



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

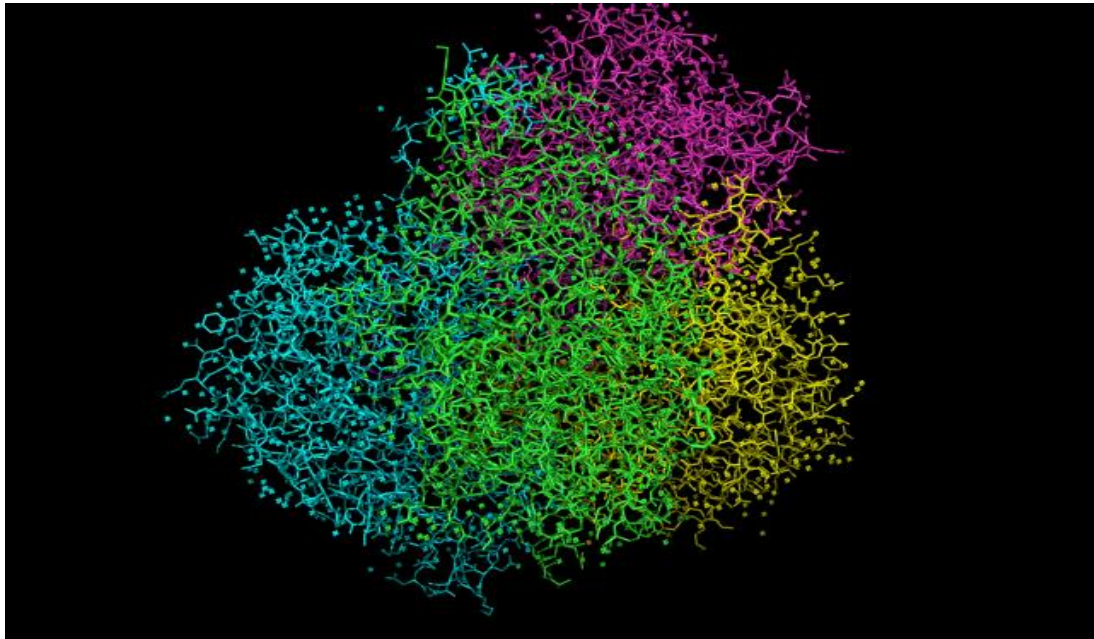
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»

---

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

<<Μελέτη αναστολέων της LDH-A ως θεραπευτικός στόχος κατά  
καρκινικών κυττάρων>>



ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΤΣΙΓΩΝΑΚΗΣ Α.Μ.:268803

ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΚΟΥ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΑΘΗΝΑ 2017



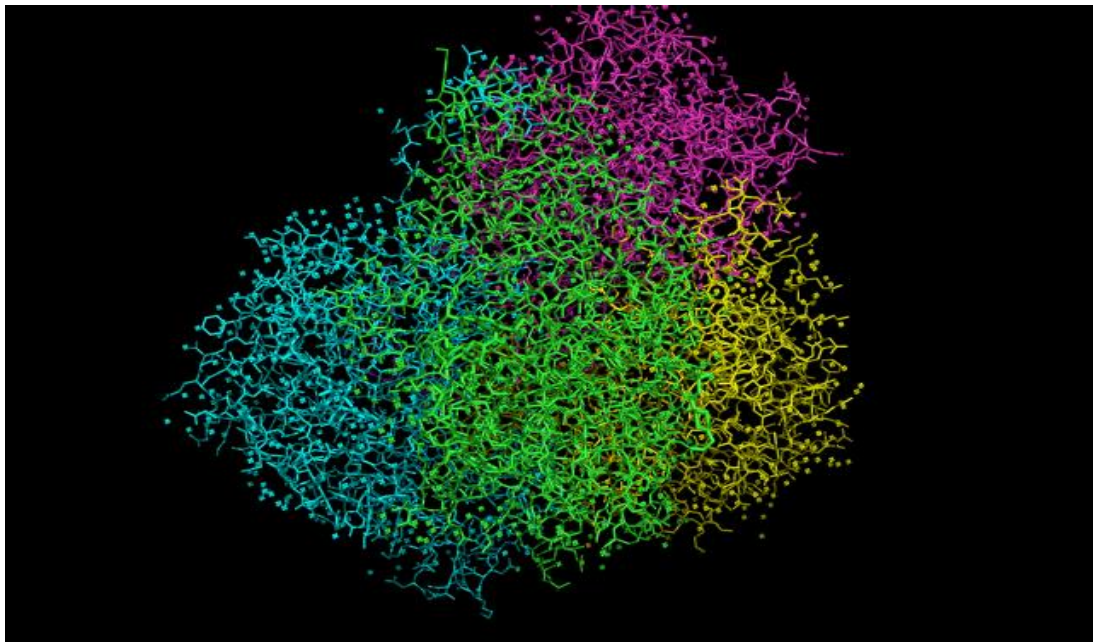
HELLENIC REPUBLIC  
National and Kapodistrian  
University of Athens  
SCHOOL OF SCIENCE  
FACULTY OF BIOLOGY

MASTER IN “BIOINFORMATICS”

---

Master Diploma Thesis

<<LDH-A inhibitors study as a therapeutic target against  
cancer cells>>



DIMITRIOS TSIGONAKIS I.D.:268803

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS (AUA)  
BACHELOR OF SCIENCE DEGREE, BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT

ATHENS 2017



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

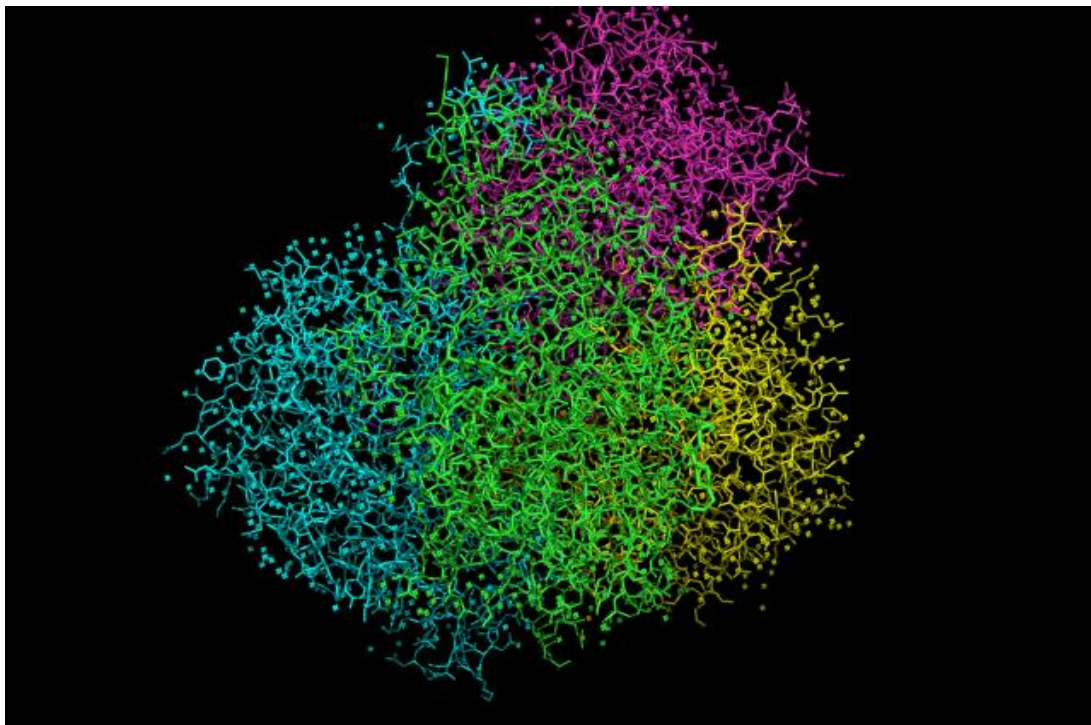
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»

---

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

<<Μελέτη αναστολέων της LDH-A ως θεραπευτικός στόχος  
κατά καρκινικών κυττάρων>>



**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΗΛΙΑΣ ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)**

**ΤΟΜΕΑΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ,**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ, ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΒΟΡΓΙΑΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ – ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ,**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, Ε.Κ.Π.Α.**

**ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΟΙΚΟΝΟΜΙΔΟΥ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΦΥΣΙΚΗΣ,**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ, Ε.Κ.Π.Α.**



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ - ΑΦΙΕΡΩΣΕΙΣ**

Κατ' αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής μου για την πολύ καλή συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου. Κυρίως θα ήθελα να τους ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, δίνοντάς μου ένα θέμα με ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Επιπλέον, θα ήθελα να αναφερθώ και στο γεγονός ότι όποτε ζητούσα κάποια βοήθεια ή καθοδήγηση ήταν πάντα εκεί για να με βοηθήσουν, ενώ καθ' όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου μού έδιναν χρήσιμες και εποικοδομητικές συμβουλές, εκπαιδεύοντας με παράλληλα στις πιο σημαντικές τεχνικές της μοριακής μοντελοποίησης.

Τώρα, θα ήθελα να αφιερώσω την παρούσα μελέτη στα μέλη της οικογένειας μου για την αμείωτη συμπαράσταση και στήριξη τους όχι μόνο κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου, αλλά και κατά τη διάρκεια όλων των σχολικών και φοιτητικών μου χρόνων.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|  |    |
|--|----|
| 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....  | 8  |
| ABSTRACT .....   | 9  |
| 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....   | 10 |
| 2.1 ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ.....                                  | 10 |
| 2.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ.....          | 11 |
| 2.3 ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ .....  | 12 |
| 2.4 ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ .....  | 13 |
| 2.4.1 ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....  | 13 |
| 2.4.2 ΑΙΜΟΛΥΣΗ .....   | 14 |
| 2.4.3 ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΤΙΔΑ .....                         | 14 |
| 2.4.4 HIV .....  | 15 |
| 2.5 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ Α .....      | 15 |
| 2.6 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ .....                        | 18 |
| 3. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....  | 19 |
| 3.1 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΕΣ.....  | 19 |
| 3.1.1 ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ (RATIONAL DRUG DESIGN). 19 |    |
| 3.1.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΤΟΧΟΥ .....       | 20 |
| 3.1.3 ΕΛΛΙΜΕΝΙΣΜΟΣ (DOCKING).....                                | 21 |
| 3.2 ΒΑΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....  | 22 |
| 3.2.1 PROTEIN DATA BANK.....                                     | 22 |
| 3.2.2 BINDING DATABASE (BindingDB).....                          | 23 |
| 3.2.3 ZINC DATABASE .....  | 23 |
| 3.2.4 SELLECKCHEM.....   | 24 |
| 3.2.4 PUBCHEM.....   | 24 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.3 ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ .....                              | 25  |
| 3.3.1 PyMOL VIEWER .....                           | 25  |
| 3.3.2 AUTODOCK.....                                | 26  |
| 3.3.3 LIGPLOT .....                                | 28  |
| 3.3.4 PISA .....                                   | 29  |
| 3.3.5 OPEN BABEL .....                             | 30  |
| 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....                               | 31  |
| 4.1 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ LDH-A .....                        | 35  |
| 4.2 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ LDH-A.....               | 46  |
| 4.3 ΠΙΘΑΝΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ.....                        | 117 |
| 4.3.1 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ.....                  | 119 |
| 4.3.2 ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ..... | 147 |
| 4.3.3 ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ .....                        | 151 |
| 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....                               | 161 |
| 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                               | 172 |
| 6.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                     | 172 |
| 6.2 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....                        | 172 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....                                    | 175 |

## 1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκε μελέτη των διάφορων αναστολέων της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A (LDH-A) του καρκινικού κυττάρου, προκειμένου να βρεθούν φαρμακευτικές ενώσεις που θα συμβάλουν στην αναστολή της λειτουργίας του.

Αρχικά, βρέθηκαν από τη βάση δεδομένων Protein Data Bank (PDB), όλες οι δομές της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A (LDH-A) και επιλέχθηκε η δομή με την καλύτερη ατομική διακριτικότητα (resolution), προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στη μελέτη.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε χωρική υπέρθεση των αλυσίδων στην επιλεγθείσα δομή και έτσι προέκυψε η πιο αντιπροσωπευτική αλυσίδα - με τα περισσότερα υποστρώματα -. Εκτός από το παραπάνω, αρχικό, μέρος η διπλωματική μελέτη περιλαμβάνει άλλα τρία μέρη.

Στο πρώτο μέρος, μελετήθηκαν όλα τα υποστρώματα που υπήρχαν στις δομές της ανθρώπινης LDH-A. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε, με το Autodock Vina, ελλιμενισμός των υποστρωμάτων στο κέντρο πρόσδεσης της επιλεγθείσας δομής της γαλακτικής αφυδρογονάσης A, ώστε να εντοπιστούν οι περιοχές αλληλεπίδρασης υποστρώματος και πρωτεΐνης.

Στο δεύτερο μέρος, χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο χημικών ενώσεων-αναστολέων της ανθρώπινης LDH-A που ήταν καταχωρημένες στη βάση δεδομένων BindingDB. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε, ήταν η ίδια μ' αυτήν του πρώτου μέρους, ώστε να επιβεβαιωθεί η αξιοπιστία, τόσο της μεθοδολογίας, όσο και του λογισμικού που χρησιμοποιήθηκε.

Στο τρίτο μέρος, χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές ομάδες υποψήφιων αναστολέων, οι οποίες περιελάμβαναν αντικαρκινικές ενώσεις, καρκινικές ενώσεις και φυσικά προϊόντα αντίστοιχα. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ώστε να βρεθούν νέα υποστρώματα που λειτουργούν κατασταλτικά, ήταν η ίδια που ακολουθήθηκε στα δύο πρώτα μέρη.

Όλες οι ενώσεις, που έδωσαν λύση, από τους ελλιμενισμούς του τρίτου μέρους, θα αποτελέσουν πιθανούς στόχους κατά των καρκινικών κυττάρων. Αξίζει να αναφερθεί ότι για τις ενώσεις που έδωσαν λύση στο κέντρο πρόσδεσης της LDH-A και στα τρία μέρη, πραγματοποιήθηκαν διαγράμματα απεικόνισης της προβολής του κέντρου πρόσδεσης με το πρόγραμμα LIGPLOT και εντοπίστηκαν τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα, της LDH-A, που συμμετέχουν στις αλληλεπιδράσεις ενζύμου (LDH-A) – υποστρώματος (ενώσεις / αναστολείς).

Τέλος, να σημειωθεί ότι για τις ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στο τρίτο μέρος των ελλιμενισμών, βρέθηκαν από τη βάση δεδομένων PUBCHEM τα απαραίτητα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν στη θεραπευτική τους δράση έναντι των διάφορων μορφών καρκίνου.

## ABSTRACT

In this diploma thesis several Lactate Dehydrogenase A inhibitors of the cancer cell, were studied, so as the pharmaceutical compounds that will contribute to the inhibition of the cancer cell to be found.

Initially, all the LDH-A structures from the Protein Data Bank (PDB) database, were found and the structure with the best resolution was selected, in order to be used in the study.

Then, a spatial chains' superposition of the selected structure was made and by this way the most representative chain in which the majority of LDH-A ligands had been linked, was found. Except from this first part, the diploma thesis includes three more parts.

In the first part, the ligands that existed in the LDH-A structures, were studied. More specifically, a docking of LDH-A ligands in the selected LDH-A binding site, via Autodock Vina, was made, so as the interaction sites between ligand and protein to be found.

In the second part, a set of compounds - LDH-A inhibitors from the BindingDB database, was used. In this part, the same methodology with the first part was followed, so as the methodology and software reliability, which were used, to be confirmed.

In the third part, three different groups of candidate drugs, in which anticancer compounds, cancer compounds and natural products were respectively included, were used. The methodology that was used in order the compounds which act suppressively to be found, was the same with the one of the two first parts.

All the compounds from the third part of docking that gave solution, will be used as possible targets against cancer cells. At this point, it has to be mentioned that, imaging visibility diagrams of the binding site – for all the compounds of the three docking parts that gave solution in the LDH-A binding site – via the program LIGPLOT, were made and the crucial LDH-A amino residues that take part in the interactions between LDH-A and compounds (ligands / inhibitors), were found.

Finally, as far as the compounds from the third part of docking are concerned, bibliographical data from PUBCHEM database which were related to their therapeutic action against several forms of cancer, were found.



## 2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ



**PDB ID:1I10**

### 2.1 ΓΑΛΑΚΤΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ

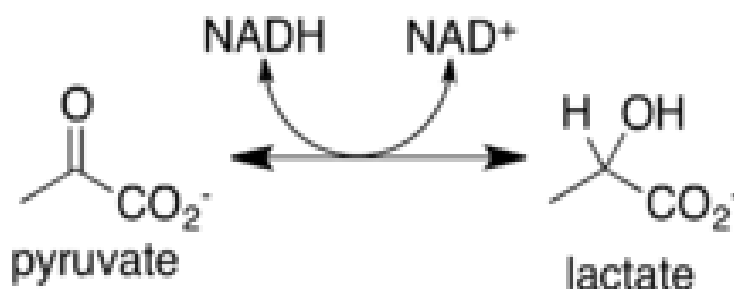
Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH), είναι το κυτταροπλασματικό ένζυμο που καταλύει την αντιστρεπτή μετατροπή του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό στον κύκλο της γλυκόλυσης. Συγκεκριμένα, καταλύει την αφαίρεση ενός υδρογόνου από το L-στερεοϊσομερές του γαλακτικού οξέος, το οποίο οξειδώνεται σε πυροσταφυλικό οξύ. Η ανθρώπινη γαλακτική αφυδρογονάση, η οποία και χρησιμοποιείται στην παρούσα διπλωματική, υπάρχει σε πολλούς ιστούς, σε διαφορετικές όμως συγκεντρώσεις. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις γαλακτικής αφυδρογονάσης, εντοπίζονται στο μυοκάρδιο, στους νεφρούς, στο ήπαρ και στους σκελετικούς μύες, ενώ μικρότερες συγκεντρώσεις εντοπίζονται, στα ερυθρά αιμοσφαίρια, στο πάγκρεας, στον εγκέφαλο και στους πνεύμονες. Η γαλακτική αφυδρογονάση απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης βλαβών στους παραπάνω ιστούς, αποτελώντας ένα

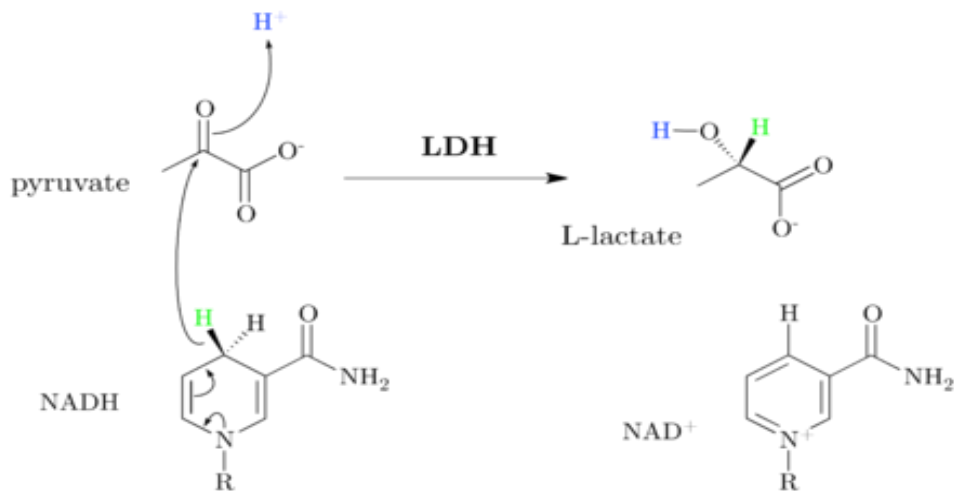
δείκτη της πρόκλησης διάφορων κοινών τραυματισμών και ασθενειών, όπως η καρδιακή ανεπάρκεια.

## 2.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ

Η γαλακτική αφυδρογονάση, καταλύει τη μετατροπή του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό και αντίστροφα. Η μετατροπή αυτή συνοδεύεται από αντίστοιχη μετατροπή του NADH σε NAD<sup>+</sup>. Η μετατροπή του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό γίνεται κυρίως σε συνθήκες μη επαρκούς οξυγόνωσης του κυττάρου, ενώ η μετατροπή του γαλακτικού σε πυροσταφυλικό πραγματοποιείται κυρίως στο ήπαρ. Η μεγαλύτερη ποσότητα του παραγόμενου, στο ήπαρ, πυροσταφυλικού εισέρχεται στα μιτοχόνδρια του κυττάρου, μετατρέπεται, με την καταλυτική δράση της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης (PDH), σε ακέτυλο-CoA και εισέρχεται στον κύκλο του Krebs, όπου και μεταβολίζεται προς παραγωγή CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O και ενέργειας. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι το κρίσιμο αμινοξικό κατάλοιπο της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης, για την αντιστρεπτή μετατροπή του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό είναι η HIS 192, καθώς λειτουργεί σαν αποδέκτης πρωτονίων. Το ίδιο συμβαίνει και στις γαλακτικές αφυδρογονάσες των περισσότερων οργανισμών, γεγονός που αποδεικνύει την ύπαρξη μία συγκλίνουσας εξέλιξης της LDH στους διάφορους οργανισμούς.

Στις παρακάτω εικόνες, παρουσιάζεται η αντιστρεπτή μετατροπή του πυροσταφυλικού σε γαλακτικό με τη δράση της LDH.





## 2.3 ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ

Η γαλακτική αφυδρογονάση, αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες. Οι δύο πιο συνηθισμένες από αυτές, είναι η M και η H. Η υπομονάδα M, είναι γνωστή και ως LDH-A, επειδή κωδικοποιείται από το γονίδιο LDH-A και είναι η υπομονάδα της LDH που χρησιμοποιείται στην παρούσα διπλωματική μελέτη. Η υπομονάδα H, είναι γνωστή και ως LDH-B, επειδή κωδικοποιείται από το γονίδιο LDH-B. Οι δύο αυτές υπομονάδες, σχηματίζουν 5 ισοένζυμα τα οποία είναι τα ακόλουθα:

- 1) LDH-1 (4H): Υπάρχει στην καρδιά, στα ερυθρά αιμοσφαίρια και στον εγκέφαλο
- 2) LDH-2 (3H1M): Υπάρχει στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα
- 3) LDH-3 (2H2M): Υπάρχει στους πνεύμονες
- 4) LDH-4 (1H3M): Υπάρχει στους νεφρούς, στον πλακούντα και στο πάγκρεας
- 5) LDH-5 (4M): Υπάρχει στο ήπαρ

Το ισοένζυμο LDH-2, είναι η κυρίαρχη μορφή γαλακτικής αφυδρογονάσης στον ορό. Υψηλότερη συγκέντρωση του ισοενζύμου LDH-1 σε σχέση με το LDH-2, υποδηλώνει έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Εκτός από τις υπομονάδες M και H, υπάρχουν δύο ακόμη υπομονάδες οι οποίες είναι γνωστές ως LDH-C και LDH-Bx αντίστοιχα. Η LDH-C, είναι μία γαλακτική αφυδρογονάση που υπάρχει στους όρχεις και κωδικοποιείται από το γονίδιο LDH-C. Η LDH-Bx, είναι μία ειδική για το υπεροξειδωμά γαλακτική αφυδρογονάση. Δημιουργείται με μετάφραση του mRNA της LDH-B, με τη διαφορά ότι το κωδικόνιο λήξης θεωρείται κωδικόνιο που κωδικοποιεί αμινοξύ. Επομένως, η μετάφραση σταματά στο επόμενο κωδικόνιο λήξης. Έτσι, η LDH-Bx έχει 7 αμινοξέα περισσότερα από την LDH-B.

## **2.4 ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ**

Η ανθρώπινη γαλακτική αφυδρογονάση, εμπλέκεται σε μία πληθώρα παθολογικών καταστάσεων. Γενικά, αύξηση στις τιμές της γαλακτικής αφυδρογονάσης παρατηρείται σε περιπτώσεις αλκοολισμού, αναιμίας, ανοξίας, εγκαυμάτων, καρκίνου, καρδιακής ανεπάρκειας, κίρρωσης, αρρυθμίας, πνευμονοπάθειας κ.ά. Τα φάρμακα που χορηγούνται για τη μείωση των τιμών της LDH, είναι διάφορα αναισθητικά και αναλγητικά.

Στις παρακάτω υποενότητες της συγκεκριμένης ενότητας, παρουσιάζονται κάποιες βασικές παθολογικές καταστάσεις στις οποίες εμπλέκεται η γαλακτική αφυδρογονάση.

### **2.4.1 ΚΑΡΚΙΝΟΣ**

Η LDH, εμπλέκεται στην έναρξη και στο μεταβολισμό του όγκου. Τα καρκινικά κύτταρα, βασίζονται στην αυξημένη γλυκόλυση, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων γαλακτικού οξέος ακόμη και κάτω από επαρκείς συνθήκες οξυγόνου. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως επίδραση Warburg, καθώς ο Warburg ήταν ο πρώτος που παρατήρησε, το 1923, αύξηση της αναερόβιας γλυκόλυσης στους όγκους. Η γλυκόλυση αυτή καταλύεται από την A ισομορφή της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH-A). Ο μηχανισμός της αναερόβιας γλυκόλυσης επιτρέπει στα νεοπλασματικά κύτταρα να μετατρέπουν τα αποθέματα γλυκόζης σε γαλακτικό, ανεξάρτητα από τη διαθεσιμότητα οξυγόνου, προωθώντας, μ' αυτόν τον τρόπο, την επιταχυνόμενη κυτταρική ανάπτυξη και αναπαραγωγή. Για το λόγο αυτό, η δυνατότητα αναστολής της δράσης της LDH-A, είναι ένας πολλά υποσχόμενος στόχος στη θεραπεία του καρκίνου, η οποία επικεντρώνεται στην παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων.

Η χημική αναστολή της δράσης της LDH-A, έχει οδηγήσει σε αξιοσημείωτες μεταβολές των μεταβολικών διεργασιών και της επιβίωσης των κυττάρων του καρκίνου. Ο πιο σημαντικός αναστολέας της LDH-A, είναι το οξαμικό (oxamate), το οποίο μειώνει σημαντικά την παραγωγή του ATP στα καρκινικά κύτταρα, αυξάνοντας παράλληλα τα επίπεδα των ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS). Οι ενεργές μορφές οξυγόνου, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, οδηγούν στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, ενεργοποιώντας τις κινάσες που καθοδηγούν τους αυξητικούς παράγοντες ανάπτυξης του κυτταρικού κύκλου, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις επάγουν οξειδωτικό stress και έτσι βλάπτουν το DNA.

Επίσης, τα δευτερογενή προϊόντα της οξείδωσης των λιπιδίων μπορούν να απενεργοποιήσουν την LDH, επηρεάζοντας την ικανότητά της να αναγεννά το NADH, διαταράσσοντας άμεσα την ικανότητα μετατροπής του γαλακτικού σε πυροσταφυλικό.

Τέλος, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει, ότι η δράση της LDH δεν είναι απαραίτητα ένας δείκτης κινδύνου μετάστασης. Όμως, η έκφραση της LDH, μπορεί να δράσει σαν ένας γενικός δείκτης της πρόγνωσης καρκίνων.

#### **2.4.2 ΑΙΜΟΛΥΣΗ**

Η LDH, συχνά χρησιμοποιείται ως ένας δείκτης διάσπασης των ιστών, καθώς υπάρχει στα ερυθρά αιμοσφαίρια, όπου και λειτουργεί ως δείκτης για την αιμόλυση. Ένα δείγμα αίματος το οποίο έχει αντιμετωπιστεί με εσφαλμένο τρόπο, μπορεί, λόγω βλάβης στα ερυθροκύτταρα, να εμφανίσει ψευδώς θετικές τιμές LDH.

Ακόμη, η LDH, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης εμφράγματος του μυοκαρδίου, καθώς, σε τέτοια περίπτωση, τα επίπεδα LDH φθάνουν στην κορύφωσή τους σε 3-4 ημέρες, παραμένοντας αυξημένα για 10 περίπου ημέρες.

#### **2.4.3 ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΤΙΔΑ**

Υψηλά επίπεδα LDH στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, συσχετίζονται συχνά με την πρόκληση βακτηριακής μηνιγγίτιδας. Σε περιπτώσεις ιογενούς μηνιγγίτιδας, η υψηλή συγκέντρωση LDH υποδεικνύει την παρουσία εγκεφαλίτιδας.



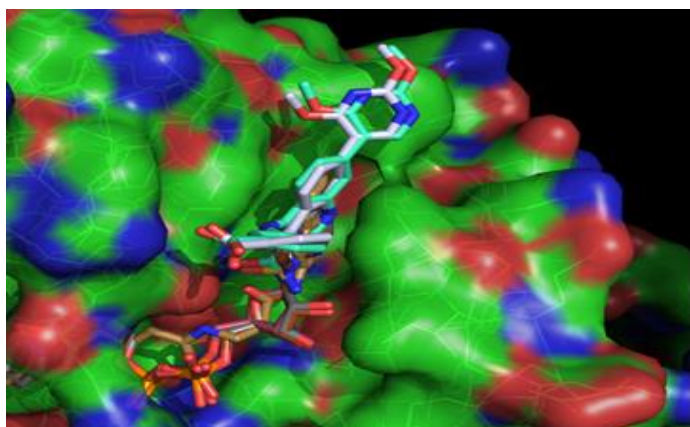
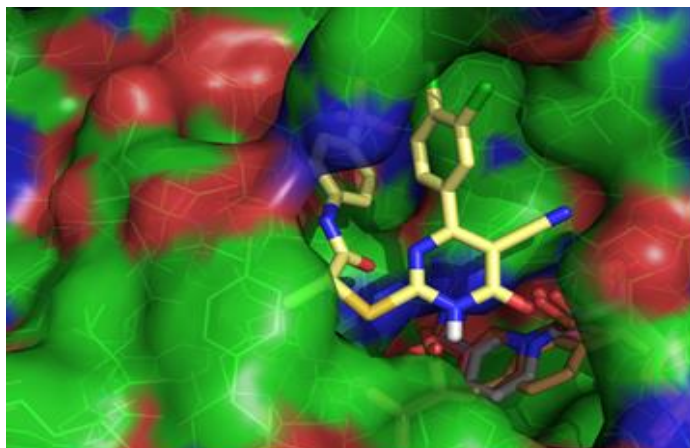
#### 2.4.4 HIV

Η LDH, μετράται συχνά σε ασθενείς με HIV, ως ένας μη ειδικός δείκτης της εμφάνισης πνευμονίας οφειλόμενης στον HIV.

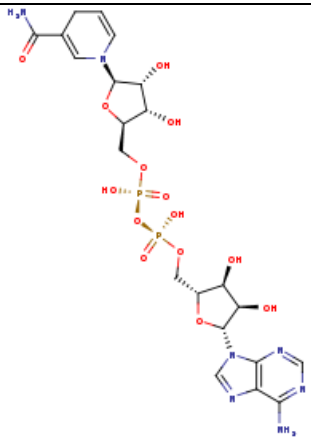
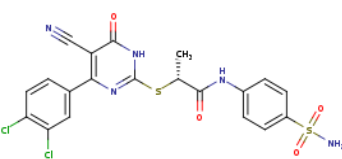
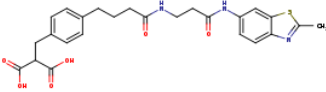
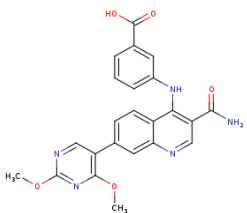
### 2.5 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ Α

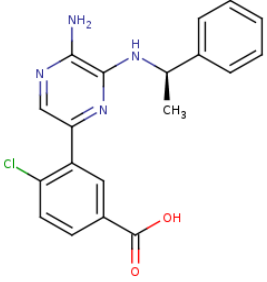
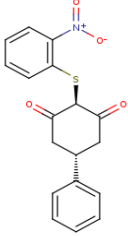
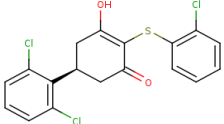
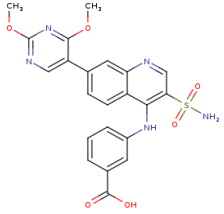
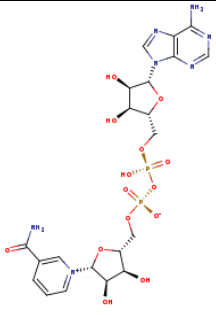
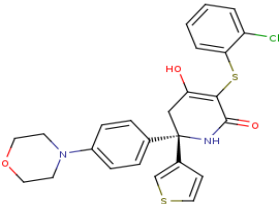
Στη χημεία, το υπόστρωμα είναι μία ένωση η οποία παρατηρείται στις διάφορες χημικές αντιδράσεις και ο ρόλος της είναι να αντιδρά με το αντιδραστήριο για την παραγωγή ενός προϊόντος. Στη βιοχημεία, ως υπόστρωμα ενός ενζύμου καλείται το υλικό πάνω στο οποίο δρα το ένζυμο.

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, με βάση τη βάση δεδομένων Protein Data Bank, βρέθηκαν όλες οι δομές της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης Α. Οι συγκεκριμένες δομές διαθέτουν δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος, τα οποία παρουσιάζονται στις ακόλουθες εικόνες:



Στον ακόλουθο πίνακα, παρουσιάζονται τα βασικά στοιχεία των υποστρωμάτων που βρέθηκαν σ' αυτές τις δομές και ήταν τοποθετημένα στα δύο παραπάνω κέντρα πρόσδεσης.

| A.A. | ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ   | PDBID ΔΟΜΗΣ/ΩΝ  | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  |
|------|---|---|---|
| 1    | NAI<br><br>(1,4DIHYDRONICOTINAMIDE<br>ADENINE DINUCLEOTIDE)   | 4JNK,1I10,4L4S,4M49,<br>4OKN,4QO7,4QO8,4R68,<br>4R69,4RLS |    |
| 2    | ZHK<br><br>((2R)-2-{{5-cyano-4-(3,4-dichlorophenyl)-<br>6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-<br>yl}sulfanyl}-N-(4-<br>sulfamoylphenyl)propanamide) | 4JNK  |  |
| 3    | 88N<br><br>({4-[4-({3-[(2-METHYL-1,3-<br>BENZOTHAZOL-6-YL)AMINO]-3-<br>OXOPROPYL}AMINO)-4-<br>OXOBUTYL]BENZYL}PROPANEDIOIC<br>ACID)         | 4AJP  |  |
| 4    | 38Q<br><br>(3-{{3-carbamoyl-7-(2,4-<br>dimethoxypyrimidin-5-yl)quinolin-4-<br>yl}amino}benzoic acid)  | 4QT0  |  |

|    |   |           |   |
|----|---|-----------|---|
| 5  | <p>22Y</p> <p>(3-(5-amino-6-{{(1R)-1-phenylethyl}amino}pyrazin-2-yl)-4-chlorobenzoic acid)</p>  | 4M49      |    |
| 6  | <p>36V</p> <p>(trans-2-[(2-nitrophenyl)sulfanyl]-5-phenylcyclohexane-1,3-dione)</p>   | 4QO7      |    |
| 7  | <p>36U</p> <p>((5S)-2-[(2-chlorophenyl)sulfanyl]-5-(2,6-dichlorophenyl)-3-hydroxycyclohex-2-en-1-one)</p>                             | 4QO8      |    |
| 8  | <p>38K</p> <p>(3-{{[7-(2,4-dimethoxypyrimidin-5-yl)-3-sulfamoylquinolin-4-yl]amino}benzoic acid)</p>                                  | 4QSM      |  |
| 9  | <p>NAD</p> <p>(NICOTINAMIDE-ADENINE-DINUCLEOTIDE)</p>   | 5IXY,4ZVV |  |
| 10 | <p>GN2</p> <p>((2~{S})-5-(2-chlorophenyl)sulfanyl-2-(4-morpholin-4-ylphenyl)-4-oxidanyl-2-thiophen-3-yl-1,3-dihydropyridin-6-one)</p> | 5IXY      |  |

|    |  |      |  |
|----|--|------|--|
| 11 | W31<br><br>((1S)-1-phenylethyl (4-chloro-3-[[[(4S)-4-(2,6-dichlorophenyl)-2-hydroxy-6-oxocyclohex-1-en-1-yl]sulfonyl}phenyl]acetate) | 4R68 |  |
| 12 | W13<br><br>((5R)-2-[(2-chlorophenyl)sulfonyl]-5-[2,6-dichloro-3-(tetrahydro-2H-pyran-4-ylamino)phenyl]-3-hydroxycyclohex-2-en-1-one) | 4R69 |  |
| 13 | GN0<br><br>((2~{R})-5-(2-chlorophenyl)sulfonyl-2-(4-morpholin-4-ylphenyl)-4-oxidanyl-2-thiophen-3-yl-1,3-dihydropyridin-6-one)       | 4ZVV |  |
| 14 | TXD<br><br>(1,4,5,6-TETRAHYDRONICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE)   | 5IXS |  |
| 15 | 6EY<br><br>((6R)-3-[(2-chlorophenyl)sulfonyl]-4-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-6-(thiophen-3-yl)-5,6-dihydropyridin-2(1H)-one)          | 5IXS |  |

## 2.6 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής μελέτης, είναι ο εντοπισμός επιλεκτικών αναστολέων της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης Α του καρκινικού κυττάρου, με στόχο την αναστολή της λειτουργίας του.

