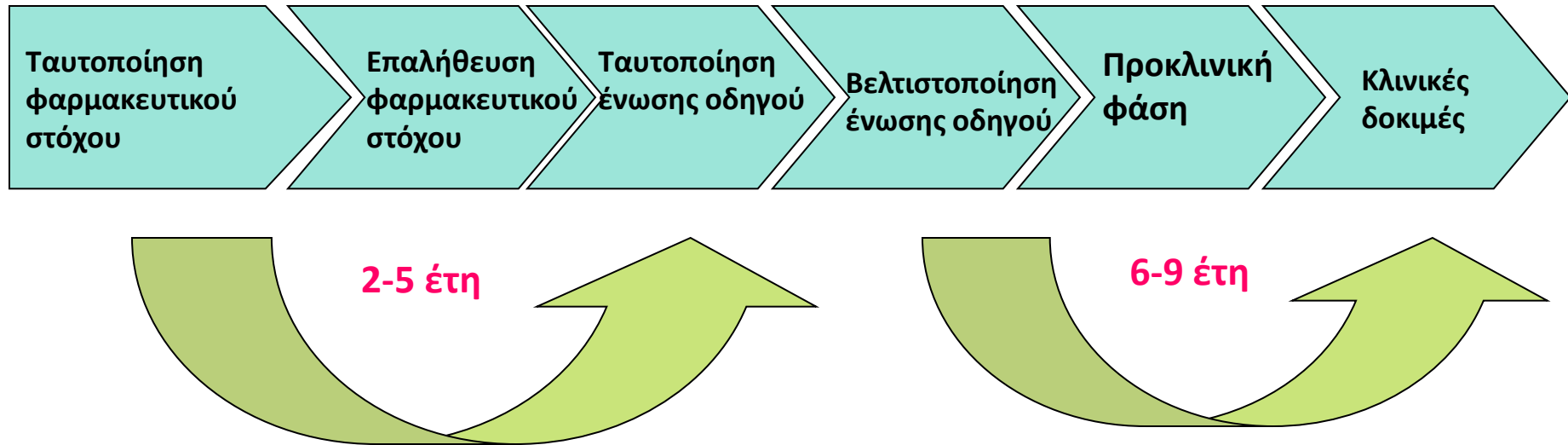
<sup>\$</sup>NEW DRUG APPLICATION

1b





# Σύγχρονη μέθοδος ανακάλυψης φαρμάκων



- Η ανακάλυψη φαρμάκων είναι μία πολύ δαπανηρή διαδικασία που περιλαμβάνει υψηλά κόστη για R & D και εξαντλητικές κλινικές δοκιμές
- Ένας τυπικός χρόνος για την ανάπτυξη ενός φαρμάκου εκτιμάται σε 10-15 έτη.





# ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

1. Σχεδιασμός και Θεωρητική Ανάλυση Σύνδεσης (Υπολογιστική Χημεία)
2. Σύνθεση (Βιοοργανική Χημεία)
3. In vitro αποτίμηση (Βιοχημεία)
4. Προσδιορισμός και ανάλυση της δομής συμπλόκων **στόχου – βιοδραστικής ένωσης** (εν δυνάμει φαρμάκου) (Δομική Βιοχημεία )
5. Βιολογική ex vivo και in vivo αποτίμηση (Βιολογία)

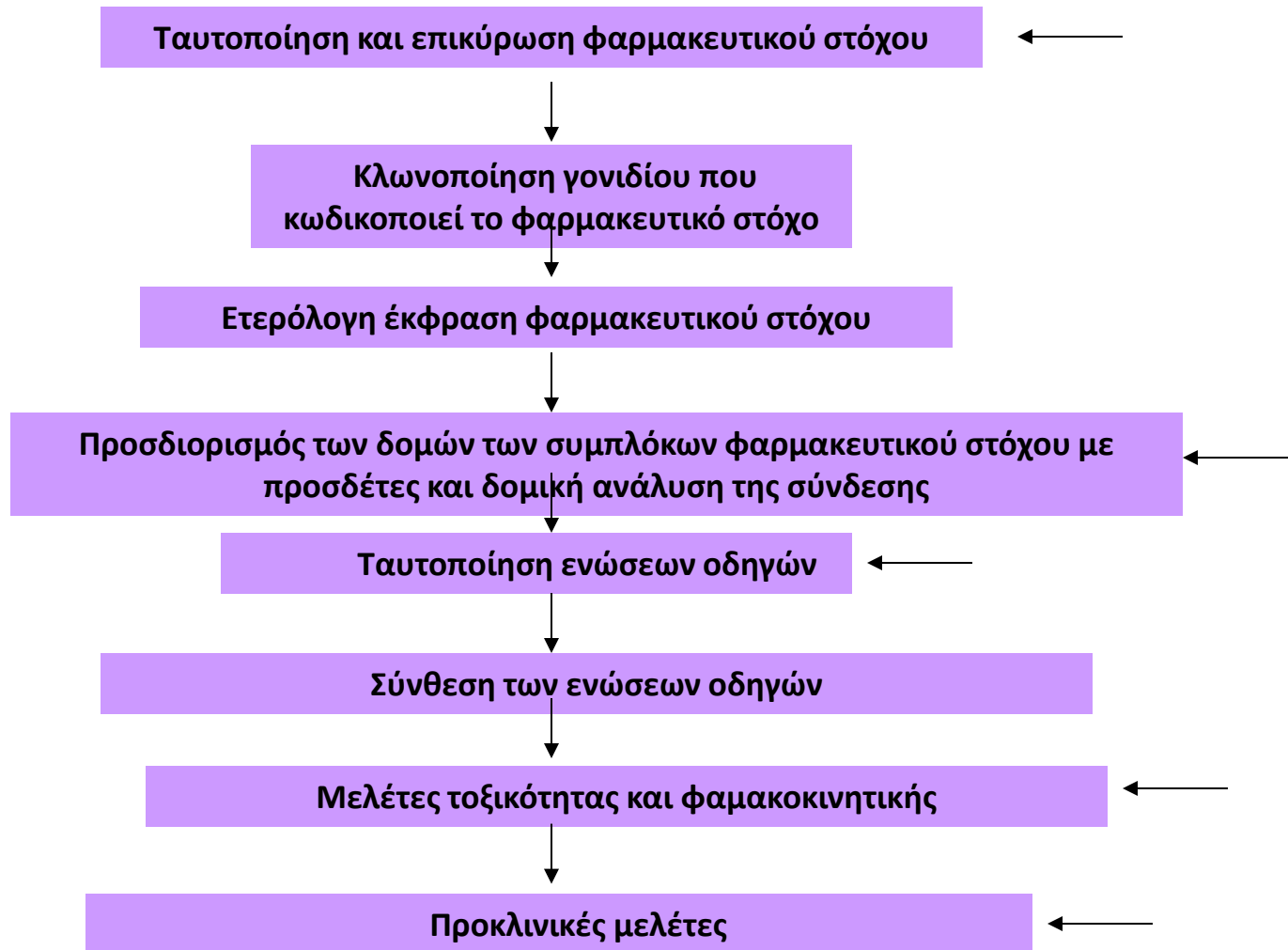
Φάρμακα στην αγορά με γνωστό πρωτεϊνικό στόχο. Τα 200 πρώτα σε πωλήσεις εμφανίζονται με **έντονη γραφή**

(D. G. Brown & M. M. Flocco in Structure Based Drug Design (2006) p32-53)



Φάρμακο	Πρωτεϊνικός στόχος	Φάρμακο	Πρωτεϊνικός στόχος
<b>Lipitor</b> , Lescol, <b>Zocor</b> , <b>Pravachol</b> , Crestor	HMG CoA reductase	Captopen, Prinivil, Enalaprilat, Accupril, Monopril, <b>Delix</b> , <b>Lotrel</b>	ACE
<b>Avandia</b> , Tricor	PPAR $\gamma$	Zovirax	Thymidine kinase
<b>Celebrex</b> , <b>Vioxx</b> , <b>Bextra</b> , Mobic, Voltaren, Neurofen	Coz-2	Zerit, Sustiva, Nevirapine, Rescriptor, ,	HIV Reverse transcriptase
<b>Actonel</b> , <b>Fosamax</b>	Farnesyl PP synthase	Viracept, Agenerase, Kaletra, Crixivan, Invirase, Norvir	HIV Protease
<b>Zometa</b>	MMP	<b>Valtrex</b>	Viral polmerase
<b>Viagra</b> , Levitra, Cialis	PDE5	Sporanox, Diflucan	Lanosterol 14 $\alpha$ -DM
<b>Prograf</b>	Fk-506	Trusopt, Azopt	Carbonic anhydrase
Lo/Ovral, Trphasil, Nolvadex, <b>Evista</b> , Depo-provera	Oestrogen receptor	Relenza, Tamiflu	Influenza neuraminidase
<b>Casodex</b> ,	Androgen receptor	<b>Aricept</b>	Acetyl cholinesterase
<b>Prempro</b> ,	Progesterone receptor	Exanta	Thrombin
Advair, Plumericort, Inspra	Corticoid receptor	Augmentin	$\beta$ -lactamase
<b>Gleevec</b> ,	Alb tyrosine kinase	<b>Cellcept</b>	IMP dehydrogenase
Iressa, Tarceva	EGFR tyrosine kinase	<b>Zithromax</b> , <b>Biaxin</b>	50S ribosome
22/12/2015	Δημ. Δ. Λεωνίδας	<b>Ciprobay</b> , <b>Lequavin</b>	Bacterial DNA gyrase

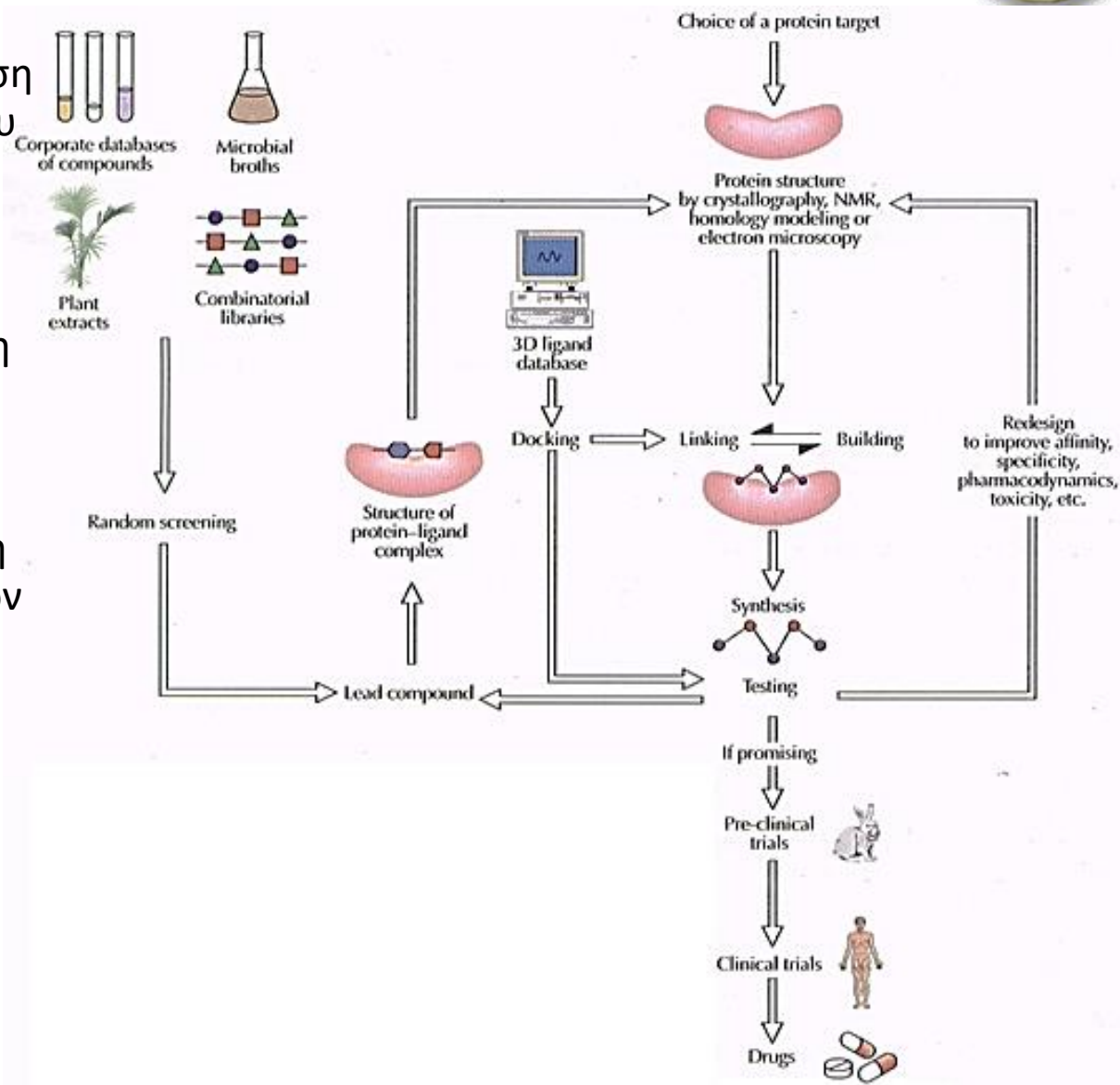
# Ορθολογικός Σχεδιασμός Φαρμάκων

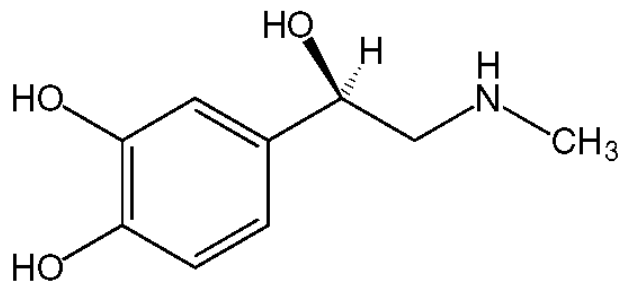
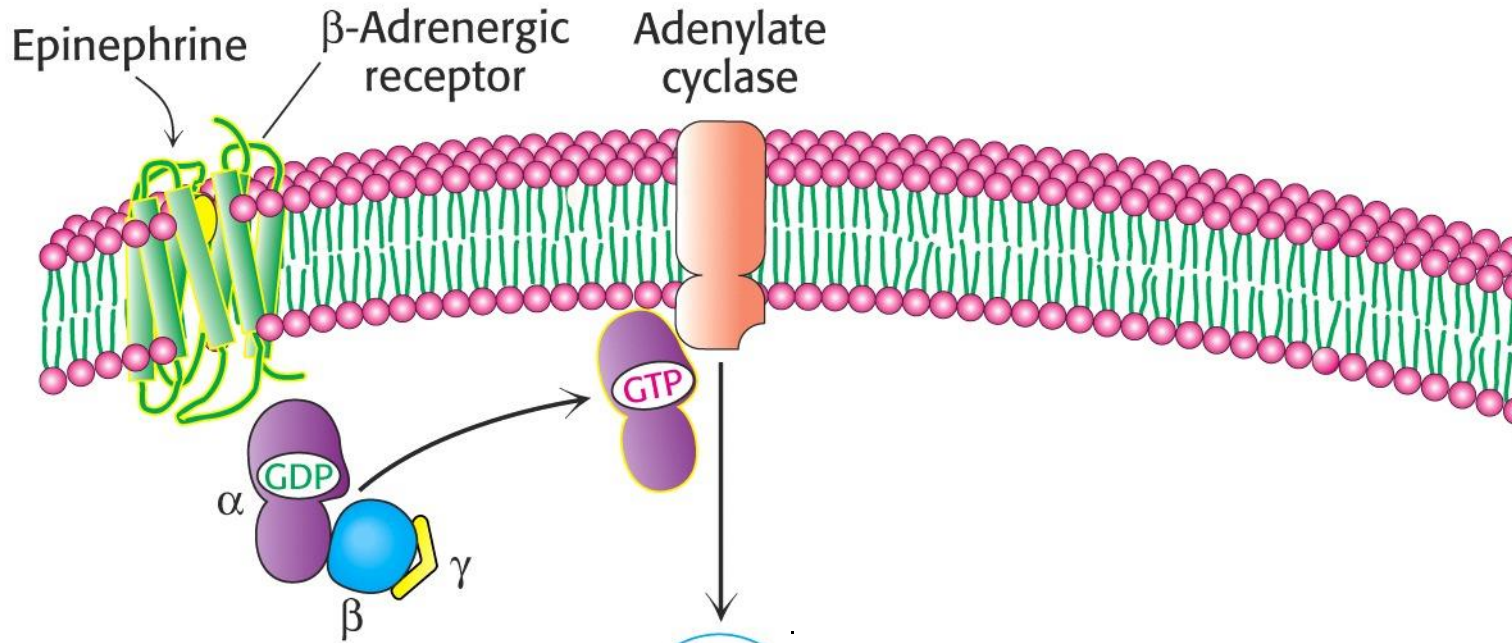


