

Περίληψη

Ο διαβήτης τύπου II, μια από τις πιο σοβαρές μεταβολικές διαταραχές χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία και αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης. Σήμερα, αντιπροσωπεύει το 90% των ασθενών με διαβήτη. Η ηπατική φωσφορυλάση του γλυκογόνου αποτελεί ένα βασικό ένζυμο του μεταβολισμού καθώς καταλύει την αποικοδόμηση του γλυκογόνου προς παραγωγή 1-φωσφορικής γλυκόζης. Μιας και στο ήπαρ το γλυκογόνο είναι η πηγή γλυκόζης για τη διατήρηση της ομοιόστασης της γλυκόζης στο αίμα, η φωσφορυλάση του γλυκογόνου (GP) αποτελεί ένα σημαντικό φαρμακευτικό στόχο πιστοποιημένο για την ανάπτυξη νέων αντι-υπεργλυκαιμικών φαρμάκων (αναστολέων της ενζυμικής δράσης) στο πλαίσιο της καταπολέμησης του διαβήτη τύπου II. Η ανακάλυψη αναστολέων βασίζεται στη γλυκόζη, το φυσικό αναστολέα του ενζύμου, που συνδέεται στο καταλυτικό κέντρο. Η ανακάλυψη ανάλογων γλυκόζης τα οποία θα προσδένονται στο καταλυτικό κέντρο και θα εμφανίζουν υψηλότερη ανασταλτική ισχύ από αυτήν ήταν ο στόχος της παρούσας διατριβής. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κατευθυνόμενου-από-τη-δομή σχεδιασμού αναστολέων. Η μέθοδος συνίσταται στην ανάλυση της μοριακής αρχιτεκτονικής που υπαγορεύει τη μοριακή αναγνώριση και εξειδίκευση του καταλυτικού κέντρου του ενζύμου και στην αποτίμηση της ανασταλτικής δράσης κάθε νέου ανάλογου γλυκόζης ακολουθώντας μια συνεχή σπειροειδή πορεία δομικής ανάλυσης και αποτίμησης της βιοδραστικότητας η οποία τελικά οδηγεί σε έναν πολύ ισχυρό αναστολέα.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής, μελετήθηκαν συστηματικά έξι διαφορετικές ομάδες ενώσεων αρχικά έναντι της μυϊκής φωσφορυλάσης του γλυκογόνου από κονίκλους και τελικά έναντι της ανθρώπινης ηπατικής φωσφορυλάσης του γλυκογόνου. Με κινητικές μελέτες προσδιορίστηκε η βιοδραστικότητα και η σταθερά αναστολής (K_i) τους ενώ η κρυσταλλογραφική μελέτη των ενζυμικών συμπλόκων των αναστολέων απεκάλυψε τη δομική βάση της αναστολής τους.

Η πρώτη ομάδα αναστολέων που μελετήθηκε ήταν οι C5-αλογονοϋποκαστετημένοι γλυκοκυρανονουκλεοζίτες, οι οποίοι έφεραν στη θέση C5 της ουρακίλης ως υποκαταστάτες αλογόνα, με τον ClcClU να είναι ο πλέον βιοδραστικός ($K_i = 1,02 \mu\text{M}$). Η επόμενη ομάδα αναστολέων αποτελούνταν από τους C5- αλκυλ και αλκυλφουρανό[2,3-d] πυριμιδινό-γλυκοκυρανονουκλεοζίτες στους οποίους τα αλογόνα στη θέση C5 της ουρακίλης αντικαταστάθηκαν από υδρόφοβες ομάδες διαφορετικού μεγέθους και μήκους με στόχο τα νέα μόρια να αλληλεπιδράσουν με αμινοξικά κατάλοιπα μιας υδρόφοβης περιοχής του καταλυτικού κέντρου, την περιοχή της β-εσοχής. Τα αποτελέσματα της σύνδεσης τους ανέδειξαν τη σημαντικότητα της ομάδας η οποία ενώνει τη γλυκοκυρανόζη με έναν

υποκαταστάτη R. Έτσι, στις επόμενες ομάδες αναστολέων που μελετήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές ομάδες συνδέτη με στόχο οι υποκαταστάτες R να αλληλεπιδράσουν με ακόμα περισσότερο αμινοξικά κατάλοιπα της β-εσοχής. Μελετήθηκαν μια ομάδα *N*-ακυλ-β-D-γλυκοπυρανοζυλαμινών που έφερε την ομάδα –NHCO–ως συνδέτη και επιλεγμένες ομάδες υποκαταστατών, που προέκυψαν μετά από υπολογιστική διαλογή 1888 ενώσεων της βάσης δεδομένων ZINC. Στη συνέχεια, οι πλέον βιοδραστικοί αναστολείς αυτής της ομάδας χρησιμοποιήθηκαν ως κριώμα για το σχεδιασμό και τη μελέτη μιας νέας ομάδας αναστολέων, τις *N*-ακυλ-β-D-γλυκοπυρανοζυλουρίες όπου ο συνδέτης –NHCO– αντικαταστάθηκε από τον –NHCONHCO–. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως αυτός ο συνδέτης είναι ο πλέον κατάλληλος για την αύξηση της βιοδραστικότητας.

Οι τελευταίες ομάδες αναστολέων που εξετάστηκαν έφεραν ετεροκυκλικούς δακτυλίους ως συνδέτη και υποκαταστάτες διαφορετικού μήκους και μεγέθους. Η μελέτη των C-γλυκοπυρανοζυλο-1,2,4-τριάζολο και 4(5)-αρυλο-2-C-γλυκοπυρανοζυλο-ιμιδάζολο αναστολέων οδήγησε στην ανακάλυψη ιδιαίτερα ισχυρών αναστολέων με σταθερές αναστολής της τάξης των nM. Ο πλέον ισχυρότερος όλων, (BEva349) εμφάνισε σταθερά αναστολής, $K_i = 26$ nM, και αποτελεί τον πλέον ισχυρό αναστολέα του καταλυτικού κέντρου της φωσφορυλάσης του γλυκογόνου σήμερα. Η βιοδραστικότητα των τελευταίων αυτών ομάδων εξετάστηκε και στην ανθρώπινη ηπατική φωσφορυλάση του γλυκογόνου. Τα αποτελέσματα επαλήθευσαν την ισχυρή ανασταλτική ισχύ αυτών των αναστολέων και έναντι του φαρμακευτικού στόχου ενώ παράλληλα απέδειξαν την ασφαλή χρήση πειραματικών δεδομένων της μυϊκής φωσφορυλάσης του γλυκογόνου από κονίκλους για το σχεδιασμό αναστολέων για το ανθρώπινο ηπατικό ισοένζυμο.