## 3. ΥΛΙΚΑ – ΜΕΘΟΔΟΙ

### 3.1 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΕΣ

#### 3.1.1 ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ (RATIONAL DRUG DESIGN)

Ο ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων ή απλά ο σχεδιασμός φαρμάκων, είναι μία εφευρετική διαδικασία για την εξεύρεση νέων φαρμάκων με βάση τη γνώση μίας βιολογικής ένωσης – στόχου. Το φάρμακο συνήθως είναι ένα μικρό οργανικό μόριο, του οποίου ο ρόλος είναι η ενεργοποίηση ή η αναστολή της λειτουργίας ενός μορίου, όπως μίας πρωτεΐνης, οδηγώντας έτσι σ' ένα θεραπευτικό όφελος για τον ασθενή. Κατά κύριο λόγο, ο σχεδιασμός φαρμάκων περιλαμβάνει το σχεδιασμό μορίων τα οποία είναι συμπληρωματικά ως προς το σχήμα και το φορτίο της ένωσης - στόχου με την οποία αλληλεπιδρούν. Ο σχεδιασμός φαρμάκων, συχνά στηρίζεται σε τεχνικές μοντελοποίησης που γίνονται *in silico* (στον υπολογιστή). Ακόμη, ο σχεδιασμός φαρμάκων που βασίζεται στη γνώση της τρισδιάστατης δομής του στόχου, είναι γνωστός ως σχεδιασμός φαρμάκων με βάση τη δομή του στόχου.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι ο όρος σχεδιασμός φαρμάκου δεν είναι απόλυτα ακριβής. Ένας πιο ακριβής όρος είναι ο σχεδιασμός συνδέτη-δεσμευτή (ligand), σχεδιασμός δηλαδή ενός μορίου που θα συνδέεται συνέχεια στο στόχο του. Αν και πολλές τεχνικές μοντελοποίησης που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη της συγγένειας δέσμευσης είναι επιτυχημένες, υπάρχουν και άλλες ιδιότητες όπως η βιοδιαθεσιμότητα και η μη εμφάνιση παρενεργειών, οι οποίες θα πρέπει να βελτιστοποιούνται πριν ένας δεσμευτής χρησιμοποιηθεί σαν ασφαλές και αποτελεσματικό φάρμακο. Αυτές οι ιδιότητες συχνά είναι δύσκολο να προβλεφθούν σε τεχνικές σχεδιασμού φαρμάκων που εφαρμόζονται στον υπολογιστή. Παρ' όλα αυτά, κατά τη διάρκεια της κλινικής φάσης ανάπτυξης των φαρμάκων, η προσοχή εστιάζεται στην επιλογή των υποψήφιων φαρμάκων των οποίων οι φυσικοχημικές ιδιότητες αναμένεται να οδηγήσουν σε λιγότερες επιπλοκές κατά τη φάση της ανάπτυξης και κατά συνέπεια αυξάνονται οι πιθανότητες να προκύψει ένα εγκεκριμένο φάρμακο το οποίο θα μπορεί να διατεθεί στην αγορά.



### 3.1.2 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΣΤΟΧΟΥ

Ο σχεδιασμός φαρμάκων με βάση τη δομή του στόχου, στηρίζεται στη γνώση της τρισδιάστατης δομής του στόχου, που λαμβάνεται μέσω μεθόδων όπως η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ και η φασματοσκοπία NMR. Χρησιμοποιώντας τη δομή του στόχου, μπορούν να συνδυαστούν υποψήφια φάρμακα τα οποία προβλέπεται να προσδεθούν στο στόχο με υψηλή συγγένεια και μεγάλη εκλεκτικότητα.

Οι μέθοδοι που υπάρχουν για το σχεδιασμό φαρμάκων με βάση τη δομή του στόχου, μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες.

- 1) Η πρώτη μέθοδος, η οποία και εφαρμόστηκε στην παρούσα διπλωματική μελέτη, είναι ο προσδιορισμός των νέων μορίων – δεσμευτών για έναν δεδομένο υποδοχέα. Γίνεται αναζήτηση σε μεγάλες βάσεις δεδομένων των 3D δομών των μικρών μορίων, έτσι ώστε να βρεθούν εκείνα τα οποία θα μπορέσουν να τοποθετηθούν στο κέντρο πρόσδεσης του υποδοχέα (binding site) με τη χρήση, ταχείας προσέγγισης, προγραμμάτων σύνδεσης. Η μέθοδος αυτή είναι γνωστή ως εικονική διαλογή (virtual screening).
- 2) Η δεύτερη μέθοδος, είναι ο de novo σχεδιασμός των μορίων-δεσμευτών. Στη μέθοδο αυτή, οι δεσμευτές δημιουργούνται με βάση τους περιορισμούς του κέντρου πρόσδεσης, με τη συναρμολόγηση μικρών κομματιών σταδιακά. Αυτά τα κομμάτια μπορεί να είναι, είτε μεμονωμένα άτομα είτε μοριακά θραύσματα. Το βασικό πλεονέκτημα της εν λόγω μεθόδου, είναι ότι μπορούν να προταθούν νέες δομές οι οποίες πιθανόν να μην υπάρχουν σε κάποια βάση δεδομένων.
- 3) Η τρίτη μέθοδος, είναι η βελτιστοποίηση των γνωστών δεσμευτών, αξιολογώντας τα ανάλογα που προτείνονται με βάση το κέντρο πρόσδεσης.

Αξίζει να αναφερθούν κάποια εργαλεία που χρειάζονται για το σχεδιασμό φαρμάκων με βάση τη δομή του στόχου. Αυτά είναι τα εξής:

- 1) Πολύ καλή στερεοδομική και ηλεκτρονική συμπληρωματικότητα μεταξύ υποστρώματος και στόχου.
- 2) Κάλυψη ενός μεγάλου μέρους της υδρόφοβης επιφάνειας του υποστρώματος.
- 3) Μείωση των ελεύθερων στερεοδομικών παραμέτρων (π.χ. απλοί δεσμοί με διέδρες γωνίες περιστροφής), ώστε με την πρόσδεση των φαρμάκων στο στόχο να είναι ελάχιστη η μεταβολή της εντροπίας.

Τρία επιπλέον κριτήρια είναι σημαντικά στον κύκλο σχεδιασμού αναστολέων

- 4) Χημική σταθερότητα
- 5) Αρκετή διαλυτότητα στο νερό, ώστε να υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου της παρεμπόδισης και ο προσδιορισμός της δομής (κρυστάλλωση).
- 6) Ευκολία σύνθεσης, χωρίς χειριστικά κέντρα και ενώσεις που δεν μπορούν εύκολα να τροποποιηθούν.

### 3.1.3 ΕΛΛΙΜΕΝΙΣΜΟΣ (DOCKING)

Στον τομέα της μοριακής μοντελοποίησης το Docking είναι μία μέθοδος, η οποία προβλέπει τον προτιμώμενο προσανατολισμό ενός μορίου ως προς ένα άλλο όταν τα δύο αυτά μόρια συνδέονται μεταξύ τους προκειμένου να σχηματίσουν ένα σταθερό σύμπλοκο. Εν συνεχεία, η γνώση του κατάλληλου προσανατολισμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της αντοχής – δύναμης του συμπλόκου ή της συνάφειας των δύο μορίων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του εν λόγω συμπλόκου.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ συναφών βιολογικά μορίων, όπως οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων, υδατανθράκων και λιπιδίων, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη μεταγωγή του σήματος. Επιπλέον, ο σχετικός προσανατολισμός των δύο μορίων που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, μπορεί να επηρεάσει τον τύπο σήματος που παράγεται (παραδείγματος χάριν σήμα συναγωνισμού ή ανταγωνισμού).

Ο ελλιμενισμός, συνήθως χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη της κατεύθυνσης σύνδεσης ενός μικρού μορίου- υποψήφιου φαρμάκου- στον πρωτεϊνικό στόχο του, ώστε αυτή με τη σειρά της να οδηγήσει στην πρόβλεψη της συγγένειας και της δραστηρότητας του μικρού μορίου. Συνεπώς, ο ελλιμενισμός διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο σχεδιασμό φαρμάκων (ορθολογικό και συνδυαστικό). Λαμβάνοντας επίσης υπ' όψιν τη βιολογική και φαρμακευτική σημασία της μοριακής σύνδεσης (Docking), έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για τη βελτίωση των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψή της.

Υπάρχουν δύο προσεγγίσεις του ελλιμενισμού.

Η πρώτη, χρησιμοποιεί μία τεχνική ταιριάσματος η οποία περιγράφει την πρωτεΐνη και το δεσμευτή (ligand) σαν συμπληρωματικές επιφάνειες. Στη δεύτερη προσέγγιση, υπολογίζονται οι ενέργειες αλληλεπίδρασης του ζεύγους πρωτεΐνη – δεσμευτής. Τόσο η πρώτη όσο και η δεύτερη προσέγγιση έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα, αλλά και ορισμένους περιορισμούς.

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, χρησιμοποιήθηκε η δεύτερη προσέγγιση, η οποία είναι γνωστή και ως μοριακός ελλιμενισμός.

Πιο συγκεκριμένα, στην προσέγγιση του μοριακού ελλιμενισμού, η πρωτεΐνη και ο δεσμευτής διαχωρίζονται από κάποια φυσική απόσταση και ο δεσμευτής ενσωματώνεται στην ενεργό περιοχή της πρωτεΐνης – ενζύμου– μετά από ορισμένες κινήσεις στο χώρο διαμόρφωσης. Όπως είναι λογικό, κάθε κίνηση διαμόρφωσης της θέσης του δεσμευτή επάγει συνολικό ενεργειακό κόστος στο σύστημα. Επομένως, η συνολική ενέργεια του συστήματος υπολογίζεται μετά από κάθε κίνηση.

Το προφανές πλεονέκτημα του μοριακού ελλιμενισμού, είναι ότι τα μόρια - δεσμευτές έχουν μεγάλη ευελιξία και ενσωματώνονται εύκολα στην ενεργό περιοχή της πρωτεΐνης. Φυσικά η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα δαπανηρή, διότι περιλαμβάνει εξερεύνηση ενός μεγάλου ενεργειακού τοπίου. Διάφορες τεχνικές βάσει πλέγματος, μέθοδοι βελτιστοποίησης, καθώς επίσης και η αύξηση της ταχύτητας του υπολογιστή, έχουν κάνει το μοριακό ελλιμενισμό σύνδεσης περισσότερο ρεαλιστικό.

## **3.2 ΒΑΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

Στη διάρκεια της συλλογής των δεδομένων, χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες βάσεις δεδομένων:

### **3.2.1 PROTEIN DATA BANK**

Η Protein Data Bank (PDB) (A. Wlodawer et al., 2017), είναι μία κρυσταλλογραφική βάση δεδομένων που χρησιμοποιείται για την εύρεση των τρισδιάστατων δομικών στοιχείων μεγάλων βιολογικών μορίων όπως οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Τα δεδομένα αυτά έχουν ληφθεί με κρυσταλλογραφία ακτίνων X ή φασματοσκοπία NMR και έχουν καταγραφεί στη βάση δεδομένων από διάφορους ανά τον κόσμο βιολόγους.

Η PDB, αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο στον τομέα της δομικής βιολογίας, όπως είναι η δομική γονιδιωματική. Τα περισσότερα από τα μεγάλα επιστημονικά περιοδικά καθώς επίσης και αρκετοί φορείς χρηματοδότησης, επιβάλλουν, ουσιαστικά, στους επιστήμονες να υποβάλλουν τα δεδομένα τους, που σχετίζονται με τις δομές ενώσεων, στην PDB.

Στην PDB, υπάρχουν καταχωρημένες 133.759 δομές βιολογικών μορίων.

Στην παρούσα διπλωματική, η PDB χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή όλων των δομών της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A (human LDH-A).

### **3.2.2 BINDING DATABASE (BindingDB)**

Η Binding Database (Liu, T. Et al., 2007), είναι μία, ελεύθερα, προσβάσιμη βάση δεδομένων, που εστιάζει κυρίως στις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών, που θεωρούνται υποψήφιοι στόχοι φαρμάκων, με διάφορα μικρά μόρια – προσδέτες (ligands). Η συλλογή των δεδομένων έχει γίνει με διάφορες τεχνικές, όπως για παράδειγμα φασματοσκοπία NMR.

Στην BindingDB, υπάρχουν καταχωρημένα 1.391.403 δεδομένα δέσμευσης για 7.217 πρωτεΐνες – στόχους και για 621.056 μικρά μόρια.

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, η Binding database χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση αναστολέων της ανθρώπινης LDH-A.

### **3.2.3 ZINC DATABASE**

Η Zinc Database (Teague Sterling and John J. Irwin, 2015), είναι μία επιμελημένη συλλογή όλων των διαθέσιμων στο εμπόριο χημικών ενώσεων, οι οποίες παρασκευάζονται ειδικά για την τεχνική της εικονικής διαλογής. Η Zinc χρησιμοποιείται από φαρμακευτικές εταιρείες, από εταιρείες βιοτεχνολογίας, καθώς επίσης και από ερευνητικά πανεπιστήμια. Η Zinc είναι διαφορετική από τις άλλες χημικές βάσεις δεδομένων, διότι έχει ως στόχο την παρουσίαση των τρισδιάστατων δομών συναφών βιολογικά μορίων.

Στη ZINC, υπάρχουν καταχωρημένα 200.000.000 μόρια.

Στην παρούσα διπλωματική, η Zinc χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή των δομών των αναστολέων της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A, οι οποίοι βρέθηκαν από την Binding Database.

### 3.2.4 SELLECKCHEM

Πρόκειται για έναν διαδικτυακό ιστότοπο που λειτουργεί σαν βάση δεδομένων και περιλαμβάνει διάφορες ομάδες αναστολέων, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα έναντι διάφορων στόχων.

Στον ιστότοπο Selleckchem, υπάρχουν καταχωρημένοι περισσότεροι από 3.000 αναστολείς.

Στην παρούσα διπλωματική, ο ιστότοπος Selleckchem (Grasso CS et al.,2015) χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση τριών διαφορετικών ομάδων αναστολέων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν φάρμακα έναντι των καρκινικών κυττάρων. Αυτές ήταν οι αντικαρκινικές ενώσεις, οι καρκινικές ενώσεις και τα φυσικά προϊόντα.

### 3.2.4 PUBCHEM

Η PUBCHEM (Kim S et al.,2015), είναι μία βάση δεδομένων των χημικών μορίων και των επιδράσεών τους σε βιολογικές αναλύσεις. Η βάση δεδομένων συντηρείται από το εθνικό κέντρο για Βιοτεχνολογικές πληροφορίες (NCBI).Η PUBCHEM, ουσιαστικά, χωρίζεται σε τρεις βάσεις δεδομένων οι οποίες είναι οι εξής:

#### 1) ΕΝΩΣΕΙΣ

Περιλαμβάνει 92,10 εκατομμύρια καταχωρήσεις ενώσεων. Πρόκειται για καθαρές και χαρακτηρισμένες χημικές ενώσεις.

#### 2) ΟΥΣΙΕΣ

Περιλαμβάνει 230,50 εκατομμύρια καταχωρήσεις ουσιών. Εδώ περιέχονται χαρακτηρισμένες ουσίες, μίγματα ουσιών, εκχυλίσματα, σύμπλοκα, καθώς επίσης και άλλες ουσίες οι οποίες δεν έχουν ακόμα χαρακτηριστεί.

#### 3) ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Περιλαμβάνει 1,30 εκατομμύρια βιολογικές αναλύσεις που έχουν γίνει με βάση τεχνικές προγραμμάτων διαλογής.



Στην παρούσα διπλωματική, η PUBCHEM χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση βιβλιογραφικών δεδομένων για τις ενώσεις που συλλέχθηκαν από τον ιστότοπο Selleckchem και έδωσαν, μετά από ελλιμενισμό επάνω στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της πρωτεΐνης.

### **3.3 ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ**

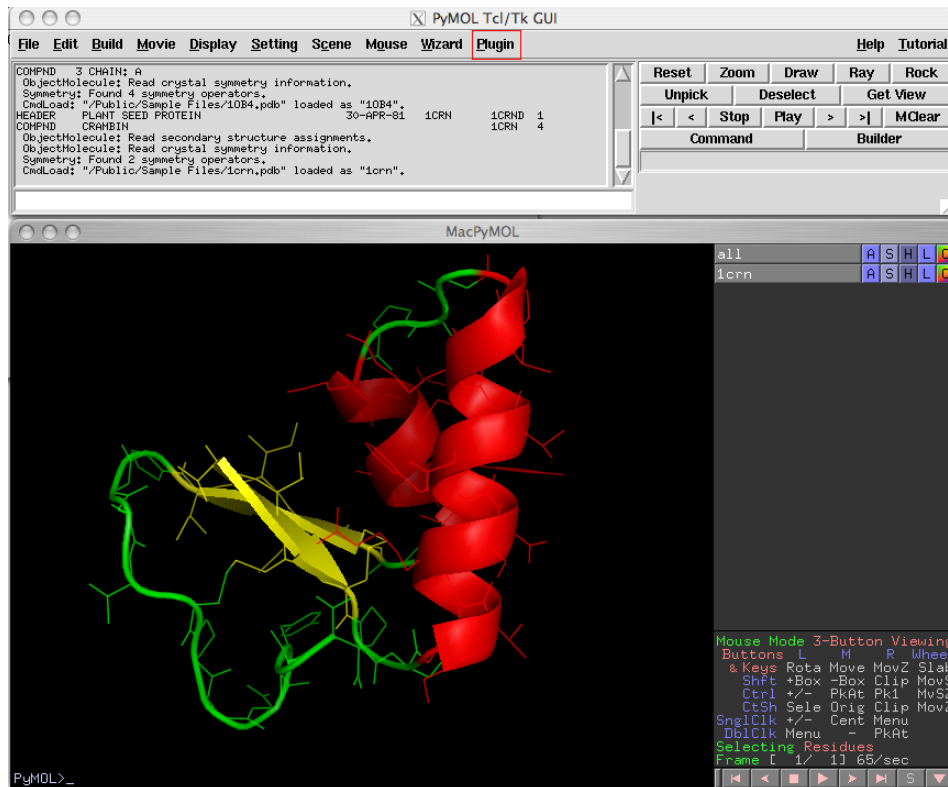
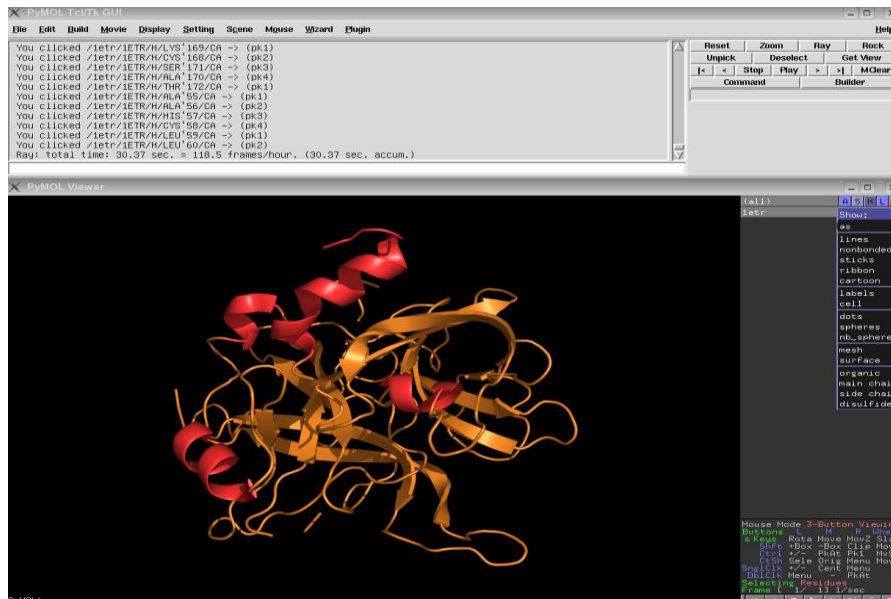
Στη διάρκεια της επεξεργασίας των δεδομένων για την εξεύρεση αποτελεσμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα προγράμματα:

#### **3.3.1 PyMOL VIEWER**

Το PyMOL (Ban F. et al.,2017),είναι ένα μοριακό σύστημα απεικόνισης που δημιουργήθηκε από τον Warren Lyford DeLano. Πρόκειται για ένα πρόγραμμα το οποίο μπορεί να παράγει υψηλής ποιότητας 3D εικόνες μικρών μορίων και βιολογικών μακρομορίων, όπως είναι οι πρωτεΐνες. Σύμφωνα με πληροφορίες, το 25% όλων των δημοσιευμένων στη βιβλιογραφία εικόνων 3D δομών πρωτεϊνών, έγινε με τη χρήση του PyMOL.Το PyMOL είναι ένα από τα λίγα εργαλεία οπτικοποίησης ανοικτού κώδικα, το οποίο είναι διαθέσιμο για χρήση στη δομική βιολογία. Το τμήμα Py του ονόματος του λογισμικού, αναφέρεται στο γεγονός ότι το πρόγραμμα προέρχεται από τη γλώσσα προγραμματισμού Python.

Στην παρούσα διπλωματική, το PyMOL χρησιμοποιήθηκε τόσο για την οπτική απεικόνιση των τρισδιάστατων δομών των διάφορων δεσμευτών (υποστρωμάτων ή αναστολέων) και της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A, η οποία ήταν η πρωτεΐνη μας, όσο και για την ενσωμάτωση των δεσμευτών στα κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της πρωτεΐνης.

Παρακάτω, παρατίθενται δύο εικόνες του προγράμματος.



### 3.3.2 AUTODOCK

Το Autodock (O.Trott et al., 2010) είναι ένα λογισμικό μοριακής προσομοίωσης, το οποίο είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό για τη σύνδεση του συμπλόκου δεσμευτής – πρωτεΐνη. Είναι ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα λογισμικά στην

ερευνητική κοινότητα. Σύμφωνα με πληροφορίες, περισσότερες από 1.200 δημοσιεύσεις στη βιβλιογραφία έχουν χρησιμοποιήσει το Autodock. Σήμερα, συντηρείται από το ερευνητικό ινστιτούτο Scripps και το εργαστήριο Olson.

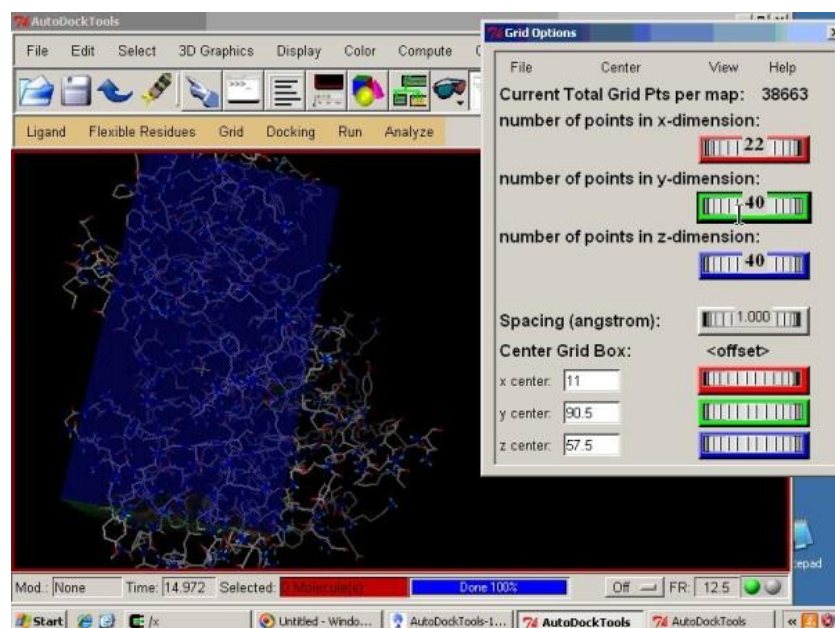
Το Autodock αποτελείται από δύο κύρια προγράμματα:

- 1) Το Autodock, για τη σύνδεση του δεσμευτή με την πρωτεΐνη-στόχο του σ' ένα πλέγμα (GRID) συγκεκριμένων διαστάσεων.
- 2) Το AutoGRID, για τον υπολογισμό των διαστάσεων του πλέγματος.

Το Autodock έχει μία βελτιωμένη έκδοση, το Autodock Vina. Η χρήση του Autodock, έχει συμβάλει στην ανακάλυψη αρκετών φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων του HIV1.

Στην παρούσα έρευνα, το Autodock Vina χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή των ενεργειών συγγένειας του συμπλόκου πρωτεΐνη-δεσμευτής. Επίσης, με τη βοήθεια του rpn Autodock, έγινε ο υπολογισμός των διαστάσεων του πλέγματος στο οποίο τοποθετήθηκε το σύμπλοκο και αποθηκεύτηκαν τόσο η πρωτεΐνη όσο και ο δεσμευτής σε αρχεία μορφής pdbqt, που αναγνωρίζει το Autodock Vina.

Παρακάτω, παρατίθεται εικόνα του rpn Autodock.

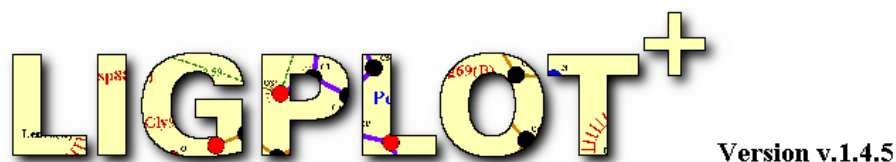


### 3.3.3 LIGPLOT

Το LIGPLOT (Wallace A C et al.,1996) είναι ένα υπολογιστικό πρόγραμμα βιοπληροφορικής, το οποίο δίνει διαγράμματα απεικόνισης για διάφορα σύμπλοκα πρωτεϊνών – προσδετών. Δέχεται σαν είσοδο ένα αρχείο pdb με τις δομές των μελών του συμπλόκου και δίνει σαν έξοδο το διάγραμμα απεικόνισης, στο οποίο παρουσιάζονται τόσο τα αμινοξικά κατάλοιπα της πρωτεΐνης που αλληλεπιδρούν με τον προσδέτη, όσο και ο τρόπος της αλληλεπίδρασης (υδρόφοβη αλληλεπίδραση, υδρογονικός δεσμός).

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, το LIGPLOT χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή των διαγραμμάτων απεικόνισης των συμπλόκων LDH-A-προσδέτης, στις περιπτώσεις που ο προσδέτης (υπόστρωμα ή αναστολέας), έδωσε, μετά από ελλειμενισμό επάνω στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της πρωτεΐνης.

Παρακάτω παρατίθεται, σε εικόνα, η αρχική σελίδα του LIGPLOT.



**LigPlot+ is a front-end for running and editing LIGPLOT and DIMPLOT schematic diagrams**

To start, use File->Open and select PDB file. For full instructions, go to Help->Manual.

### 3.3.4 PISA

Το PISA (E. Krissinel and K. Henrick, 2007) είναι ένα διαδικτυακό εργαλείο, το οποίο χρησιμοποιείται για την εύρεση τόσο των αμινοξικών καταλοίπων μίας πρωτεΐνης τα οποία αλληλεπιδρούν, σ' ένα σύμπλοκο πρωτεΐνης – προσδέτη, με τον προσδέτη, όσο και για την εύρεση του τρόπου της αλληλεπίδρασης (ομοιοπολικός δεσμός, υδρογονικός δεσμός, υδρόφοβη αλληλεπίδραση). Δέχεται σαν είσοδο ένα αρχείο pdb με τις δομές των μελών του συμπλόκου και δίνει σαν έξοδο έναν πίνακα μ' όλα τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα.

Στην παρούσα διπλωματική, το PISA χρησιμοποιήθηκε, προκειμένου τα αποτελέσματά του για τα διάφορα σύμπλοκα, LDH-A-προσδέτης -στις περιπτώσεις που ο προσδέτης (υπόστρωμα ή αναστολέας), έδωσε, μετά από ελλειμισμό επάνω στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της πρωτεΐνης- να συγκριθούν με τα αντίστοιχα αποτελέσματα του LIGPLOT. Φυσικά, η σύγκριση μπορεί να γίνει μόνο όσον αφορά στα αλληλεπιδρώντα κατάλοιπα, διότι το PISA δεν δίνει διαγράμματα απεικόνισης.

Παρακάτω παρατίθεται, σε εικόνα, η αρχική σελίδα του PISA.

Protein Data Bank  
in Europe  
Bringing Structure to Biology

PDBePISA

◦ PISA links

- Disclaimer
- Tips
- Visualisation
- Privacy
- Linking to PISA
- Data download
- Version log
- Publications
- PISA tutorial

◦ Other links

- PDBeFold
- CCP4
- CoordLib
- Rasmol
- Rastop
- Jmol
- Worldwide Protein Data Bank

**PDBePISA (Proteins, Interfaces, Structures and Assemblies)**

Launch PDBePISA

PDBePISA is an interactive tool for the exploration of macromolecular interfaces.

With PDBePISA, you can:

- Retrieve pre-calculated results for the whole PDB archive.
- Calculate results interactively for structures uploaded as PDB or mmCIF files

These calculated results include:

- structural and chemical properties of macromolecular surfaces and interfaces
- probable quaternary structures (assemblies), their structural and chemical properties and probable dissociation pattern

- search the PDB archive for particular interfaces formed by structural homologs.
- search the PISA database of pre-calculated results using a wide range of options, such as:
  - multimeric state,
  - symmetry number,
  - space group,
  - accessible/buried surface area,
  - free energy of dissociation,
  - presence/absence of salt bridges and disulphide bonds,
  - homomeric type,
  - ligands
  - keywords
- assess the significance (biological role) of macromolecular interfaces
- download and visualise structures, interfaces and assemblies using Rasmol (Unix/Linux platforms), Rastop (MS Windows machines) and Jmol (platform-independent server-side java viewer)

### 3.3.5 OPEN BABEL

Το Open Babel (O'Boyle et al.,2011) είναι ένα λογισμικό, το οποίο χρησιμοποιείται για τη μετατροπή των διάφορων αρχείων μοριακής μοντελοποίησης από μία μορφή σε μία άλλη.

Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, το Open Babel χρησιμοποιήθηκε για τη μετατροπή των pdb αρχείων, με τις δομές των διάφορων αναστολέων της LDH-A,σε pdbqt προκειμένου να τα αναγνωρίσει το Autodock Vina.

Παρακάτω, παρατίθεται εικόνα του Open Babel.

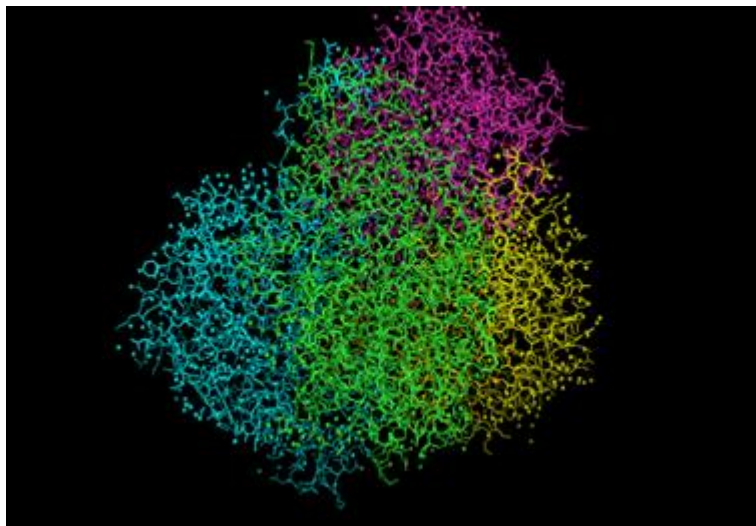


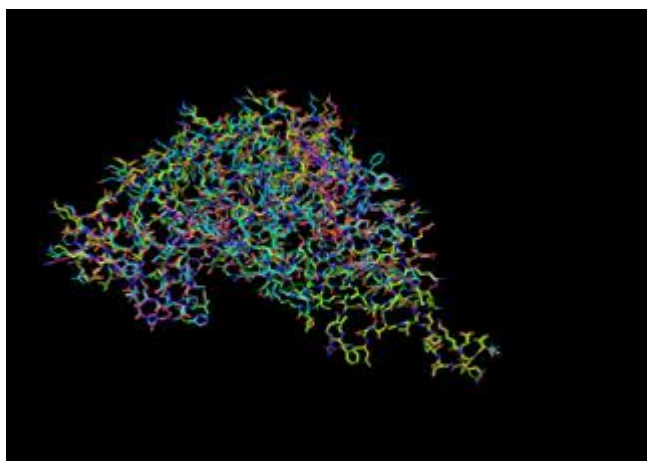
## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το ένζυμο το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως υποδοχέας υποστρωμάτων, ήταν η γαλακτική αφυδρογονάση A και συγκεκριμένα η γαλακτική αφυδρογονάση A του ανθρώπου (human LDH-A). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για να βρεθεί η δομή της που χρησιμοποιήθηκε στη διπλωματική μελέτη είναι η εξής:

Αρχικά, από τη βάση δεδομένων Protein Data Bank, βρέθηκαν όλες οι δομές της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A.

Στη συνέχεια, σε καθεμία από τις δομές πραγματοποιήθηκε, με τη βοήθεια του PyMOL, υπέρθεση των αλυσίδων και προέκυψε έτσι μία αλυσίδα από κάθε δομή, η οποία ήταν εκείνη πάνω στην οποία ήταν προσδεδεμένα τα περισσότερα αντιπροσωπευτικά υποστρώματα (ligands). Παρακάτω, παρατίθενται δύο εικόνες που είναι αντιπροσωπευτικές για τη διαδικασία της υπέρθεσης. Στην πρώτη εικόνα, παρουσιάζεται η αρχική δομή 4JNK με όλες τις αλυσίδες της και στη δεύτερη, παρουσιάζεται η δομή με ευθυγραμμισμένες τις αλυσίδες της.





Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται όλες οι δομές της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A, όπως προέκυψαν από την PDB, οι αντιπροσωπευτικές αλυσίδες που προέκυψαν από κάθε δομή και τα διαφορετικά υποστρώματα (με έντονο χρώμα) τα οποία ήταν προσδεδεμένα στα δύο κέντρα πρόσδεσης που υπήρχαν σ' όλες τις δομές.