# Κύκλος ορθολογικού σχεδιασμού φαρμάκων

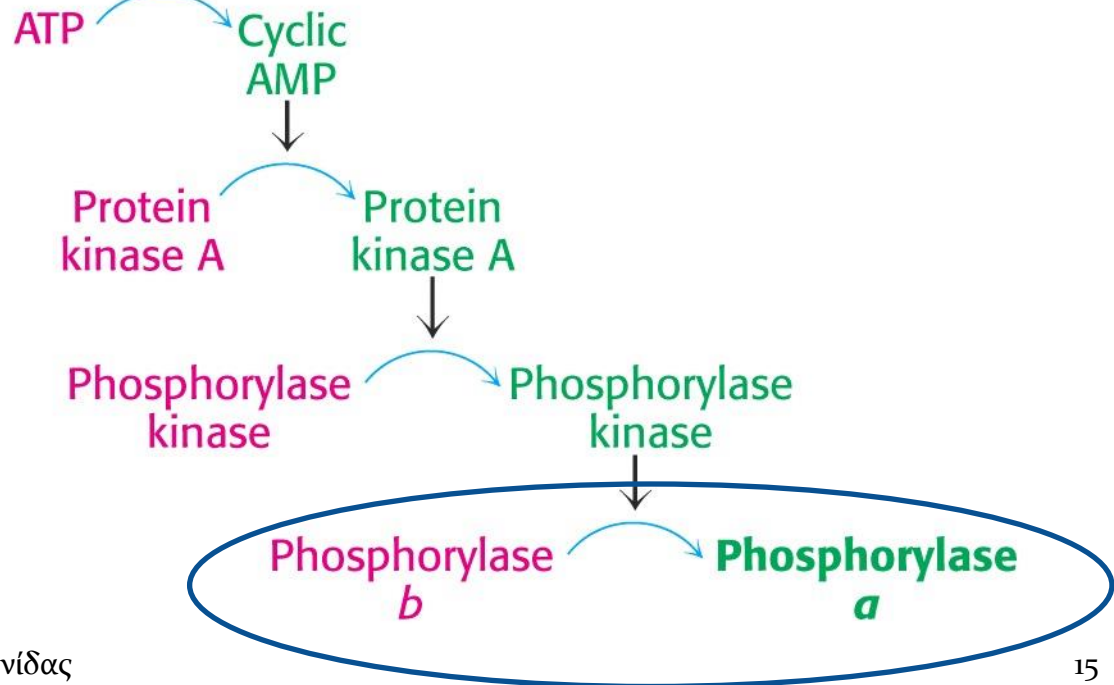


- Ταυτοποίηση και αποτίμηση του φαρμακευτικού στόχου
- Ανάπτυξη μεθόδου μέτρησης δραστηριότητας
- Υπολογιστική σάρωση (VS)
- Υψηλής απόδοσης σάρωση (HTS)
- Ποσοτική ανάλυση της σχέσης δομής – δράσης (QSAR) και βελτιστοποίηση της συλλογής βιοδραστικών ενώσεων
- Χαρακτηρισμός των εν δυνάμει φαρμάκων
- Δοκιμές βιοδραστικότητας σε ζώα και ανίχνευση παρενεργειών
- Κλινικές δοκιμές
- Έγκριση του φαρμάκου



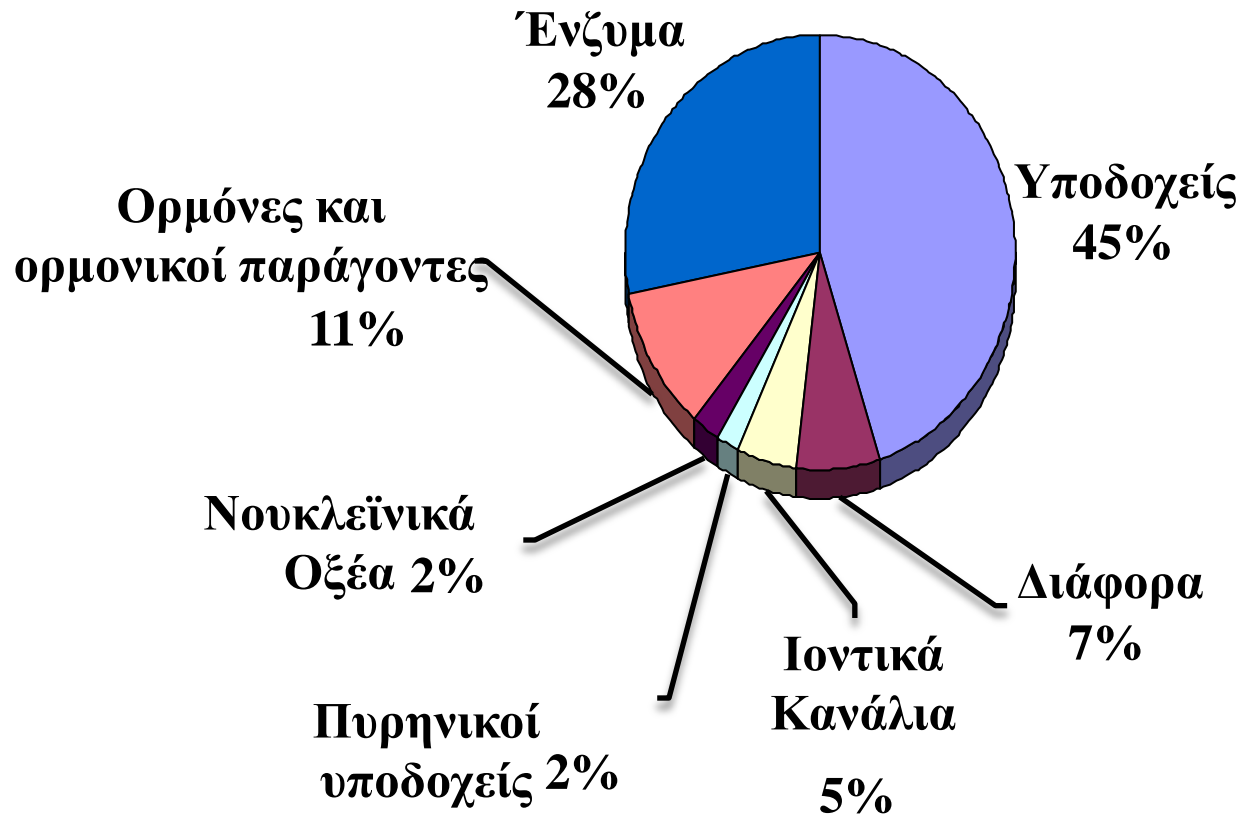


Επινεφρίνη



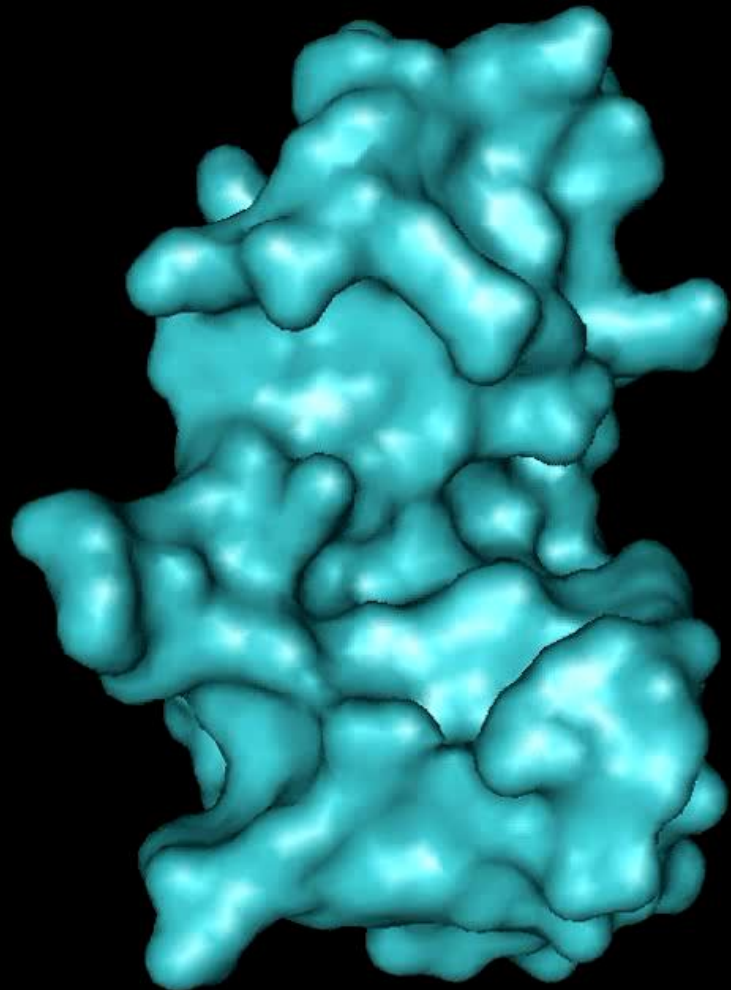


# ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ



*J. Drews Science 287, 1960 -1964 (2000)*







## Ξεκινώντας στο εργαστήριο...

### ❖ Ταυτοποίηση του φαρμακευτικού στόχου

Η ταυτοποίηση μακρομοριακών στόχων (ένζυμα/ υποδοχείς) είναι σχετικά εύκολη μετά την αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Με τη χρήση τεχνικών ετερόλογης έκφρασης είναι δυνατή η απομόνωση σημαντικών ποσοτήτων του μακρομοριακού στόχου.

### ❖ Διαθεσιμότητα πειραματικών μεθόδων για τη μέτρηση της δραστηριότητας και την απομόνωση του φαρμακευτικού στόχου

Screening (διαλογή, σάρωση): Η υψηλής απόδοσης μέτρηση της δραστηριότητας μίας σειράς βιοδραστικών ενώσεων έναντι ενός φαρμακευτικού στόχου η οποία συσχετίζεται με τη βιολογική ή φαρμακευτική δράση π.χ. ενζυμική αναστολή.  
Διαθεσιμότητα τεχνικών αυτοματοποιημένης (υψηλής απόδοσης) διαλογής



# Ανακάλυψη ενώσεων οδηγών

- Διαλογή ενώσεων από φυσικά προϊόντα (το φυτικό βασίλειο, ο κόσμος των μικροβίων, ο θαλάσσιος κόσμος, ζωικές πηγές, τοξίνες και δηλητήρια)
- Παραδοσιακή ιατρική
- Διαλογή βιβλιοθηκών συνθετικών ενώσεων
- Φάρμακα
- Εκκίνηση από φυσιολογικούς προσδέτες ή τροποποιητές (φυσιολογικοί προσδέτες για υποδοχείς, υποστρώματα ή προϊόντα ενζύμων ως ενώσεις οδηγοί)

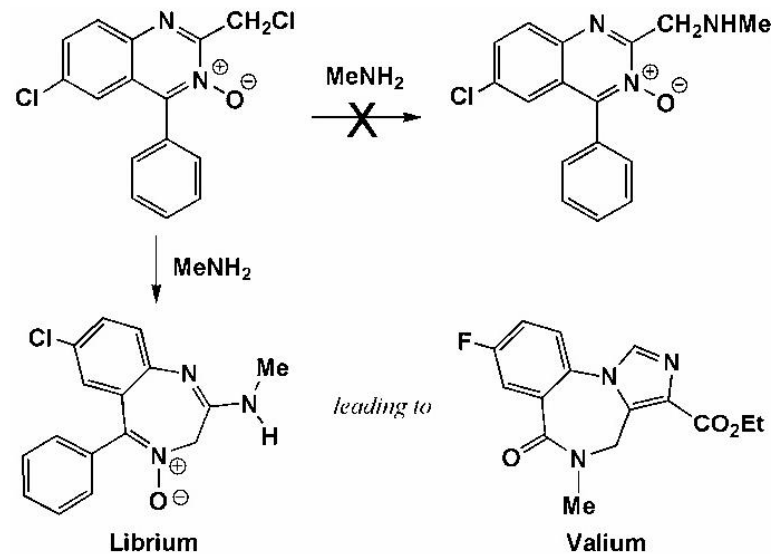
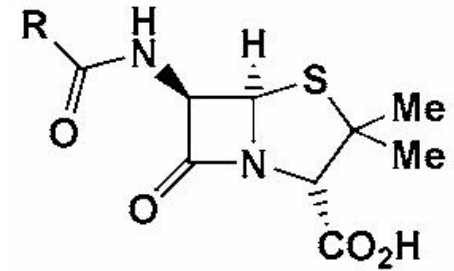
# Ταυτοποίηση ενώσεων οδηγών



Από τύχη!!