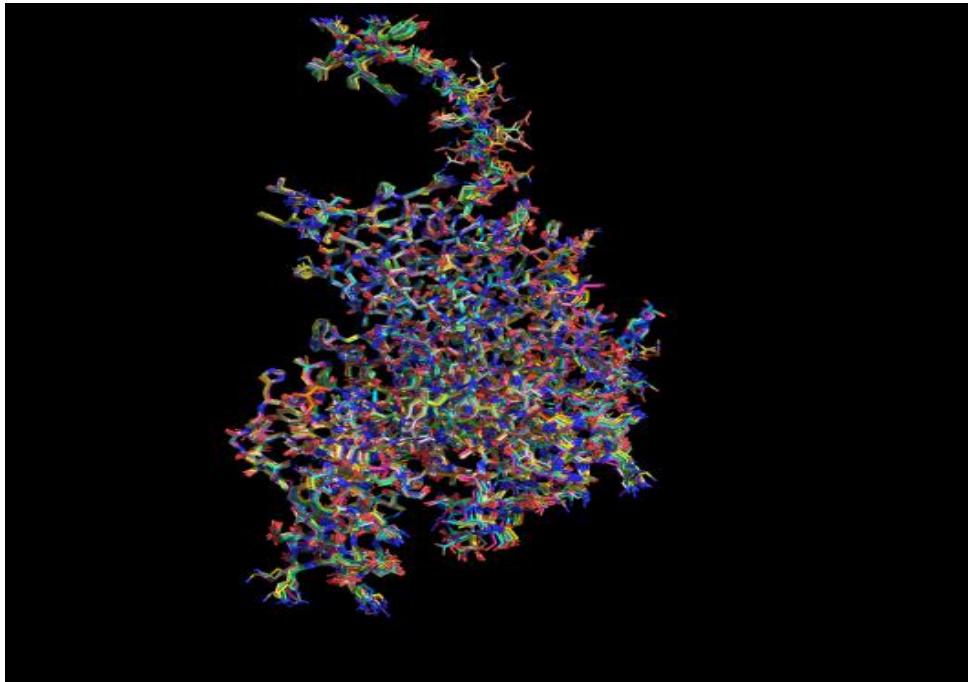
| A.A. | PDBID | ΤΙΤΛΟΣ ΔΟΜΗΣ   | ΔΙΑΚΡΙΤΙΚΟΤΗΤΑ | ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΛΥΣΙΔΩΝ | ΑΛΥΣΙΔΑ | ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ/ΤΑ       |
|------|-------|--|----------------|------------------|---------|--------------------|
| 1    | 5IXS  | Lactate Dehydrogenase in complex with hydroxylactam inhibitor compound 9: (6R)-3-[(2-chlorophenyl)sulfanyl]-4-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-6-(thiophen-3-yl)-5,6-dihydropyridin-2(1H)-one     | 2,05           | 4                | D       | <b>TXD,NAI,6EY</b> |
| 2    | 5IXY  | Lactate Dehydrogenase in complex with hydroxylactam inhibitor compound 31: (2~{S})-5-(2-chlorophenyl)sulfanyl-2-(4-morpholin-4-ylphenyl)-4-oxidanyl-2-thiophen-3-yl-1,3-dihydropyridin-6-one | 3,00           | 4                | A       | <b>NAD,GN2</b>     |
| 3    | 4ZVV  | Lactate dehydrogenase A in complex with a trisubstituted piperidine-2,4-dione inhibitor GNE-140  | 2,20           | 4                | A       | <b>NAD,GN0</b>     |



|    |      |  |      |   |   |            |
|----|------|--|------|---|---|------------|
| 4  | 4R68 | Lactate Dehydrogenase in complex with inhibitor compound 31  | 2,11 | 4 | A | NAI,W31    |
| 5  | 4R69 | Lactate Dehydrogenase in complex with inhibitor compound 13  | 3,19 | 4 | A | NAI,W13    |
| 6  | 4QJN | Crystal structure of human muscle L-lactate dehydrogenase  | 2,40 | 8 | D | -          |
| 7  | 4OKN | Crystal structure of human muscle L-lactate dehydrogenase, ternary complex with NADH and oxalate   | 2,10 | 8 | A | NAI        |
| 8  | 4QSM | Crystal structure of human muscle L-lactate dehydrogenase in complex with inhibitor 2, 3-{[7-(2,4-dimethoxypyrimidin-5-yl)-3-sulfamoylquinolin-4-yl]amino}benzoic acid | 3,00 | 8 | A | <b>38K</b> |
| 9  | 4QT0 | Crystal structure of human muscle L-lactate dehydrogenase in complex with inhibitor 1, 3-{[3-CARBAMOYL-7-(2,4-DIMETHOXYPYRIMIDIN-5-YL)QUINOLIN-4-YL]AMINO}BENZOIC ACID | 3,20 | 8 | A | <b>38Q</b> |
| 10 | 4RLS | Lactate Dehydrogenase in complex with inhibitor compound 47  | 1,91 | 4 | A | NAI        |
| 11 | 4QO7 | Lactate Dehydrogenase A in complex with substituted 3-Hydroxy-2-mercaptocyclohex-2-enone compound 7  | 2,14 | 4 | A | NAI,36V    |
| 12 | 4QO8 | Lactate Dehydrogenase A in complex with substituted 3-Hydroxy-2-mercaptocyclohex-2-enone compound 104  | 2,00 | 4 | A | NAI,36U    |
| 13 | 4L4R | Structural Characterisation of the Apo-form of Human Lactate Dehydrogenase M Isozyme   | 2,10 | 2 | A | -          |
| 14 | 4L4S | Structural characterisation of the NADH binary complex of human lactate dehydrogenase M isozyme  | 2,90 | 2 | A | NAI        |
| 15 | 4M49 | Lactate Dehydrogenase A in complex   | 2,05 | 4 | A | NAI,22Y    |

|    |      |   |      |   |   |         |
|----|------|---|------|---|---|---------|
|    |      | with a substituted pyrazine inhibitor compound 18   |      |   |   |         |
| 16 | 4JNK | Lactate Dehydrogenase A in complex with inhibitor compound 22   | 1,90 | 4 | A | NAI,ZHK |
| 17 | 4AJP | Human LDHA in complex with 2-((4-(4-((3-((2-methyl-1,3-benzothiazol-6-yl)amino)-3-oxopropyl)amino)-4-oxobutyl)phenyl)methyl)propanedioic acid | 2,38 | 4 | C | 88N     |
| 18 | 1I10 | HUMAN MUSCLE L-LACTATE DEHYDROGENASE M CHAIN, TERNARY COMPLEX WITH NADH AND OXAMATE   | 2,30 | 8 | A | NAI     |

Τέλος, πραγματοποιήθηκε, πάλι με τη χρήση του PyMOL, υπέρθεση όλων των δομών μεταξύ τους και επιλέχθηκε η δομή με την καλύτερη ατομική διακριτικότητα, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στη μελέτη. Στην παρακάτω εικόνα, παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της υπέρθεσης όλων των δομών.



Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, η δομή με την καλύτερη ατομική διακριτικότητα είναι η δομή 4JNK.Επομένως, η δομή που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη ήταν η 4JNK και συγκεκριμένα η αλυσίδα A της 4JNK.

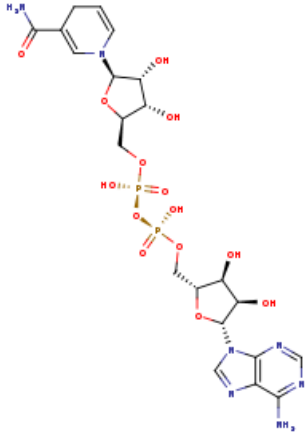
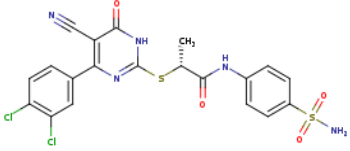
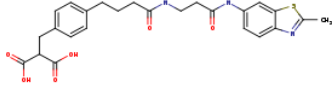
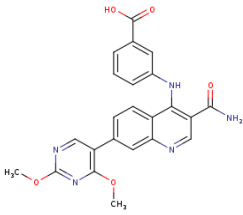
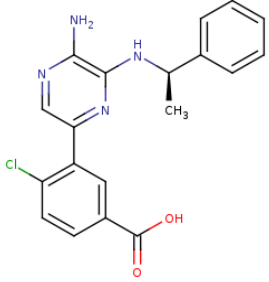
Η δομή 4JNK\_A, παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα σε cartoon μορφή.



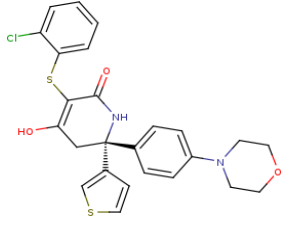
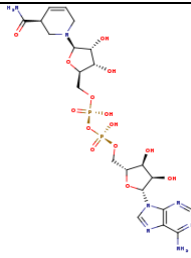
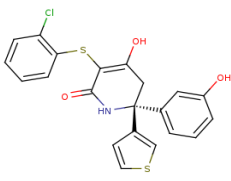
#### 4.1 ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ LDH-A

Σ' αυτό το μέρος ελλιμενισμού, πραγματοποιήθηκε ελλιμενισμός όλων των υποστρωμάτων που ήταν προσδεδεμένα στις δομές της ανθρώπινης LDH-A, στα κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της πρωτεΐνης, προκειμένου να ταυτοποιηθούν οι εν λόγω περιοχές του ενζύμου.

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται όλα τα υποστρώματα καθώς και οι στερεοδομές τους.

| A.A. | ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ  | PDBID ΔΟΜΗΣ/ΩΝ   | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  |
|------|--|--|---|
| 1    | <p style="text-align: center;">NAI</p> <p style="text-align: center;">(1,4DIHYDRONICOTINAMIDE<br/>ADENINE DINUCLEOTIDE)</p>  | <p>4JNK,1I10,4L4S,4M49,<br/>4OKN,4QO7,4QO8,4R68,<br/>4R69,4RLS</p> |    |
| 2    | <p style="text-align: center;">ZHK</p> <p style="text-align: center;">((2R)-2-[5-cyano-4-(3,4-dichlorophenyl)-<br/>6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-<br/>yl]sulfanyl)-N-(4-<br/>sulfamoylphenyl)propanamide)</p> | <p style="text-align: center;">4JNK</p>                            |    |
| 3    | <p style="text-align: center;">88N</p> <p style="text-align: center;">({4-[4-({3-[(2-METHYL-1,3-<br/>BENZOTHAZOL-6-YL)AMINO]-3-<br/>OXOPROPYL}AMINO)-4-<br/>OXOBUTYL]BENZYL}PROPANEDIOIC<br/>ACID)</p>       | <p style="text-align: center;">4AJP</p>                            |  |
| 4    | <p style="text-align: center;">38Q</p> <p style="text-align: center;">(3-{{3-carbamoyl-7-(2,4-<br/>dimethoxypyrimidin-5-yl)quinolin-4-<br/>yl]amino}benzoic acid)</p>  | <p style="text-align: center;">4QT0</p>                            |  |
| 5    | <p style="text-align: center;">22Y</p> <p style="text-align: center;">(3-(5-amino-6-{{(1R)-1-<br/>phenylethyl}amino}pyrazin-2-yl)-4-<br/>chlorobenzoic acid)</p>   | <p style="text-align: center;">4M49</p>                            |  |

|    |  |           |  |
|----|--|-----------|--|
| 6  | 36V<br>(trans-2-[(2-nitrophenyl)sulfanyl]-5-phenylcyclohexane-1,3-dione)   | 4QO7      |  |
| 7  | 36U<br>((5S)-2-[(2-chlorophenyl)sulfanyl]-5-(2,6-dichlorophenyl)-3-hydroxycyclohex-2-en-1-one)                                   | 4QO8      |  |
| 8  | 38K<br>(3-{[7-(2,4-dimethoxypyrimidin-5-yl)-3-sulfamoylquinolin-4-yl]amino}benzoic acid)   | 4QSM      |  |
| 9  | NAD<br>(NICOTINAMIDE-ADENINE-DINUCLEOTIDE)   | 5IXY,4ZVV |  |
| 10 | GN2<br>((2~{S})-5-(2-chlorophenyl)sulfanyl-2-(4-morpholin-4-ylphenyl)-4-oxidanyl-2-thiophen-3-yl-1,3-dihydropyridin-6-one)       | 5IXY      |  |
| 11 | W31<br>((1S)-1-phenylethyl (4-chloro-3-[[[(4S)-4-(2,6-dichlorophenyl)-2-hydroxy-6-oxocyclohex-1-en-1-yl]sulfanyl]phenyl]acetate) | 4R68      |  |
| 12 | W13<br>((5R)-2-[(2-chlorophenyl)sulfanyl]-5-[2,6-dichloro-3-(tetrahydro-2H-pyran-4-ylamino)phenyl]-3-hydroxycyclohex-2-en-       | 4R69      |  |

|    |  |      |  |
|----|--|------|--|
|    | 1-one)   |      |  |
| 13 | GN0<br><br>((2~{R})-5-(2-chlorophenyl)sulfanyl-2-(4-morpholin-4-ylphenyl)-4-oxidanyl-2-thiophen-3-yl-1,3-dihydropyridin-6-one) | 4ZVV |   |
| 14 | TXD<br><br>(1,4,5,6-TETRAHYDRONICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE)   | 5IXS |   |
| 15 | 6EY<br><br>((6R)-3-[(2-chlorophenyl)sulfanyl]-4-hydroxy-6-(3-hydroxyphenyl)-6-(thiophen-3-yl)-5,6-dihydropyridin-2(1H)-one)    | 5IXS |  |

Η διαδικασία του ελλιμενισμού, περιελάμβανε τα ακόλουθα βήματα:

|   |
|---|
| Εισαγωγή του υποστρώματος και της LDH-A στο PyMOL   |
| Εισαγωγή των αρχείων pdb του υποστρώματος και της LDH-A στο pmv Autodock  |
| Σχεδιασμός ορθογώνιου χώρου, μελέτης της αλληλεπίδρασης, με συγκεκριμένες διαστάσεις, τοποθετώντας το κέντρο του κουτιού στο αντίστοιχο κέντρο πρόσδεσης υποστρώματος της LDH-A   |
| Αποθήκευση τόσο του υποστρώματος, όσο και της LDH-A σαν αρχεία pdbqt  |
| Δημιουργία αρχείου conf, όπου αναφέρονται τα στοιχεία του υποδοχέα (LDH-A), του υποστρώματος (ligand), καθώς επίσης και οι διαστάσεις του κουτιού που χρησιμοποιήθηκε (center_x,center_y,center_z,size_x,size_y,size_z) |

|  |
|--|
| Εκτέλεση του προγράμματος vina   |
| Συλλογή αρχείου log με τις διαφορετικές λύσεις                                       |
| Εισαγωγή όλων των λύσεων και της LDH-A, στο PyMOL και αποθήκευσή τους σαν αρχείο pse |
| Επιλογή και αποθήκευση της λύσης που έδωσε τη χαμηλότερη ενέργεια αλληλεπίδρασης     |

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται τα υποστρώματα τα οποία έδωσαν λύση, που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, οι ενέργειες των λύσεων αυτών, καθώς επίσης και τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για το κάθε υπόστρωμα.

| A.A. | ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ | ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΛΥΣΗΣ | ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/mol) | ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ LIGPLOT |
|------|-----------|-------------------------|---------------------|--------------------|
| 1    | ΝΑΙ       | 2                       | -8,5                |                    |

|   |     |    |      |  |
|---|-----|----|------|--|
| 2 | ZHK | 7  | -6,9 |  |
| 3 | 88N | 2  | -7,6 |  |
| 4 | 38Q | 12 | -6,6 |  |
| 5 | 38K | 5  | -6,7 |  |



|   |     |   |      |  |
|---|-----|---|------|--|
| 6 | NAD | 1 | -8,9 |  |
| 7 | TXD | 8 | -8,2 |  |

Στα διαγράμματα του LIGPLOT, το πράσινο χρώμα στο όνομα ενός αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι το εν λόγω κατάλοιπο συμμετέχει σε υδρογονικό δεσμό, ενώ το κόκκινο ημικύκλιο γύρω από το όνομα του αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι συμμετέχει σε υδρόφοβη αλληλεπίδραση.

Για τα υποστρώματα, καταγράφηκαν τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A τόσο με βάση το LIGPLOT, όσο και με βάση το PISA. Παρακάτω, παρατίθεται ο πίνακας αποτελεσμάτων με τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A σε κάθε υπόστρωμα.

| A.A. | ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ | LIGPLOT<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΪΠΑ) | PISA<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΪΠΑ) | ΚΟΙΝΑ<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΪΠΑ)  | LIGPLOT<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ PISA | PISA ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>LIGPLOT |
|------|-----------|-------------------------------------|----------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| 1    | ZHK       | 15                                  | 22                               | ALA 97, ARG 98,<br>ARG 105, LEU 108,<br>ASN 137, PRO 138,<br>ASP 140, ILE 141,<br>GLU 191, HIS 192,<br>ASP 194, ALA 237,<br>TYR 238, ILE 241,<br>LEU 322<br><br>(15)   | 0                           | 7                           |
| 2    | NAI       | 20                                  | 34                               | GLY 28, ALA 29,<br>VAL 30, ASP 51,<br>VAL 52, ILE 53,<br>THR 94, ALA 95,<br>GLY 96, ALA 97,<br>ARG 98, ILE 115,<br>ILE 119, VAL 135,<br>SER 136, ASN 137,<br>LEU 164, HIS 192,<br>THR 247, ILE 251<br><br>(20) | 0                           | 14                          |
| 3    | 38Q       | 9                                   | 16                               | GLY 26, ASP 51,<br>VAL 52, ALA 95,<br>GLY 96, ARG 111,<br>ASN 114, ILE 115,<br>PHE 118<br><br>(9)  | 0                           | 7                           |
| 4    | 38K       | 9                                   | 15                               | GLY 26, ASP 51,<br>VAL 52, ALA 95,<br>GLY 96, ARG 111,<br>ASN 114, ILE 115,<br>PHE 118<br><br>(9)  | 0                           | 6                           |
| 5    | 88N       | 19                                  | 29                               | GLY 26, GLY 28,<br>VAL 30, ASP 51,<br>VAL 52, THR 94,<br>ALA 95, GLY 96,<br>ILE 115, PHE 118,  | 2                           | 12                          |

|   |     |    |    |  |   |    |
|---|-----|----|----|--|---|----|
|   |     |    |    | ILE 119, VAL 135,<br>ASN 137, LEU 164,<br>ARG 168, HIS 192,<br>THR 247<br><br>(17)   |   |    |
| 6 | TXD | 18 | 34 | GLY 28, ALA 29,<br>VAL 30, ASP 51,<br>VAL 52, ILE 53,<br>ALA 95, GLY 96,<br>ARG 98, ILE 115,<br>ILE 119, VAL 135,<br>SER 136, ASN 137,<br>LEU 164, HIS 192,<br>THR 247, ILE 251<br><br>(18)                    | 0 | 16 |
| 7 | NAD | 20 | 34 | GLY 28, ALA 29,<br>VAL 30, ASP 51,<br>VAL 52, ILE 53,<br>THR 94, ALA 95,<br>GLY 96, ALA 97,<br>ARG 98, ILE 115,<br>ILE 119, VAL 135,<br>SER 136, ASN 137,<br>LEU 164, HIS 192,<br>THR 247, ILE 251<br><br>(20) | 0 | 14 |

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, προκύπτει ο ακόλουθος πίνακας, όπου αναφέρονται τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A –αμινοξικά κατάλοιπα που συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με πολλά υποστρώματα–, με βάση το LIGPLOT και το PISA.

| A.A. | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ<br>(LIGPLOT) | ΑΡΙΘΜΟΣ<br>ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ<br>ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΤΟ<br>ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ<br>ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ<br>ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ<br>(LIGPLOT) | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ<br>(PISA) | ΑΡΙΘΜΟΣ<br>ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΣΤΑ<br>ΟΠΟΙΑ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ<br>ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ<br>ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ<br>(PISA) |
|------|-------------------------------------|---|----------------------------------|---|
| 1    | ASP 51                              | 6/8   | ASP 51                           | 6/8   |
| 2    | VAL 52                              | 6/8   | VAL 52                           | 6/8   |
| 3    | ALA 95                              | 6/8   | ALA 95                           | 6/8   |
| 4    | GLY 96                              | 6/8   | GLY 96                           | 6/8   |
| 5    | ILE 115                             | 6/8   | ILE 115                          | 6/8   |
| 6    | ASN 137                             | 5/8   | ASN 137                          | 5/8   |
| 7    | HIS 192                             | 5/8   | HIS 192                          | 5/8   |
| 8    | GLY 28                              | 4/8   | GLY 28                           | 5/8   |
| 9    | VAL 30                              | 4/8   | VAL 30                           | 4/8   |
| 10   | ARG 98                              | 4/8   | ARG 98                           | 5/8   |
| 11   | ILE 119                             | 4/8   | ILE 119                          | 6/8   |
| 12   | VAL 135                             | 4/8   | VAL 135                          | 4/8   |
| 13   | LEU 164                             | 4/8   | LEU 164                          | 4/8   |
| 14   | THR 247                             | 4/8   | THR 247                          | 4/8   |
| 15   | GLY 26                              | 3/8   | GLY 26                           | 6/8   |
| 16   | ALA 29                              | 3/8   | ALA 29                           | 4/8   |
| 17   | ILE 53                              | 3/8   | ILE 53                           | 6/8   |
| 18   | THR 94                              | 3/8   | THR 94                           | 4/8   |
| 19   | ALA 97                              | 3/8   | ALA 97                           | 7/8   |
| 20   | PHE 118                             | 3/8   | PHE 118                          | 6/8   |
| 21   | SER 136                             | 3/8   | SER 136                          | 4/8   |

|    |         |     |         |     |
|----|---------|-----|---------|-----|
| 22 | ILE 251 | 3/8 | ILE 251 | 4/8 |
| 23 | ARG 111 | 2/8 | ARG 111 | 2/8 |
| 24 | ASN 114 | 2/8 | ASN 114 | 2/8 |
| 25 | ASP 140 | 2/8 | ASP 140 | 1/8 |
| 26 | ARG 105 | 1/8 | ARG 105 | 1/8 |
| 27 | LEU 108 | 1/8 | LEU 108 | 1/8 |
| 28 | PRO 138 | 1/8 | PRO 138 | 1/8 |
| 29 | ILE 141 | 1/8 | ILE 141 | 1/8 |
| 30 | TRP 147 | 1/8 | TRP 147 | 1/8 |
| 31 | GLY 151 | 1/8 | GLY 151 | 1/8 |
| 32 | PHE 152 | 1/8 | PHE 152 | 1/8 |
| 33 | PRO 153 | 1/8 | PRO 153 | 1/8 |
| 34 | LYS 154 | 1/8 | LYS 154 | 1/8 |
| 35 | ASP 165 | 1/8 | -       | -   |
| 36 | ARG 168 | 1/8 | ARG 168 | 4/8 |
| 37 | GLU 191 | 1/8 | GLU 191 | 1/8 |
| 38 | ASP 194 | 1/8 | ASP 194 | 1/8 |
| 39 | ALA 237 | 1/8 | ALA 237 | 2/8 |
| 40 | TYR 238 | 1/8 | TYR 238 | 1/8 |
| 41 | ILE 241 | 1/8 | ILE 241 | 2/8 |
| 42 | LEU 322 | 1/8 | LEU 322 | 1/8 |
| -  | -       | -   | VAL 25  | 6/8 |
| -  | -       | -   | TYR 82  | 6/8 |
| -  | -       | -   | VAL 50  | 5/8 |
| -  | -       | -   | GLY 31  | 4/8 |
| -  | -       | -   | VAL 139 | 4/8 |
| -  | -       | -   | VAL 27  | 3/8 |

|   |   |   |         |     |
|---|---|---|---------|-----|
| - | - | - | LYS 56  | 3/8 |
| - | - | - | ASN 112 | 3/8 |
| - | - | - | SER 160 | 3/8 |
| - | - | - | GLY 161 | 3/8 |
| - | - | - | TYR 246 | 3/8 |
| - | - | - | SER 104 | 1/8 |
| - | - | - | VAL 109 | 1/8 |
| - | - | - | LYS 117 | 1/8 |
| - | - | - | GLY 193 | 1/8 |
| - | - | - | SER 195 | 1/8 |
| - | - | - | VAL 234 | 1/8 |
| - | - | - | MET 275 | 1/8 |
|   |   |   | ILE 325 | 1/8 |

## 4.2 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ LDH-A

Σ' αυτό το μέρος ελλιμενισμού, συλλέχθηκε από τη βάση δεδομένων Binding database, ένα σύνολο από αναστολείς της ανθρώπινης LDH-A και πραγματοποιήθηκε ελλιμενισμός όλων των αναστολέων στη δομή της LDH-A, προκειμένου να βρεθούν οι αναστολείς οι οποίοι δίνουν λύση που βρίσκεται σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος του ενζύμου και έτσι να προσδιοριστούν οι αλληλεπιδράσεις του ενζύμου. Για την εύρεση των αρχείων με τις δομές των αναστολέων (sdf αρχεία), χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων ZINC.

Η διαδικασία του ελλιμενισμού, περιελάμβανε τα ακόλουθα βήματα:

|   |
|---|
| Εισαγωγή του αναστολέα και της LDH-A στο PyMOL                        |
| Εισαγωγή των αρχείων pdb του αναστολέα και της LDH-A στο pmv Autodock |

Σχεδιασμός ορθογώνιου χώρου, μελέτης της αλληλεπίδρασης, με συγκεκριμένες διαστάσεις, τοποθετώντας το κέντρο του κουτιού στο αντίστοιχο κέντρο πρόσδεσης υποστρώματος της LDH-A

Αποθήκευση τόσο του αναστολέα, όσο και της LDH-A σαν αρχεία pdbqt

Δημιουργία αρχείου conf, όπου αναφέρονται τα στοιχεία του υποδοχέα (LDH-A), του αναστολέα (inhibitor), καθώς επίσης και οι διαστάσεις του κουτιού που χρησιμοποιήθηκε (center\_x,center\_y,center\_z,size\_x,size\_y,size\_z)

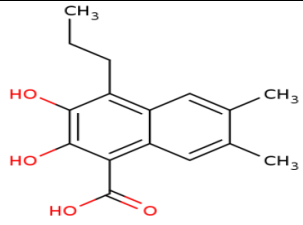
Εκτέλεση του προγράμματος vina

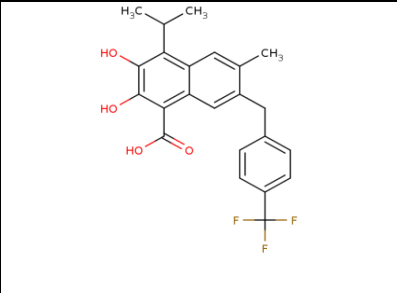
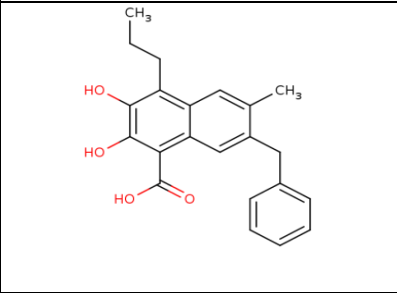
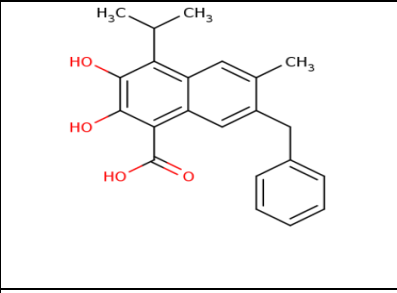
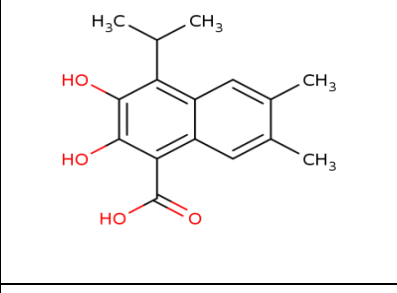
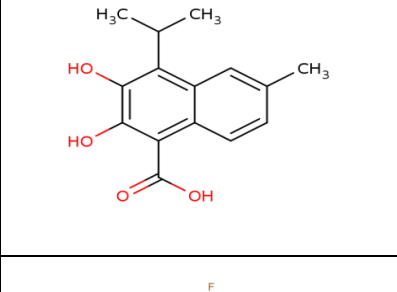
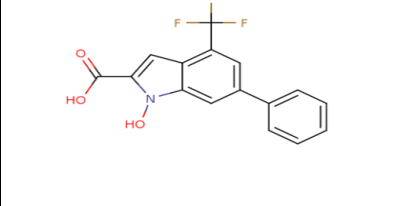
Συλλογή αρχείου log με τις διαφορετικές λύσεις

Εισαγωγή όλων των λύσεων και της LDH-A στο PyMOL και αποθήκευσή τους σαν αρχείο pse

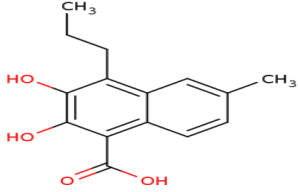
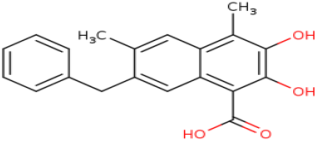
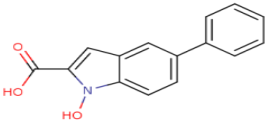
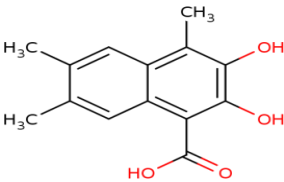
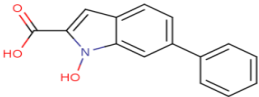
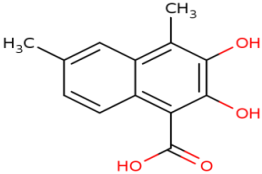
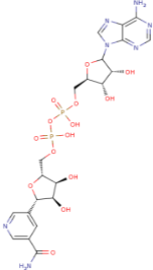
Επιλογή και αποθήκευση της λύσης που έδωσε τη χαμηλότερη ενέργεια αλληλεπίδρασης

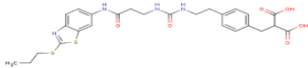
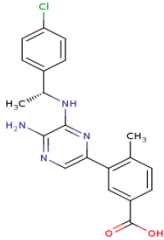
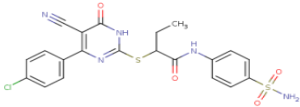
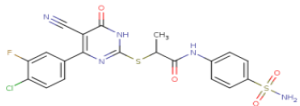
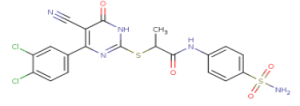
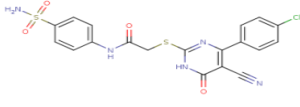
Από τους 117 αναστολείς που συλλέχθηκαν από την Binding database, οι 100 έδωσαν λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος της ανθρώπινης LDH-A. Στους παρακάτω πίνακες, παρουσιάζονται όλα τα βασικά στοιχεία των αναστολέων που έδωσαν, μετά από ελλιμενισμό, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της ανθρώπινης LDH-A. Επίσης, παρουσιάζονται τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για τον κάθε αναστολέα.

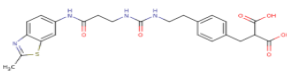
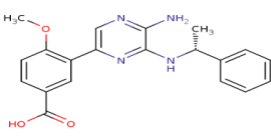
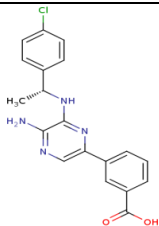
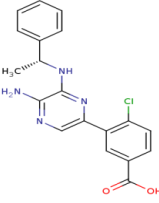
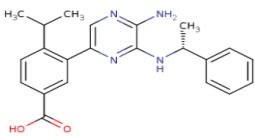
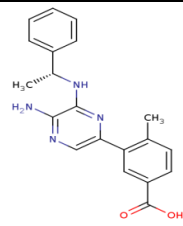
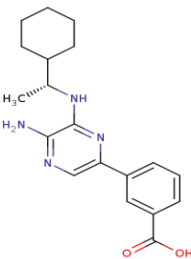
| A.A. | ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ  | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  | ΚΩΔΙΚΟΣ BINDING DATABASE | ΚΩΔΙΚΟΣ ZINC |
|------|---|---|--------------------------|--------------|
| 1    | 2,3-Dihydroxy-6,7-dimethyl-4-propyl-naphthalene-1-carboxylic acid |  | BDBM50066979             | 13435952     |

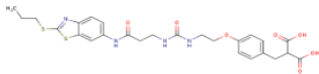
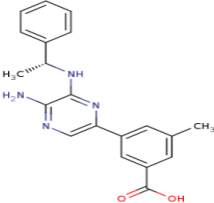
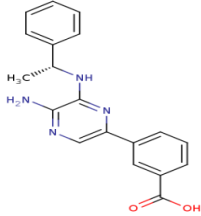
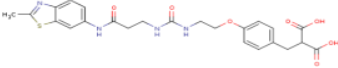
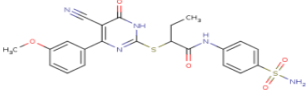
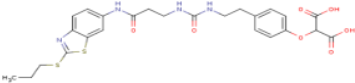
|   |  |   |              |          |
|---|--|---|--------------|----------|
| 2 | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6-methyl-7-(4-trifluoromethylbenzyl)-naphthalene-1-carboxylic acid |    | BDBM50066973 | 13435922 |
| 3 | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-6-methyl-4-propyl-naphthalene-1-carboxylic acid                       |    | BDBM50066974 | 13435956 |
| 4 | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-4-isopropyl-6-methyl-naphthalene-1-carboxylic acid                    |   | BDBM50066975 | 13435915 |
| 5 | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6,7-dimethyl-naphthalene-1-carboxylic acid                         |  | BDBM50066981 | 13435910 |
| 6 | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6-methyl-naphthalene-1-carboxylic acid                             |  | BDBM50031638 | 6522976  |
| 7 | 1-Hydroxy-6-phenyl-4-trifluoromethyl-1H-indole-2-carboxylic Acid                             |  | BDBM50339607 | 63796290 |



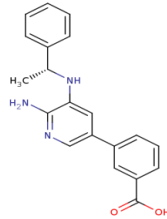
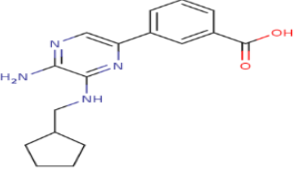
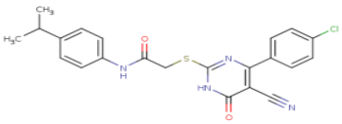
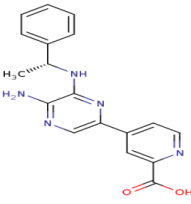
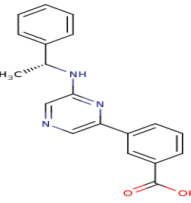
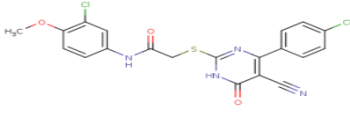
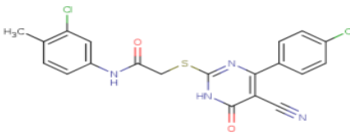
|    |   |   |                     |          |
|----|---|---|---------------------|----------|
| 8  | 2,3-Dihydroxy-6-methyl-4-propyl-naphthalene-1-carboxylic acid     |    | BDBM50066977        | 13781254 |
| 9  | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-4,6-dimethyl-naphthalene-1-carboxylic acid |    | BDBM50066976        | 13435948 |
| 10 | 1-Hydroxy-5-phenyl-1H-indole-2-carboxylic Acid                    |    | BDBM50339605        | 63796288 |
| 11 | 2,3-Dihydroxy-4,6,7-trimethyl-naphthalene-1-carboxylic acid       |   | BDBM50066980        | 13435945 |
| 12 | 1-Hydroxy-6-phenyl-1H-indole-2-carboxylic Acid                    |  | BDBM50339606        | 63796289 |
| 13 | 2,3-Dihydroxy-4,6-dimethyl-naphthalene-1-carboxylic acid          |  | BDBM50066978        | 13435942 |
| 14 | <b>CHEMBL610377</b>   |  | <b>BDBM50368954</b> | 49771855 |

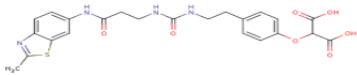
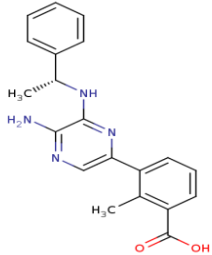
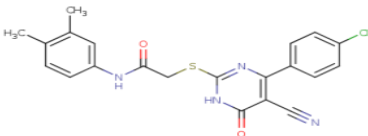
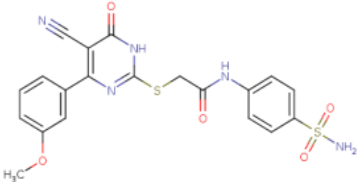
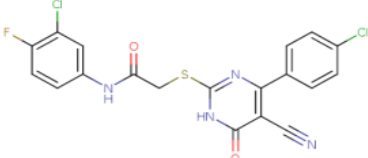
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 15 | LDHA Inhibitor, 31   |    | BDBM86135           | 84672208 |
| 16 | <b>CHEMBL2430727</b> |    | <b>BDBM50441138</b> | 96284832 |
| 17 | <b>CHEMBL2382404</b> |    | <b>BDBM50433840</b> | 96269982 |
| 18 | <b>CHEMBL2382403</b> |  | <b>BDBM50433841</b> | 96269984 |
| 19 | <b>CHEMBL2382402</b> |  | <b>BDBM50433842</b> | 96269986 |
| 20 | <b>CHEMBL2382337</b> |  | <b>BDBM50433836</b> | 31773899 |

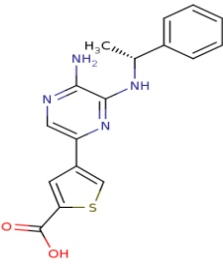
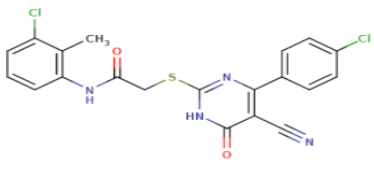
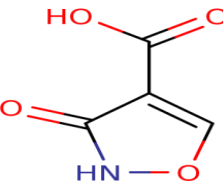
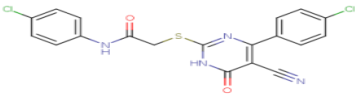
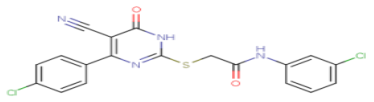
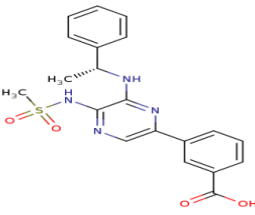
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 21 | LDHA Inhibitor, 29   |    | BDBM86133           | 84672206 |
| 22 | <b>CHEMBL2430734</b> |    | <b>BDBM50441118</b> | 96284812 |
| 23 | <b>CHEMBL2430713</b> |    | <b>BDBM50441115</b> | 96284810 |
| 24 | <b>CHEMBL2430735</b> |   | <b>BDBM50441117</b> | 95920567 |
| 25 | <b>CHEMBL2430733</b> |  | <b>BDBM50441119</b> | 96284813 |
| 26 | <b>CHEMBL2430732</b> |  | <b>BDBM50441120</b> | 96284814 |
| 27 | <b>CHEMBL2430716</b> |  | <b>BDBM50441113</b> | 96284808 |

|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 28 | LDHA Inhibitor, 27   |    | BDBM86131           | 84687868 |
| 29 | <b>CHEMBL2430731</b> |    | <b>BDBM50441121</b> | 96284815 |
| 30 | <b>CHEMBL2430737</b> |    | <b>BDBM50441132</b> | 96284826 |
| 31 | LDHA Inhibitor, 26   |  | BDBM86130           | 84687867 |
| 32 | <b>CHEMBL2382405</b> |  | <b>BDBM50433839</b> | 2758483  |
| 33 | LDHA Inhibitor, 32   |  | BDBM86136           | 84672209 |