**Πενικιλίνη** (αντιβιοτικό) ανακαλύφθηκε από τον Φλέμιγκ

**Librium** (αγχολυτικό) ανακαλύφθηκε από τον Sternbach



# Βιβλιοθήκη συνδυαστικής χημείας



Ικρίωμα

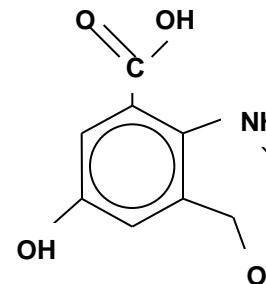
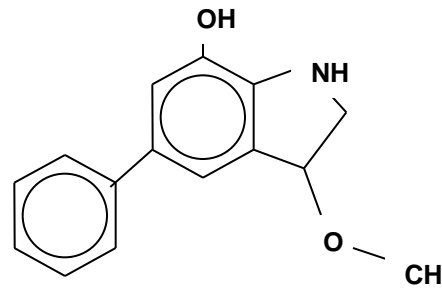
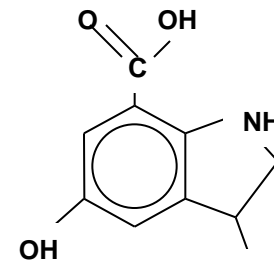
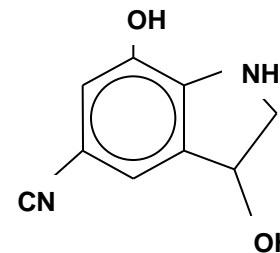
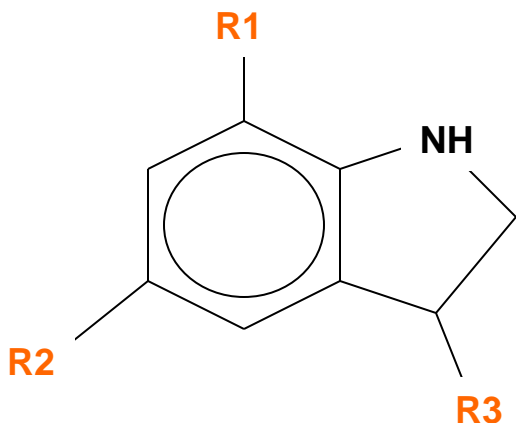
Ομάδες "R"

Παραδείγματα

R1 = OH  
OCH<sub>3</sub>  
NH<sub>2</sub>  
Cl  
COOH

R2 = phenyl  
OH  
NH<sub>2</sub>  
Br  
F  
CN

R3 = CF<sub>3</sub>  
NO<sub>2</sub>  
OCH<sub>3</sub>  
OH  
phenoxy



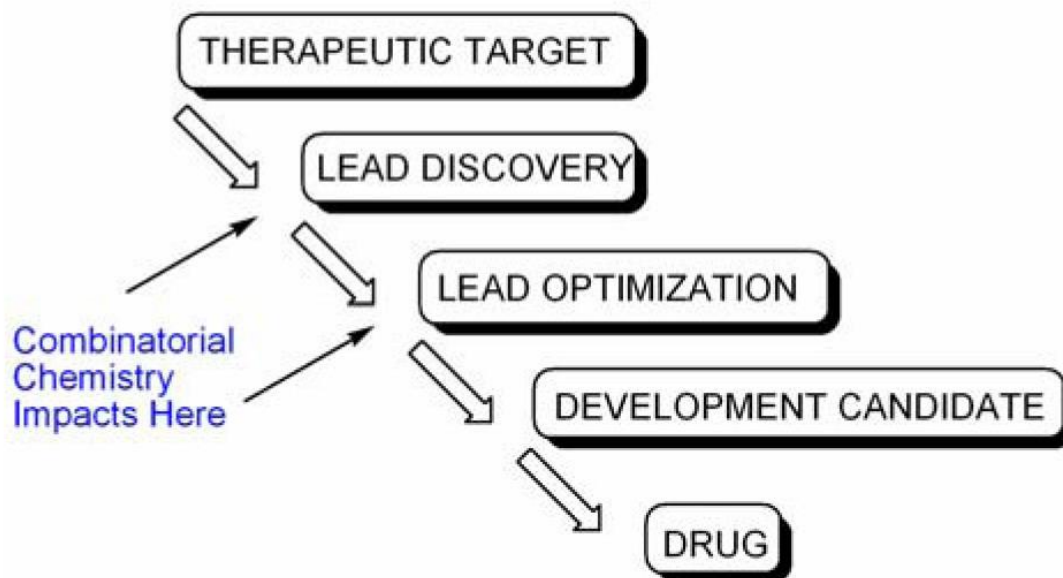
Για την μικρή αυτή βιβλιοθήκη ο αριθμός των πιθανών ενώσεων είναι

$$5 \times 6 \times 5 = 150$$



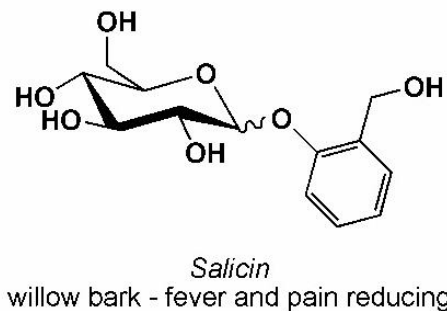
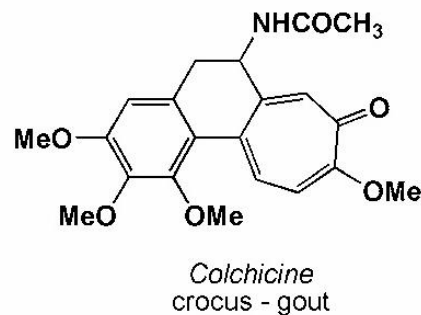
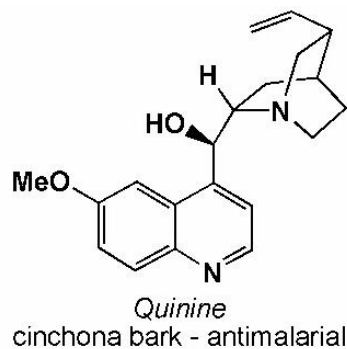
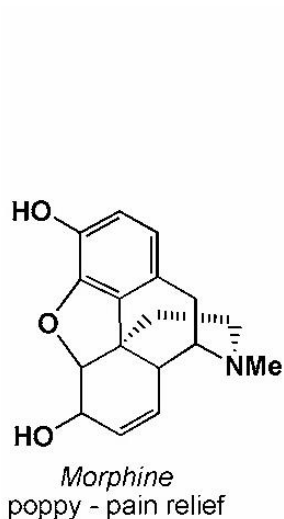
Σάρωση βιβλιοθηκών ενώσεων μικρού μοριακού βάρους που προκύπτουν με μεθόδους συνδυαστικής χημείας.

Μικρή δομική ποικιλία





## Τροποποίηση φαρμάκων που είχαν ανεπιθύμητες παρενέργειες Απομόνωση ενεργών συστατικών από παραδοσιακές φαρμακευτικές ουσίες



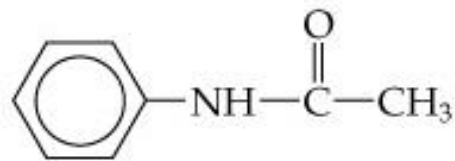
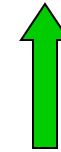
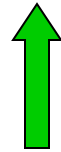
- ❑ 80% του ανθρώπινου πληθυσμού χρησιμοποιεί φάρμακα που προέρχονται αποκλειστικά από φυσικές πηγές
- ❑ 35% των φαρμάκων περιέχουν δομικά στοιχεία από φυσικές ουσίες
- ❑ Λιγότερο από το 5% των 500,000 φυτικών ειδών έχουν ερευνηθεί για βιοδραστικές ενώσεις
- ❑ Κάθε φυτό έχει περίπου 10,000 διαφορετικές ενώσεις

# Υποκατάστατα της ασπιρίνης

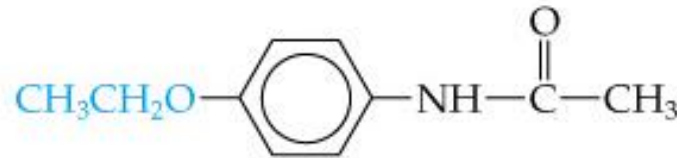


Απαγορεύεται σήμερα

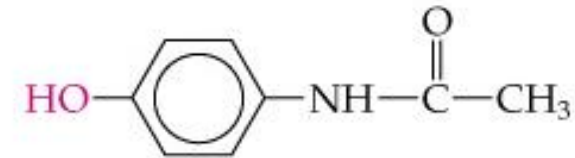
Tylenol



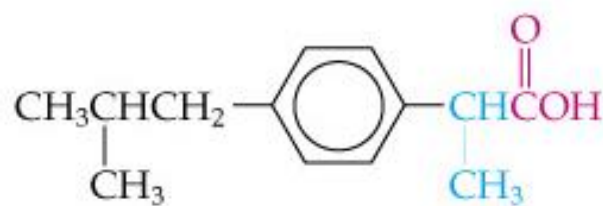
Acetanilide



Phenacetin

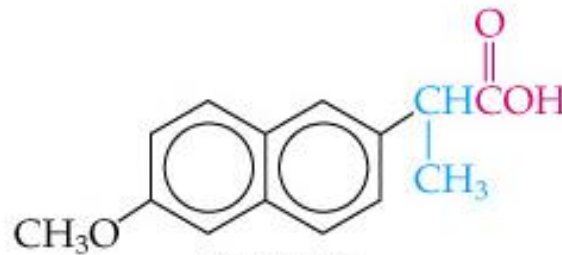


Acetaminophen



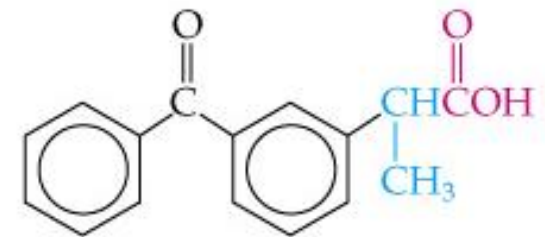
Ibuprofen

Advil



Naproxen

Aleve



Ketoprofen

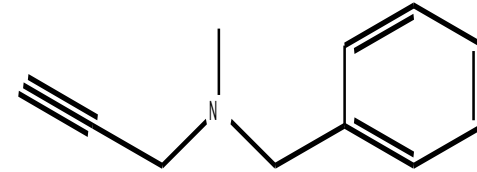
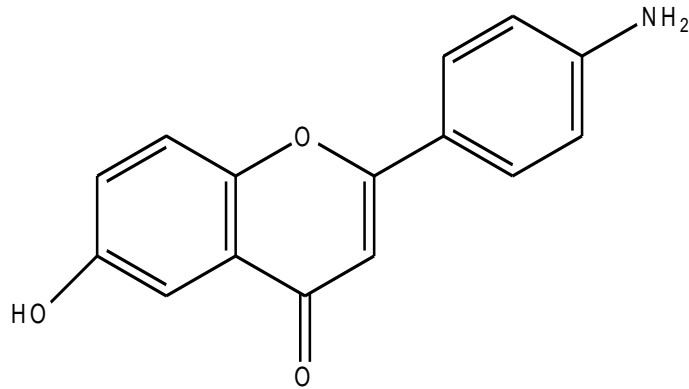
Orudis KT



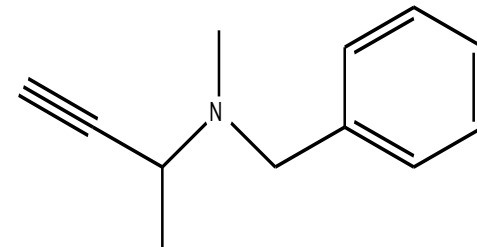
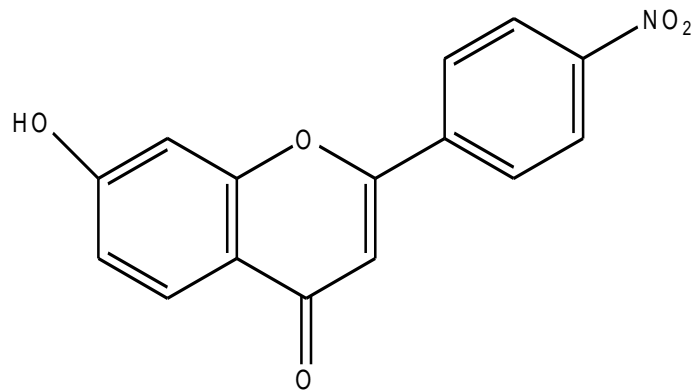


# Το παράδοξο της ομοιότητας

**Βιοδραστικά**



**Μη βιοδραστικά**





## ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ

Πόση εξειδίκευση πρέπει να έχει μία φαρμακευτική ουσία για το στόχο της;

Ας θεωρήσουμε μία βιοδραστική ένωση με μοριακό βάρος **200 g/mol**

1 mole =  $6 \times 10^{23}$  μόρια

Άρα **1 mg** βιοδραστικής ένωσης δίνει  $(6 \times 10^{23}) \times (10^{-3}/200) = \mathbf{3 \times 10^{18}}$  μόρια

Ένας άνθρωπος έχει περίπου  $3 \times 10^{13}$  κύτταρα και έτσι.....

$3 \times 10^{18}/3 \times 10^{13} = \mathbf{1 \times 10^5}$  μόρια βιοδραστικής ένωσης ανά κύτταρο

Ένα τυπικό κύτταρο (π.χ. ερυθροκύτταρο) περιέχει περίπου  $10^{10}$  μόρια και άρα θα έχουμε **1 μόριο βιοδραστικής ένωσης ανά 100.000 κυτταρικά μόρια!!!**

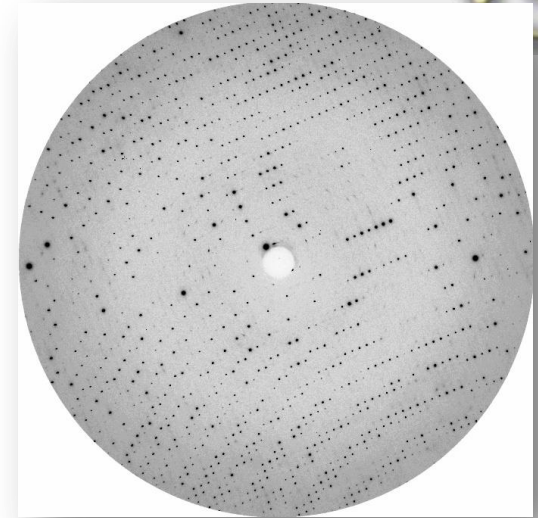
# Κατευθυνόμενος από τη δομή σχεδιασμός φαρμάκων



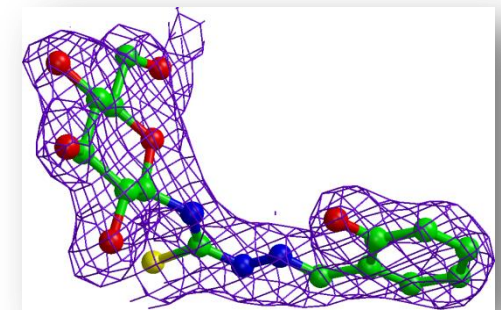
Καθαρή πρωτεΐνη



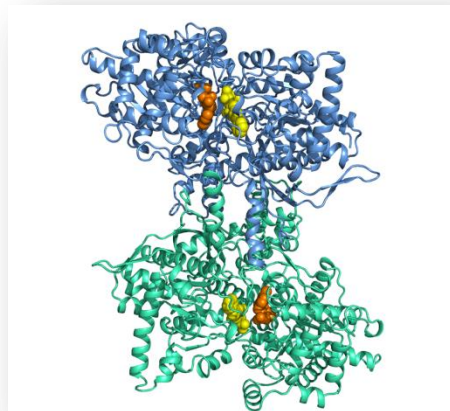
Κρύσταλλος



Συλλογή δεδομένων

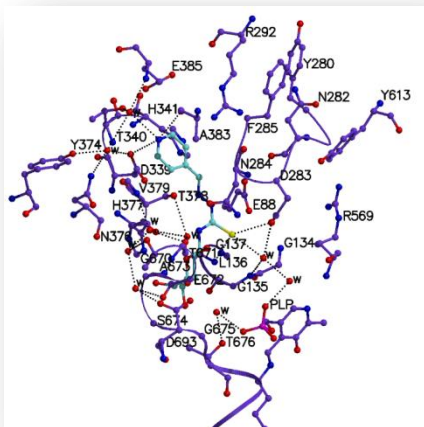


Ηλεκτρονική πυκνότητα



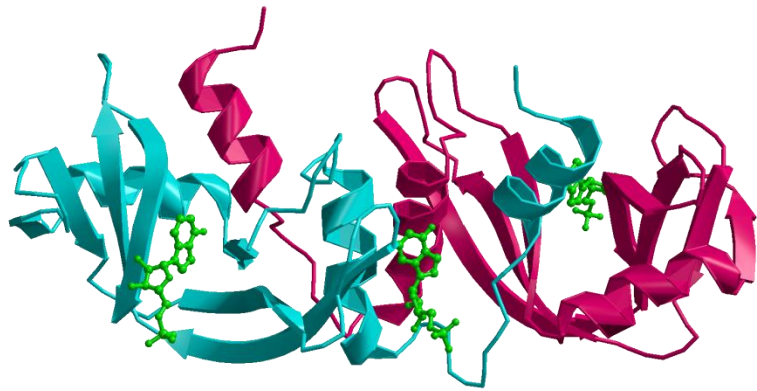
Δομή

Δημ. Δ. Λεωνίδας



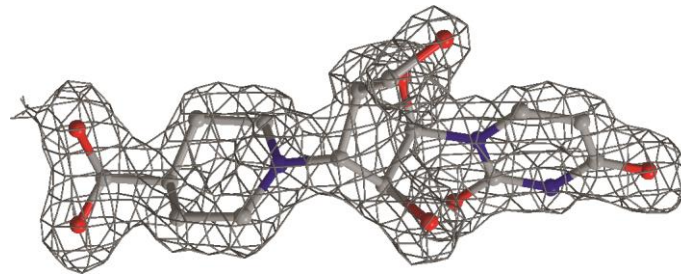
Ανάλυση

22/12/2015

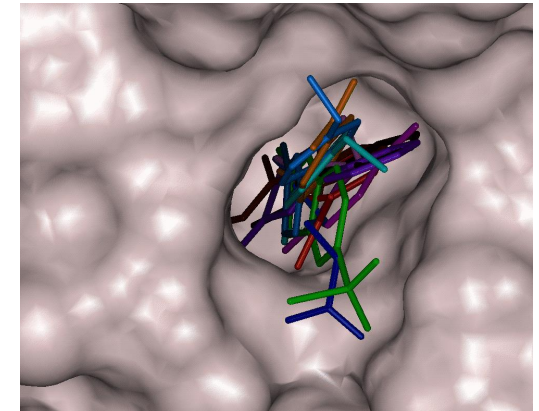


**Αρχική δομή**

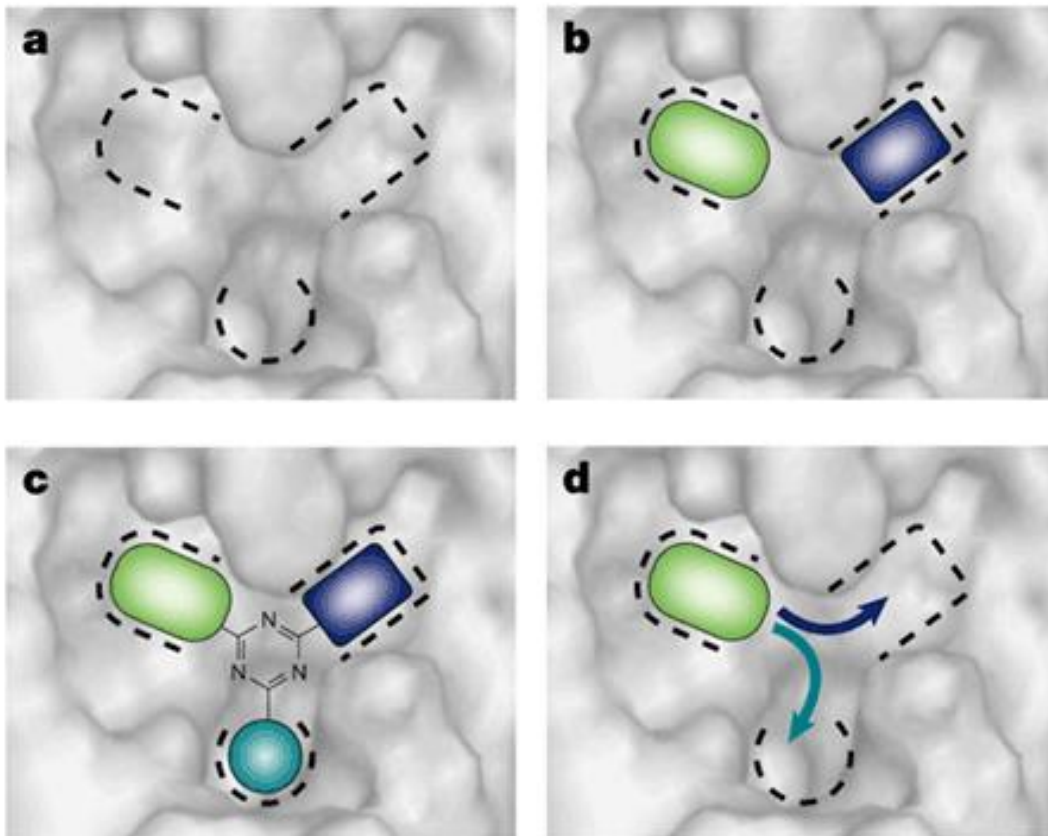
**Κατευθυνόμενος από τη δομή  
σχεδιασμός φαρμάκων**



**Σύμπλοκα πρωτεΐνης- προσδέτη**

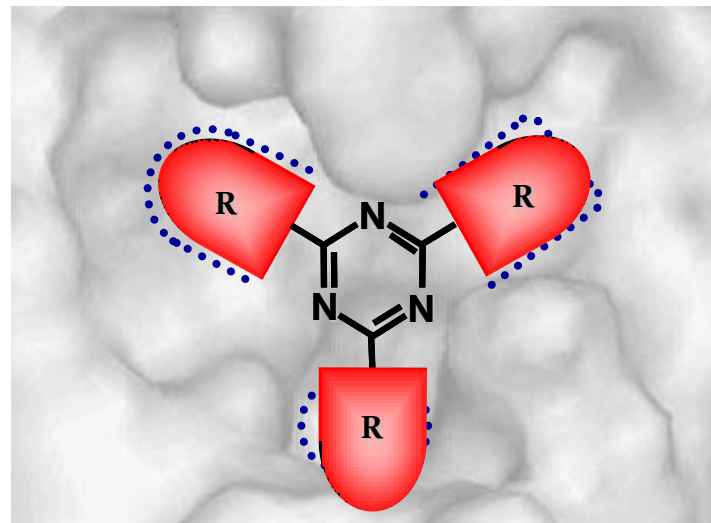
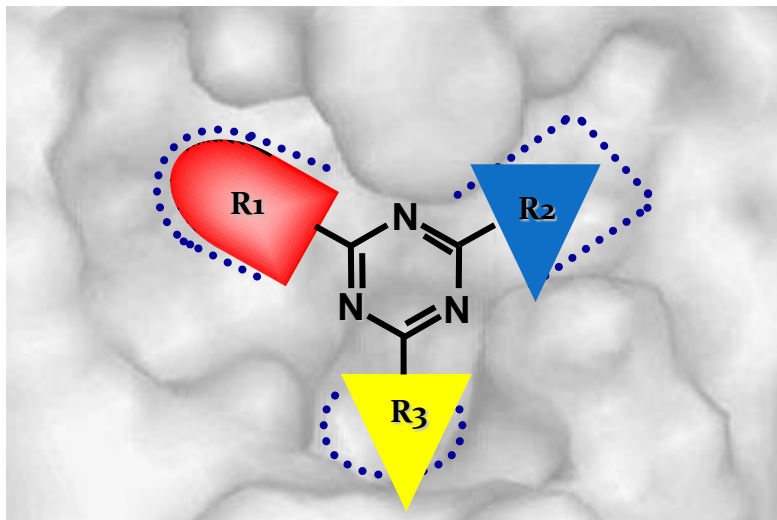


**Ανακάλυψη  
ενώσεων οδηγών  
βασισμένη σε  
γνωστούς  
προσδέτες**



- A. Η θέση σύνδεσης αποτελείται από τρία διακριτά θυλάκια σύνδεσης
- B. Σάρωση με κρυσταλλογραφικές μεθόδους εντοπίζει μοριακά τμήματα που μπορούν να συνδεθούν σε ένα, δύο ή και στους τρεις θύλακες
- C. Μία ένωση οδηγός σχεδιάζεται με συνδυασμό των τριών μοριακών τμημάτων
- D. Ανάπτυξη από ένα μοριακό τμήμα

# Δομική σάρωση τμημάτων προσδετών



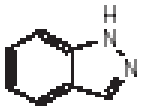

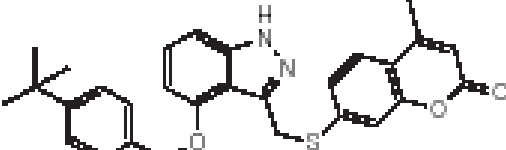
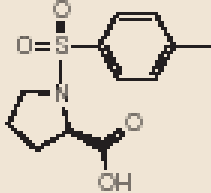
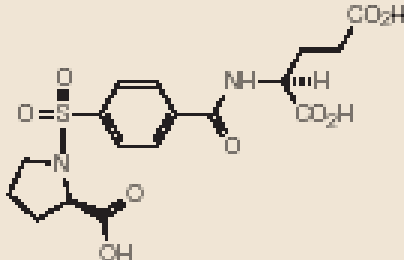
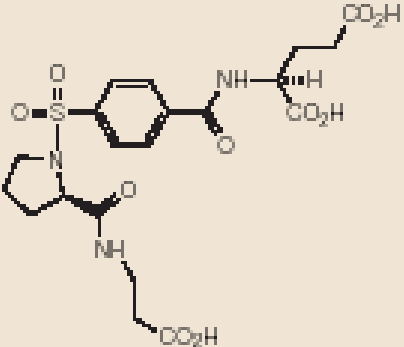

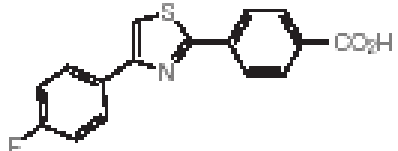
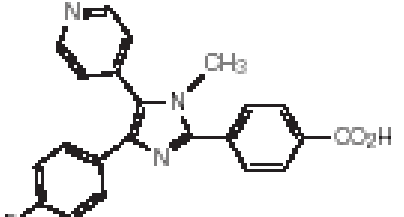
$100R1 \times 100R2 \times 100R3 = 1.000.000$  ενώσεις

$100R1 + 100R2 + 100R3 = 300$  ενώσεις

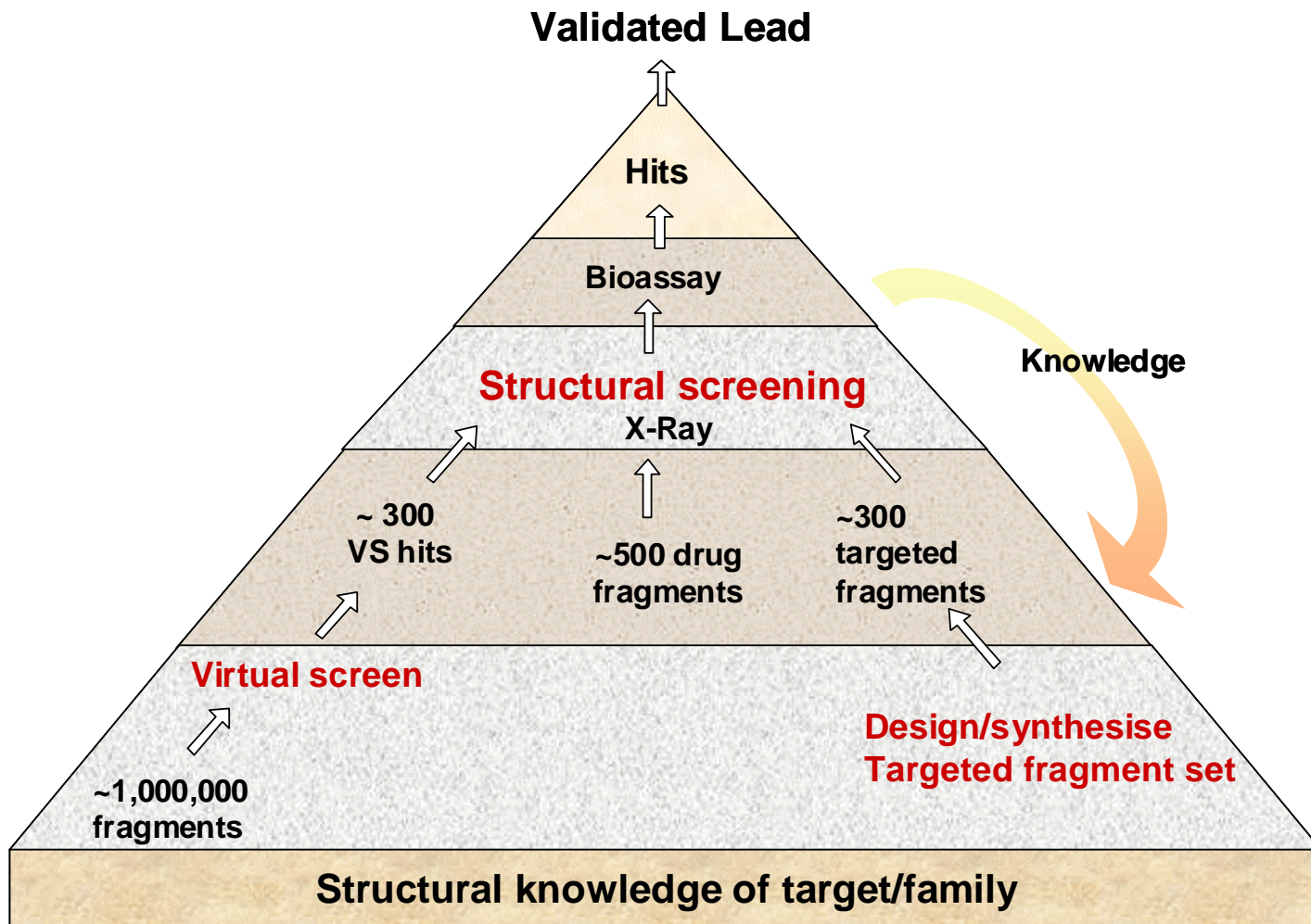
- Υψηλότερος ρυθμός επιτυχίας
- Ανίχνευση μοναδικών δομών (mM)
- Λεπτομερή δομικά δεδομένα (validate/prioritise the hits)
- Ταχεία βελτιστοποίηση με βάση τη δομή
- Χώρος για βελτιστοποίηση
- Υψηλή δυνατότητα για επαναχρησιμοποίηση ειδικών ικρωμάτων για συγκεκριμένες υπεροικογένειες πρωτεϊνών