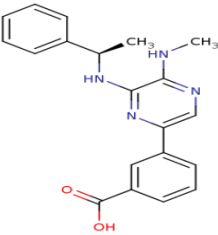
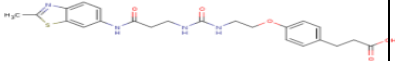
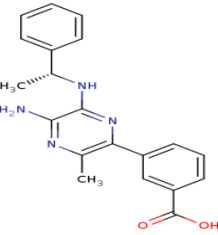
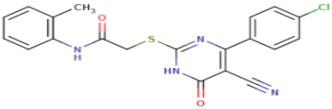
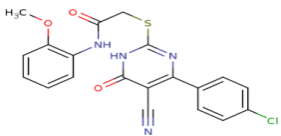
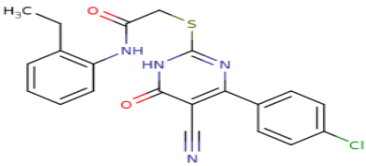
|    |   |  |                     |          |
|----|---|--|---------------------|----------|
| 34 | TDA1::4-hydroxy-1,2,5-thiadiazole-3-carboxylic acid |  | BDBM23251           | 6523896  |
| 35 | <b>CHEMBL2430744</b>                                |  | <b>BDBM50441126</b> | 96284820 |
| 36 | <b>CHEMBL2430736</b>                                |  | <b>BDBM50441116</b> | 96284811 |
| 37 | <b>CHEMBL2382400</b>                                |  | <b>BDBM50433845</b> | 2751141  |
| 38 | <b>CHEMBL2430743</b>                                |  | <b>BDBM50441127</b> | 96284821 |
| 39 | <b>CHEMBL2430745</b>                                |  | <b>BDBM50441125</b> | 96284819 |
| 40 | <b>CHEMBL2430730</b>                                |  | <b>BDBM50441122</b> | 96284816 |

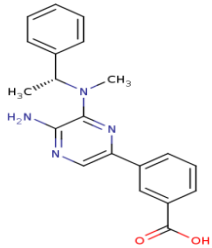
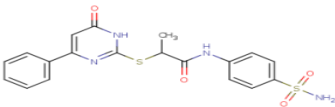
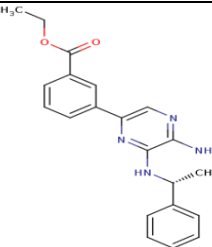
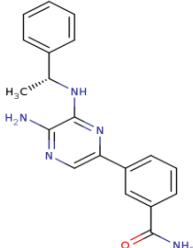
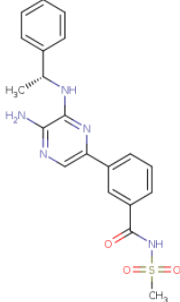
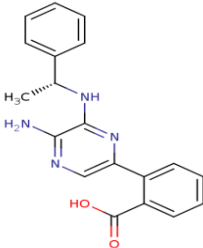
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 41 | <b>CHEMBL2430719</b> |    | <b>BDBM50441111</b> | 96284806 |
| 42 | <b>CHEMBL2430717</b> |    | <b>BDBM50441112</b> | 96284807 |
| 43 | <b>CHEMBL2382389</b> |    | <b>BDBM50433833</b> | 28616592 |
| 44 | <b>CHEMBL2430741</b> |   | <b>BDBM50441129</b> | 96284823 |
| 45 | <b>CHEMBL2430721</b> |  | <b>BDBM50441110</b> | 96284805 |
| 46 | <b>CHEMBL2382398</b> |  | <b>BDBM50433847</b> | 15859813 |
| 47 | <b>CHEMBL2382397</b> |  | <b>BDBM50433848</b> | 31773908 |

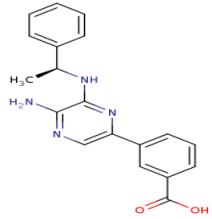
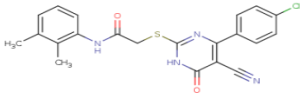
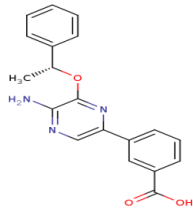
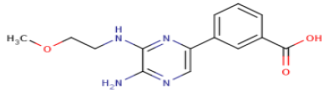
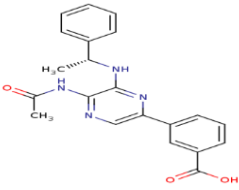
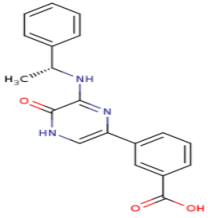
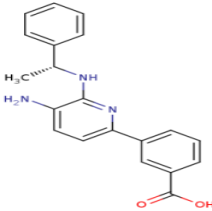
|    |  |   |                     |          |
|----|--|---|---------------------|----------|
| 48 | LDHA Inhibitor, 30   |    | BDBM86134           | 84672207 |
| 49 | <b>CHEMBL2430729</b>   |    | <b>BDBM50441123</b> | 96284817 |
| 50 | <b>CHEMBL2382399</b>   |    | <b>BDBM50433846</b> | 15859815 |
| 51 | 2-([5-cyano-4-(3-methoxyphenyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-yl]sulfanyl)-N-(4-sulfamoylphenyl)acetamide |  | BDBM11273           | 2995601  |
| 52 | <b>CHEMBL2382396</b>   |  | <b>BDBM50433849</b> | 15859812 |

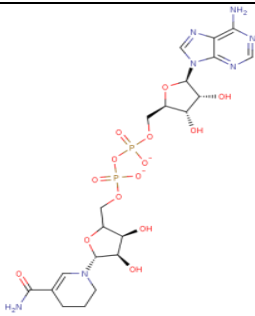
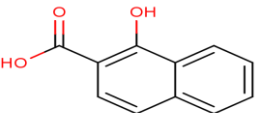
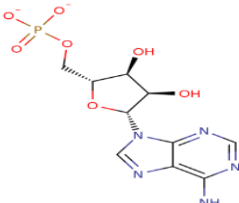
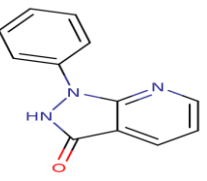
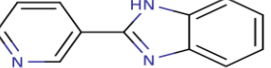
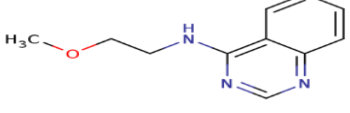
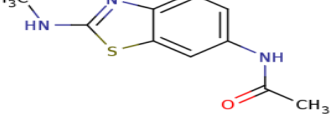
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 53 | <b>CHEMBL2430728</b> |    | <b>BDBM50441124</b> | 96284818 |
| 54 | <b>CHEMBL2382394</b> |    | <b>BDBM50433851</b> | 28616574 |
| 55 | 1,2(1,5)-Isoxazole   |   | BDBM23242           | 6524160  |
| 56 | <b>CHEMBL2382339</b> |  | <b>BDBM50433834</b> | 15859809 |
| 57 | <b>CHEMBL2382393</b> |  | <b>BDBM50433852</b> | 15859817 |
| 58 | <b>CHEMBL2430725</b> |  | <b>BDBM50441106</b> | 96284801 |

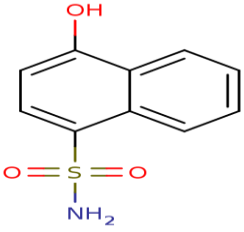
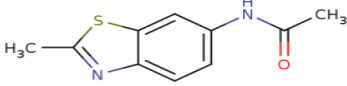
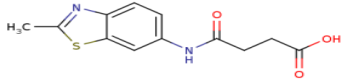
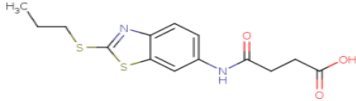
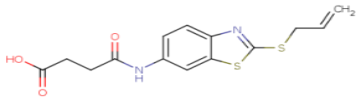
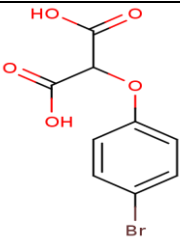


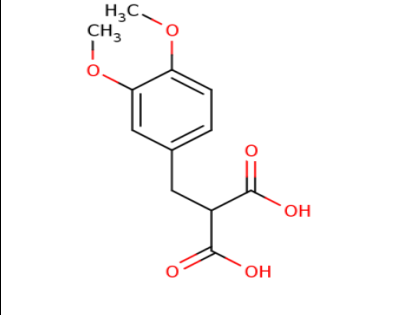
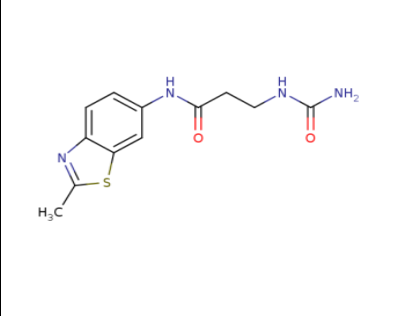
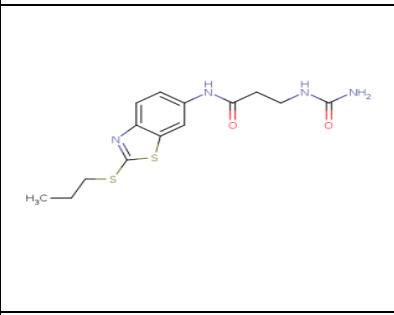
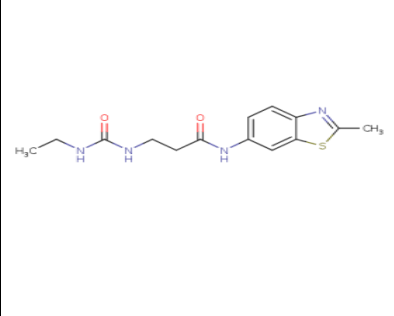
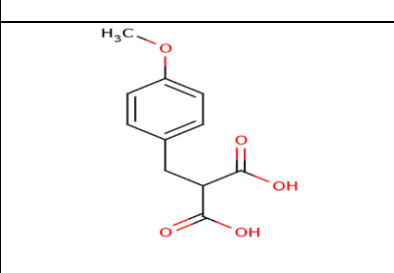
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 59 | <b>CHEMBL2430723</b> |    | <b>BDBM50441108</b> | 96284803 |
| 60 | LDHA Inhibitor, 28   |    | <b>BDBM86132</b>    | 84689523 |
| 61 | <b>CHEMBL2430726</b> |   | <b>BDBM50441105</b> | 96284800 |
| 62 | <b>CHEMBL2382390</b> |  | <b>BDBM50433832</b> | 15859810 |
| 63 | <b>CHEMBL2382391</b> |  | <b>BDBM50433831</b> | 15859805 |
| 64 | <b>CHEMBL2382392</b> |  | <b>BDBM50433830</b> | 15859811 |

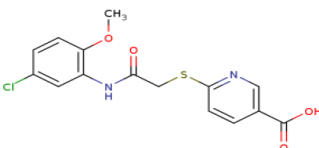
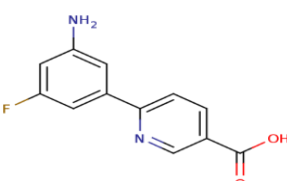
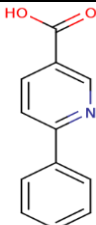
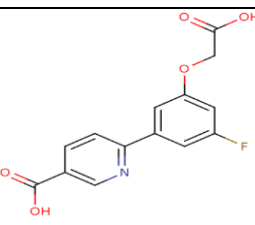
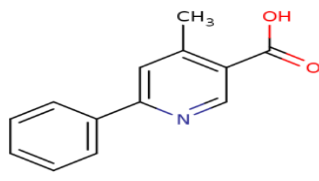
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 65 | <b>CHEMBL2430714</b> |    | <b>BDBM50441135</b> | 96284829 |
| 66 | <b>CHEMBL2382406</b> |    | <b>BDBM50433838</b> | 13570087 |
| 67 | <b>CHEMBL2430738</b> |    | <b>BDBM50441137</b> | 96284831 |
| 68 | <b>CHEMBL2430739</b> |  | <b>BDBM50441131</b> | 96284825 |
| 69 | <b>CHEMBL2430740</b> |  | <b>BDBM50441130</b> | 96284824 |
| 70 | <b>CHEMBL2430742</b> |  | <b>BDBM50441128</b> | 96284822 |

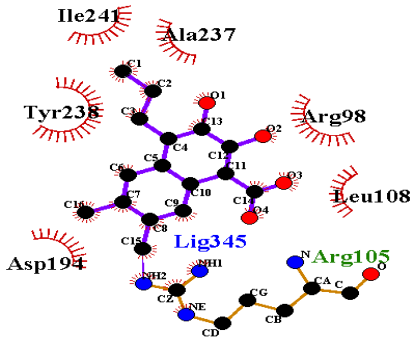
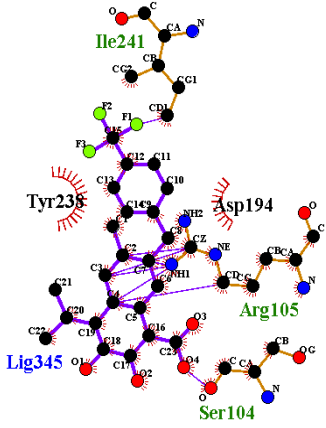
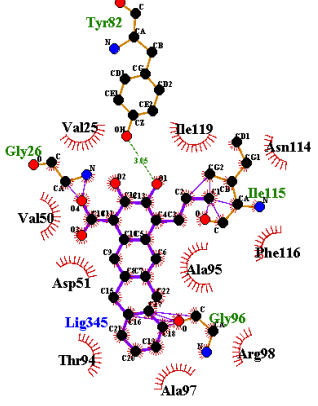
|    |                      |   |                     |          |
|----|----------------------|---|---------------------|----------|
| 71 | <b>CHEMBL2430712</b> |    | <b>BDBM50441136</b> | 96284830 |
| 72 | <b>CHEMBL2382395</b> |    | <b>BDBM50433850</b> | 15859808 |
| 73 | <b>CHEMBL2430715</b> |    | <b>BDBM50441114</b> | 96284809 |
| 74 | <b>CHEMBL2430718</b> |  | <b>BDBM50441134</b> | 96284828 |
| 75 | <b>CHEMBL2430724</b> |  | <b>BDBM50441107</b> | 96284802 |
| 76 | <b>CHEMBL2430722</b> |  | <b>BDBM50441109</b> | 96284804 |
| 77 | <b>CHEMBL2430720</b> |  | <b>BDBM50441133</b> | 96284827 |

|    |                                       |   |              |          |
|----|---------------------------------------|---|--------------|----------|
| 78 | LDHA Inhibitor, 8                     |    | BDBM86114    | 8468838  |
| 79 | 1-hydroxy-2-naphthoic acid            |    | BDBM50219487 | 37856    |
| 80 | AMP(2)::Adenosine-5-monophosphate     |    | BDBM50192453 | 3860156  |
| 81 | LDHA Inhibitor, 9                     |  | BDBM86115    | 3052158  |
| 82 | 2-(pyridin-3-yl)-1H-benzo[d]imidazole |  | BDBM50078827 | 50724    |
| 83 | LDHA Inhibitor, 11                    |  | BDBM86116    | 1771419  |
| 84 | LDHA Inhibitor, 12                    |  | BDBM86117    | 45238023 |

|    |                    |   |           |          |
|----|--------------------|---|-----------|----------|
| 85 | LDHA Inhibitor, 13 |    | BDBM86118 | 193451   |
| 86 | LDHA Inhibitor, 15 |    | BDBM86120 | 50947    |
| 87 | LDHA Inhibitor, 16 |    | BDBM86121 | 5010784  |
| 88 | LDHA Inhibitor, 17 |  | BDBM86122 | 3106409  |
| 89 | LDHA Inhibitor, 18 |  | BDBM86123 | 1573697  |
| 90 | LDHA Inhibitor, 20 |  | BDBM86124 | 84706220 |

|    |                    |   |           |          |
|----|--------------------|---|-----------|----------|
| 91 | LDHA Inhibitor, 21 |    | BDBM86125 | 4025332  |
| 92 | LDHA Inhibitor, 22 |    | BDBM86126 | 47837226 |
| 93 | LDHA Inhibitor, 23 |   | BDBM86127 | 84726898 |
| 94 | LDHA Inhibitor, 24 |  | BDBM86128 | 84726902 |
| 95 | LDHA Inhibitor, 25 |  | BDBM86129 | 2505285  |

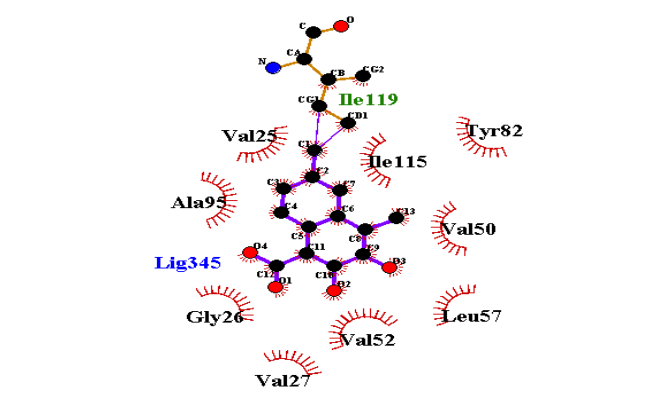
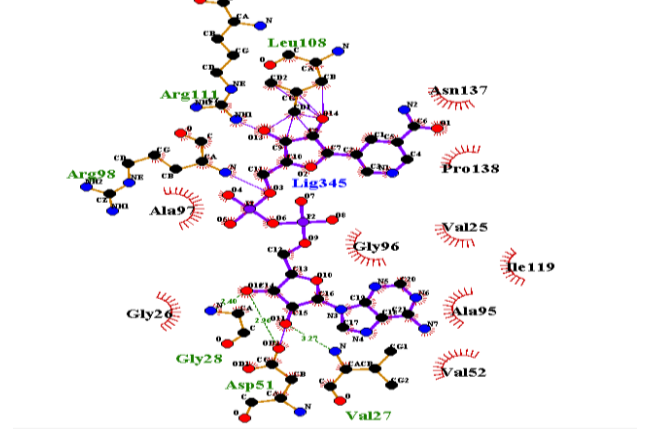
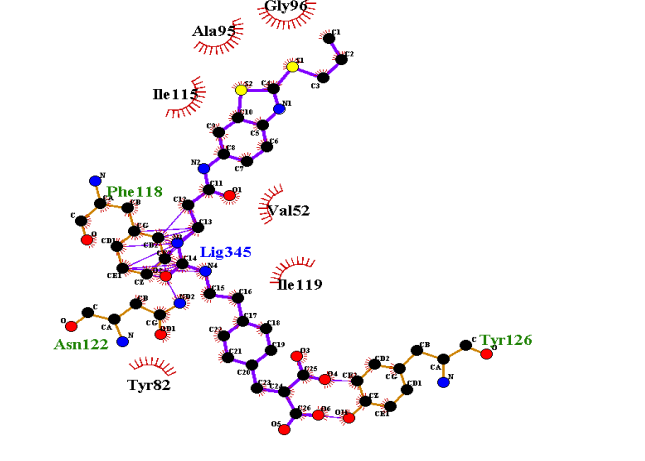
|     |                        |   |                     |          |
|-----|------------------------|---|---------------------|----------|
| 96  | <b>CHEMBL2316891</b>   |    | <b>BDBM50425801</b> | 6811569  |
| 97  | <b>CHEMBL2316889</b>   |    | <b>BDBM50425802</b> | 95597577 |
| 98  | 6-Phenylnicotinic Acid |    | <b>BDBM50425804</b> | 2506130  |
| 99  | <b>CHEMBL2316893</b>   |  | <b>BDBM50425803</b> | 95595066 |
| 100 | <b>CHEMBL2316890</b>   |  | <b>BDBM50425805</b> | 95596764 |

| A.A. | ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ  | ΑΡΙΘΜΟΣ<br>ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ<br>ΛΥΣΗΣ | ΕΝΕΡΓΕΙΑ<br>(kcal/mol) | ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ LIGPLOT  |
|------|---|-------------------------------|------------------------|---|
| 1    | 2,3-Dihydroxy-6,7-dimethyl-4-propyl-naphthalene-1-carboxylic acid                             | 18                            | -5,1                   |     |
| 2    | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6-methyl-7-(4-trifluoromethyl-benzyl)-naphthalene-1-carboxylic acid | 8                             | -4,5                   |   |
| 3    | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-6-methyl-4-propyl-naphthalene-1-carboxylic acid                        | 12                            | -6,6                   |  |

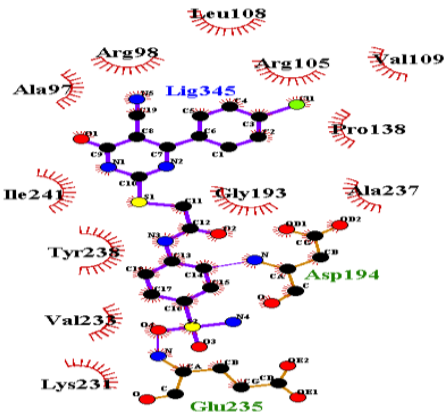
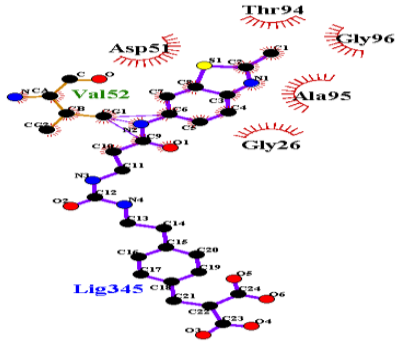
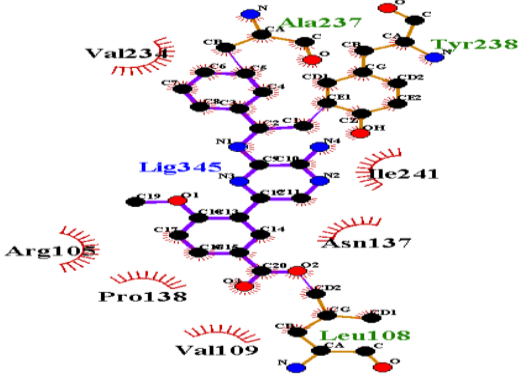
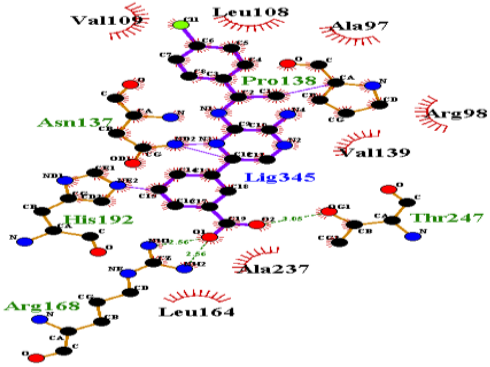


|   |  |    |      |  |
|---|--|----|------|--|
| 4 | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-4-isopropyl-6-methylnaphthalene-1-carboxylic acid | 14 | -6,3 |  |
| 5 | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6,7-dimethylnaphthalene-1-carboxylic acid      | 12 | -5,1 |  |
| 6 | 2,3-Dihydroxy-4-isopropyl-6-methylnaphthalene-1-carboxylic acid          | 2  | -6,6 |  |
| 7 | 1-Hydroxy-6-phenyl-4-trifluoromethyl-1H-indole-2-carboxylic Acid         | 12 | -5,1 |  |
| 8 | 2,3-Dihydroxy-6-methyl-4-propylnaphthalene-1-carboxylic acid             | 15 | -5,1 |  |

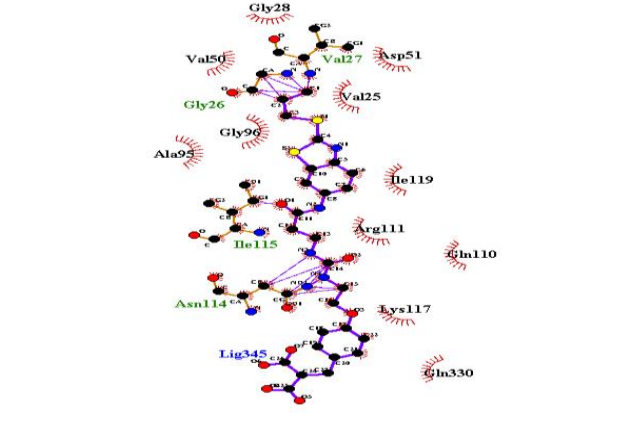
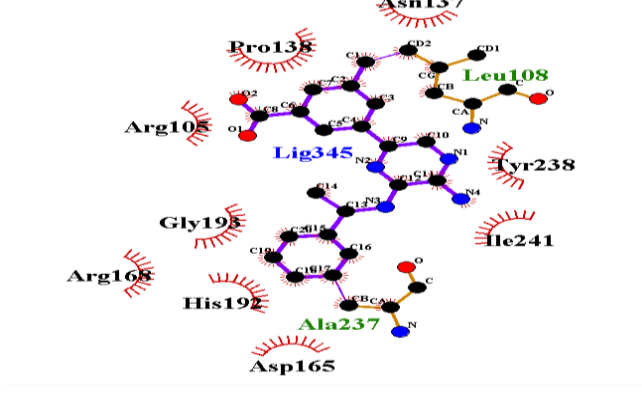
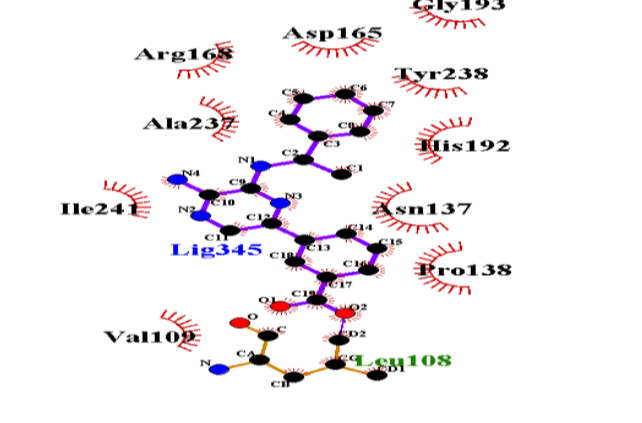
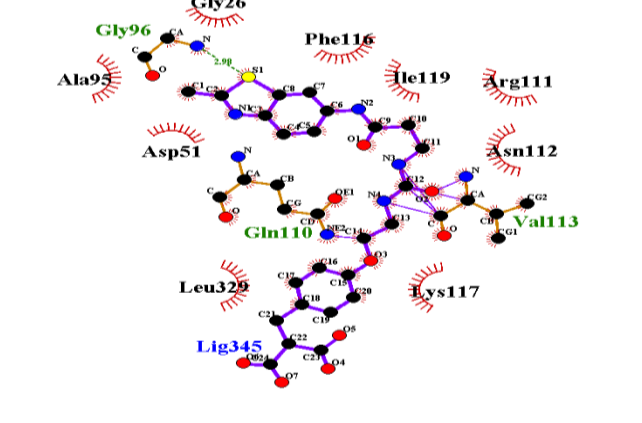
|    |  |    |      |  |
|----|--|----|------|--|
| 9  | 7-Benzyl-2,3-dihydroxy-4,6-dimethylnaphthalene-1-carboxylic acid | 7  | -7,3 |  |
| 10 | 1-Hydroxy-5-phenyl-1H-indole-2-carboxylic Acid                   | 13 | -5,8 |  |
| 11 | 2,3-Dihydroxy-4,6,7-trimethylnaphthalene-1-carboxylic acid       | 7  | -5,9 |  |
| 12 | 1-Hydroxy-6-phenyl-1H-indole-2-carboxylic Acid                   | 15 | -6,1 |  |

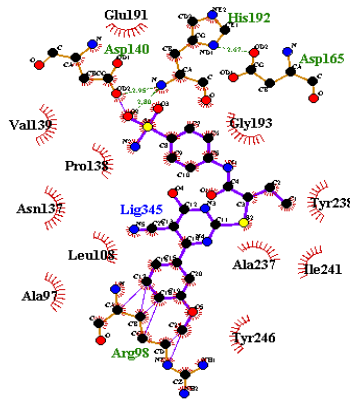
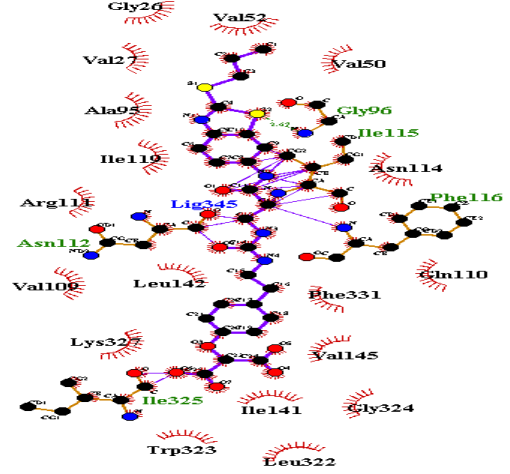
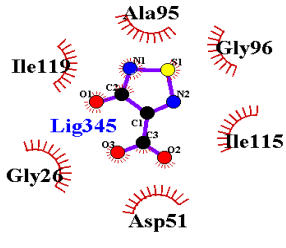
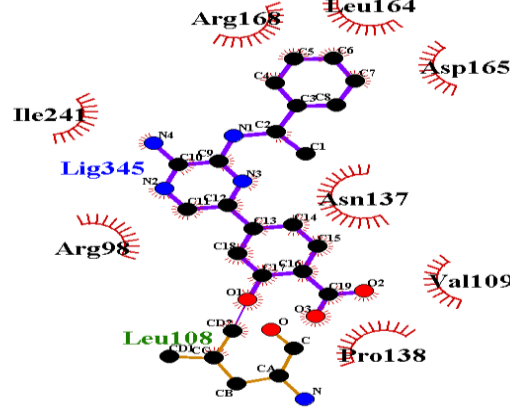
|    |   |   |      |  |
|----|---|---|------|--|
| 13 | 2,3-Dihydroxy-4,6-dimethylnaphthalene-1-carboxylic acid | 1 | -7,3 |    |
| 14 | CHEMBL610377  | 4 | -7,9 |   |
| 15 | LDHA Inhibitor, 31                                      | 6 | -6,1 |  |

|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 16 | CHEMBL2430727 | 11 | -6,9 |  |
| 17 | CHEMBL2382404 | 2  | -8,7 |  |
| 18 | CHEMBL2382403 | 16 | -7,2 |  |
| 19 | CHEMBL2382402 | 7  | -7,8 |  |

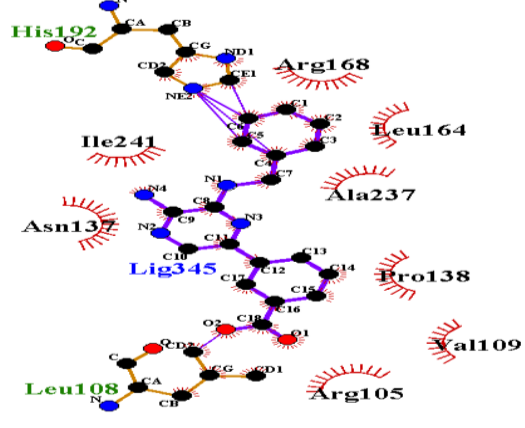
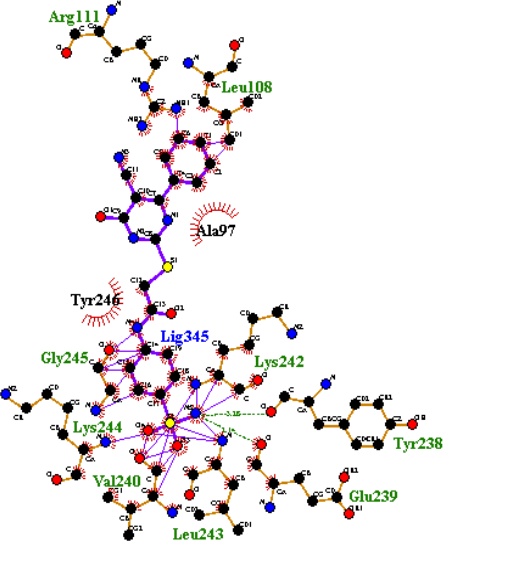
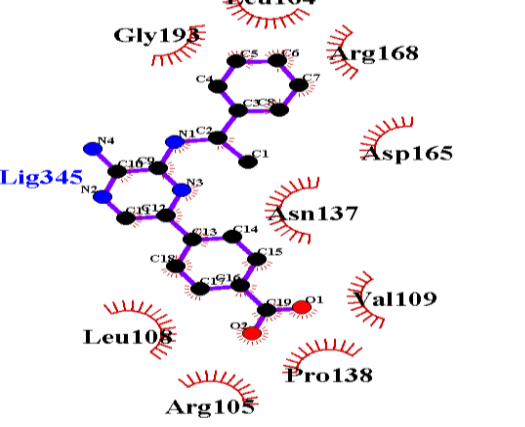
|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 20 | CHEMBL2382337      | 14 | -7,2 |    |
| 21 | LDHA Inhibitor, 29 | 1  | -7,2 |   |
| 22 | CHEMBL2430734      | 15 | -6,1 |  |
| 23 | CHEMBL2430713      | 2  | -8,5 |  |

|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 24 | CHEMBL2430735 | 20 | -6,7 |  |
| 25 | CHEMBL2430733 | 16 | -6,7 |  |
| 26 | CHEMBL2430732 | 15 | -6,9 |  |
| 27 | CHEMBL2430716 | 14 | -7,4 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 28 | LDHA Inhibitor, 27 | 4  | -6,1 |    |
| 29 | CHEMBL2430731      | 11 | -7,2 |   |
| 30 | CHEMBL2430737      | 17 | -7,1 |  |
| 31 | LDHA Inhibitor, 26 | 2  | -5,7 |  |

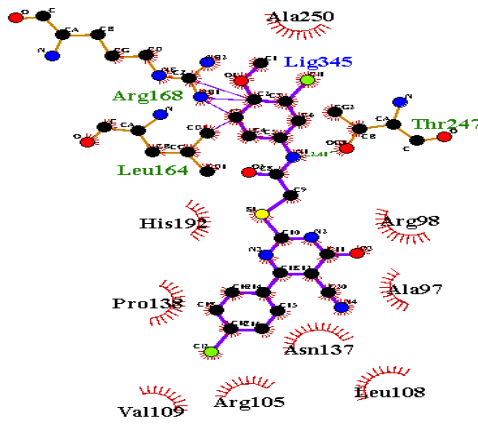
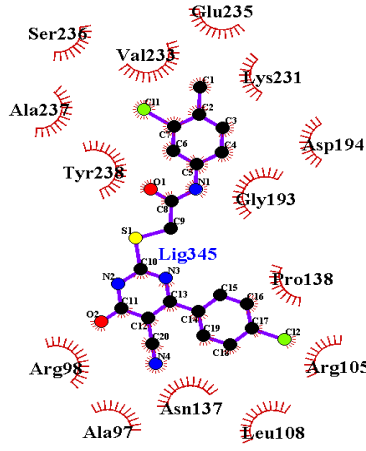
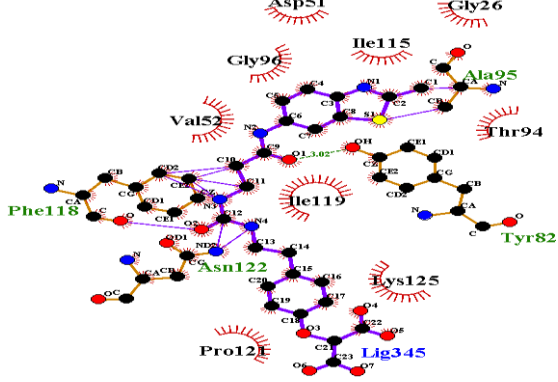
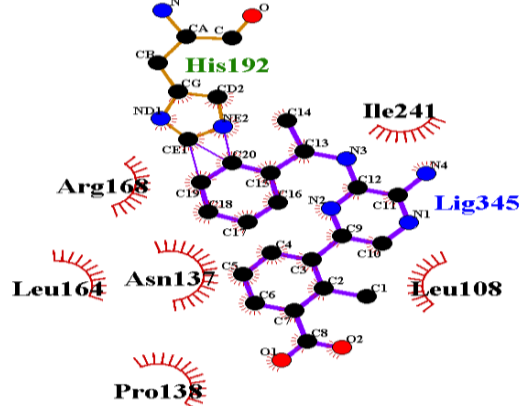
|    |   |    |      |   |
|----|---|----|------|---|
| 32 | CHEMBL2382405                                       | 2  | -8,5 |    |
| 33 | LDHA Inhibitor, 32                                  | 2  | -6,4 |    |
| 34 | TDA1::4-hydroxy-1,2,5-thiadiazole-3-carboxylic acid | 13 | -3,2 |  |
| 35 | CHEMBL2430744                                       | 14 | -7,2 |   |

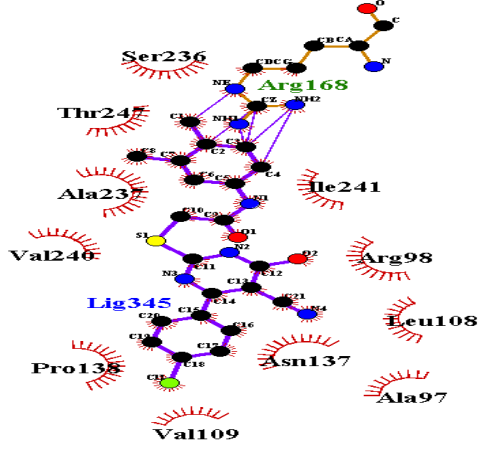
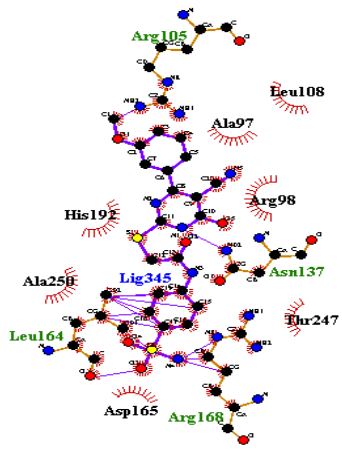
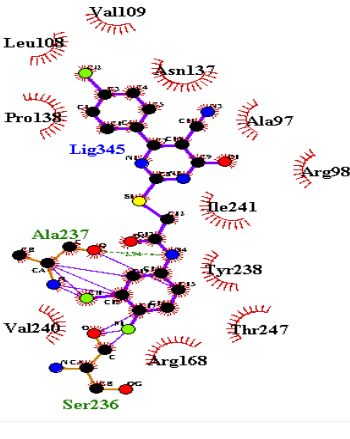


|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 36 | CHEMBL2430736 | 19 | -6,9 |    |
| 37 | CHEMBL2382400 | 5  | -7,4 |   |
| 38 | CHEMBL2430743 | 13 | -7,2 |  |

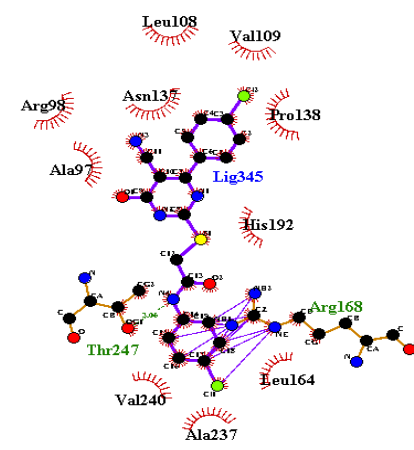
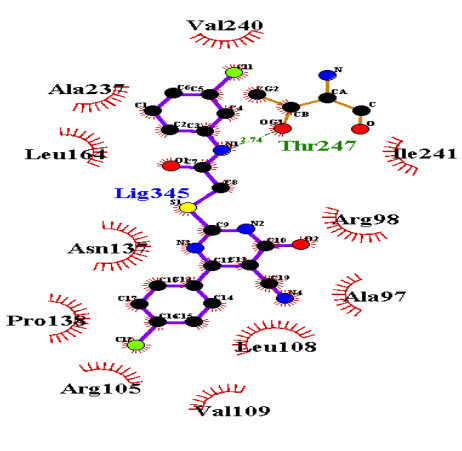
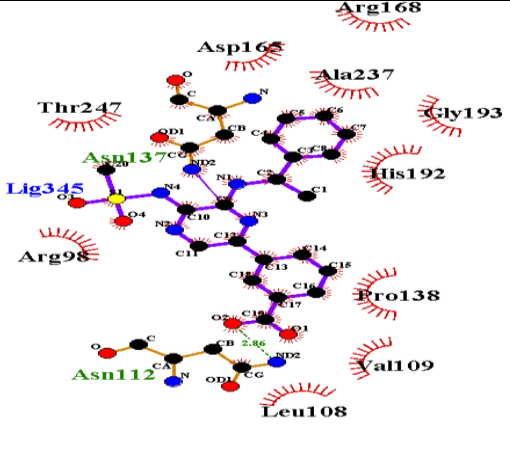
|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 39 | CHEMBL2430745 | 18 | -6,7 |  |
| 40 | CHEMBL2430730 | 19 | -6,8 |  |
| 41 | CHEMBL2430719 | 11 | -7,5 |  |
| 42 | CHEMBL2430717 | 9  | -7,1 |  |

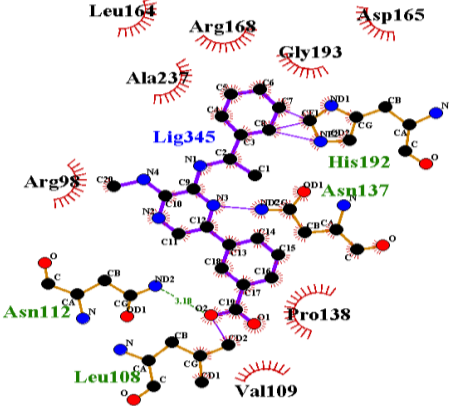
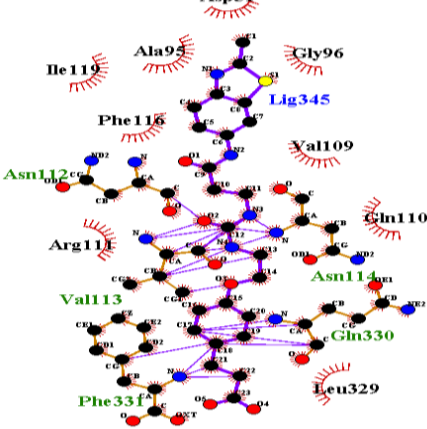
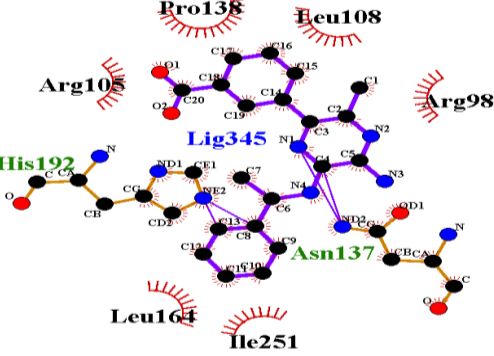
|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 43 | CHEMBL2382389 | 8  | -7,5 |  |
| 44 | CHEMBL2430741 | 19 | -7,1 |  |
| 45 | CHEMBL2430721 | 14 | -6,7 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 46 | CHEMBL2382398      | 2  | -7,8 |    |
| 47 | CHEMBL2382397      | 16 | -6,8 |   |
| 48 | LDHA Inhibitor, 30 | 3  | -5,9 |  |
| 49 | CHEMBL2430729      | 15 | -7,0 |  |

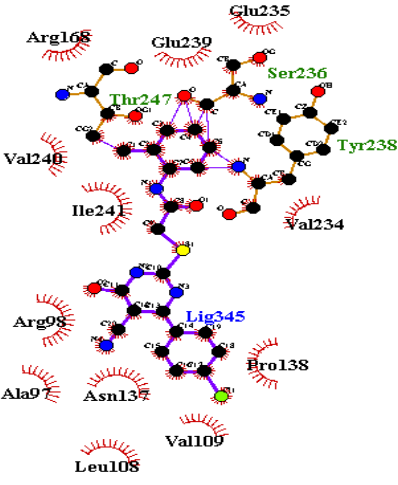
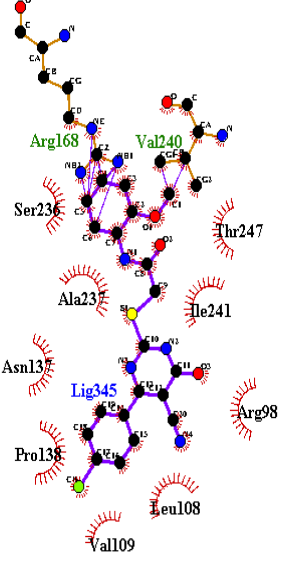
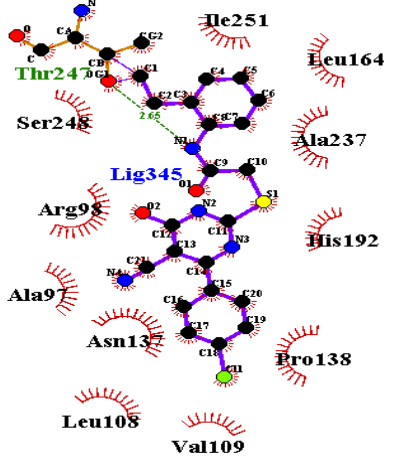
|    |  |    |      |   |
|----|--|----|------|---|
| 50 | CHEMBL2382399  | 4  | -8,3 |     |
| 51 | 2-{{5-cyano-4-(3-methoxyphenyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-yl}sulfanyl}-N-(4-sulfamoylphenyl)acetamide | 9  | -7,1 |    |
| 52 | CHEMBL2382396  | 16 | -7,0 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 53 | CHEMBL2430728      | 18 | -6,8 |  |
| 54 | CHEMBL2382394      | 2  | -8,2 |  |
| 55 | 1,2(1,5)-Isoxazole | 12 | -3,6 |  |

|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 56 | CHEMBL2382339 | 6  | -7,5 |    |
| 57 | CHEMBL2382393 | 5  | -7,8 |   |
| 58 | CHEMBL2430725 | 11 | -6,8 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 59 | CHEMBL2430723      | 6  | -7,2 |    |
| 60 | LDHA Inhibitor, 28 | 6  | -6,2 |   |
| 61 | CHEMBL2430726      | 10 | -6,8 |  |



|    |               |    |      |   |
|----|---------------|----|------|---|
| 62 | CHEMBL2382390 | 7  | -7,7 |     |
| 63 | CHEMBL2382391 | 5  | -7,4 |   |
| 64 | CHEMBL2382392 | 18 | -6,0 |  |

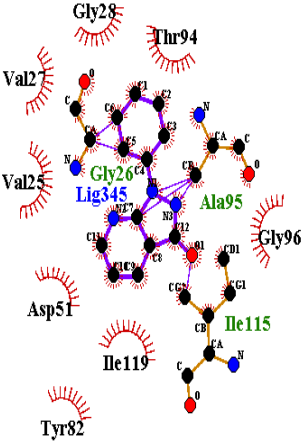
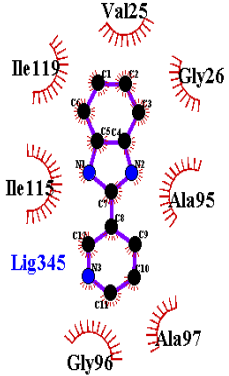
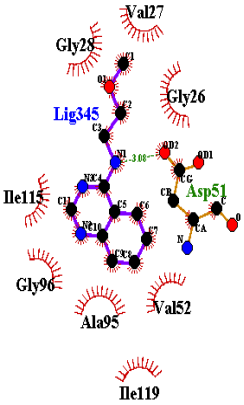
|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 65 | CHEMBL2430714 | 18 | -6,8 |  |
| 66 | CHEMBL2382406 | 6  | -7,6 |  |
| 67 | CHEMBL2430738 | 20 | -5,8 |  |
| 68 | CHEMBL2430739 | 16 | -7,3 |  |

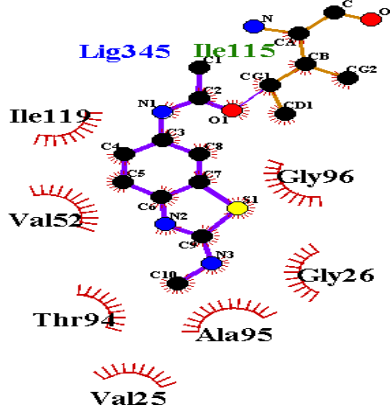
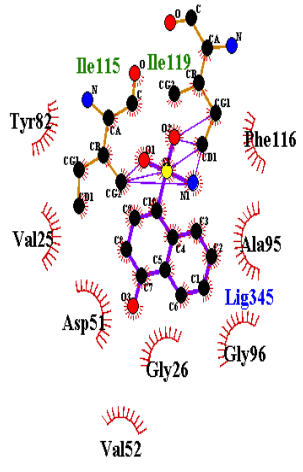
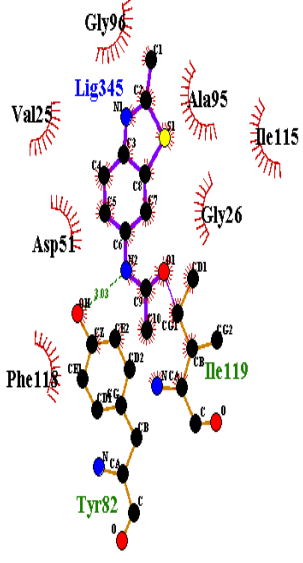
|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 69 | CHEMBL2430740 | 13 | -7,1 |  |
| 70 | CHEMBL2430742 | 11 | -6,9 |  |
| 71 | CHEMBL2430712 | 9  | -6,9 |  |

|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 72 | CHEMBL2382395 | 17 | -7,2 |  |
| 73 | CHEMBL2430715 | 20 | -7,1 |  |
| 74 | CHEMBL2430718 | 16 | -5,1 |  |

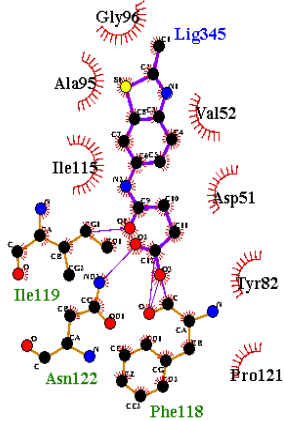
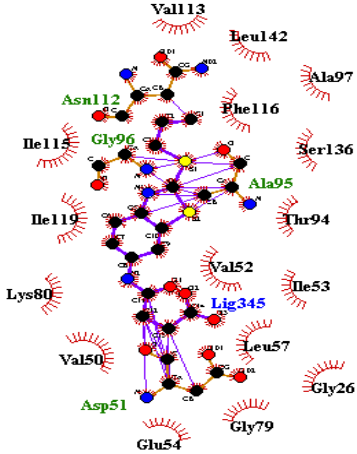
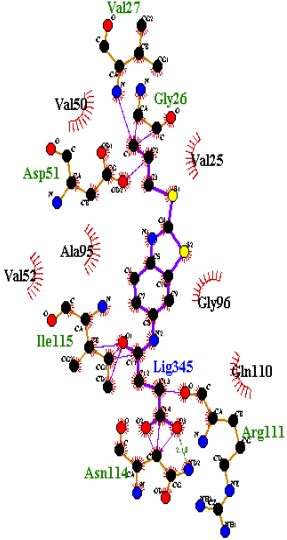
|    |               |    |      |  |
|----|---------------|----|------|--|
| 75 | CHEMBL2430724 | 10 | -6,8 |  |
| 76 | CHEMBL2430722 | 17 | -7,5 |  |
| 77 | CHEMBL2430720 | 14 | -7,4 |  |

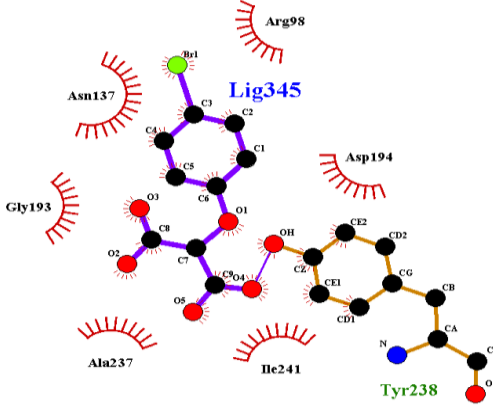
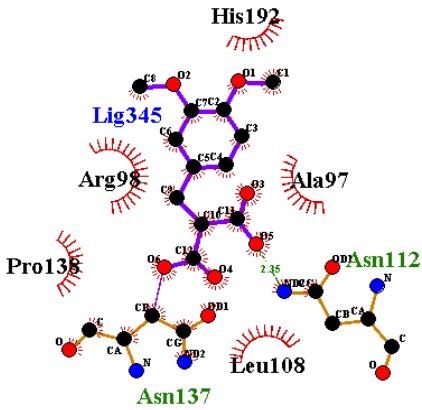
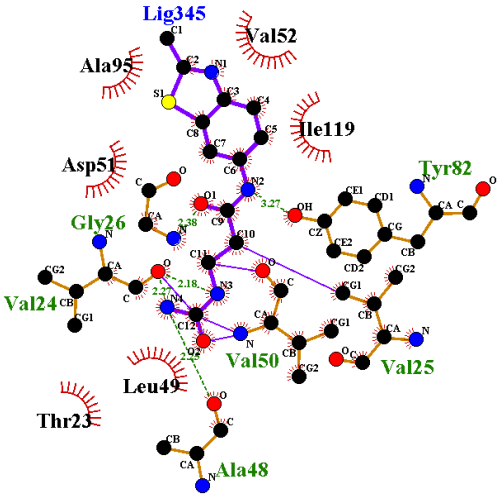
|    |                                   |    |      |  |
|----|-----------------------------------|----|------|--|
| 78 | LDHA Inhibitor, 8                 | 1  | -6,1 |  |
| 79 | 1-hydroxy-2-naphthoic acid        | 11 | -4,2 |  |
| 80 | AMP(2)::Adenosine-5-monophosphate | 5  | -6,2 |  |

|    |                                       |   |      |   |
|----|---------------------------------------|---|------|---|
| 81 | LDHA Inhibitor, 9                     | 7 | -6,4 |    |
| 82 | 2-(pyridin-3-yl)-1H-benzo[d]imidazole | 2 | -6,6 |   |
| 83 | LDHA Inhibitor, 11                    | 2 | -5,6 |  |

|    |                    |   |      |   |
|----|--------------------|---|------|---|
| 84 | LDHA Inhibitor, 12 | 4 | -5,5 |     |
| 85 | LDHA Inhibitor, 13 | 4 | -5,5 |   |
| 86 | LDHA Inhibitor, 15 | 2 | -5,1 |  |



|    |                    |   |      |   |
|----|--------------------|---|------|---|
| 87 | LDHA Inhibitor, 16 | 6 | -4,2 |    |
| 88 | LDHA Inhibitor, 17 | 5 | -5,4 |    |
| 89 | LDHA Inhibitor, 18 | 2 | -5,2 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 90 | LDHA Inhibitor, 20 | 7  | -4,9 |    |
| 91 | LDHA Inhibitor, 21 | 19 | -4,3 |   |
| 92 | LDHA Inhibitor, 22 | 4  | -6,1 |  |

|    |                    |    |      |  |
|----|--------------------|----|------|--|
| 93 | LDHA Inhibitor, 23 | 11 | -5,5 |  |
| 94 | LDHA Inhibitor, 24 | 14 | -5,0 |  |
| 95 | LDHA Inhibitor, 25 | 17 | -4,1 |  |

|    |                        |    |      |  |
|----|------------------------|----|------|--|
| 96 | CHEMBL2316891          | 9  | -5,8 |  |
| 97 | CHEMBL2316889          | 15 | -5,7 |  |
| 98 | 6-Phenylnicotinic Acid | 11 | -5,6 |  |
| 99 | CHEMBL2316893          | 8  | -6,1 |  |

|     |                      |   |      |  |
|-----|----------------------|---|------|--|
| 100 | <b>CHEMBL2316890</b> | 8 | -5,8 |  |
|-----|----------------------|---|------|--|

Στους παραπάνω πίνακες, στις περιπτώσεις που το όνομα του αναστολέα δεν βρέθηκε στη βάση Binding database, αναφέρεται, με πράσινο χρώμα, ο κωδικός του αναστολέα στη βάση ChEMBL.

Στα διαγράμματα του LIGPLOT, το πράσινο χρώμα στο όνομα ενός αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι το εν λόγω κατάλοιπο συμμετέχει σε υδρογονικό δεσμό, ενώ το κόκκινο ημικύκλιο γύρω από το όνομα του αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι συμμετέχει σε υδρόφοβη αλληλεπίδραση.

Για τους αναστολείς, καταγράφηκαν τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A τόσο με βάση το LIGPLOT, όσο και με βάση το PISA. Παρακάτω, παρατίθεται ο πίνακας αποτελεσμάτων με τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A σε κάθε αναστολέα.

| A.A. | ΑΝΑΣΤΟΛΕΑΣ<br>(ΚΩΔΙΚΟΣ<br>ZINC) | LIGPLOT<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | PISA<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | ΚΟΙΝΑ<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ)                                   | LIGPLOT<br>ΑΛΛΑ<br>OXI PISA | PISA ΑΛΛΑ<br>OXI<br>LIGPLOT |
|------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| 1    | 13435952                        | 7                                   | 12                               | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASP 194, ALA 237, TYR 238, ILE 241<br>(7) | 0                           | 5                           |
| 2    | 13435922                        | 5                                   | 9                                | SER 104, ARG 105, ASP 194, TYR 238, ILE 241<br>(5)                  | 0                           | 4                           |
| 3    | 13435956                        | 14                                  | 19                               | VAL 25, GLY   | 2                           | 7                           |

|   |          |    |    |  |   |    |
|---|----------|----|----|--|---|----|
|   |          |    |    | 26, VAL 50,<br>ASP 51, TYR<br>82, THR 94,<br>ALA 95, GLY<br>96, ALA 97,<br>ARG 98, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(12)       |   |    |
| 4 | 13435915 | 11 | 19 | VAL 25, GLY<br>26, VAL 50,<br>ASP 51, VAL<br>52, THR 94,<br>AL 95, GLY<br>96, ALA 97,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(11) | 0 | 8  |
| 5 | 13435910 | 10 | 15 | VAL 25, GLY<br>26, VAL 50,<br>ASP 51, VAL<br>52, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, PHE 118<br><br>(9)                       | 1 | 6  |
| 6 | 6522976  | 5  | 13 | VAL 50, ASP<br>51, VAL 52,<br>ILE 53, ILE<br>115<br><br>(5)  | 0 | 8  |
| 7 | 63796290 | 5  | 15 | GLY 26, ASP<br>51, VAL 52,<br>TYR 82, PHE<br>118<br><br>(5)  | 0 | 10 |
| 8 | 13781254 | 9  | 11 | GLY 26, GLY<br>28, ASP 51,<br>VAL 52, ILE<br>53, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115   | 1 | 3  |

|    |          |    |    |   |   |    |
|----|----------|----|----|---|---|----|
|    |          |    |    | (8)   |   |    |
| 9  | 13435948 | 12 | 13 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, ASP 51, VAL 52, ILE 53, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(12) | 0 | 1  |
| 10 | 63796288 | 11 | 14 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, VAL 52, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(10)                 | 1 | 4  |
| 11 | 13435945 | 5  | 15 | VAL 50, ASP 51, VAL 52, GLY 96, ILE 115<br>(5)  | 0 | 10 |
| 12 | 63796289 | 12 | 13 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, ASP 51, TYR 82, GLY 96, ILE 115, ILE 119, SER 136<br>(9)                          | 3 | 10 |
| 13 | 13435942 | 10 | 15 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, VAL 52, TYR 82, ALA 95, ILE 115, ILE 119<br>(8)                                   | 2 | 7  |
| 14 | 49771855 | 15 | 26 | VAL 25, GLY   | 0 | 11 |

|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
|    |          |    |    | 26, VAL 27,<br>GLY 28, ASP<br>51, VAL 52,<br>ALA 95, GLY<br>96, ALA 97,<br>ARG 98, LEU<br>108, ARG 111,<br>ILE 119, ASN<br>137, PRO 138<br><br>(15)    |   |    |
| 15 | 84672208 | 9  | 22 | VAL 52, TYR<br>82, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, PHE 118,<br>ILE 119, ASN<br>122, TYR 126<br><br>(9)  | 0 | 13 |
| 16 | 96284832 | 11 | 18 | ARG 98, LEU<br>108, VAL 109,<br>VAL 135, PRO<br>138, LEU 164,<br>ASP 165, ARG<br>168, HIS 192<br><br>(9)   | 2 | 9  |
| 17 | 96269982 | 13 | 21 | ARG 98, ARG<br>105, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168,<br>ALA 237, TYR<br>238, ILE 241,<br>LYS 242, GLY<br>245, TYR 246<br><br>(13) | 0 | 8  |
| 18 | 96269984 | 16 | 20 | ALA 97, ARG<br>98, ARG 105,<br>LEU 108, VAL<br>109, ASN 137,<br>PRO 138, ARG<br>168, SER 236,<br>ALA 237, TYR<br>238, GLU 239,                         | 1 | 5  |



|    |          |    |    |   |   |   |
|----|----------|----|----|---|---|---|
|    |          |    |    | VAL 240, ILE<br>241, THR 247<br><br>(15)  |   |   |
| 19 | 96269986 | 12 | 20 | ALA 97, ARG<br>98, ARG 105,<br>LEU 108, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, SER<br>236, ALA 237,<br>VAL 240, ILE<br>241, THR 247<br><br>(12)             | 0 | 8 |
| 20 | 31773899 | 14 | 18 | ALA 97, ARG<br>98, ARG 105,<br>LEU 108, VAL<br>109, PRO 138,<br>GLY 193, ASP<br>194, LYS 231,<br>GLU 235, ALA<br>237, TYR 238,<br>ILE 241<br><br>(13) | 1 | 5 |
| 21 | 84672206 | 6  | 15 | GLY 26, ASP<br>51, VAL 52,<br>THR 94, ALA<br>95, GLY 96<br><br>(6)  | 0 | 9 |
| 22 | 96284812 | 9  | 17 | ARG 105, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, VAL 234,<br>ALA 237, TYR<br>38, ILE 241<br><br>(9)  | 0 | 8 |
| 23 | 96284810 | 12 | 17 | ALA 97, ARG<br>98, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>LEU 164, ARG<br>168, HIS 192,   | 1 | 6 |

|    |          |    |    |   |   |   |
|----|----------|----|----|---|---|---|
|    |          |    |    | ALA 237, THR<br>247<br><br>(11)   |   |   |
| 24 | 95920567 | 12 | 19 | ARG 98, ARG<br>105, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, HIS<br>192, GLY 193,<br>ALA 237, TYR<br>238, ILE 241<br><br>(12)  | 0 | 7 |
| 25 | 96284813 | 12 | 21 | ARG 105, LEU<br>108, ASN 137,<br>PRO 138, VAL<br>139, ASP 165,<br>ARG 168, HIS<br>192, GLY 193,<br>ALA 237, TYR<br>238, ILE 241<br><br>(12) | 0 | 9 |
| 26 | 96284814 | 11 | 20 | ARG 105, LEU<br>108, ASN 137,<br>PRO 138, ASP<br>165, ARG 168,<br>HIS 192, GLY<br>193, ALA 237,<br>TYR 238, ILE<br>241<br><br>(11)          | 0 | 9 |
| 27 | 96284808 | 12 | 20 | ARG 98, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, VAL 139,<br>LEU 164, ASP<br>165, ARG 168,<br>HIS 192, ILE<br>241<br><br>(11)           | 1 | 9 |
| 28 | 84687868 | 15 | 18 | VAL 25, GLY   | 2 | 5 |

|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
|    |          |    |    | 26, GLY 28,<br>ASP 51, ALA<br>95, GLY 96,<br>GLN 110,<br>ARG 111, ASN<br>114, ILE 115,<br>LYS 117, ILE<br>119, GLN 330<br><br>(13) |   |    |
| 29 | 96284815 | 11 | 22 | ARG 105, LEU<br>108, ASN 137,<br>PRO 138, ASP<br>165, ARG 168,<br>HIS 192, GLY<br>193, ALA 237,<br>TYR 238, ILE<br>241<br><br>(11) | 0 | 11 |
| 30 | 96284826 | 11 | 19 | LEU 108, VAL<br>109, ASN 137,<br>PRO 138, ASP<br>165, ARG 168,<br>HIS 192, GLY<br>193, ALA 237,<br>TYR 238, ILE<br>241<br><br>(11) | 0 | 8  |
| 31 | 84687867 | 12 | 19 | GLY 26, ASP<br>51, ALA 95,<br>GLY 96, GLN<br>110, LYS 117,<br>ILE 119, LEU<br>329<br><br>(8)                                       | 4 | 11 |
| 32 | 2758483  | 15 | 22 | ALA 97, ARG<br>98, LEU 108,<br>ASN 137, PRO<br>138, VAL 139,<br>ASP 140, GLU<br>191, HIS 192,<br>GLY 193, ALA<br>237, TYR 238,     | 1 | 8  |

|    |          |    |    |  |    |    |
|----|----------|----|----|--|----|----|
|    |          |    |    | ILE 241, TYR<br>246<br><br>(14)  |    |    |
| 33 | 84672209 | 23 | 14 | GLY 26, VAL<br>27, VAL 52,<br>ALA 95, GLY<br>96, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(7)  | 16 | 7  |
| 34 | 6523896  | 6  | 9  | GLY 26, ASP<br>51, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(6)   | 0  | 3  |
| 35 | 96284820 | 9  | 21 | ARG 98, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, LEU 164,<br>ASP 165, ARG<br>168, ILE 241<br><br>(9)               | 0  | 12 |
| 36 | 96284811 | 10 | 18 | ARG 105, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, LEU 164,<br>ARG 168, HIS<br>192, ALA 237,<br>ILE 241<br><br>(10) | 0  | 8  |
| 37 | 2751141  | 11 | 8  | ALA 97, LEU<br>108, ARG 111,<br>GLY 245, TYR<br>246<br><br>(5)   | 6  | 3  |
| 38 | 96284821 | 9  | 19 | ARG 105, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, LEU 164,<br>ASP 165, ARG   | 0  | 10 |

|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
|    |          |    |    | 168, GLY 193<br>(9)  |   |    |
| 39 | 96284819 | 8  | 19 | ARG 98, ASP 137, PRO 138, VAL 139, ARG 168, HIS 192, ALA 237, ILE 241<br>(8)                             | 0 | 11 |
| 40 | 96284816 | 11 | 20 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ASP 165, ARG 168, HIS 192, ALA 237<br>(10)          | 1 | 10 |
| 41 | 96284806 | 11 | 19 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, VAL 139, LEU 164, ARG 168, HIS 192, ILE 241, ILE 251<br>(11) | 0 | 8  |
| 42 | 96284807 | 9  | 16 | LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ASP 165, HIS 192, GLY 193, ILE 241<br>(9)                   | 0 | 7  |
| 43 | 28616592 | 14 | 20 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, VAL 139, SER 160, GLY 161, LEU 164, HIS 192                  | 4 | 10 |

|    |          |    |    |  |   |   |
|----|----------|----|----|--|---|---|
|    |          |    |    | (10)   |   |   |
| 44 | 96284823 | 11 | 18 | ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, GLY 193, VAL 234, ALA 237, TYR 238, ILE 241<br>(10)                 | 1 | 8 |
| 45 | 96284805 | 10 | 18 | ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ASP 165, ARG 168, HIS 192<br>(9)                           | 1 | 9 |
| 46 | 15859813 | 12 | 20 | ALA 97, ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ARG 168, HIS 192, THR 247, ALA 250<br>(12) | 0 | 8 |
| 47 | 31773908 | 14 | 20 | ALA 97, ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, GLY 193, ASP 194, VAL 233, ALA 237, TYR 238<br>(11)          | 3 | 9 |
| 48 | 84672207 | 13 | 18 | GLY 26, ASP 51, VAL 52, TYR 82, THR 94, ALA 95, GLY 96, ILE 115, PHE 118, ILE 119, PRO                           | 0 | 5 |

|    |          |    |    |   |   |    |
|----|----------|----|----|---|---|----|
|    |          |    |    | 121, ASN 122,<br>LYS 125<br><br>(13)  |   |    |
| 49 | 96284817 | 7  | 24 | LEU 108, ASN<br>137, PRO 138,<br>LEU 164, ARG<br>168, HIS 192,<br>ILE 241<br><br>(7)  | 0 | 17 |
| 50 | 15859815 | 12 | 19 | ALA 97, ARG<br>98, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, SER<br>236, ALA 237,<br>VAL 240, ILE<br>241, THR 247<br><br>(12)             | 0 | 7  |
| 51 | 2995601  | 11 | 19 | ALA 97, ARG<br>98, ARG 105,<br>LEU 108, ASN<br>137, LEU 164,<br>ARG 168, HIS<br>192, THR 247,<br>ALA 250<br><br>(10)                                  | 1 | 9  |
| 52 | 15859812 | 13 | 20 | ALA 97, ARG<br>98, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, SER<br>236, ALA 237,<br>TYR 238, VAL<br>240, ILE 241,<br>THR 247<br><br>(13) | 0 | 7  |
| 53 | 96284818 | 11 | 18 | LEU 108, VAL<br>109, ASN 137,<br>PRO 138, ASP<br>165, ARG 168,  | 0 | 7  |

|    |          |    |    |  |   |   |
|----|----------|----|----|--|---|---|
|    |          |    |    | HIS 192, GLY 193, ALA 237, TYR 238, ILE 241<br>(11)  |   |   |
| 54 | 28616574 | 15 | 20 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ASP 165, HIS 192, GLY 193, ASP 194, SER 195, VAL 233, VAL 234, ALA 237<br>(14) | 1 | 6 |
| 55 | 6524160  | 7  | 11 | VAL 25, GLY 26, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115<br>(7)   | 0 | 4 |
| 56 | 15859809 | 12 | 19 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ARG 168, HIS 192, ALA 237, VAL 240, THR 247<br>(12)                   | 0 | 7 |
| 57 | 15859817 | 12 | 19 | ALA 97, ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ALA 237, VAL 240, ILE 241, THR 247<br>(12)                   | 0 | 7 |



|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
| 58 | 96284801 | 12 | 24 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ASP 165, ARG 168, HIS 192, GLY 193, ALA 237, THR 247<br>(11)         | 1 | 13 |
| 59 | 96284803 | 12 | 19 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ASP 165, ARG 168, HIS 192, GLY 193, ALA 237<br>(11)         | 1 | 8  |
| 60 | 84689523 | 14 | 16 | ASP 51, ALA 95, GLY 96, ILE 119, LEU 329, GLU 330, PHE 331<br>(7)  | 7 | 9  |
| 61 | 96284800 | 8  | 23 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, LEU 164, HIS 192, ILE 251<br>(8)                                     | 0 | 15 |
| 62 | 15859810 | 15 | 17 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ARG 168, SER 236, TYR 238, VAL 240, ILE 241, THR 247<br>(12) | 3 | 5  |

|    |          |    |    |   |   |    |
|----|----------|----|----|---|---|----|
| 63 | 15859805 | 11 | 20 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ARG 168, SER 236, ALA 237, VAL 240, ILE 241, THR 247<br>(11)          | 0 | 9  |
| 64 | 15859811 | 12 | 20 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, HIS 192, ALA 237, THR 247, SER 248, ILE 251<br>(12)  | 0 | 8  |
| 65 | 96284829 | 9  | 17 | LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ARG 168, HIS 192, ALA 237, ILE 241, THR 247<br>(9)                            | 0 | 8  |
| 66 | 13570087 | 11 | 17 | ARG 98, LEU 108, ASN 137, PRO 138, LEU 164, GLY 193<br>(6)  | 5 | 11 |
| 67 | 96284831 | 14 | 19 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ASP 165, ARG 168, HIS 192, ALA 237, ILE 241<br>(12) | 2 | 7  |
| 68 | 96284825 | 11 | 19 | LEU 108, VAL  | 1 | 9  |

|    |          |    |    |  |   |   |
|----|----------|----|----|--|---|---|
|    |          |    |    | 109, ASN 137,<br>PRO 138, ASP<br>165, ARG 168,<br>HIS 192, GLY<br>193, ALA 237,<br>ILE 241<br><br>(10)                                     |   |   |
| 69 | 96284824 | 12 | 17 | ARG 105, LEU<br>108, VAL 109,<br>ASN 137, PRO<br>138, LEU 164,<br>ASP 165, ARG<br>168, ALA 237,<br>ILE 241<br><br>(10)                     | 2 | 7 |
| 70 | 96284822 | 10 | 19 | LEU 108, ASN<br>137, PRO 138,<br>VAL 139,<br>ARG 168,<br>GLY 193, VAL<br>234, ALA 237,<br>TYR 238, ILE<br>241<br><br>(10)                  | 0 | 9 |
| 71 | 96284830 | 12 | 18 | ARG 98, ARG<br>105, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, HIS<br>192, GLY 193,<br>VAL 234, ALA<br>237, ILE 241<br><br>(12) | 0 | 6 |
| 72 | 15859808 | 15 | 16 | ALA 97, ARG<br>98, LEU 108,<br>VAL 109, ASN<br>137, PRO 138,<br>ARG 168, SER<br>236, ALA 237,<br>TYR 238, VAL<br>240, ILE 241,             | 2 | 3 |

|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
|    |          |    |    | THR 247<br>(13)  |   |    |
| 73 | 96284809 | 10 | 21 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ARG 168, HIS 192, ALA 237, ILE 241<br>(10)          | 0 | 11 |
| 74 | 96284828 | 10 | 16 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, VAL 234, ALA 237, TYR 238, ILE 241<br>(10)          | 0 | 6  |
| 75 | 96284802 | 11 | 22 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, LEU 164, ARG 168, HIS 192, ILE 241, TYR 246<br>(11) | 0 | 11 |
| 76 | 96284804 | 11 | 22 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, ASP 165, ARG 168, HIS 192, GLY 193, ALA 237, ILE 241<br>(11) | 0 | 11 |
| 77 | 96284827 | 10 | 21 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, ASP 165,   | 0 | 11 |

|    |          |    |    |   |   |    |
|----|----------|----|----|---|---|----|
|    |          |    |    | ARG 168, HIS<br>192, GLY 193,<br>ALA 237<br><br>(10)  |   |    |
| 78 | 84688838 | 17 | 29 | VAL 25, GLY<br>26, VAL 27,<br>GLY 28, VAL<br>30, ASP 51,<br>VAL 52, ALA<br>95, GLY 96,<br>ALA 97, ARG<br>98, ILE 115,<br>ILE 119, ASN<br>137, TYR 246,<br>ILE 251<br><br>(16) | 1 | 13 |
| 79 | 37856    | 8  | 10 | VAL 25, GLY<br>26, TYR 82,<br>ALA 95, GLY<br>96, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(7)   | 1 | 3  |
| 80 | 3860156  | 10 | 21 | VAL 25, GLY<br>26, GLY 28,<br>ASP 51, ALA<br>95, GLY 96,<br>ALA 97, ARG<br>98, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(10)  | 0 | 11 |
| 81 | 3052158  | 11 | 15 | VAL 25, GLY<br>26, GLY<br>28, ASP 51,<br>TYR 82, THR<br>94, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(10)  | 1 | 5  |
| 82 | 50724    | 7  | 15 | VAL 25, GLY<br>26, ALA 95,  | 0 | 8  |

|    |          |    |    |   |   |   |
|----|----------|----|----|---|---|---|
|    |          |    |    | GLY 96, ALA<br>97, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(7)   |   |   |
| 83 | 1771419  | 9  | 16 | GLY 26, VAL<br>27, GLY 28,<br>ASP 51, VAL<br>52, ALA<br>95, GLY 96,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(9) | 0 | 7 |
| 84 | 45238023 | 8  | 14 | VAL 25, GLY<br>26, VAL 52,<br>THR 94, ALA<br>95, GLY 96,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(8)            | 0 | 6 |
| 85 | 193451   | 10 | 11 | VAL 25, GLY<br>26, ASP 51,<br>VAL 52, TYR<br>82, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(9)    | 1 | 2 |
| 86 | 50947    | 9  | 11 | VAL 25, GLY<br>26, ASP 51,<br>TYR 82, ALA<br>95, GLY 96,<br>ILE 115, PHE<br>118, ILE 119<br><br>(9)   | 0 | 2 |
| 87 | 5010784  | 10 | 13 | ASP 51, VAL<br>52, TYR 82,<br>ALA 95, GLY<br>96, ILE 115,<br>PHE 118, ILE<br>119, PRO 121,<br>ASN 122 | 0 | 3 |

|    |          |    |    |  |   |   |
|----|----------|----|----|--|---|---|
|    |          |    |    | (10)   |   |   |
| 88 | 3106409  | 20 | 14 | GLY 26, VAL 50, ASP 51, VAL 52, THR 94, ALA 95, GLY 96, ASN 112, ILE 115, ILE 119, SER 136<br>(11) | 9 | 3 |
| 89 | 1573697  | 12 | 14 | VAL 25, GLY 26, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ARG 111, ASN 114, ILE 115<br>(9)                   | 3 | 5 |
| 90 | 84706220 | 7  | 14 | ARG 98, ASN 137, GLY 193, ASP 194, ALA 237, TYR 238, ILE 241<br>(7)                                | 0 | 7 |
| 91 | 4025332  | 7  | 13 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, ASN 137, PRO 138, HIS 192<br>(6)  | 1 | 7 |
| 92 | 47837226 | 12 | 12 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, ASP 51, VAL 52, TYR 82, ALA 95, ILE 119<br>(8)                             | 4 | 4 |
| 93 | 84726898 | 15 | 14 | GLY 26, VAL 27, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE                                       | 7 | 6 |

|     |          |    |    |  |   |    |
|-----|----------|----|----|--|---|----|
|     |          |    |    | 119<br>(8)   |   |    |
| 94  | 84726902 | 14 | 12 | ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(6)                                | 8 | 6  |
| 95  | 2505285  | 5  | 15 | ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, ILE 241<br>(5)                                     | 0 | 10 |
| 96  | 6811569  | 9  | 21 | ARG 105, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ILE 141, GLU 191, SER 195, ILE 241, ILE 325<br>(9) | 0 | 12 |
| 97  | 95597577 | 5  | 13 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137<br>(5)                                      | 0 | 8  |
| 98  | 2506130  | 6  | 11 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO 138, ILE 241<br>(6)                             | 0 | 5  |
| 99  | 95595066 | 8  | 16 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, HIS 192<br>(6)                             | 2 | 10 |
| 100 | 95596764 | 6  | 13 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, ASN 137, PRO<br>(6)  | 0 | 7  |



|  |  |  |  |              |  |  |
|--|--|--|--|--------------|--|--|
|  |  |  |  | 138, ILE 241 |  |  |
|  |  |  |  | (6)          |  |  |