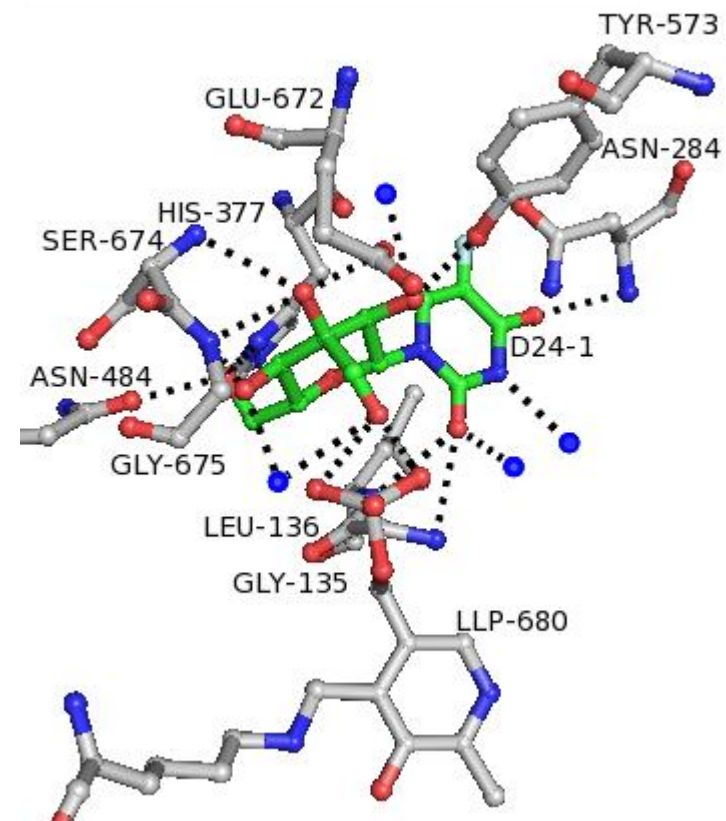
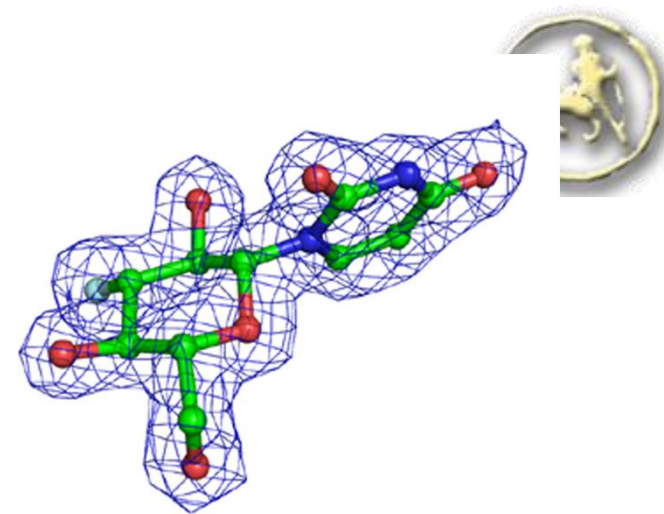
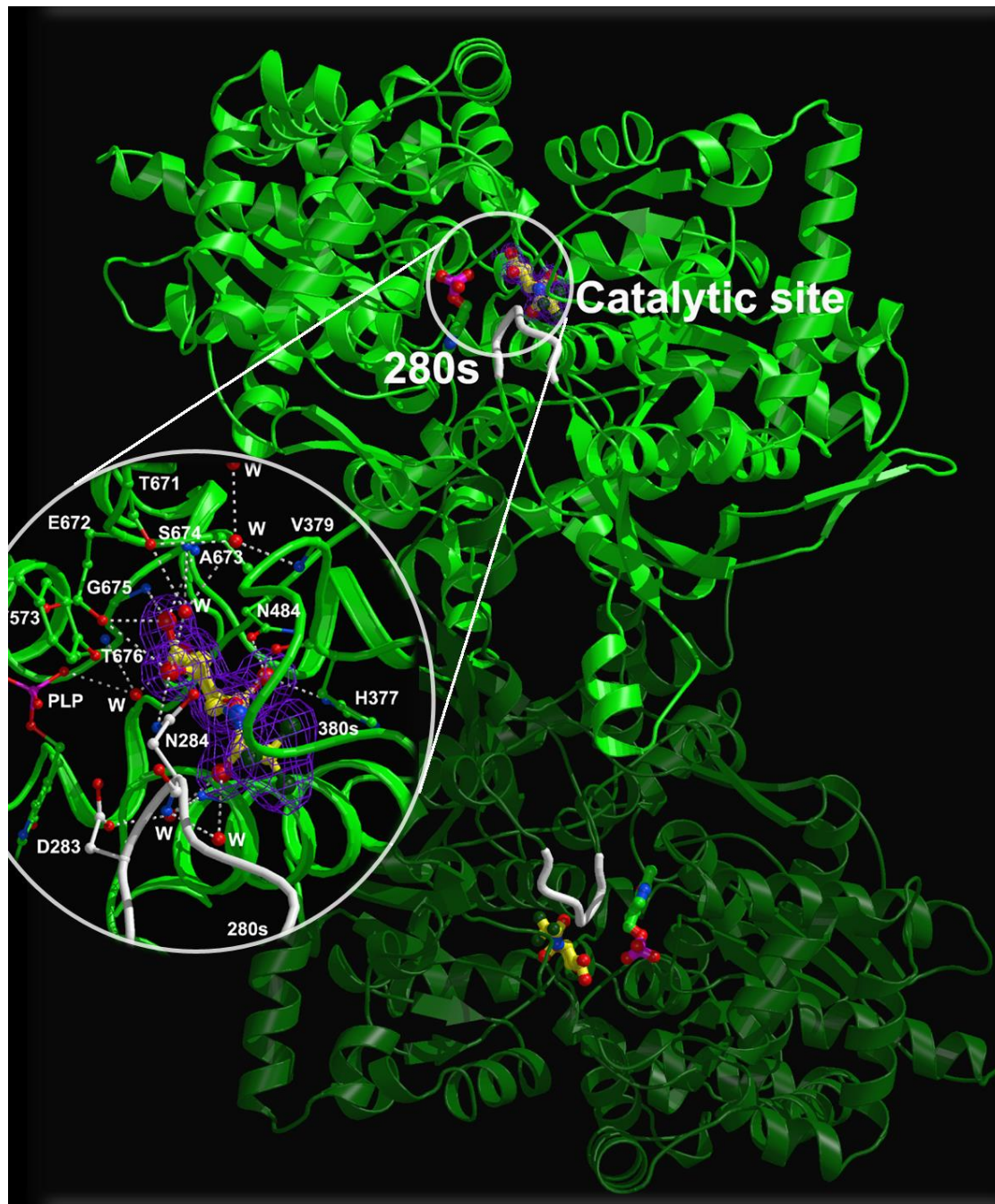
# Ανίχνευση ενώσεων οδηγών μέσα από την εξέλιξη θραυσμάτων

Entry	Target/method	Fragment	Evolved fragment	Lead
1	DNA gyrase <sup>1</sup> / VS and SBD	 $K_i = 10 \text{ nM}$ (by NMR) MNEC >250 $\mu\text{g}$ per ml	 MNEC = 8 $\mu\text{g}$ per ml	 MNEC = 30 ng per ml
2	Thymidylate synthase <sup>19</sup> / tethering and SBD	 $\text{IC}_{50} = 1.1 \text{ mM}$	 $\text{IC}_{50} = 24 \mu\text{M}$	 $\text{IC}_{50} = 330 \text{ nM}$
3	p38 kinase <sup>2</sup> / NMR	 $K_i = 1 \text{ mM}$	 $K_i = 200 \mu\text{M}$	 $K_i = 200 \text{ nM}$

# Διαδικασία της πυραμίδας

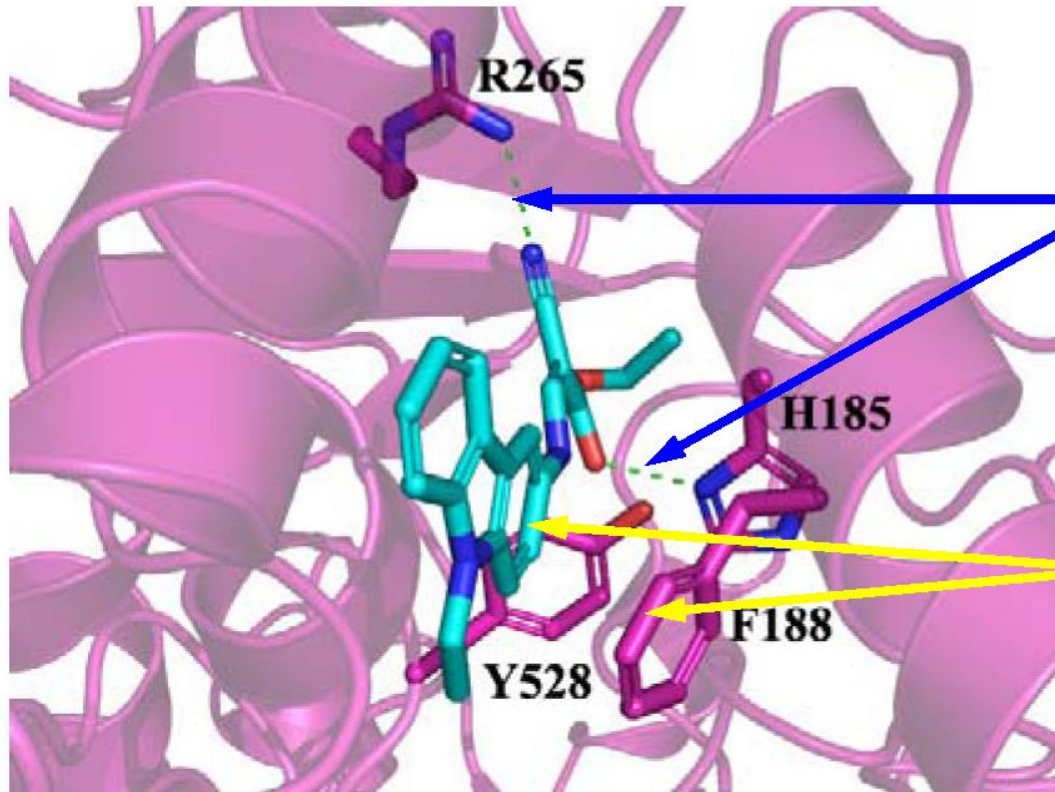






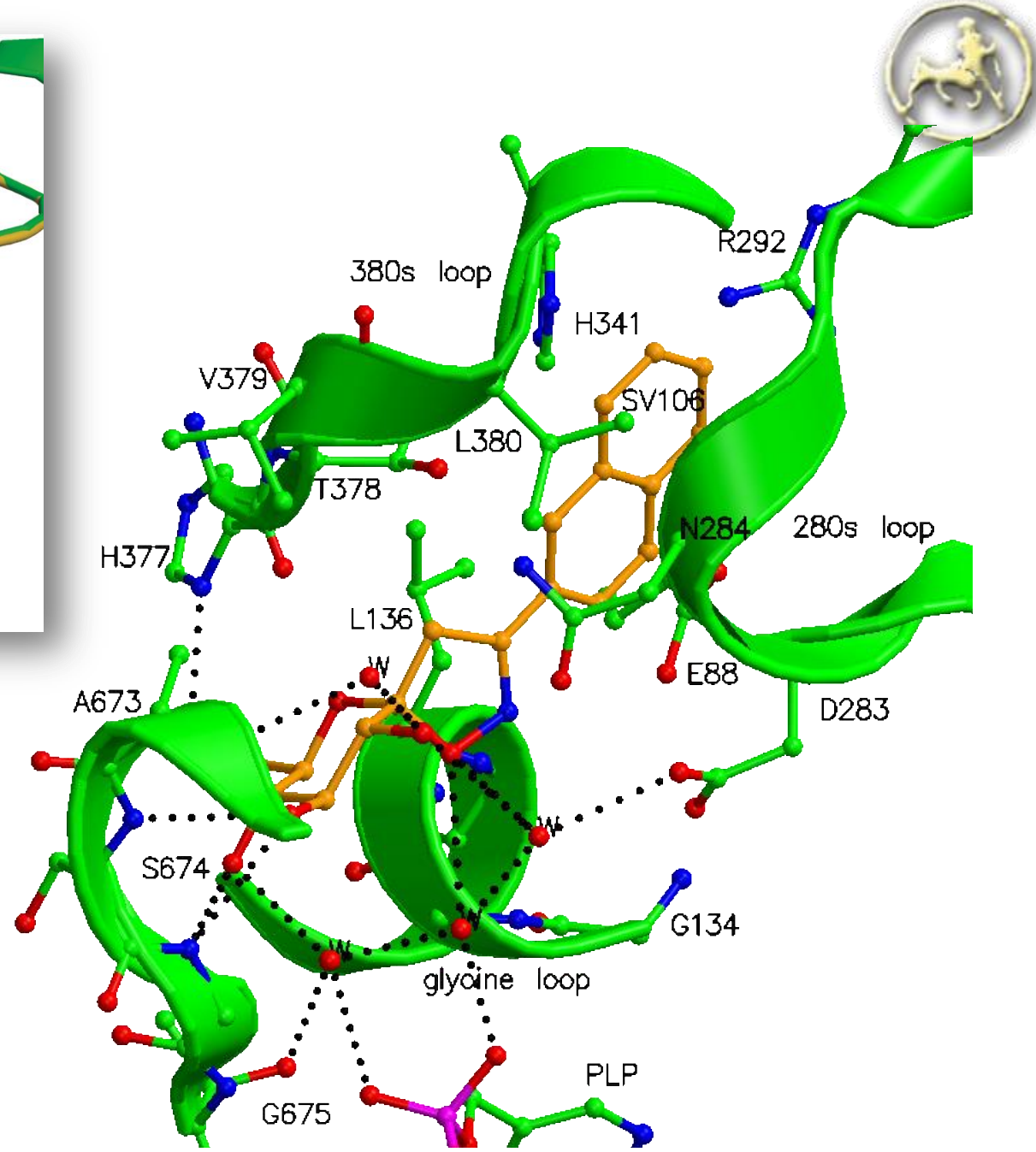
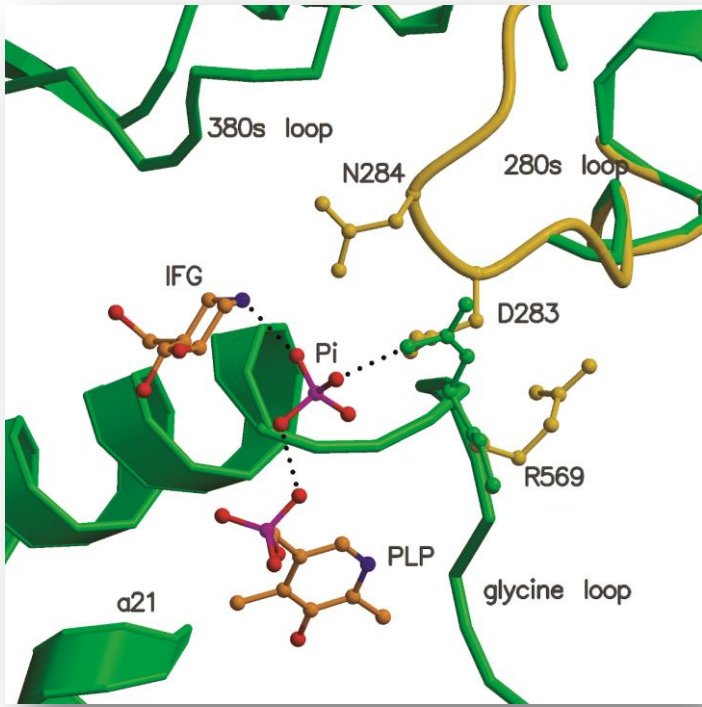