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, προκύπτει ο ακόλουθος πίνακας όπου αναφέρονται τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A –αμινοξικά κατάλοιπα που συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με πολλούς αναστολείς–, με βάση το LIGPLOT και το PISA.

| A.A. | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (LIGPLOT) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΣΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (LIGPLOT) | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (PISA) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΣΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (PISA) |
|------|-------------------------------|--|----------------------------|---|
| 1    | LEU 108                       | 61/100   | LEU 108                    | 65/100  |
| 2    | ASN 137                       | 61/100   | ASN 137                    | 68/100  |
| 3    | PRO 138                       | 59/100   | PRO 138                    | 63/100  |
| 4    | ARG 98                        | 48/100   | ARG 98                     | 71/100  |
| 5    | VAL 109                       | 45/100   | VAL 109                    | 57/100  |
| 6    | ILE 241                       | 43/100   | ILE 241                    | 67/100  |
| 7    | ARG 168                       | 40/100   | ARG 168                    | 55/100  |
| 8    | ALA 237                       | 40/100   | ALA 237                    | 61/100  |
| 9    | HIS 192                       | 36/100   | HIS 192                    | 64/100  |
| 10   | ARG 105                       | 33/100   | ARG 105                    | 62/100  |
| 11   | ALA 95                        | 32/100   | ALA 95                     | 36/100  |
| 12   | GLY 96                        | 32/100   | GLY 96                     | 37/100  |

|    |         |        |         |        |
|----|---------|--------|---------|--------|
| 13 | GLY 26  | 30/100 | GLY 26  | 36/100 |
| 14 | ILE 115 | 30/100 | ILE 115 | 36/100 |
| 15 | ASP 51  | 29/100 | ASP 51  | 36/100 |
| 16 | ILE 119 | 28/100 | ILE 119 | 35/100 |
| 17 | VAL 52  | 25/100 | VAL 52  | 36/100 |
| 18 | ALA 97  | 25/100 | ALA 97  | 73/100 |
| 19 | LEU 164 | 24/100 | LEU 164 | 43/100 |
| 20 | ASP 165 | 24/100 | ASP 165 | 29/100 |
| 21 | GLY 193 | 22/100 | GLY 193 | 54/100 |
| 22 | TYR 238 | 22/100 | TYR 238 | 46/100 |
| 23 | VAL 25  | 20/100 | VAL 25  | 35/100 |
| 24 | VAL 50  | 15/100 | VAL 50  | 27/100 |
| 25 | ASN 112 | 15/100 | ASN 112 | 4/100  |
| 26 | THR 247 | 15/100 | THR 247 | 57/100 |
| 27 | TYR 82  | 14/100 | TYR 82  | 34/100 |
| 28 | VAL 27  | 11/100 | VAL 27  | 6/100  |
| 29 | VAL 139 | 11/100 | VAL 139 | 12/100 |
| 30 | VAL 240 | 10/100 | VAL 240 | 11/100 |
| 31 | GLN 110 | 9/100  | GLN 110 | 2/100  |
| 32 | ARG 111 | 9/100  | ARG 111 | 6/100  |
| 33 | PHE 116 | 9/100  | -       | -      |
| 34 | PHE 118 | 9/100  | PHE 118 | 33/100 |
| 35 | THR 94  | 8/100  | THR 94  | 19/100 |
| 36 | SER 236 | 8/100  | SER 236 | 9/100  |
| 37 | GLY 28  | 7/100  | GLY 28  | 23/100 |
| 38 | ASN 114 | 7/100  | ASN 114 | 4/100  |
| 39 | VAL 234 | 7/100  | VAL 234 | 19/100 |

|    |         |       |         |        |
|----|---------|-------|---------|--------|
| 40 | ASP 194 | 6/100 | ASP 194 | 41/100 |
| 41 | TYR 246 | 5/100 | TYR 246 | 16/100 |
| 42 | ILE 53  | 4/100 | ILE 53  | 23/100 |
| 43 | ASN 122 | 4/100 | ASN 122 | 3/100  |
| 44 | GLU 235 | 4/100 | GLU 235 | 1/100  |
| 45 | GLU 239 | 4/100 | GLU 239 | 1/100  |
| 46 | ILE 251 | 4/100 | ILE 251 | 17/100 |
| 47 | VAL 113 | 3/100 | -       | -      |
| 48 | LYS 117 | 3/100 | LYS 117 | 2/100  |
| 49 | SER 136 | 3/100 | SER 136 | 7/100  |
| 50 | ASP 140 | 3/100 | ASP 140 | 2/100  |
| 51 | LEU 142 | 3/100 | -       | -      |
| 52 | VAL 233 | 3/100 | VAL 233 | 21/100 |
| 53 | LEU 57  | 2/100 |         |        |
| 54 | PRO 121 | 2/100 | PRO 121 | 3/100  |
| 55 | ILE 141 | 2/100 | ILE 141 | 29/100 |
| 56 | GLY 161 | 2/100 | GLY 161 | 6/100  |
| 57 | CYS 162 | 2/100 | -       | -      |
| 58 | ASN 163 | 2/100 | -       | -      |
| 59 | GLU 191 | 2/100 | GLU 191 | 7/100  |
| 60 | SER 195 | 2/100 | SER 195 | 2/100  |
| 61 | LYS 231 | 2/100 | LYS 231 | 1/100  |
| 62 | LYS 242 | 2/100 | LYS 242 | 1/100  |
| 63 | GLY 245 | 2/100 | GLY 245 | 4/100  |
| 64 | SER 248 | 2/100 | SER 248 | 2/100  |
| 65 | ALA 250 | 2/100 | ALA 250 | 6/100  |
| 66 | ILE 325 | 2/100 | ILE 325 | 26/100 |

|    |         |       |         |        |
|----|---------|-------|---------|--------|
| 67 | LEU 329 | 2/100 | LEU 329 | 2/100  |
| 68 | GLN 330 | 2/100 | GLN 330 | 3/100  |
| 69 | PHE 331 | 2/100 | PHE 331 | 3/100  |
| 70 | THR 23  | 1/100 | -       | -      |
| 71 | VAL 24  | 1/100 | -       | -      |
| 72 | VAL 30  | 1/100 | VAL 30  | 15/100 |
| 73 | ALA 48  | 1/100 | -       | -      |
| 74 | LEU 49  | 1/100 | -       | -      |
| 75 | GLY 79  | 1/100 | -       | -      |
| 76 | LYS 80  | 1/100 | LYS 80  | 9/100  |
| 77 | SER 104 | 1/100 | SER 104 | 6/100  |
| 78 | LEU 106 | 1/100 | LEU 106 | 2/100  |
| 79 | LYS 125 | 1/100 | LYS 125 | 2/100  |
| 80 | TYR 126 | 1/100 | TYR 126 | 1/100  |
| 81 | VAL 135 | 1/100 | VAL 135 | 8/100  |
| 82 | VAL 145 | 1/100 | -       | -      |
| 83 | SER 160 | 1/100 | SER 160 | 5/100  |
| 84 | SER 166 | 1/100 | -       | -      |
| 85 | VAL 188 | 1/100 | -       | -      |
| 86 | LEU 243 | 1/100 | -       | -      |
| 87 | LYS 244 | 1/100 | -       | -      |
| 88 | PRO 271 | 1/100 | -       | -      |
| 89 | LEU 322 | 1/100 | LEU 322 | 3/100  |
| 90 | TRP 323 | 1/100 | -       | -      |
| 91 | GLY 324 | 1/100 | -       | -      |
| 92 | LYS 327 | 1/100 | -       | -      |
| -  | -       | -     | LYS 56  | 4/100  |

|   |   |   |         |       |
|---|---|---|---------|-------|
| - | - | - | ALA 29  | 2/100 |
| - | - | - | GLY 31  | 1/100 |
| - | - | - | ASP 81  | 1/100 |
| - | - | - | ASN 83  | 1/100 |
| - | - | - | VAL 124 | 1/100 |
| - | - | - | ALA 167 | 1/100 |
| - | - | - | SER 196 | 1/100 |
| - | - | - | SER 254 | 1/100 |
| - | - | - | THR 321 | 1/100 |

### 4.3 ΠΙΘΑΝΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ

Σ' αυτό το μέρος ελλιμενισμού, συλλέχθηκαν από τον ιστότοπο Selleckchem τρεις κατηγορίες ενώσεων, προκειμένου να ελεγχθεί το κατά πόσο μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση των καρκινικών κυττάρων. Οι τρεις κατηγορίες ενώσεων, ήταν οι αντικαρκινικές ενώσεις, οι ενώσεις που σχετίζονταν με τον καρκίνο (καρκινικές ενώσεις) και τα φυσικά προϊόντα. Για να γίνει ο έλεγχος, πραγματοποιήθηκε, με τη χρήση του vina autodock, ελλιμενισμός καθεμίας από τις ενώσεις, στη δομή της ανθρώπινης LDH-A με στόχο την εύρεση λύσης που θα βρίσκεται σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης. Οι ενώσεις που έδωσαν λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, είναι οι ενώσεις οι οποίες έχουν τις απαραίτητες ιδιότητες προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα για την καταπολέμηση των καρκινικών κυττάρων. Με άλλα λόγια, οι ενώσεις αυτές είναι φαρμακοφόρα.

Για κάθε ένωση, ο ελλιμενισμός περιελάμβανε τα ακόλουθα βήματα:

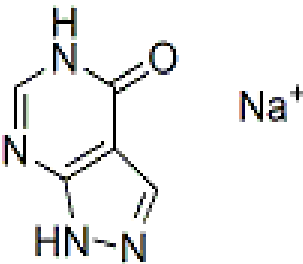
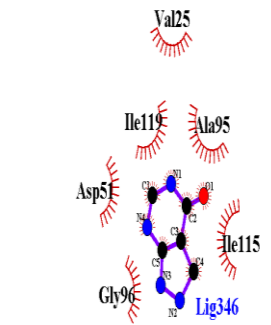
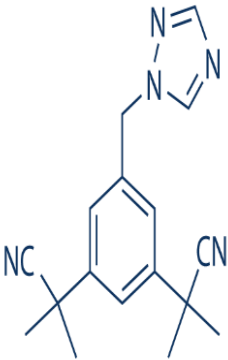
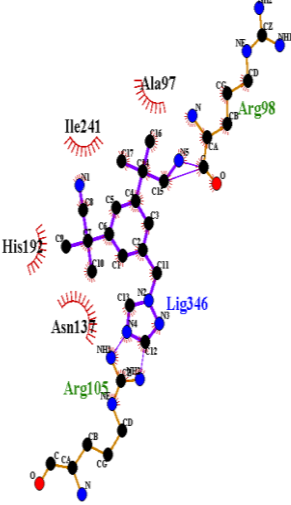
|   |
|---|
| Εισαγωγή της ένωσης και της LDH-A στο PyMOL   |
| Εισαγωγή των αρχείων pdb της ένωσης και της LDH-A στο pmv Autodock  |
| Σχεδιασμός ορθογώνιου χώρου, μελέτης της αλληλεπίδρασης, με συγκεκριμένες διαστάσεις, τοποθετώντας το κέντρο του κουτιού στο αντίστοιχο κέντρο πρόσδεσης υποστρώματος της LDH-A                                     |
| Αποθήκευση τόσο της ένωσης, όσο και της LDH-A σαν αρχεία pdbqt  |
| Δημιουργία αρχείου conf, όπου αναφέρονται τα στοιχεία του υποδοχέα (LDH-A), της ένωσης (compound), καθώς επίσης και οι διαστάσεις του κουτιού που χρησιμοποιήθηκε (center_x,center_y,center_z,size_x,size_y,size_z) |
| Εκτέλεση του προγράμματος vina  |
| Συλλογή αρχείου log με τις διαφορετικές λύσεις  |
| Εισαγωγή όλων των λύσεων και της LDH-A, στο PyMOL και αποθήκευσή τους σαν αρχείο pse  |
| Επιλογή και αποθήκευση της λύσης που έδωσε τη χαμηλότερη ενέργεια αλληλεπίδρασης  |

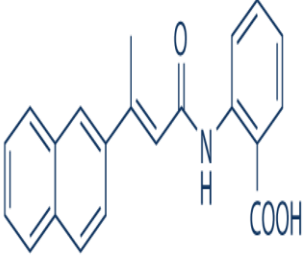
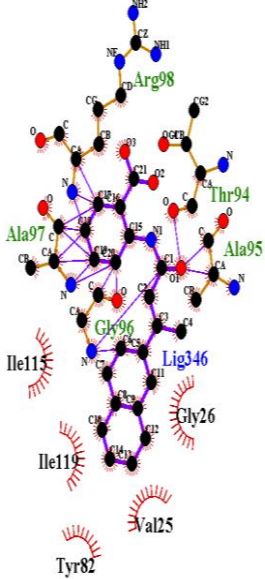
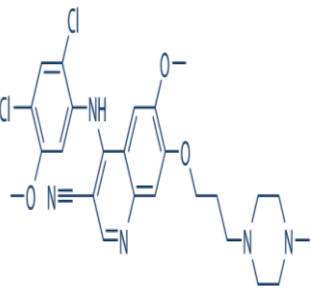
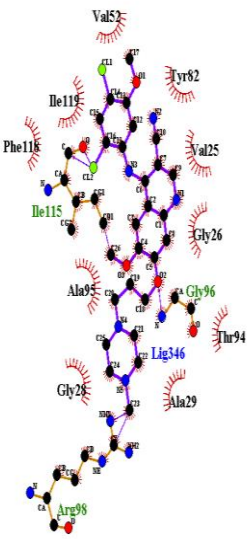
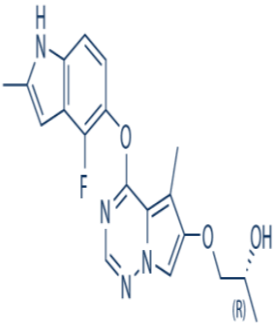
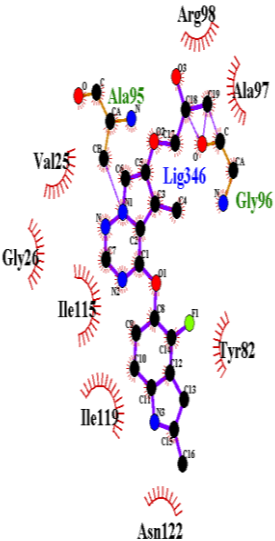
Παρακάτω, παρατίθενται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την καθεμία από τις τρεις κατηγορίες ενώσεων.

### 4.3.1 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

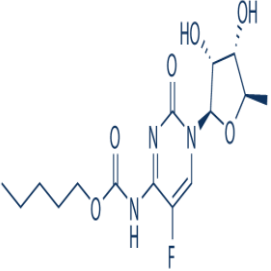
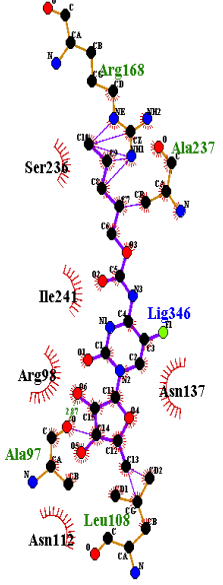
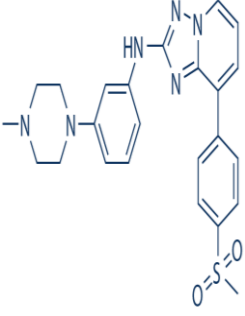
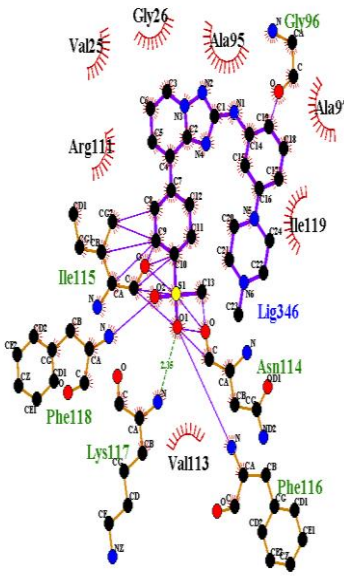
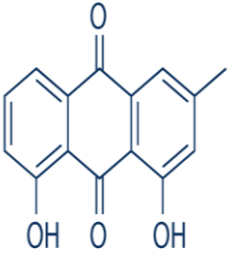
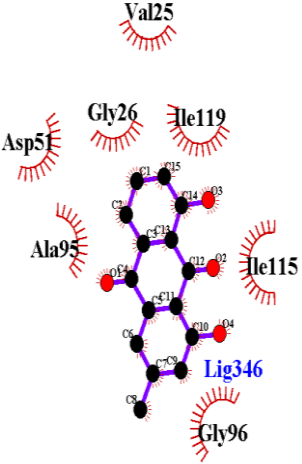
Από την κατηγορία των αντικαρκινικών ενώσεων, συλλέχθηκαν συνολικά 422 ενώσεις, εκ των οποίων μόλις οι 37 έδωσαν, μετά από ελλιμενισμό στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης.

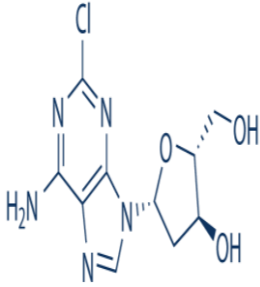
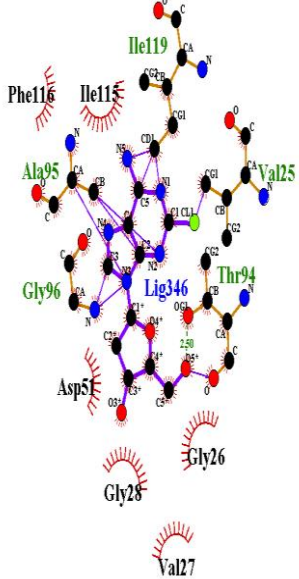
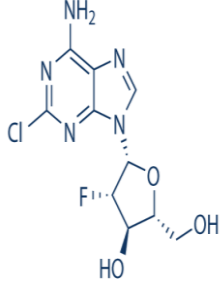
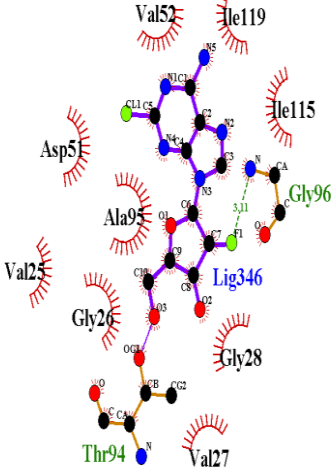
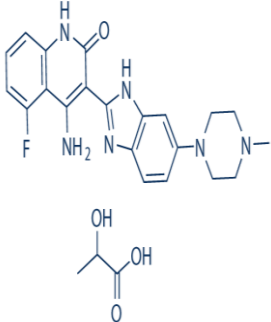
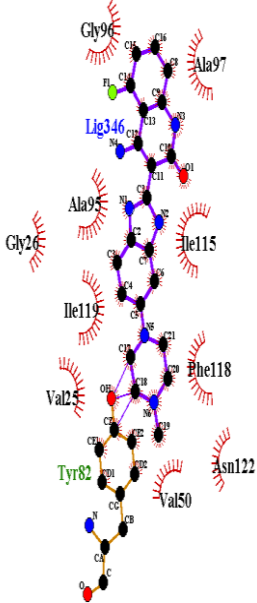
Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται το όνομα και η στερεοδομή της καθεμίας από τις 37 αυτές ενώσεις, τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για την κάθε ένωση, καθώς επίσης και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον ελλιμενισμό της κάθε αντικαρκινικής ένωσης στη δομή της LDH-A.

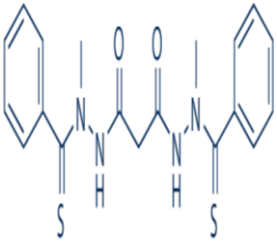
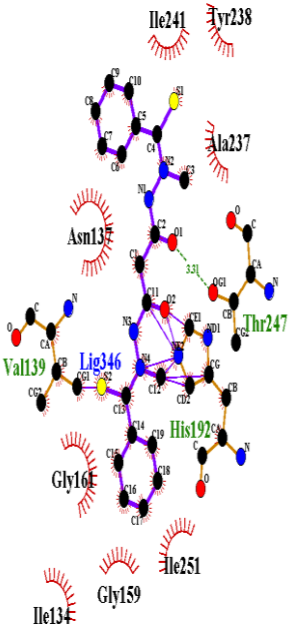
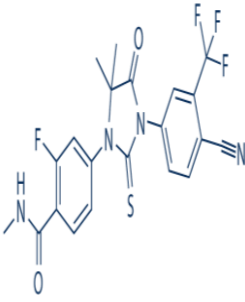
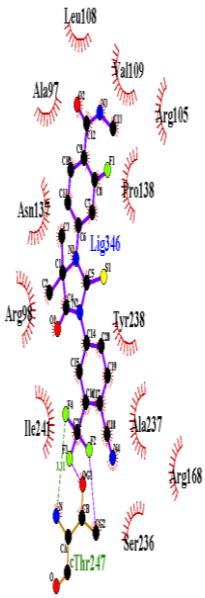
| A.A. | ΕΝΩΣΗ                           | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  | ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΛΥΣΗΣ | ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/mol) | ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ LIGPLOT  |
|------|---------------------------------|---|-------------------------|---------------------|---|
| 1    | ALOPRIM<br>(Allopurinol Sodium) |  | 15                      | -4,4                |  |
| 2    | ANASTROZOLE                     |  | 10                      | -5,9                |  |

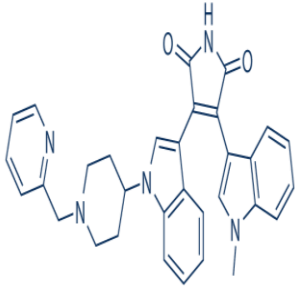
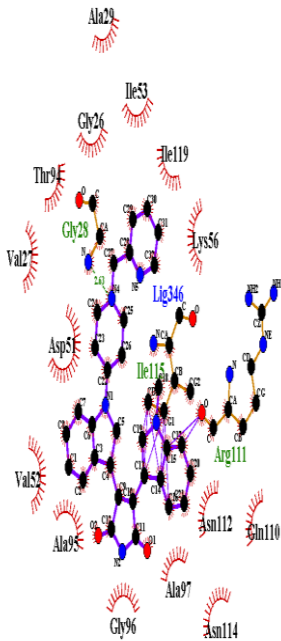
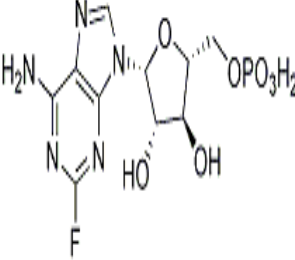
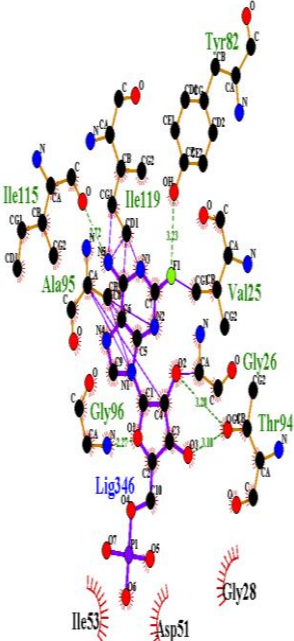
|   |           |   |    |      |   |
|---|-----------|---|----|------|---|
| 3 | BIBR1532  |    | 17 | -6,3 |    |
| 4 | BOSUTINIB |   | 3  | -7,3 |   |
| 5 | BRIVANIB  |  | 5  | -7,5 |  |

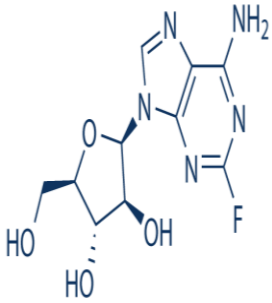
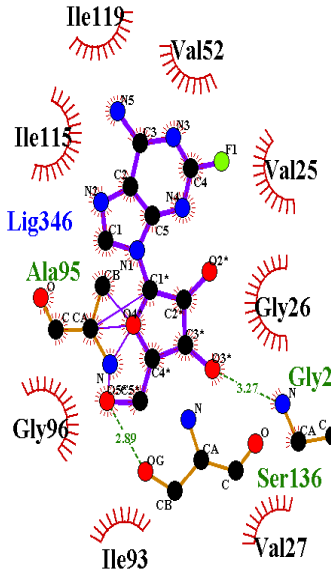
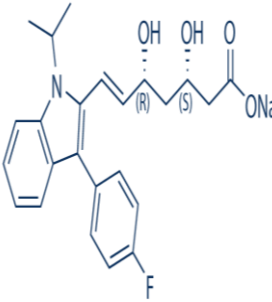
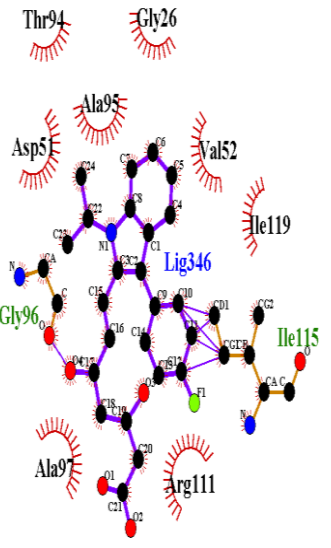
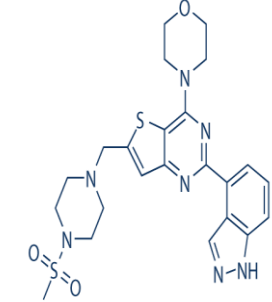
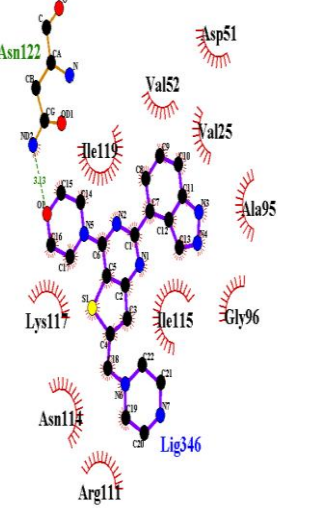


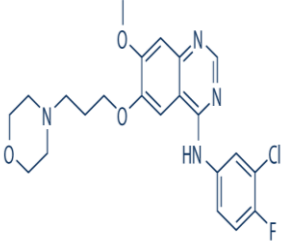
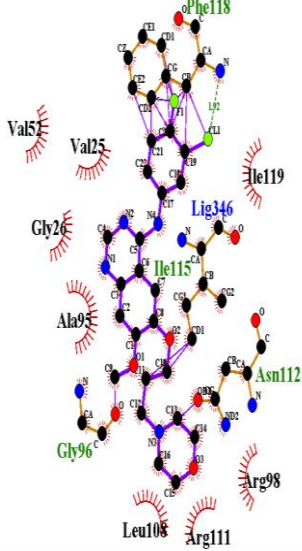
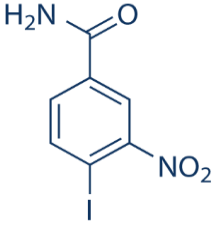
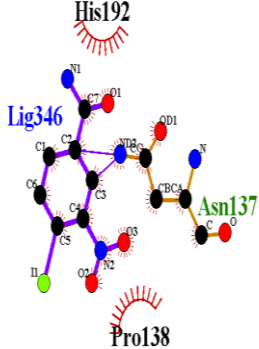
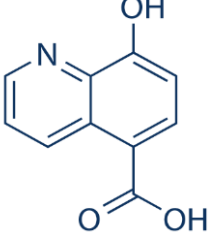
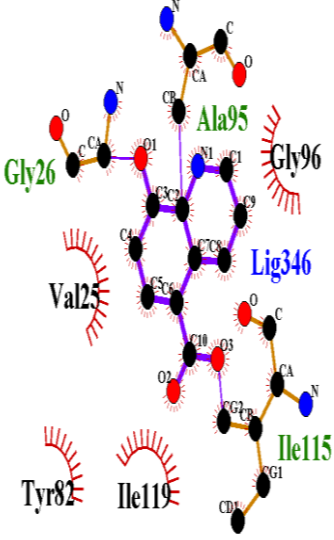
|   |                   |   |    |      |  |
|---|-------------------|---|----|------|--|
| 6 | CAPECITABINE      |  <p>Chemical structure of Capecitabine, a pyrimidine nucleoside analog. It features a 2-fluoro-2-deoxyribose sugar attached to a pyrimidine ring with a fluorine atom at the 5-position and a pentylamino group at the 4-position.</p> | 20 | -5,4 |  <p>3D molecular model of Capecitabine bound to a protein. The ligand is shown in stick representation, with atoms colored by element (carbon in grey, oxygen in red, nitrogen in blue, fluorine in green). Residues are shown as red semi-transparent surfaces. Labeled residues include Arg168, Ser236, Ile241, Arg98, Ala97, Leu108, Asn112, Ala237, and Lig346.</p> |
| 7 | CEP-33779         |  <p>Chemical structure of CEP-33779, a pyridine derivative. It consists of a piperazine ring connected to a pyridine ring, which is further substituted with a pyridine ring and a methylsulfonamide group.</p>                       | 10 | -8,5 |  <p>3D molecular model of CEP-33779 bound to a protein. The ligand is shown in stick representation. Residues are shown as red semi-transparent surfaces. Labeled residues include Val2, Gly26, Ala95, Arg96, Arg111, Ile115, Phe118, Lys117, Val113, Phe116, Asn114, Ile119, and Lig346.</p>  |
| 8 | CHRYSOPHANIC ACID |  <p>Chemical structure of Chrysophanic acid, a naphthoquinone. It features a naphthalene ring system with two carbonyl groups at the 1 and 4 positions and two hydroxyl groups at the 2 and 3 positions.</p>                         | 10 | -6,3 |  <p>3D molecular model of Chrysophanic acid bound to a protein. The ligand is shown in stick representation. Residues are shown as red semi-transparent surfaces. Labeled residues include Val25, Asp51, Gly26, Ala95, Ile119, Ile115, and Lig346.</p>  |

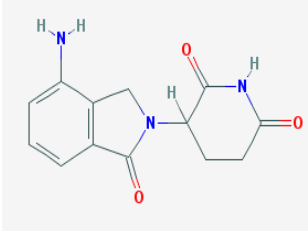
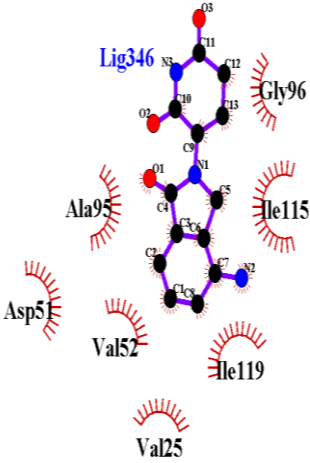
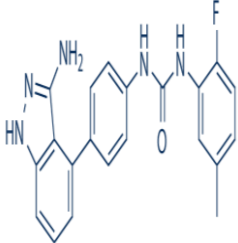
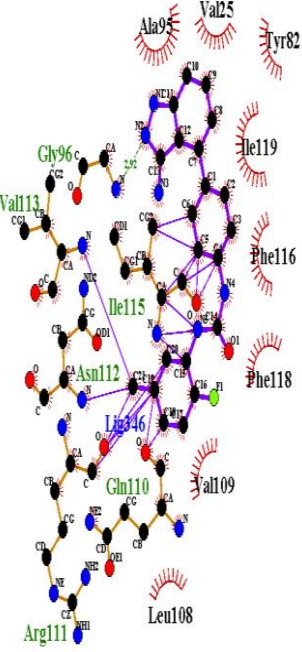
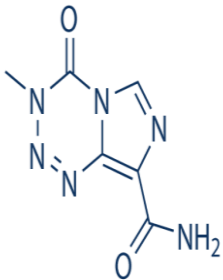
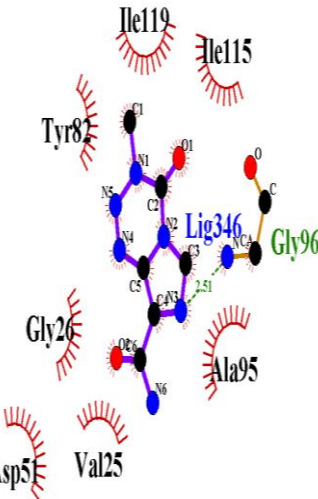
|    |             |   |    |      |   |
|----|-------------|---|----|------|---|
| 9  | CLADRIBINE  |    | 8  | -5,5 |    |
| 10 | CLOFARABINE |   | 13 | -5,5 |   |
| 11 | DOVITINIB   |  | 3  | -8,4 |  |