## Αλληλεπιδράσεις ενώσεων και φαρμακευτικών στόχων



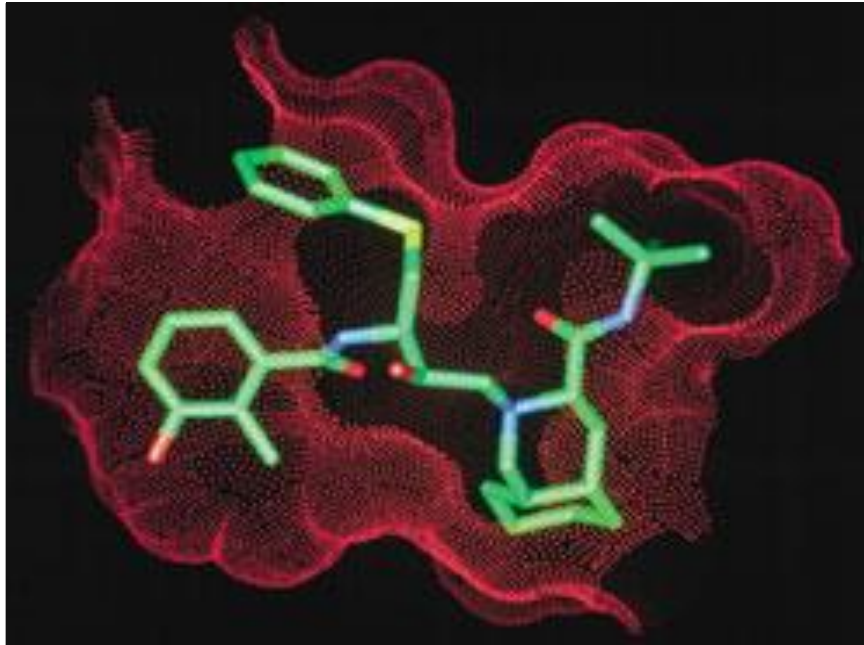
Δεσμοί υδρογόνου

Υδροφοβικές  
αλληλεπιδράσεις

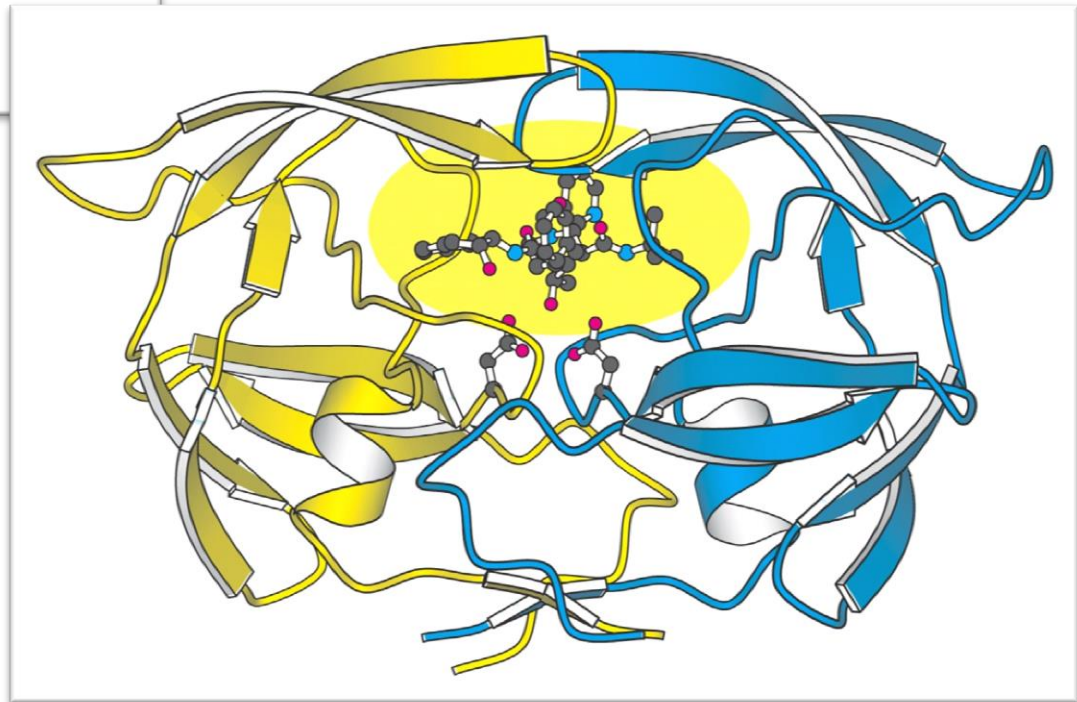
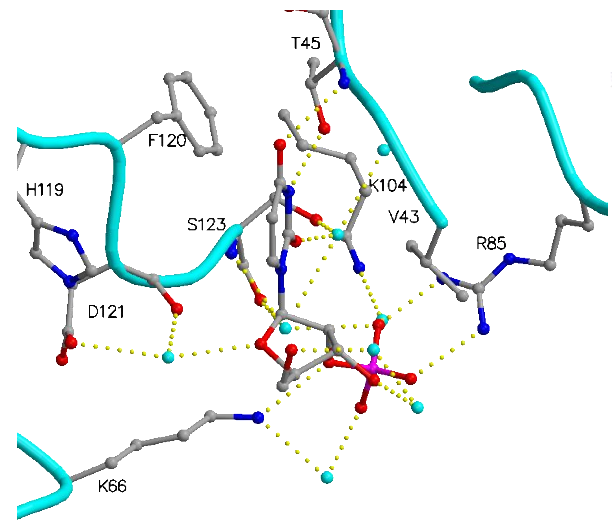
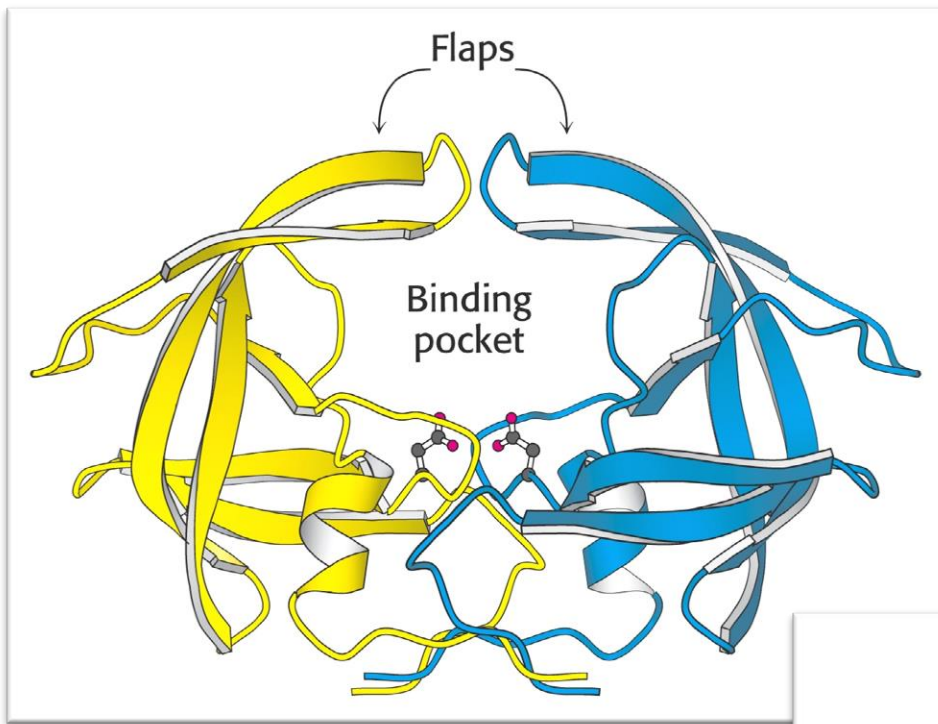




# Φάρμακα που αναπτύχθηκαν με μεθόδους ορθολογικού σχεδιασμού



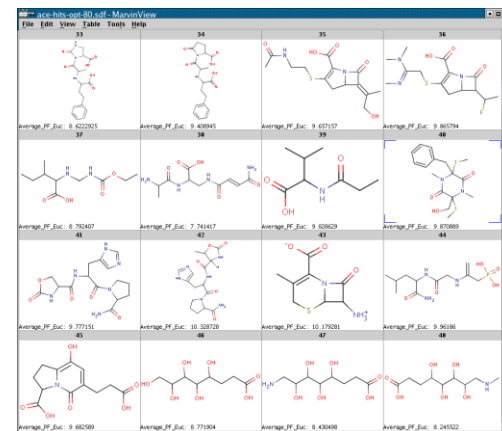
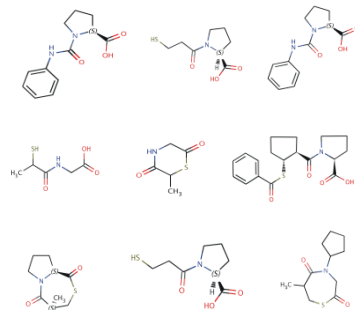
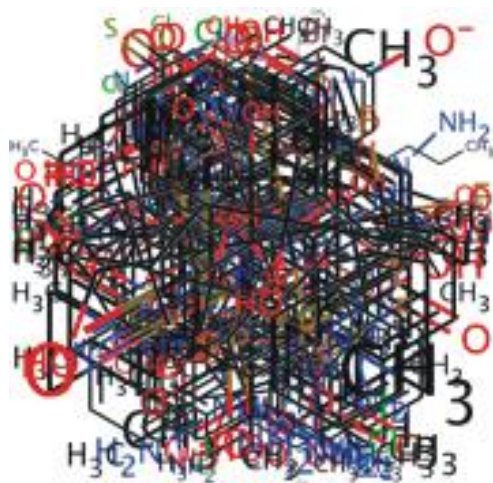
Το Nelfinavir στο ενεργό κέντρο της πρωτεάσης του HIV-1: Το φάρμακο της Agouron nelfinavir για το AIDS (εμπορικό όνομα Viracept) είναι ένα από τα φάρμακα το οποίο προήλθε εξολοκλήρου από ορθολογικές μεθόδους σχεδιασμού.