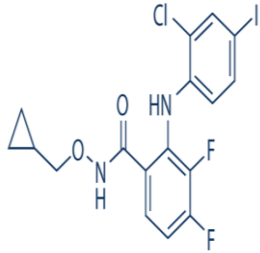
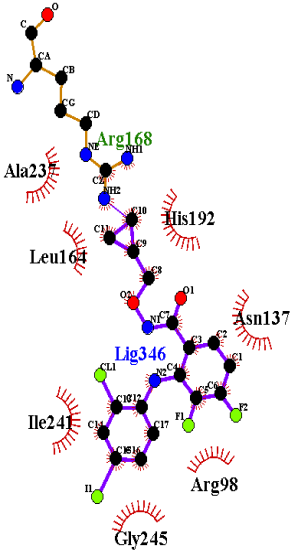
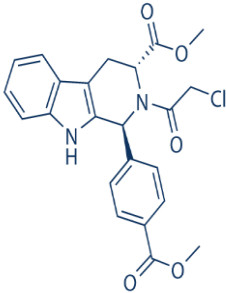
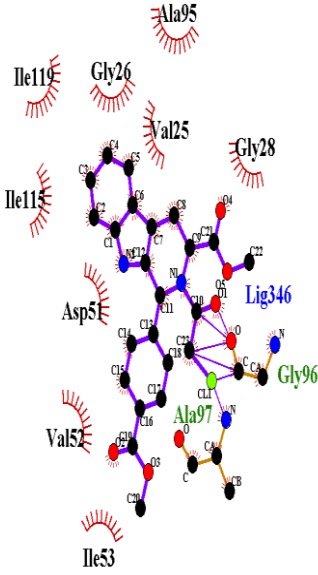
|    |              |  |    |      |  |
|----|--------------|--|----|------|--|
| 12 | ELESCLOMOL   |  <p>The chemical structure of Elesclomol is a symmetrical molecule consisting of two benzamide groups connected by a central 1,3-dithiolane ring. The structure is shown in a skeletal representation.</p>  | 3  | -8,5 |  <p>A 3D ball-and-stick model of the Elesclomol molecule (Lig346) bound to a protein. The ligand is shown in blue and purple, with its atoms labeled (C1-C16, N1-N4, O1-O2, S1-S2). Surrounding amino acid residues are shown as sticks and labeled: Ile241, Tyr238, Ala237, Asn137, Val139, Thr247, His192, Gly161, Ile251, and Gly159. Red dashed lines indicate hydrogen bonds between the ligand and the protein.</p>           |
| 13 | ENZALUTAMIDE |  <p>The chemical structure of Enzalutamide is a complex molecule featuring a central pyridine ring substituted with a cyano group, a trifluoromethyl group, and a dimethylamino group. It is also substituted with a 4-fluorophenyl group and a 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-5-yl group.</p> | 10 | -6,9 |  <p>A 3D ball-and-stick model of the Enzalutamide molecule (Lig346) bound to a protein. The ligand is shown in blue and purple, with its atoms labeled (C1-C16, N1-N4, O1-O2, S1-S2). Surrounding amino acid residues are shown as sticks and labeled: Leu108, Val109, Arg105, Pro138, Asn137, Arg97, Tyr238, Ile241, Ala237, Arg168, and Ser236. Red dashed lines indicate hydrogen bonds between the ligand and the protein.</p> |

|    |                                    |  |   |      |  |
|----|------------------------------------|--|---|------|--|
| 14 | ENZASTAURIN                        |  <p>The chemical structure of Enzastaurin features a central benzimidazole ring system. One nitrogen of the benzimidazole is substituted with a 2-(pyridin-2-ylmethyl)pyrrolidine group. The other nitrogen is substituted with a 2-(1-methyl-1H-benzimidazol-2-yl)phenyl group. A 1,3,4-oxadiazol-2(1H)-one ring is attached to the 2-position of the benzimidazole.</p> | 6 | -8,4 |  <p>The 3D molecular model shows Enzastaurin (Lig346) in a purple stick representation, bound within a protein's active site. The protein backbone is shown in grey, and side chains are in red. Key residues are highlighted with labels: Ala29, Ile53, Gly26, Thr94, Val27, Gly28, Lys56, Asp51, Ile119, Val33, Arg111, Asn112, Gln110, Ala95, Gly96, and Asn114. The ligand is oriented vertically, with its benzimidazole core interacting with the protein's binding pocket.</p> |
| 15 | FLUDARA<br>(Fludarabine phosphate) |  <p>The chemical structure of Fludarabine phosphate consists of a 2-amino-2-fluoro-5-(phosphorooxyethyl)uracil base attached to a ribose sugar. The ribose sugar has hydroxyl groups at the 2' and 3' positions and a phosphate group at the 5' position.</p>  | 9 | -6,5 |  <p>The 3D molecular model shows Fludarabine phosphate (Lig346) in a purple stick representation, bound within a protein's active site. The protein backbone is shown in grey, and side chains are in red. Key residues are highlighted with labels: Tyr82, Ile115, Ile119, Val25, Ala95, Gly26, Gly96, Thr94, and Asp51. The ligand is oriented vertically, with its uracil base interacting with the protein's binding pocket.</p>   |

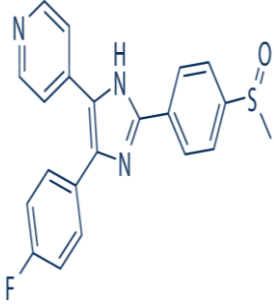
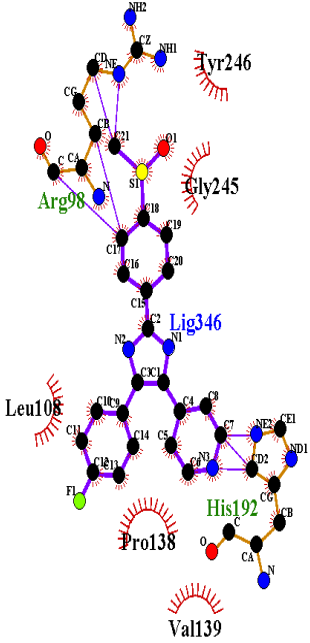
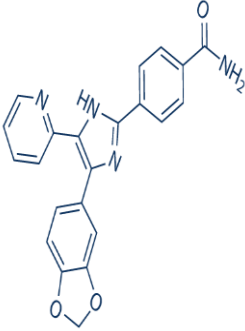
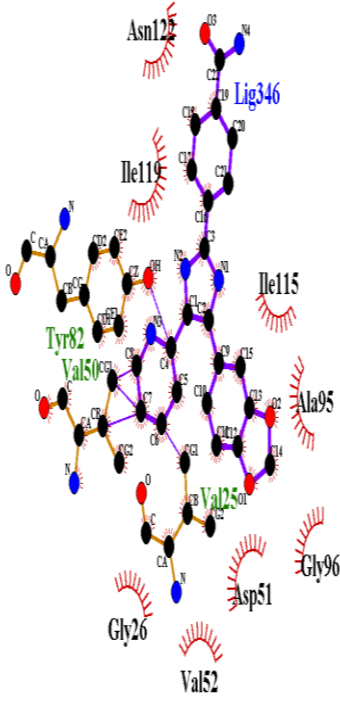
|    |                    |   |    |      |  |
|----|--------------------|---|----|------|--|
| 16 | FLUDARABINE        |  <p>Chemical structure of Fludarabine, a nucleoside analog. It features a ribose sugar ring with hydroxyl groups at the 2' and 3' positions, and a fluorinated pyrimidine base at the 1' position.</p>     | 11 | -5,9 |  <p>3D molecular model showing the binding of Fludarabine (Lig346) to a protein. The ligand is shown in stick representation with atoms colored by element (C: grey, O: red, N: blue, F: green). Surrounding residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues labeled include Ile119, Val52, Val25, Gly26, Ser136, Val27, Ile93, Gly96, and Ala95. Distances of 2.89 Å and 3.27 Å are indicated between the ligand and residues.</p> |
| 17 | FLUVASTATIN SODIUM |  <p>Chemical structure of Fluvastatin Sodium, a statin. It features a central carbon atom bonded to a phenyl ring, a piperidine ring, a hydroxyl group, and a sodium salt of a carboxylic acid group.</p> | 8  | -6,8 |  <p>3D molecular model showing the binding of Fluvastatin Sodium (Lig346) to a protein. The ligand is shown in stick representation. Surrounding residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues labeled include Thr94, Gly26, Ala95, Val52, Ile119, Ile115, Arg111, Ala97, and Gly96.</p>   |
| 18 | GDC-0941           |  <p>Chemical structure of GDC-0941, a kinase inhibitor. It features a central pyrimidine ring system with a morpholine ring, a piperazine ring, and a sulfonamide group.</p>                             | 17 | -7,0 |  <p>3D molecular model showing the binding of GDC-0941 (Lig346) to a protein. The ligand is shown in stick representation. Surrounding residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues labeled include Asn122, Val52, Val25, Ala95, Gly96, Ile115, Lys117, Asn114, and Arg111.</p>  |

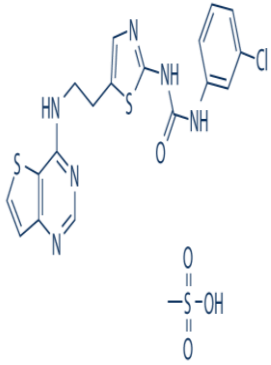
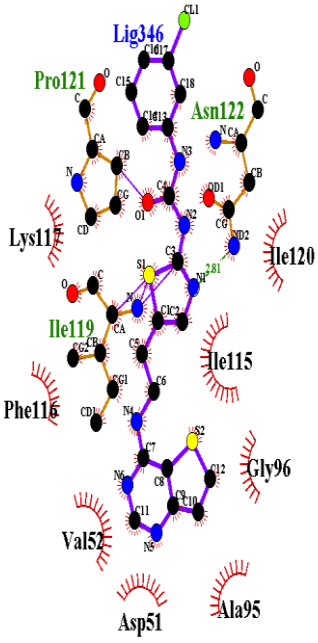
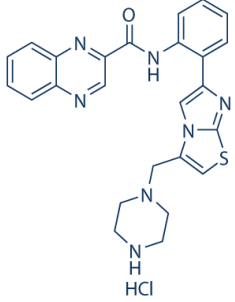
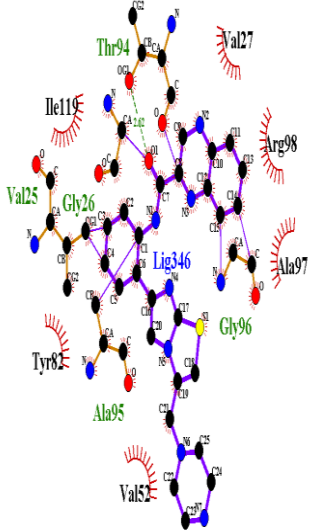
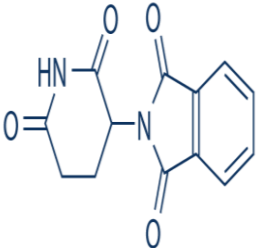
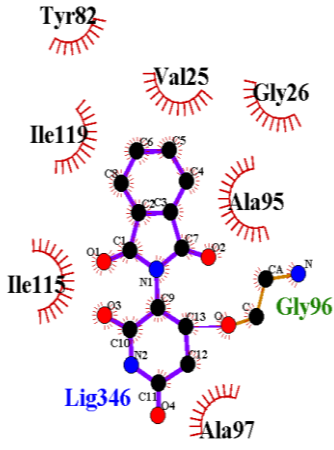
|    |           |   |    |      |   |
|----|-----------|---|----|------|---|
| 19 | GEFITINIB |    | 15 | -6,6 |    |
| 20 | INIPARIB  |   | 20 | -4,1 |   |
| 21 | IOX1      |  | 3  | -5,8 |  |

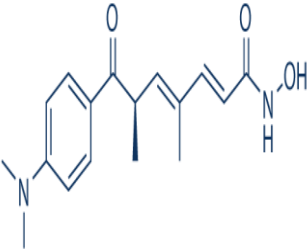
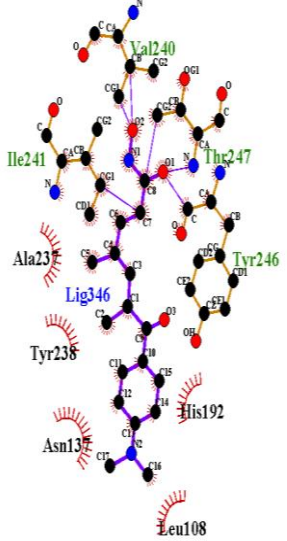
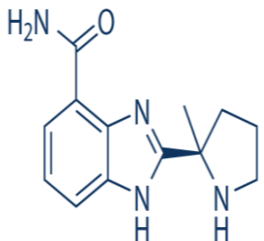
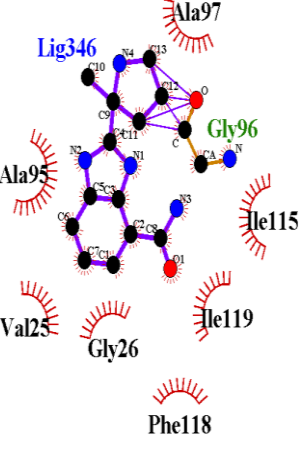
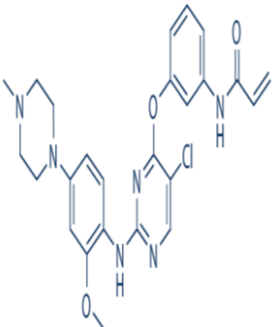
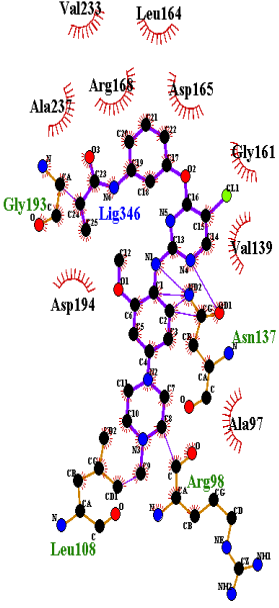
|    |   |   |   |      |   |
|----|---|---|---|------|---|
| 22 | <p>LLENALIDOMIDE</p> <p>(Η στερεοδομή βρέθηκε από την PUBCHEM και όχι από τον ιστότοπο Selleckchem)</p> |    | 1 | -7,0 |    |
| 23 | <p>LINIFANIB</p>  |    | 8 | -8,1 |   |
| 24 | <p>METHAZOLASTONE</p> <p>(Temozolomide)</p>   |  | 5 | -5,2 |  |

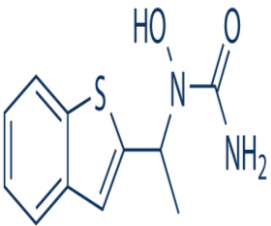
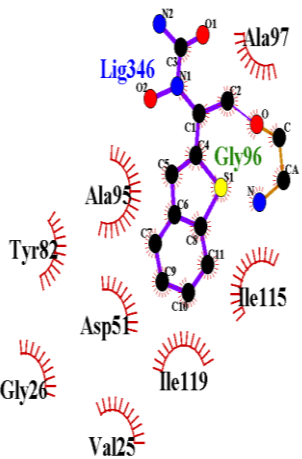
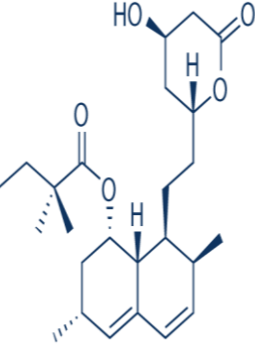
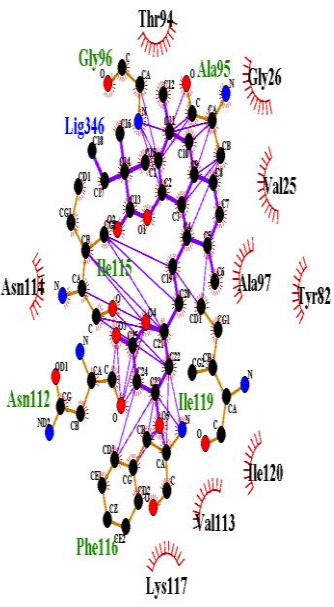
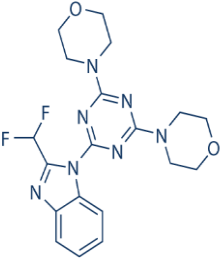
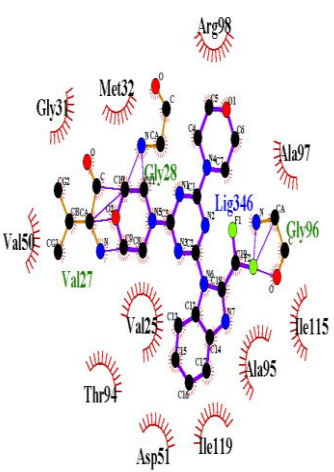
|    |          |  |    |      |   |
|----|----------|--|----|------|---|
| 25 | PD184352 |  <p>Chemical structure of PD184352, a small molecule inhibitor. It features a central benzamide core with a 2,4-difluorophenyl group, a 3-(4-chloro-2-iodophenyl)amino group, and a propylamine-derived side chain.</p> | 13 | -6,2 |  <p>3D molecular model of PD184352 (Lig346) bound to a protein. The ligand is shown in stick representation, with atoms colored by element (carbon in grey, oxygen in red, nitrogen in blue). Surrounding residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues labeled include Ala23, Arg168, Leu164, His192, Asn137, Ile24, Arg98, and Gly245.</p> |
| 26 | RSL3     |  <p>Chemical structure of RSL3, a small molecule inhibitor. It features a central indole ring system with a 4-methoxyphenyl group, a methyl ester group, and a chloroethyl side chain.</p>                             | 13 | -5,9 |  <p>3D molecular model of RSL3 (Lig346) bound to a protein. The ligand is shown in stick representation, with atoms colored by element. Surrounding residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues labeled include Ala95, Ile119, Gly26, Val25, Gly28, Ile115, Asp51, Val52, Ile53, and Ala97.</p>   |



|    |          |   |    |      |   |
|----|----------|---|----|------|---|
| 27 | SB203580 |  <p>Chemical structure of SB203580, a pyridinone derivative. It features a central pyridinone ring substituted with a 4-fluorophenyl group, a 4-methylsulfonylphenyl group, and a 2-pyridyl group.</p>     | 13 | -6,3 |  <p>3D molecular model of SB203580 bound to a protein. The ligand is shown in stick representation with atoms colored by element (C: grey, N: blue, O: red, S: yellow). Key residues are labeled: Tyr246, Gly245, Arg98, Lig346, Leu108, His192, Pro138, and Val139. Red dashed lines indicate hydrogen bonds between the ligand and the protein.</p>                |
| 28 | SB431542 |  <p>Chemical structure of SB431542, a pyridinone derivative. It features a central pyridinone ring substituted with a 4-aminophenyl group, a 2-pyridyl group, and a 2,3-dihydrobenzofuran-5-yl group.</p> | 19 | -6,8 |  <p>3D molecular model of SB431542 bound to a protein. The ligand is shown in stick representation with atoms colored by element (C: grey, N: blue, O: red). Key residues are labeled: Asn125, Lig346, Ile119, Ile115, Tyr82, Val50, Val25, Ala95, Gly96, Asp51, Val52, and Gly26. Red dashed lines indicate hydrogen bonds between the ligand and the protein.</p> |

|    |             |   |    |      |   |
|----|-------------|---|----|------|---|
| 29 | SNS-314     |    | 11 | -6,7 |    |
| 30 | SRT1720     |   | 6  | -8,0 |   |
| 31 | THALIDOMIDE |  | 3  | -6,7 |  |

|    |                |   |    |      |   |
|----|----------------|---|----|------|---|
| 32 | TRICHOSTATIN_A |    | 12 | -5,1 |    |
| 33 | VELIPARIB      |   | 2  | -7,2 |   |
| 34 | WZ4002         |  | 11 | -7,3 |  |

|    |                        |   |    |      |   |
|----|------------------------|---|----|------|---|
| 35 | ZILEUTON               |    | 17 | -5,0 |    |
| 36 | ZOCOR<br>(Simvastatin) |   | 6  | -7,1 |   |
| 37 | ZSTK474                |  | 8  | -7,0 |  |

Για την καθεμία από τις 37 ενώσεις, συλλέχθηκαν βιβλιογραφικά δεδομένα, από την PUBCHEM, όσον αφορά στη θεραπευτική τους δράση έναντι διάφορων ασθενειών,

τα οποία παρατίθενται στο Παράρτημα που έπεται του κυρίως κειμένου της παρούσας διπλωματικής μελέτης.

Στα διαγράμματα του LIGPLOT, το πράσινο χρώμα στο όνομα ενός αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι το εν λόγω κατάλοιπο συμμετέχει σε υδρογονικό δεσμό, ενώ το κόκκινο ημικύκλιο γύρω από το όνομα του αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι συμμετέχει σε υδρόφοβη αλληλεπίδραση.

Για τις ενώσεις, καταγράφηκαν τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A τόσο με βάση το LIGPLOT, όσο και με βάση το PISA. Παρακάτω, παρατίθεται ο πίνακας αποτελεσμάτων με τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A σε κάθε ένωση.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ       | LIGPLOT<br>(AMINOΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | PISA<br>(AMINOΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | ΚΟΙΝΑ<br>(AMINOΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ)  | LIGPLOT<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ PISA | PISA<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>LIGPLOT |
|------|-------------|-------------------------------------|----------------------------------|--|-----------------------------|--------------------------------|
| 1    | ALOPRIM     | 6                                   | 12                               | VAL 25, ASP 51, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(6)                                  | 0                           | 6                              |
| 2    | ANASTROZOLE | 6                                   | 17                               | ALA 97, ARG 98, ARG 105, ASN 137, HIS 192, ILE 241<br>(6)                                | 0                           | 11                             |
| 3    | BIBR1532    | 10                                  | 20                               | VAL 25, GLY 26, TYR 82, THR 94, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG 98, ILE 115, ILE 119<br>(10) | 0                           | 10                             |
| 4    | BOSUTINIB   | 13                                  | 19                               | VAL 25, GLY 26, GLY 28, ALA29, VAL 52, TYR 82,   | 0                           | 6                              |

|   |                   |    |    |   |   |    |
|---|-------------------|----|----|---|---|----|
|   |                   |    |    | THR 94, ALA 95, GLY 96, ARG 98, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(13)                           |   |    |
| 5 | BRIVANIB          | 10 | 16 | VAL 25, GLY 26, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG 98, ILE 115, ILE 119<br>(9)             | 1 | 7  |
| 6 | CAPECITABINE      | 9  | 19 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, ASN 137, ARG 168, SER 236, ALA 237, ILE 241<br>(8)                 | 1 | 11 |
| 7 | CEP-33779         | 13 | 14 | VAL 25, GLY 26, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG 111, ASN 114, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(10) | 3 | 4  |
| 8 | CHRYSOPHANIC ACID | 7  | 14 | VAL 25, GLY 26, ASP 51, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(7)                             | 0 | 7  |
| 9 | CLADRIBINE        | 11 | 15 | VAL 25, GLY 26, GLY 28, ASP 51, THR 94, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119                    | 2 | 6  |

|    |              |    |    |  |   |    |
|----|--------------|----|----|--|---|----|
|    |              |    |    | (9)  |   |    |
| 10 | CLOFARABINE  | 11 | 16 | VAL 25, GLY 26, GLY 28, ASP 51, VAL 52, THR 94, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(10)                         | 1 | 6  |
| 11 | DOVITINIB    | 11 | 18 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(10)                        | 1 | 8  |
| 12 | ELESCLOMOL   | 11 | 21 | ASN 137, VAL 139, GLY 161, HIS 192, ALA 237, TYR 238, ILE 241, THR 247, ILE 251<br>(9)                           | 2 | 12 |
| 13 | ENZALUTAMIDE | 13 | 20 | ALA 97, ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ARG 168, ALA 237, TYR 238, ILE 241, THR 247<br>(12) | 1 | 8  |
| 14 | ENZASTAURIN  | 18 | 21 | GLY 26, VAL 27, GLY 28, ALA 29, ASP 51, VAL 52, ILE 53, LYS 56, THR 94, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG              | 2 | 5  |

|    |                       |    |    |  |   |   |
|----|-----------------------|----|----|--|---|---|
|    |                       |    |    | 111, ASN 114,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(16)   |   |   |
| 15 | FLUDARA               | 11 | 17 | VAL 25, GLY<br>26, GLY 28,<br>ASP 51, ILE 53,<br>TYR 82, THR<br>94, ALA 95,<br>GLY 96, ILE<br>115, ILE 119<br><br>(11) | 0 | 6 |
| 16 | FLUDARABINE           | 11 | 15 | VAL 25, GLY<br>26, GLY 28,<br>VAL 52, ALA<br>95, GLY 96,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(8)                             | 3 | 7 |
| 17 | FLUVASTATIN<br>SODIUM | 10 | 18 | GLY 26, ASP<br>51, VAL 52,<br>THR 94, ALA<br>95, GLY 96,<br>ALA 97, ARG<br>111, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(10)        | 0 | 8 |
| 18 | GDC-0941              | 11 | 14 | VAL 25, ASP<br>51, VAL 52,<br>ALA 95, GLY<br>96, ARG 111,<br>ASN 114, ILE<br>115, ILE 119,<br>ASN 122<br><br>(10)      | 1 | 4 |
| 19 | GEFITINIB             | 12 | 17 | VAL 25, GLY<br>26, VAL 52,<br>ALA 95, GLY<br>96, ARG 98,<br>ARG 111, ILE   | 2 | 7 |



|    |                |    |    |  |   |    |
|----|----------------|----|----|--|---|----|
|    |                |    |    | 115, PHE 118,<br>ILE 119<br><br>(10)   |   |    |
| 20 | INIPARIB       | 3  | 13 | ASN 137, PRO<br>138, HIS 192<br><br>(3)  | 0 | 10 |
| 21 | IOX1           | 7  | 12 | VAL 25, GLY<br>26, TYR 82,<br>ALA 95, GLY<br>96, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(7)              | 0 | 5  |
| 22 | LENALIDOMIDE   | 7  | 14 | VAL 25, ASP<br>51, VAL 52,<br>ALA 95, GLY<br>96, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(7)              | 0 | 7  |
| 23 | LINIFANIB      | 14 | 14 | VAL 25, TYR<br>82, ALA 95,<br>GLY 96, ARG<br>111, ILE 115,<br>PHE 118, ILE<br>119<br><br>(8) | 6 | 6  |
| 24 | METHAZOLASTONE | 8  | 14 | VAL 25, GLY<br>26, ASP 51,<br>TYR 82, ALA<br>95, GLY 96,<br>ILE 115, ILE<br>119<br><br>(8)   | 0 | 6  |
| 25 | PD184352       | 8  | 19 | ARG 98, ASN<br>137, LEU 164,<br>ARG 168, HIS<br>192, ALA 237,<br>ILE 241, GLY<br>245         | 0 | 11 |

|    |          |    |    |  |   |    |
|----|----------|----|----|--|---|----|
|    |          |    |    | (8)  |   |    |
| 26 | RSL3     | 11 | 17 | VAL 25, GLY 26, GLY 28, ASP 51, VAL 52, ILE 53, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, ILE 119<br>(11) | 0 | 6  |
| 27 | SB203580 | 7  | 15 | ARG 98, LEU 108, PRO 138, VAL 139, HIS 192, GLY 245, TYR 246<br>(7)                              | 0 | 8  |
| 28 | SB431542 | 11 | 15 | VAL 25, GLY 26, VAL 50, ASP 51 VAL 52, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119, ASN 122<br>(11) | 0 | 4  |
| 29 | SNS-314  | 11 | 16 | ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115, LYS 117, ILE 119, PRO 121, ASN 122<br>(9)               | 2 | 7  |
| 30 | SRT1720  | 11 | 21 | VAL 25, GLY 26, VAL 52, TYR 82, THR 94, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG 98, ILE 119<br>(10)          | 1 | 11 |

|    |                |    |    |   |   |    |
|----|----------------|----|----|---|---|----|
| 31 | THALIDOMIDE    | 8  | 15 | VAL 25, GLY 26, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, ILE 119<br>(8)   | 0 | 7  |
| 32 | TRICHOSTATIN_A | 9  | 16 | LEU 108, ASN 137, HIS 192, ALA 237, TYR 238, ILE 241, TYR 246, THR 247<br>(8)   | 1 | 8  |
| 33 | VELIPARIB      | 8  | 15 | VAL 25, GLY 26, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(8)  | 0 | 7  |
| 34 | WZ4002         | 13 | 24 | ALA 97, ARG 98, LEU 108, ASN 137, VAL 139, GLY 161, LEU 164, ASP 165, ARG 168, GLY 193, ASP 194, VAL 233, ALA 237<br>(13) | 0 | 11 |
| 35 | ZILEUTON       | 9  | 16 | VAL 25, VAL 26, ASP 51, TYR 82, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, ILE 119<br>(9)   | 0 | 7  |
| 36 | ZOCOR          | 15 | 16 | VAL 25, GLY 26, TYR 82,   | 6 | 7  |

|    |         |    |    |  |   |   |
|----|---------|----|----|--|---|---|
|    |         |    |    | THR 94, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ILE 115, ILE 119<br>(9)  |   |   |
| 37 | ZSTK474 | 14 | 19 | VAL 25, GLY 28, GLY 31, VAL 50, ASP 51, THR 94, ALA 95, GLY 96, ALA 97, ARG 98, ILE 115, ILE 119<br>(12) | 2 | 7 |

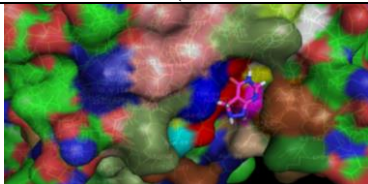

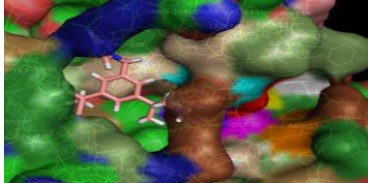
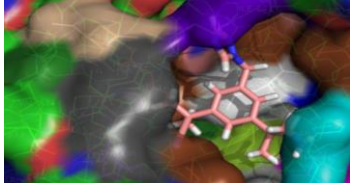
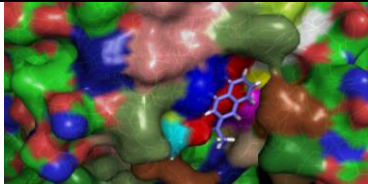
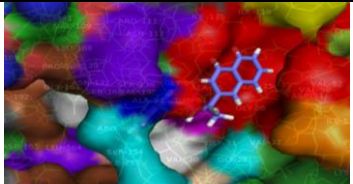
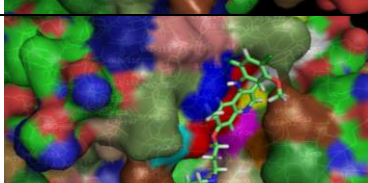

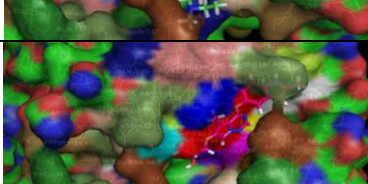
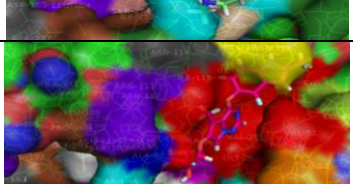
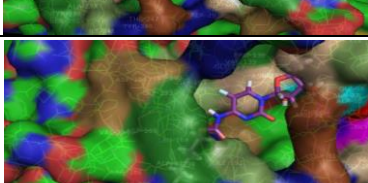

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, προκύπτει ο ακόλουθος πίνακας όπου αναφέρονται τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A –αμινοξικά κατάλοιπα που συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με πολλές αντικαρκινικές ενώσεις–, με βάση το LIGPLOT και το PISA.

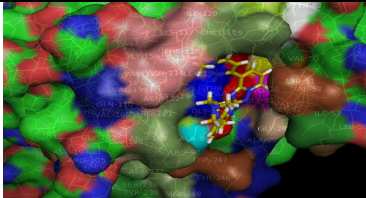
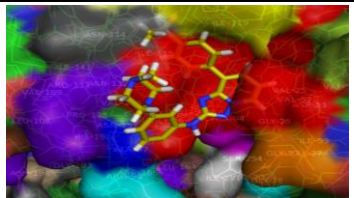
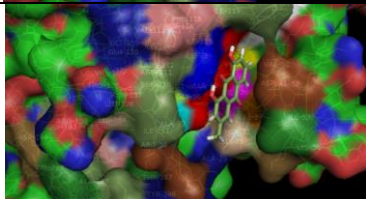

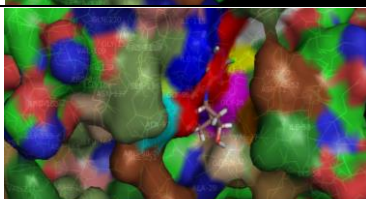

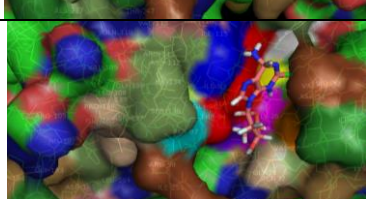
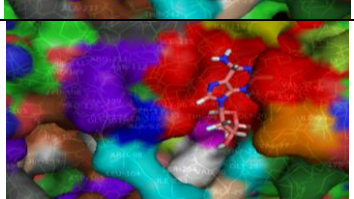
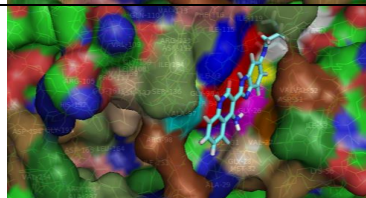

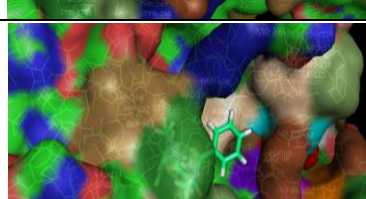



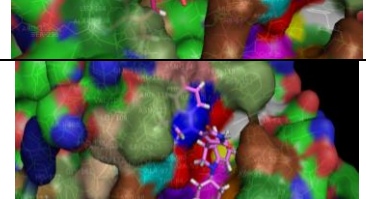
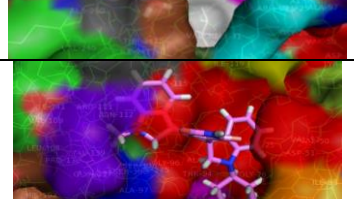
| A.A. | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (LIGPLOT) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (LIGPLOT) | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (PISA) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (PISA) |
|------|-------------------------------|---|----------------------------|--|
| 1    | ALA 95                        | 28/37   | ALA 95                     | 28/37  |
| 2    | GLY 96                        | 28/37   | GLY 96                     | 28/37  |
| 3    | ILE 119                       | 28/37   | ILE 119                    | 28/37  |
| 4    | ILE 115                       | 27/37   | ILE 115                    | 28/37  |
| 5    | VAL 25                        | 25/37   | VAL 25                     | 28/37  |
| 6    | GLY 26                        | 22/37   | GLY 26                     | 28/37  |
| 7    | ALA 97                        | 17/37   | ALA 97                     | 26/37  |
| 8    | ASP 51                        | 15/37   | ASP 51                     | 28/37  |
| 9    | TYR 82                        | 13/37   | TYR 82                     | 28/37  |
| 10   | VAL 52                        | 12/37   | VAL 52                     | 28/37  |
| 11   | ARG 98                        | 12/37   | ARG 98                     | 19/37  |

|    |         |       |         |       |
|----|---------|-------|---------|-------|
| 12 | THR 94  | 10/37 | THR 94  | 20/37 |
| 13 | GLY 28  | 8/37  | GLY 28  | 19/37 |
| 14 | ASN 137 | 8/37  | ASN 137 | 11/37 |
| 15 | LEU 108 | 7/37  | LEU 108 | 9/37  |
| 16 | VAL 27  | 6/37  | VAL 27  | 2/37  |
| 17 | ARG 111 | 6/37  | ARG 111 | 8/37  |
| 18 | PHE 118 | 6/37  | PHE 118 | 24/37 |
| 19 | HIS 192 | 6/37  | HIS 192 | 9/37  |
| 20 | ALA 237 | 6/37  | ALA 237 | 8/37  |
| 21 | ILE 241 | 6/37  | ILE 241 | 9/37  |
| 22 | ASN 112 | 5/37  | ASN 112 | 2/37  |
| 23 | PHE 116 | 5/37  | -       | -     |
| 24 | ASN 122 | 5/37  | ASN 122 | 3/37  |
| 25 | ASN 114 | 4/37  | ASN 114 | 7/37  |
| 26 | LYS 117 | 4/37  | LYS 117 | 4/37  |
| 27 | ARG 168 | 4/37  | ARG 168 | 8/37  |
| 28 | VAL 50  | 3/37  | VAL 50  | 28/37 |
| 29 | ILE 53  | 3/37  | ILE 53  | 18/37 |
| 30 | VAL 113 | 3/37  | -       | -     |
| 31 | PRO 138 | 3/37  | PRO 138 | 9/37  |
| 32 | VAL 139 | 3/37  | VAL 139 | 3/37  |
| 33 | TYR 238 | 3/37  | TYR 238 | 7/37  |
| 34 | THR 247 | 3/37  | THR 247 | 9/37  |
| 35 | ALA 29  | 2/37  | ALA 29  | 6/37  |
| 36 | ARG 105 | 2/37  | ARG 105 | 8/37  |
| 37 | VAL 109 | 2/37  | VAL 109 | 3/37  |
| 38 | GLN 110 | 2/37  | -       | -     |
| 39 | ILE 120 | 2/37  | -       | -     |
| 40 | GLY 161 | 2/37  | GLY 161 | 2/37  |
| 41 | LEU 164 | 2/37  | LEU 164 | 8/37  |
| 42 | SER 236 | 2/37  | SER 236 | 1/37  |
| 43 | GLY 245 | 2/37  | GLY 245 | 2/37  |
| 44 | TYR 246 | 2/37  | TYR 246 | 5/37  |
| 45 | GLY 31  | 1/37  | GLY 31  | 7/37  |
| 46 | MET 32  | 1/37  | -       | -     |
| 47 | LYS 56  | 1/37  | LYS 56  | 2/37  |
| 48 | ILE 93  | 1/37  | -       | -     |
| 49 | PRO 121 | 1/37  | PRO 121 | 2/37  |
| 50 | ILE 134 | 1/37  | -       | -     |
| 51 | SER 136 | 1/37  | SER 136 | 4/37  |
| 52 | GLY 159 | 1/37  | -       | -     |
| 53 | ASP 165 | 1/37  | ASP 165 | 2/37  |
| 54 | GLY 193 | 1/37  | GLY 193 | 7/37  |
| 55 | ASP 194 | 1/37  | ASP 194 | 6/37  |
| 56 | VAL 233 | 1/37  | VAL 233 | 2/37  |
| 57 | VAL 240 | 1/37  | VAL 240 | 1/37  |
| 58 | ILE 251 | 1/37  | ILE 251 | 3/37  |
| -  | -       | -     | VAL 30  | 11/37 |
| -  | -       | -     | LYS 80  | 4/37  |
| -  | -       | -     | VAL 135 | 4/37  |
| -  | -       | -     | ILE 141 | 2/37  |
| -  | -       | -     | SER 160 | 2/37  |
| -  | -       | -     | VAL 234 | 2/37  |

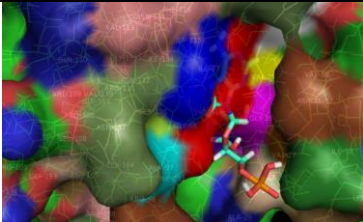
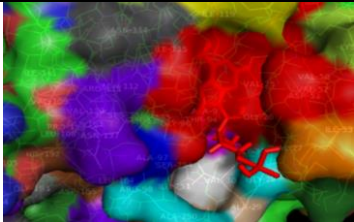
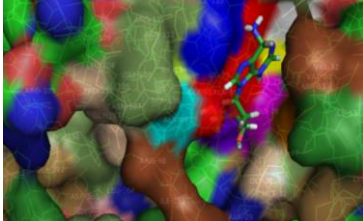
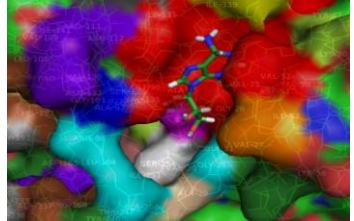
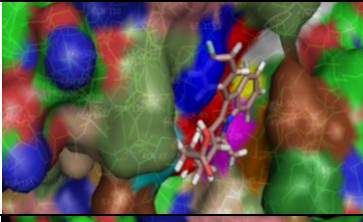

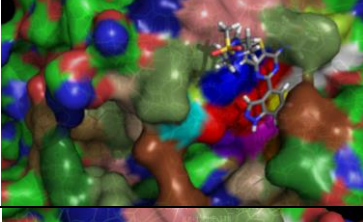
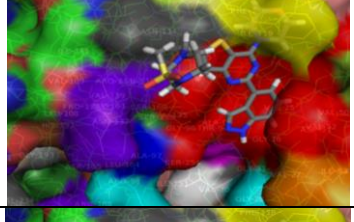
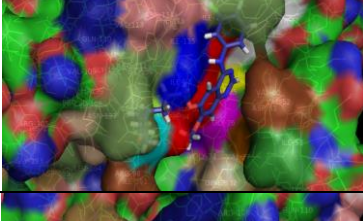
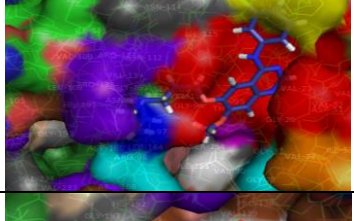
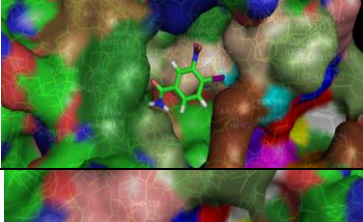
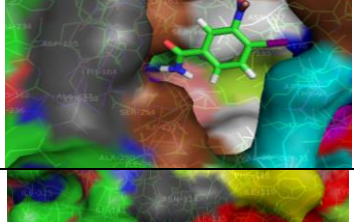
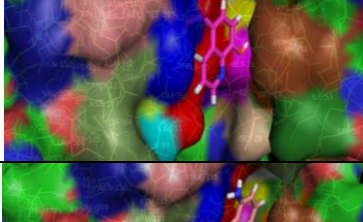
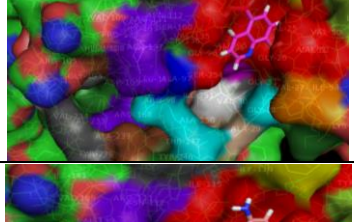
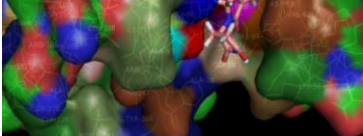
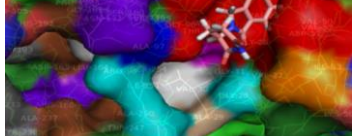
|   |   |   |         |      |
|---|---|---|---------|------|
| - | - | - | LYS 125 | 1/37 |
| - | - | - | ALA 250 | 1/37 |
| - | - | - | SER 254 | 1/37 |
| - | - | - | ILE 325 | 1/37 |

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται κάποιες εικόνες, στις οποίες φαίνονται οι αντικαρκινικές ενώσεις έτσι όπως τοποθετούνται μέσα στα κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, καθώς επίσης και τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της πρωτεΐνης, όπως προέκυψαν με βάση το LIGPLOT και το PISA.