# Στρατηγική βασισμένη σε μικρές ενώσεις



Διερεύνηση για παρόμοιες ενώσεις



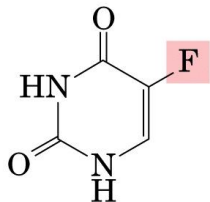
Συλλογή χημικών  
ενώσεων

Γνωστής  
βιοδραστικότητας

Ταυτοποίηση  
ενώσεων

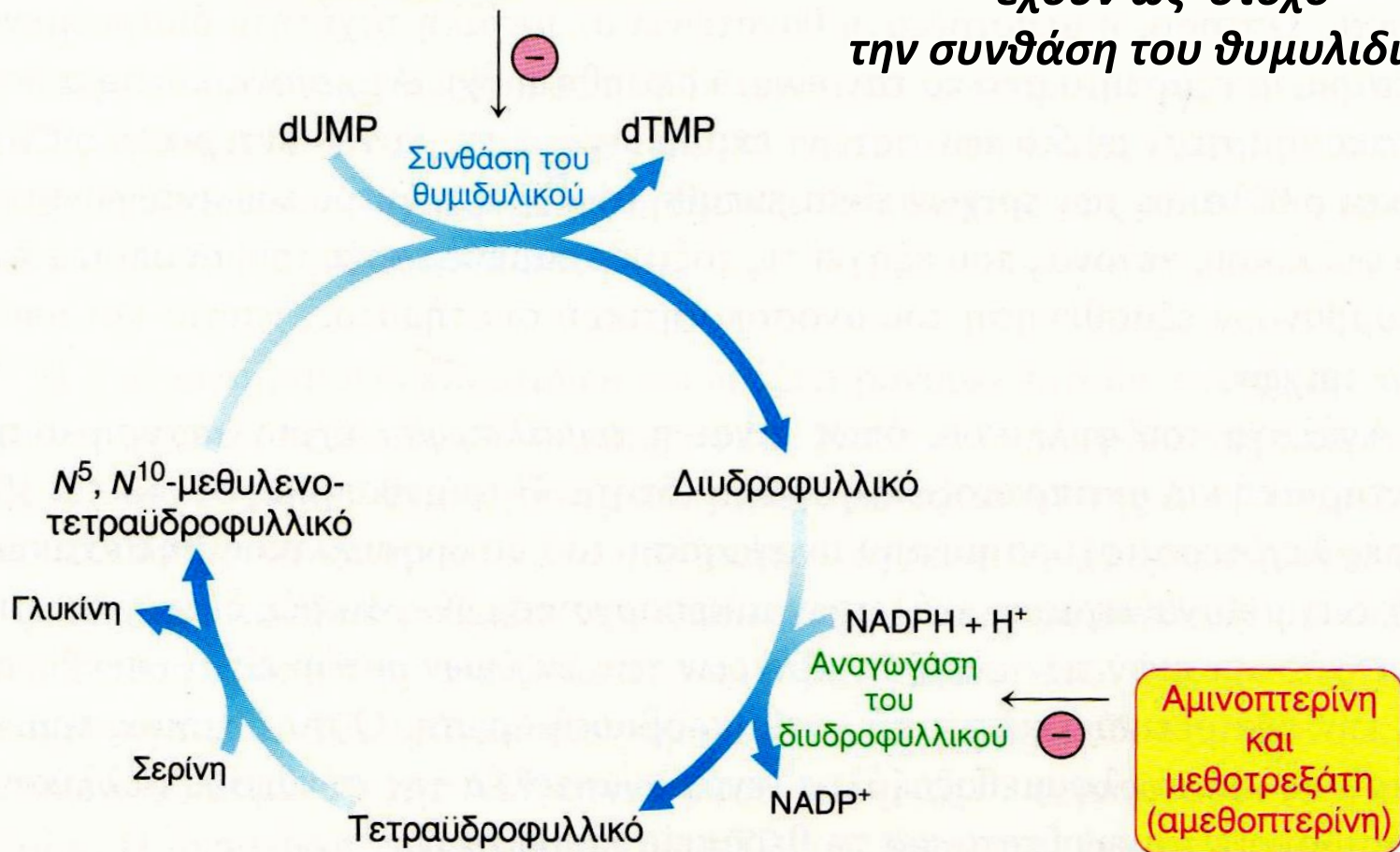


# Ταυτοποίηση ενώσεων οδηγών με βάση το φυσιολογικό υπόστρωμα



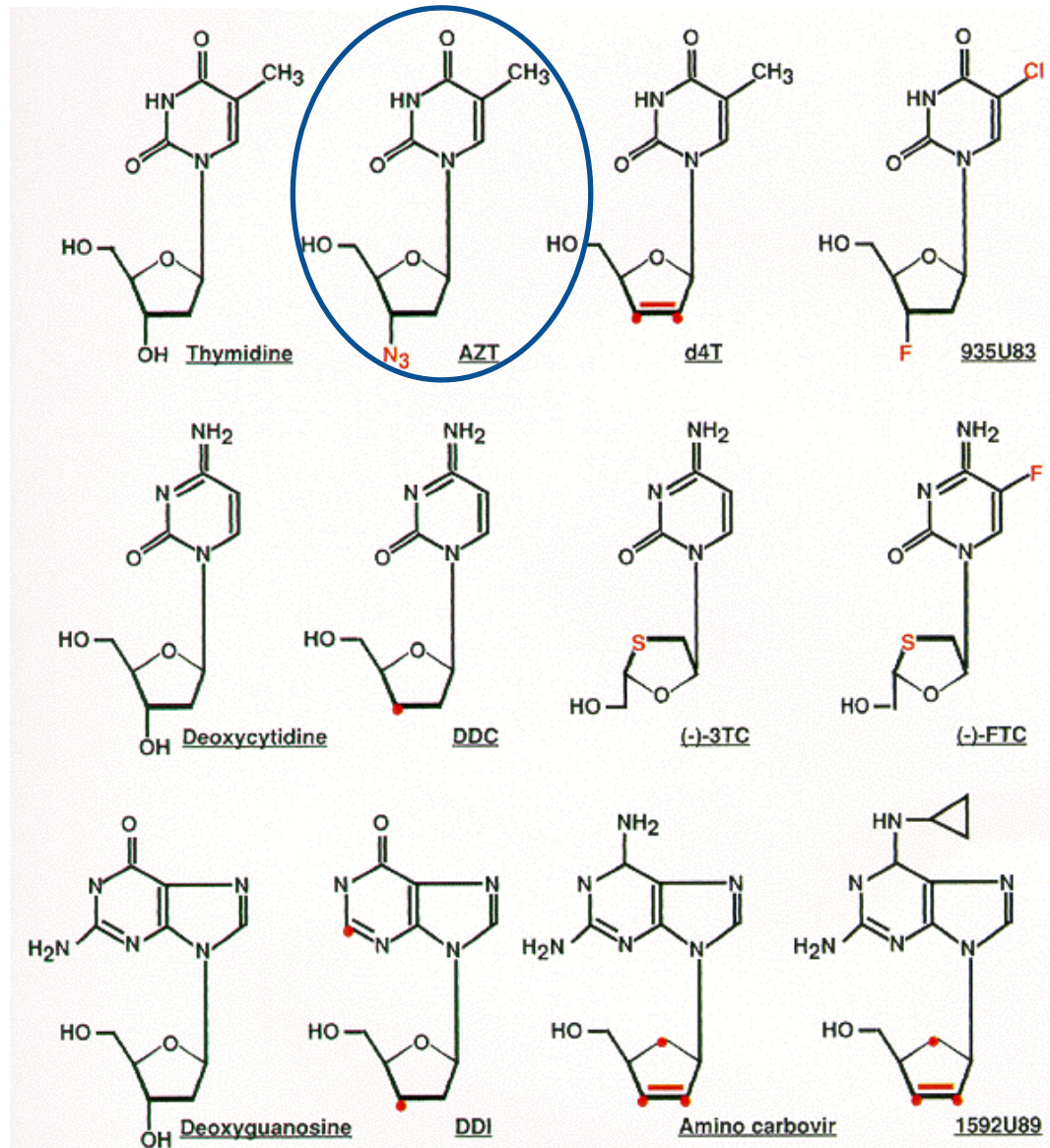
Φθοροουρακίλη  
↓  
Φθοροδεοξουριδυλικό  
(αναστολέας αυτοκτονίας)

**Πολλά αντικαρκινικά  
φάρμακα  
έχουν ως στόχο  
την συνθάση του θυμιδικού**





# Ταυτοποίηση ενώσεων οδηγών με βάση το φυσιολογικό υπόστρωμα







## Ο κανόνας των πέντε του Lipinski!!

Ο Christopher Lipinski πρότεινε τέσσερις παραμέτρους για την ταυτοποίηση της “φαρμακότητας (drug-likeness)” εν δυνάμει φαρμάκων, με βάση την ανάλυση υπαρχόντων φαρμάκων. Ο κανόνας του πέντε πήρε το όνομα του από τις όρια των τιμών για κάθε παράμετρο οι οποίες έχουν όλες την τιμή 5 ή πολλαπλάσιο του 5. Ο κανόνας δηλώνει πως μία ένωση έχει περισσότερες πιθανότητες να έχει χαμηλή απορροφητικότητα ή διεισδυτικότητα αν:

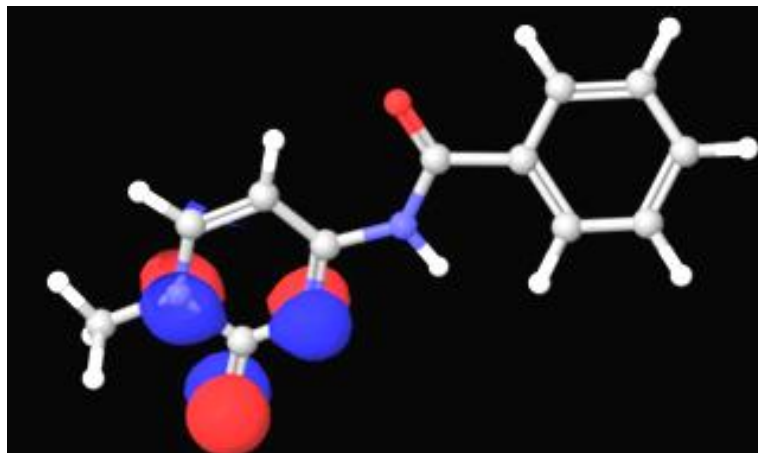
1. Έχει περισσότερους από 5 ομάδες που δρουν ως δότες δεσμών υδρογόνου
2. Έχει περισσότερες από 10 ομάδες που δρουν ως δέκτες δεσμών υδρογόνου
3. Το μοριακό της βάρος είναι μεγαλύτερο από 500 Da
4. Η τιμή του LogP είναι μεγαλύτερη από 5

*Η παράμετρος LogP είναι μέτρο της υδροφοβικότητας ενός μορίου*

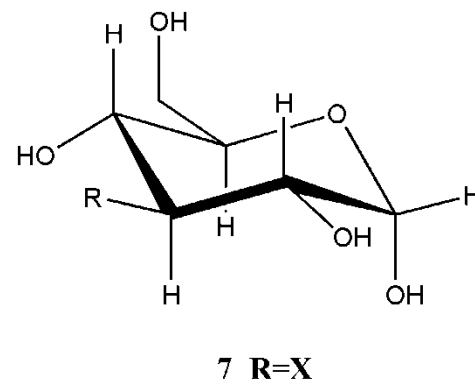
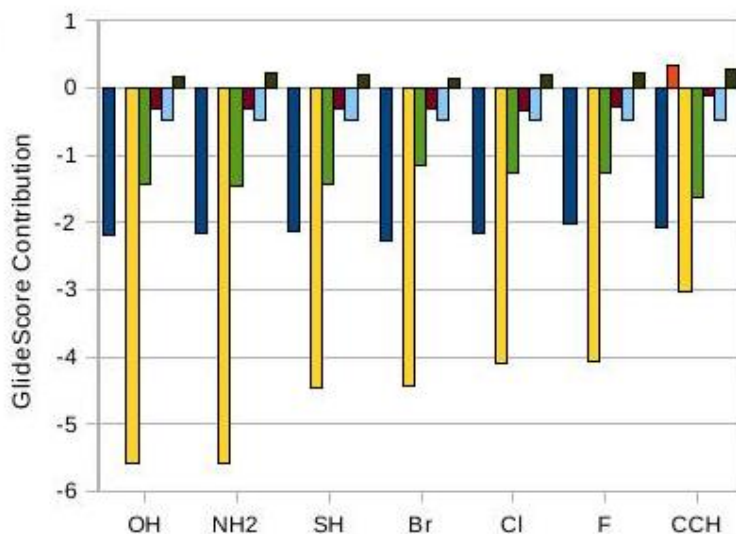


**Table 1.** Lead structure criteria at Schering AG.

- Suitable molecular properties
  - Molecular weight: 200–500
  - $\log P/\log D$ : –1–5
  - H-bond donors: 0–5
  - H-bond acceptors: < 10
  - Solubility in water: > 5 mg L<sup>-1</sup> (or 10 × IC<sub>50</sub>)
- Favorable pharmacodynamics
  - Potency: IC<sub>50</sub> = 100–1000 nM
  - Efficacy: Active in cell-based assay
  - Selectivity: > 10-fold (project-specific)
- Acceptable pharmacokinetic properties
  - Permeability in Caco2 cells: > 100 cm s<sup>-1</sup> × 10<sup>-7</sup>
  - Stability in microsomes (mouse, rat, human): 50–80% R<sub>30 min</sub>
  - In vivo (rat):
    - Plasma clearance: < 50 mL min<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup>
    - Distribution volume: 1–10 L kg<sup>-1</sup>
    - Oral bioavailability: > 25%
- Chemical optimization potential
  - Accessibility
  - Possibilities for modifications (preferably by parallel synthesis)
  - SAR available (analogue generation)
- Patentability
  - Clear patent strategy



■ Lipo-EvdW  
 ■ PhobPairHB  
 ■ H-Bond  
 ■ Electro  
 ■ SiteMap  
 ■ LowMW  
 ■ RotPenal

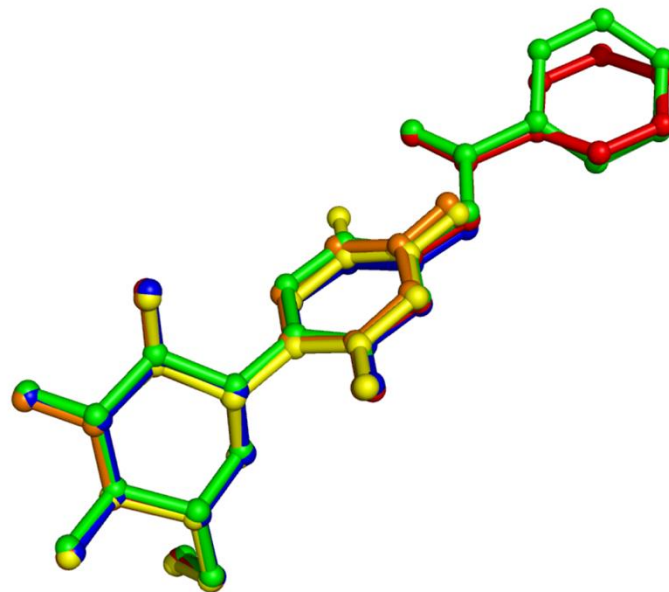
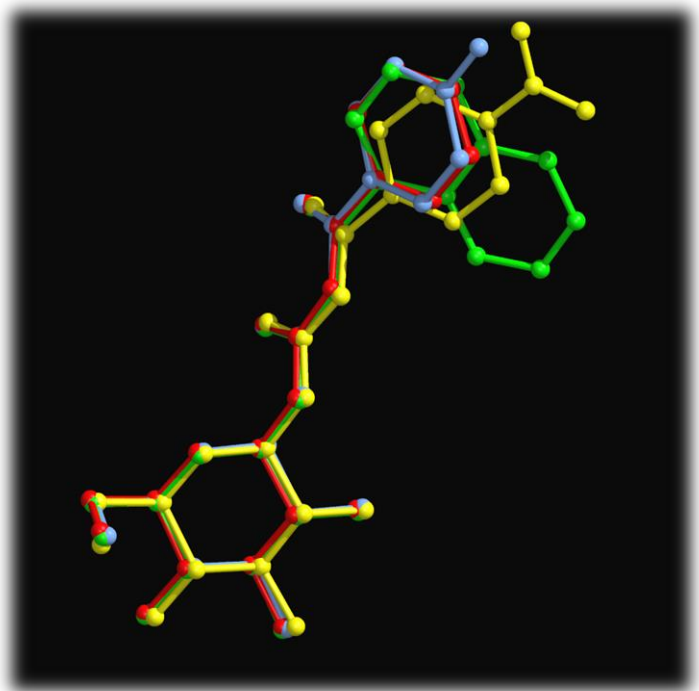


R =

OH; F; Cl; Br; SH;  
 CCH; NH<sub>2</sub>; NH<sub>3</sub><sup>-</sup>;  
 NHMe

Lipo-EvdW	-2.2	-2.16	-2.13	-2.27	-2.16	-2.04	-2.09
PhobPairHB	0	0	0	0	0	0	0.33
H-Bond	-5.6	-5.59	-4.48	-4.45	-4.11	-4.08	-3.03
Electro	-1.45	-1.48	-1.44	-1.15	-1.27	-1.26	-1.63
SiteMap	-0.31	-0.32	-0.33	-0.32	-0.34	-0.29	-0.11
LowMW	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5
RotPenal	0.15	0.21	0.18	0.13	0.18	0.2	0.27
<b>GScore</b>	<b>-9.92</b>	<b>-9.83</b>	<b>-8.7</b>	<b>-8.57</b>	<b>-8.2</b>	<b>-7.97</b>	<b>-6.76</b>

Tsirkone V.G., Tsoukala E., Lamprakis C., Manta S., Hayes J.M., Skamniki V.T., Drakou C., Zographos S.E., Komiotis D.,  
 and Leonidas D.D. (2010) *Bioorg. Med. Chem.* 18, 3413-3425.



Oikonomakos, N.G.; Kosmopolou, M.; Zographos, S.E.; Leonidas, D.D.; Somsak, L.; Nagy, V.; Praly, J.-P.; Docsa, T.; Toth, B.; Gergely, P. *Eur. J. Biochem.*, **2002**, **269**, 1684-1696.

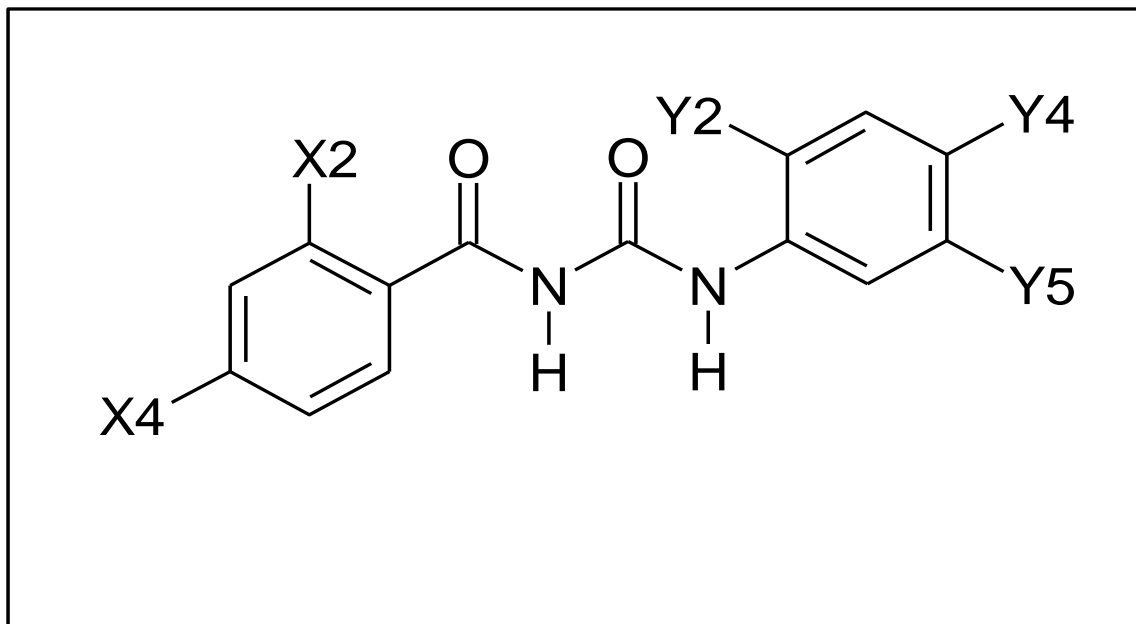




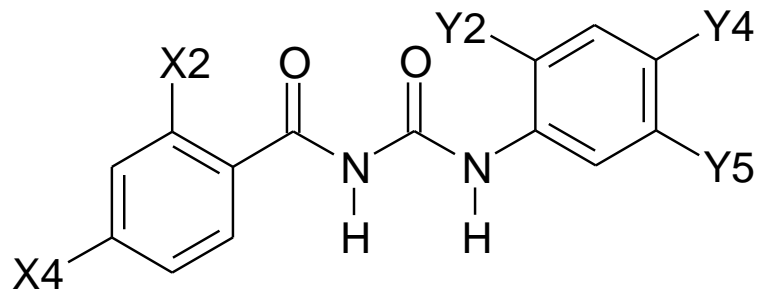
Table 1. Screening hit 1

Cmpd	X2	X4	Y2	Y4	Y5
2	Cl	H	Cl	COOH	H
3	Cl	H	OMe	COOH	H
4	Cl	Cl	OMe	COOH	H
5	Cl	Cl	Cl	COOH	H
6	F	H	OMe	COOH	H
7	Cl	F	OMe	COOH	H
8	Cl	F	Cl	COOH	H
9	F	H	OMe	COOMe	H
10	Cl	Cl	H	H	OH
11	Cl	H	OMe	H	OH
12	Cl	Cl	H	COOH	H
13	Cl	Cl	H	COOH	OH
14	Cl	F	H	COOH	OH
15	Cl	Cl	Cl	COOH	OH
16	Cl	F	OCF <sub>3</sub>	COOH	H
17	Cl	F	H	OH	OH
18	Cl	F	Cl	Tetrazole	H
19	Cl	F	OMe	CONH <sub>2</sub>	H
20	Cl	F	OCF <sub>3</sub>	Tetrazole	H
<b>21</b>	<b>Cl</b>	<b>F</b>	<b>OMe</b>	<b>H</b>	<b>OH</b>
22	Cl	F	Cl	SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H

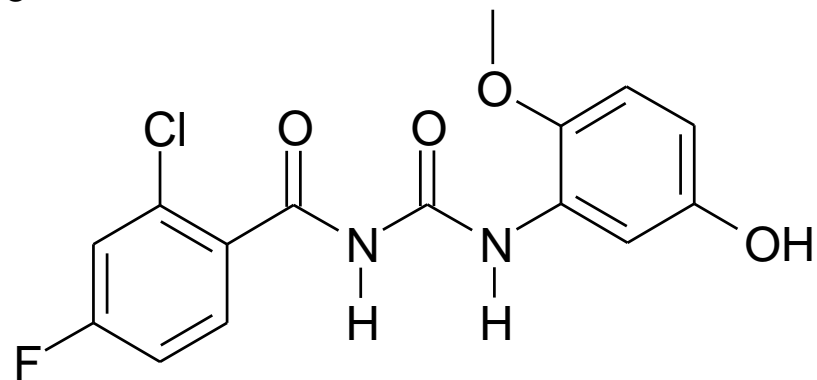
## Table 2. Experimental and predicted activities



Compound	IC <sub>50</sub> [nM] observed	IC <sub>50</sub> [nM] predicted	error	IC <sub>50</sub> [μM] hepatocyte
2	940	540	-1.7	19
3	850	260	-3.3	28
4	510	290	-1.8	23
5	420	530	1.3	9
6	2150	8200	3.8	65
7	210	360	1.7	2
8	160	620	3.9	1.3
9	15000	8200	-1.8	n.d.
10	970	540	-1.8	29
11	65	45	-1.4	8
12	7000	9900	1.4	n.d.
13	540	480	-1.1	17
14	510	440	-1.1	8
15	150	93	-1.6	11
16	150	120	-1.2	1.8
17	120	430	3.6	12
18	190	580	3.1	4
19	300	340	1.1	n.d.
20	80	120	1.6	3.7
<b>21</b>	<b>23</b>	<b>56</b>	<b>2.4</b>	<b>6.2</b>
22	1550	520	-3.0	16
23	10000	9100	-1.1	n.d.
24	10000	2500	-4.0	n.d.
25	10000	7500	-1.3	n.d.



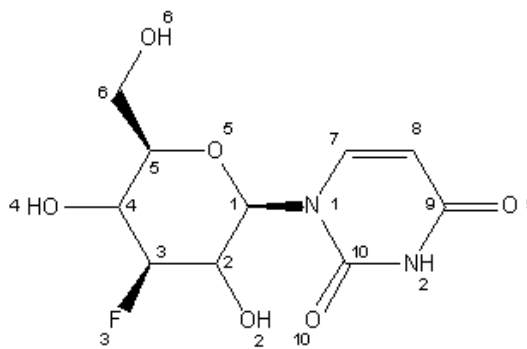
2-22



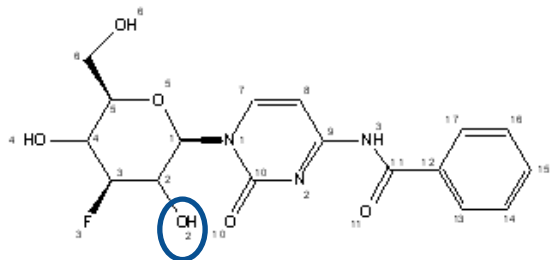
21

$IC_{50} = 23 \text{ nM}$  (enzyme)  
 $IC_{50} = 6.2 \text{ } \mu\text{M}$  (hepatocytes)

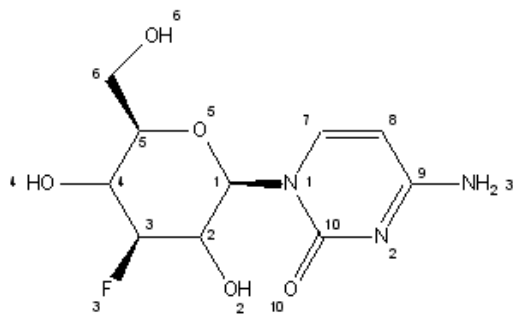




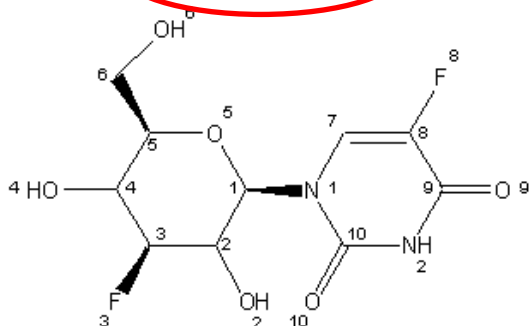
1 ( $K_i = 3.46 \text{ mM}$ )



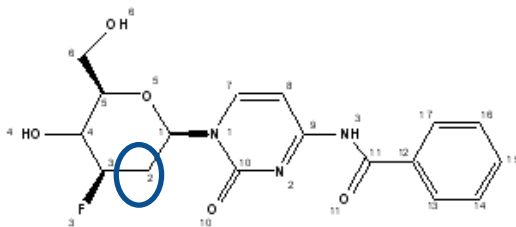
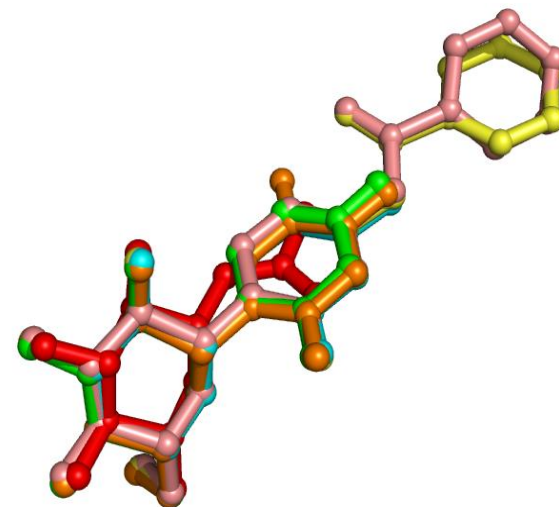
2 ( $K_i = 46.42 \mu\text{M}$ )



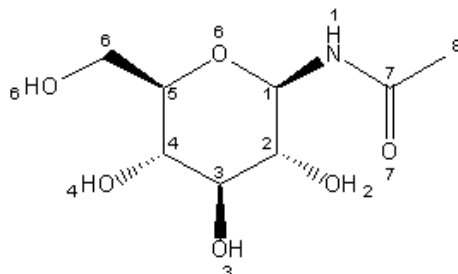
3 ( $K_i = 4.01 \text{ mM}$ )



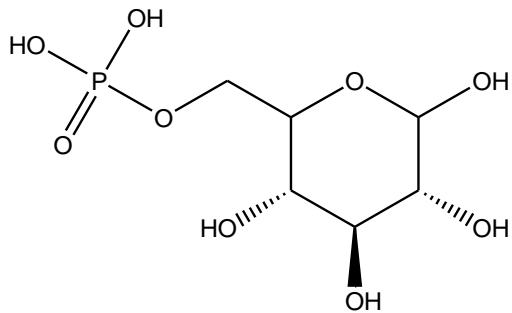
4 ( $K_i = 3.67 \text{ mM}$ )



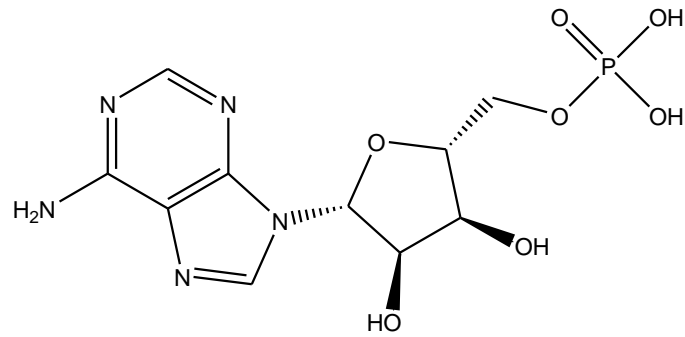
5 ( $K_i = 6.55 \text{ mM}$ )



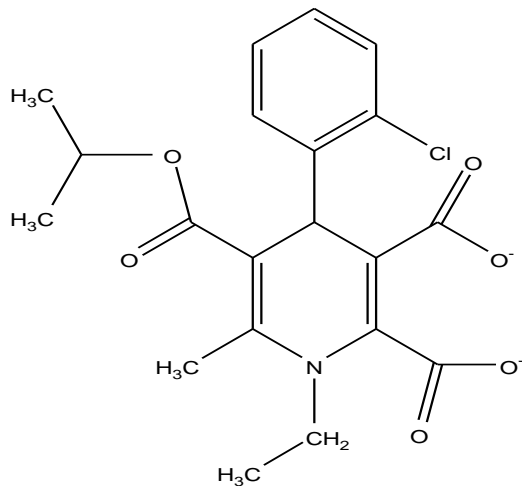
6 ( $K_i = 0.032 \text{ mM}$ )<sup>27</sup>



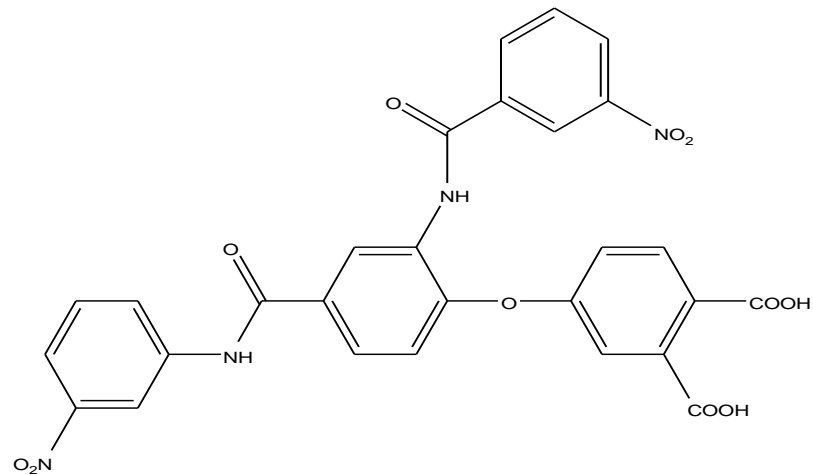
Glc-6-P



AMP



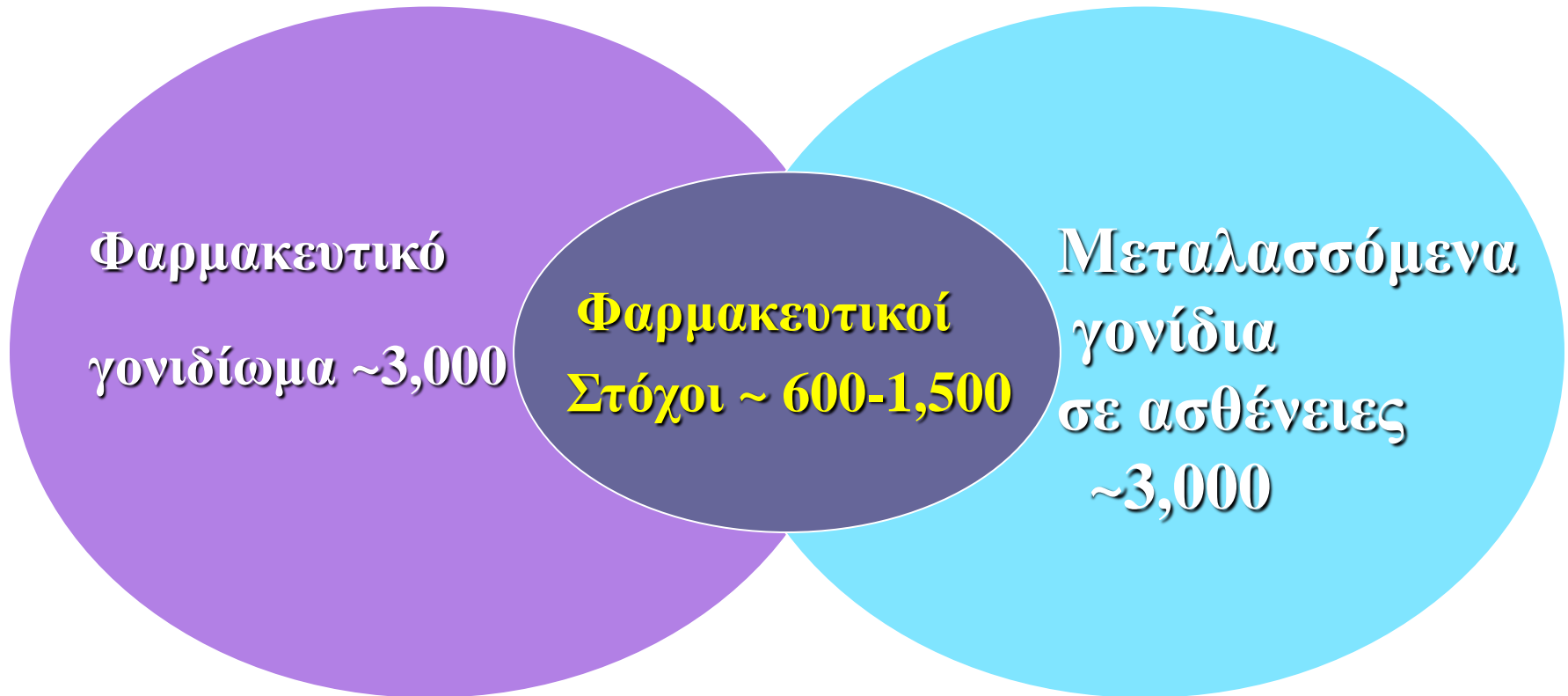
W1807  $K_i=1.6$  nM



4-[2,4-bis-(3-nitrobenzoylamino)phenoxy]phthalic acid



# Ανθρώπινο Γονιδίωμα ~30,000



Hopkins & Groom (2002) *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, 727-736