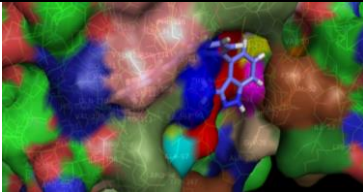
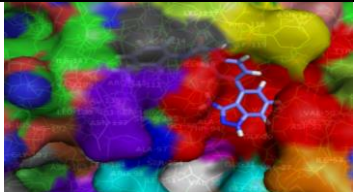
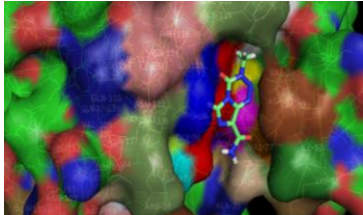
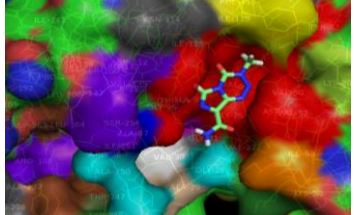
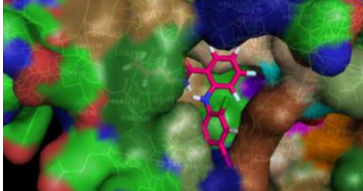

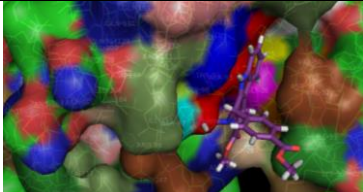
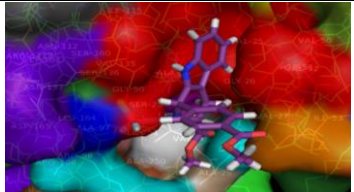


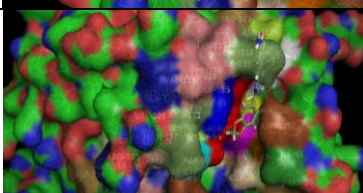
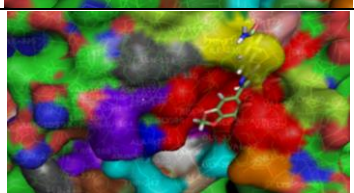
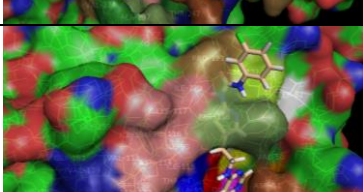
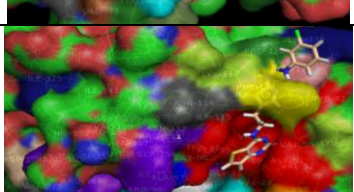

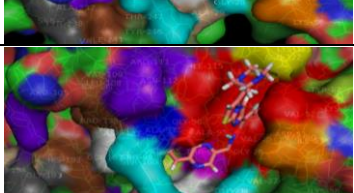
| A.A. | ΕΝΩΣΗ        | ΕΙΚΟΝΑ(LIGPLOT)   | ΕΙΚΟΝΑ(PISA)  |
|------|--------------|---|---|
| 1    | ALOPRIM      |    |    |
| 2    | ANASTROZOLE  |   |   |
| 3    | BIBR1532     |  |  |
| 4    | BOSUTINIB    |  |  |
| 5    | BRIVANIB     |  |  |
| 6    | CAPECITABINE |  |  |

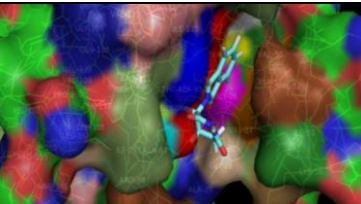
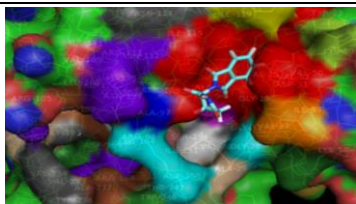
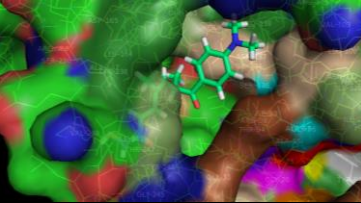
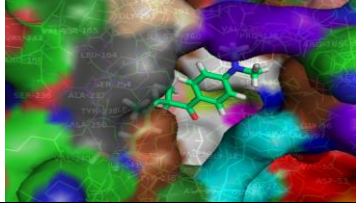
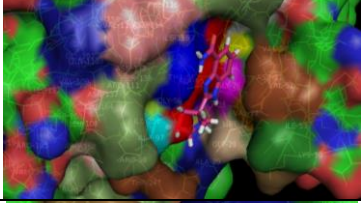
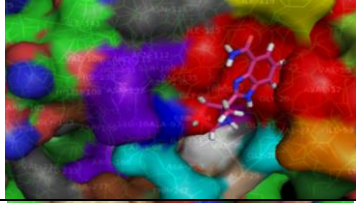
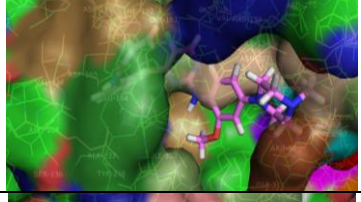

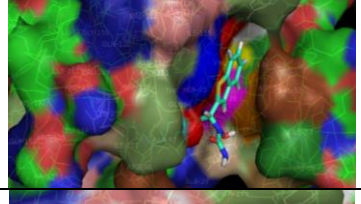
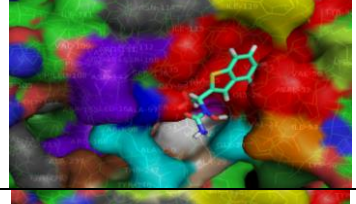
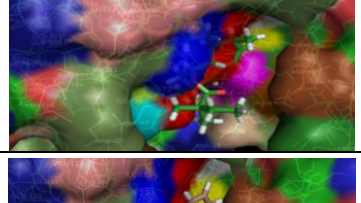
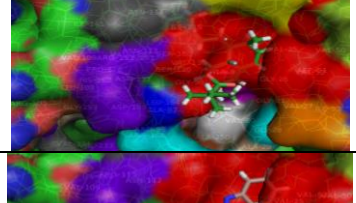
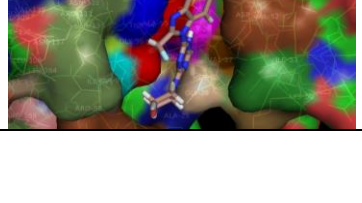

|    |                   |   |   |
|----|-------------------|---|---|
| 7  | CEP-33779         |    |    |
| 8  | CHRYSOPHANIC ACID |    |    |
| 9  | CLADRIBINE        |    |    |
| 10 | CLOFARABINE       |    |    |
| 11 | DOVITINIB         |   |   |
| 12 | ELESCLOMOL        |  |  |
| 13 | ENZALUTAMIDE      |  |  |
| 14 | ENZASTAURIN       |  |  |



|    |                    |   |   |
|----|--------------------|---|---|
| 15 | FLUDARA            |    |    |
| 16 | FLUDARABINE        |    |    |
| 17 | FLUVASTATIN SODIUM |    |    |
| 18 | GDC-0941           |   |   |
| 19 | GEFITINIB          |  |  |
| 20 | INIPARIB           |  |  |
| 21 | IOX1               |  |  |
| 22 | LENALIDOMIDE       |  |  |



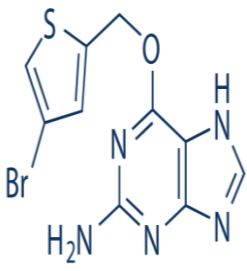
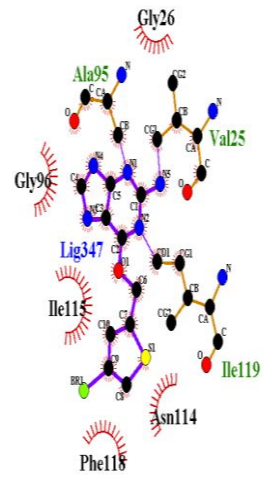
|    |                |   |   |
|----|----------------|---|---|
| 23 | LINIFANIB      |    |    |
| 24 | METHAZOLASTONE |    |    |
| 25 | PD184352       |    |    |
| 26 | RSL3           |    |    |
| 27 | SB203580       |  |  |
| 28 | SB431542       |  |  |
| 29 | SNS-314        |  |  |
| 30 | SRT1720        |  |  |

|    |                |   |   |
|----|----------------|---|---|
| 31 | THALIDOMIDE    |    |    |
| 32 | TRICHOSTATIN_A |    |    |
| 33 | VELIPARIB      |    |    |
| 34 | WZ4002         |   |   |
| 35 | ZILEUTON       |  |  |
| 36 | ZOCOR          |  |  |
| 37 | ZSTK474        |  |  |

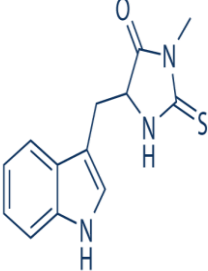
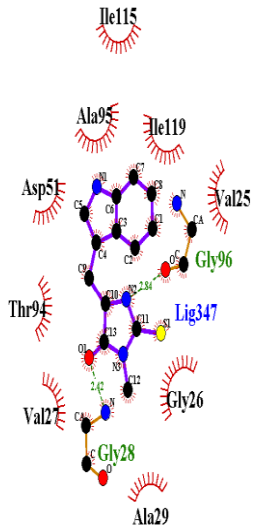
### 4.3.2 ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Από την κατηγορία των ενώσεων που σχετίζονται με τον καρκίνο, συλλέχθηκαν συνολικά 20 ενώσεις, εκ των οποίων μόλις οι 2 έδωσαν, μετά από ελλιμενισμό στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης.

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται το όνομα και η στερεοδομή της καθεμίας από τις 2 αυτές ενώσεις, τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για την κάθε ένωση, καθώς επίσης και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον ελλιμενισμό της κάθε ένωσης, που σχετίζεται με τον καρκίνο, στη δομή της LDH-A.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ       | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  | ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΛΥΣΗΣ | ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/mol) | ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ LIGPLOT  |
|------|-------------|---|-------------------------|---------------------|---|
| 1    | LOMEGUATRIB |  | 16                      | -5,4                |  |



|   |               |   |   |      |   |
|---|---------------|---|---|------|---|
| 2 |               |  |   |      |  |
|   | NECROSTATIN-1 |   | 6 | -6,6 |   |

Για την καθεμία από τις 2 ενώσεις συλλέχθηκαν βιβλιογραφικά δεδομένα από τη βάση δεδομένων PUBCHEM, όσον αφορά στη θεραπευτική τους δράση έναντι διάφορων ασθενειών, τα οποία παρατίθενται στο Παράρτημα που έπεται του κυρίως κειμένου της παρούσας διπλωματικής μελέτης.

Στα διαγράμματα του LIGPLOT, το πράσινο χρώμα στο όνομα ενός αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι το εν λόγω κατάλοιπο συμμετέχει σε υδρογονικό δεσμό, ενώ το κόκκινο ημικύκλιο γύρω από το όνομα του αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι συμμετέχει σε υδρόφοβη αλληλεπίδραση.

Για τις ενώσεις, καταγράφηκαν τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A τόσο με βάση το LIGPLOT, όσο και με βάση το PISA. Παρακάτω, παρατίθεται ο πίνακας αποτελεσμάτων με τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A σε κάθε ένωση.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ       | LIGPLOT<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | PISA<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | ΚΟΙΝΑ<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ)   | LIGPLOT<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>PISA | PISA<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>LIGPLOT |
|------|-------------|-------------------------------------|----------------------------------|---|--------------------------------|--------------------------------|
| 1    | LOMEGUATRIB | 8                                   | 13                               | VAL 25, GLY 26, ALA 95, GLY 96, ASN 114, ILE 115, PHE 118, ILE 119<br>(8) | 0                              | 5                              |

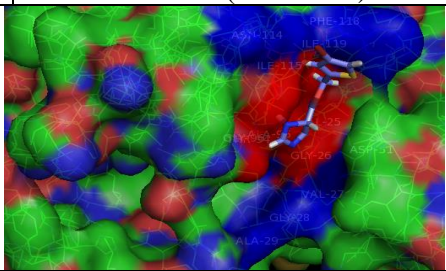
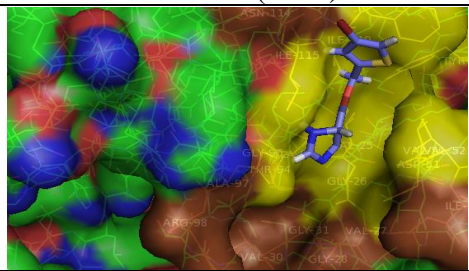
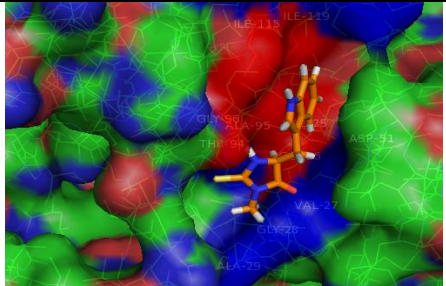
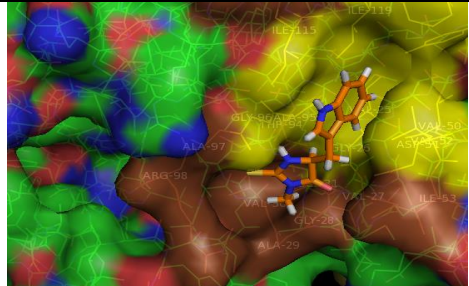
|   |               |    |    |  |   |   |
|---|---------------|----|----|--|---|---|
| 2 |               | 11 | 20 | VAL 25, GLY 26, VAL 27, GLY 28, ALA 29, ASP 51, THR 94, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(11) | 0 | 9 |
|   | NECROSTATIN-1 |    |    |  |   |   |

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, προκύπτει ο ακόλουθος πίνακας όπου αναφέρονται τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A –αμινοξικά κατάλοιπα που συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με πολλές ενώσεις που σχετίζονται με τον καρκίνο-, με βάση το LIGPLOT και το PISA.

| A.A. | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (LIGPLOT) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (LIGPLOT) | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ (PISA) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (PISA) |
|------|-------------------------------|---|----------------------------|--|
| 1    | VAL 25                        | 2/2   | VAL 25                     | 2/2  |
| 2    | GLY 26                        | 2/2   | GLY 26                     | 2/2  |
| 3    | ALA 95                        | 2/2   | ALA 95                     | 2/2  |
| 4    | GLY 96                        | 2/2   | GLY 96                     | 2/2  |
| 5    | ILE 115                       | 2/2   | ILE 115                    | 2/2  |
| 6    | ILE 119                       | 2/2   | ILE 119                    | 2/2  |
| 7    | VAL 27                        | 1/2   | VAL 27                     | 1/2  |
| 8    | GLY 28                        | 1/2   | GLY 28                     | 1/2  |
| 9    | ALA 29                        | 1/2   | ALA 29                     | 1/2  |
| 10   | ASP 51                        | 1/2   | ASP 51                     | 2/2  |

|    |         |     |         |     |
|----|---------|-----|---------|-----|
| 11 | THR 94  | 1/2 | THR 94  | 1/2 |
| 12 | ASN 114 | 12  | ASN 114 | 1/2 |
| 13 | PHE 118 | 1/2 | PHE 118 | 2/2 |
| -  | -       | -   | VAL 50  | 2/2 |
| -  | -       | -   | VAL 52  | 2/2 |
| -  | -       | -   | TYR 82  | 2/2 |
| -  | -       | -   | VAL 30  | 1/2 |
| -  | -       | -   | GLY 31  | 1/2 |
| -  | -       | -   | ILE 53  | 1/2 |
| -  | -       | -   | ALA 97  | 1/2 |
| -  | -       | -   | ARG 98  | 1/2 |
| -  | -       | -   | LYS 117 | 1/2 |

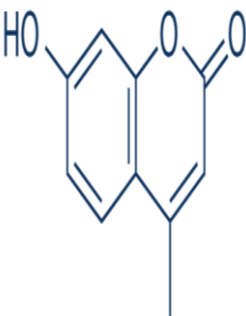
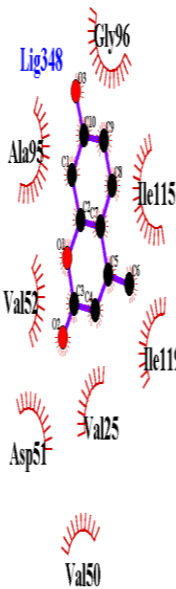
Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται κάποιες εικόνες, στις οποίες φαίνονται οι ενώσεις που σχετίζονται με τον καρκίνο, έτσι όπως τοποθετούνται μέσα στα κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, καθώς επίσης και τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της πρωτεΐνης, όπως προέκυψαν με βάση το LIGPLOT και το PISA.

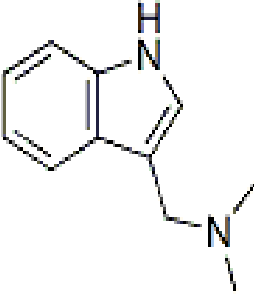
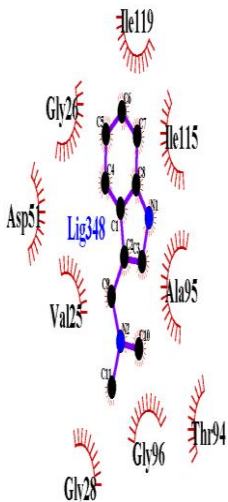
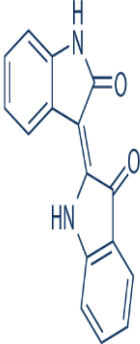
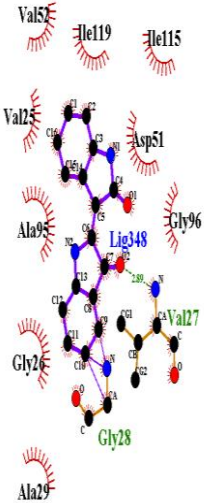
| A.A. | ΕΝΩΣΗ         | ΕΙΚΟΝΑ (LIGPLOT)  | ΕΙΚΟΝΑ (PISA)  |
|------|---------------|---|--|
| 1    | LOMEGUATRIB   |  |  |
| 2    | NECROSTATIN-1 |  |  |

### 4.3.3 ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

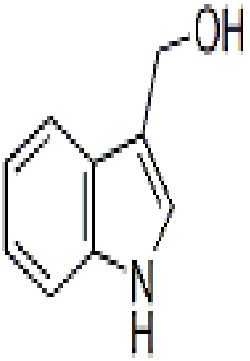
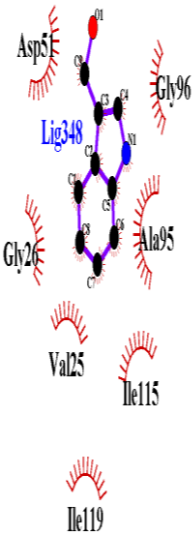
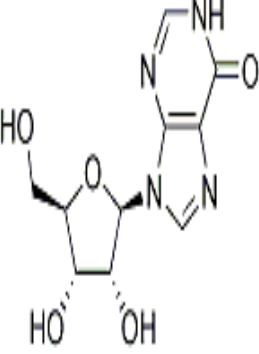
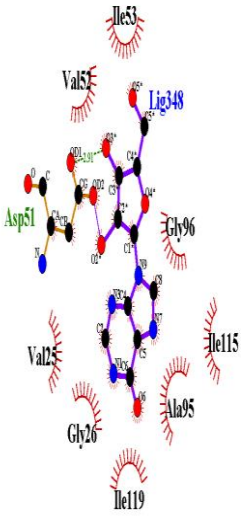
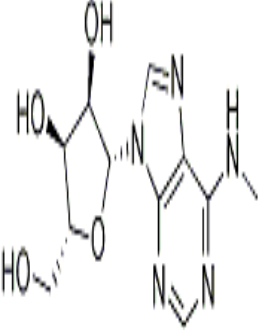
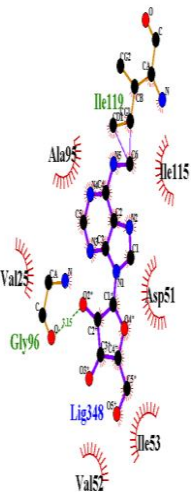
Από την κατηγορία των φυσικών προϊόντων, συλλέχθηκαν συνολικά 121 ενώσεις, εκ των οποίων μόλις οι 9 έδωσαν, μετά από ελλιμενισμό στη δομή της LDH-A, λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης.

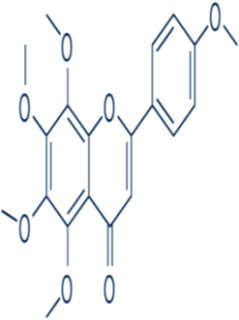
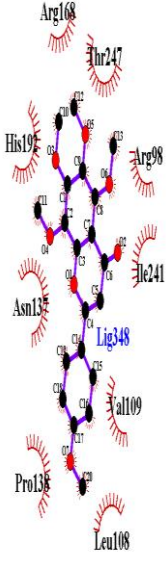
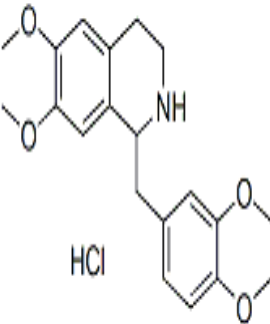
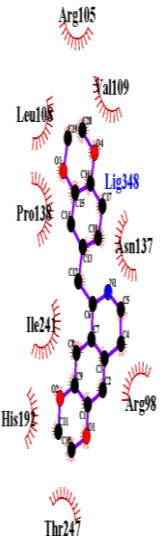
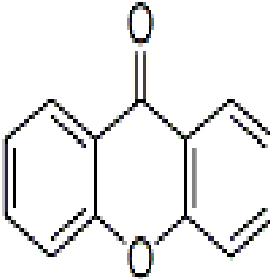
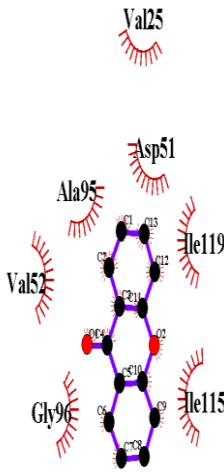
Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται το όνομα και η στερεοδομή της καθεμίας από τις 9 αυτές ενώσεις, τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για την κάθε ένωση, καθώς επίσης και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον ελλιμενισμό του κάθε φυσικού προϊόντος στη δομή της LDH-A.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ                 | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  | ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΛΥΣΗΣ | ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/mol) | ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ LIGPLOT  |
|------|-----------------------|---|-------------------------|---------------------|---|
| 1    | 4-METHYLUMBELLIFERONE |  | 2                       | -6,1                |  |

|   |           |  |   |      |  |
|---|-----------|--|---|------|--|
| 2 | GRAMINE   |   | 8 | -5,3 |   |
| 3 | INDIRUBIN |  | 7 | -7,2 |  |



|   |                    |   |   |      |   |
|---|--------------------|---|---|------|---|
| 4 | INDOLE-3-CARBINOL  |  <p>Chemical structure of Indole-3-carbinol, showing an indole ring system with a hydroxymethyl group (-CH<sub>2</sub>OH) attached to the 3-position of the indole ring.</p>                           | 6 | -5,2 |  <p>3D molecular model of Indole-3-carbinol (Lig348) bound in a protein pocket. The ligand is shown in blue sticks, and the protein residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues shown include Asp51, Gly96, Val25, Ile115, and Ile119.</p>                                 |
| 5 | INOSINE            |  <p>Chemical structure of Inosine, showing a purine ring system attached to a ribose sugar ring. The purine ring has a carbonyl group at the 6-position and a hydroxyl group at the 2-position.</p>   | 4 | -5,7 |  <p>3D molecular model of Inosine (Lig348) bound in a protein pocket. The ligand is shown in blue sticks, and the protein residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues shown include Ile53, Val57, Asp51, Gly96, Val25, Ile115, Gly26, and Ile119.</p>                     |
| 6 | N6-METHYLADENOSINE |  <p>Chemical structure of N6-methyladenosine, showing an adenine ring system attached to a ribose sugar ring. The adenine ring has a methyl group (-CH<sub>3</sub>) attached to the N6 position.</p> | 8 | -5,5 |  <p>3D molecular model of N6-methyladenosine (Lig348) bound in a protein pocket. The ligand is shown in blue sticks, and the protein residues are shown as red semi-transparent surfaces. Residues shown include Ile119, Ala95, Ile115, Val25, Asp51, Gly96, Lig348, Ile53, and Val57.</p> |

|   |                      |   |    |      |   |
|---|----------------------|---|----|------|---|
| 7 | TANGERETIN           |    | 6  | -5,7 |    |
| 8 | TETRAHYDROPAPAVERINE |   | 10 | -6,0 |   |
| 9 | XANTHONE             |  | 11 | -5,9 |  |

Για την καθεμία από τις 9 ενώσεις, συλλέχθηκαν βιβλιογραφικά δεδομένα από τη βάση δεδομένων PUBCHEM, όσον αφορά στη θεραπευτική τους δράση έναντι διάφορων ασθενειών, τα οποία παρατίθενται στο Παράρτημα που έπεται του κυρίως κειμένου της παρούσας διπλωματικής μελέτης.

Στα διαγράμματα του LIGPLOT, το πράσινο χρώμα στο όνομα ενός αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι το εν λόγω κατάλοιπο συμμετέχει σε υδρογονικό δεσμό, ενώ το κόκκινο ημικύκλιο γύρω από το όνομα του αμινοξικού καταλοίπου συμβολίζει ότι συμμετέχει σε υδρόφοβη αλληλεπίδραση.

Για τις ενώσεις, καταγράφηκαν τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A τόσο με βάση το LIGPLOT, όσο και με βάση το PISA. Παρακάτω, παρατίθεται ο πίνακας αποτελεσμάτων με τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A σε κάθε φυσικό προϊόν.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ                     | LIGPLOT<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | PISA<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ) | ΚΟΙΝΑ<br>(ΑΜΙΝΟΞΙΚΑ<br>ΚΑΤΑΛΟΙΠΑ)  | LIGPLOT<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>PISA | PISA<br>ΑΛΛΑ<br>ΟΧΙ<br>LIGPLOT |
|------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|
| 1    | 4-<br>METHYLUMBELLIFERONE | 8                                   | 12                               | VAL 25, VAL 50, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(8)              | 0                              | 4                              |
| 2    | GRAMINE                   | 9                                   | 14                               | VAL 25, GLY 26, GLY 28, ASP 51, THR 94, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(9)      | 0                              | 5                              |
| 3    | INDIRUBIN                 | 11                                  | 19                               | VAL 25, GLY 26, VAL 27, GLY 28, ALA 29, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE | 0                              | 8                              |

|   |                      |   |    |   |   |    |
|---|----------------------|---|----|---|---|----|
|   |                      |   |    | 119<br>(11)   |   |    |
| 4 | INDOLE-3-CARBINOL    | 7 | 13 | VAL 25, GLY 26, ASP 51, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(7)                       | 0 | 6  |
| 5 | INOSINE              | 9 | 15 | VAL 25, GLY 26, ASP 51, VAL 52, ILE 53, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(9)       | 0 | 6  |
| 6 | N6-METHYLADENOSINE   | 8 | 14 | VAL 25, ASP 51, VAL 52, ILE 53, ALA 95, GLY 96, ILE 115, ILE 119<br>(8)               | 0 | 6  |
| 7 | TANGERETIN           | 9 | 18 | ARG 98, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, ARG 168, HIS 192, ILE 241, THR 247<br>(9) | 0 | 9  |
| 8 | TETRAHYDROPAPAVERINE | 9 | 20 | ARG 98, ARG 105, LEU 108, VAL 109, ASN 137, PRO 138, HIS 192, ILE 241, THR 247<br>(9) | 0 | 11 |
| 9 | XANTHONE             | 7 | 14 | VAL 25, ASP 51, VAL 52, ALA 95, GLY   | 0 | 7  |

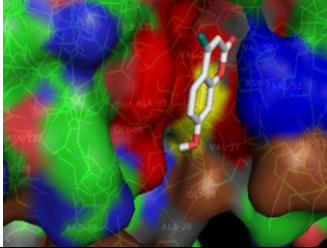
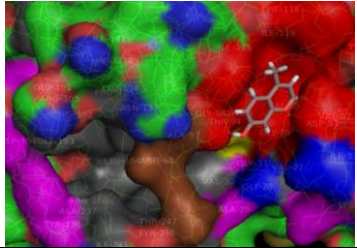
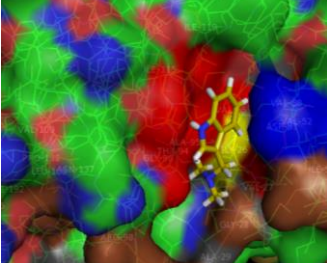
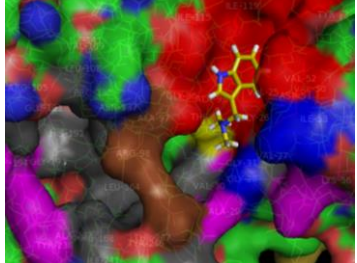
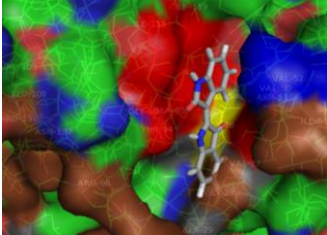
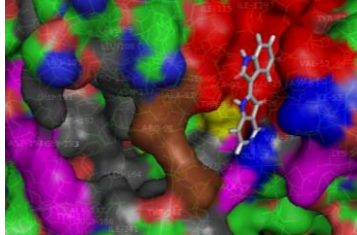
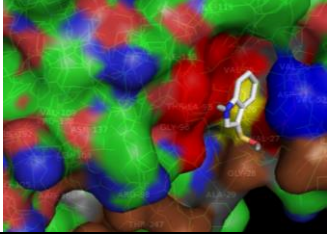
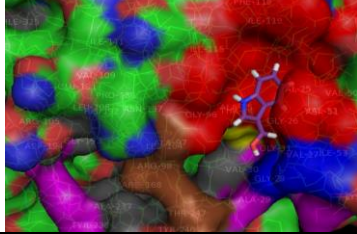
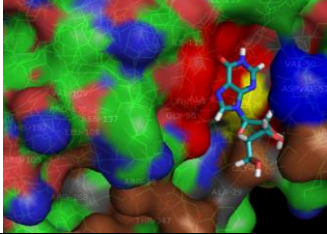
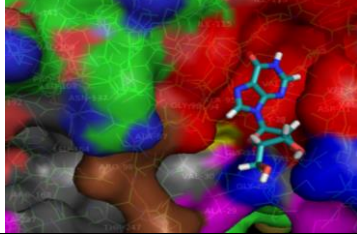
|  |  |  |  |                                    |  |  |
|--|--|--|--|------------------------------------|--|--|
|  |  |  |  | 96, ILE 115,<br>ILE 119<br><br>(7) |  |  |
|--|--|--|--|------------------------------------|--|--|

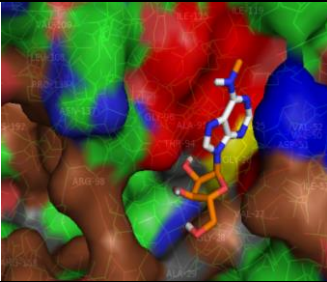
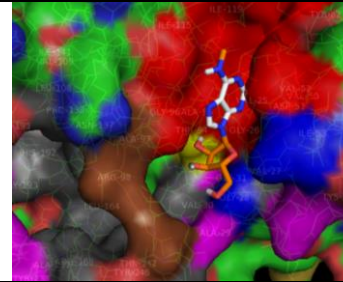
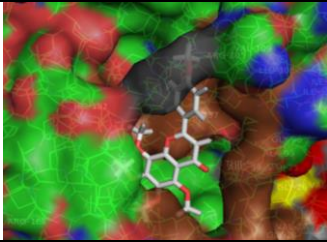
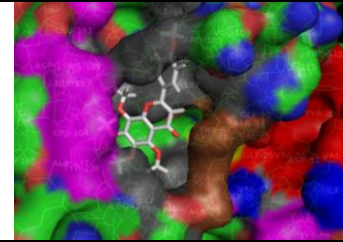
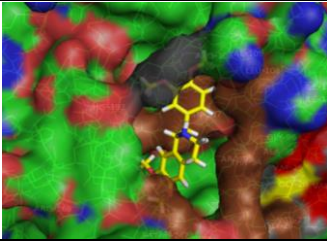
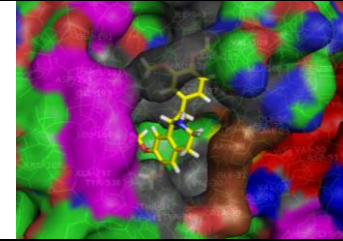
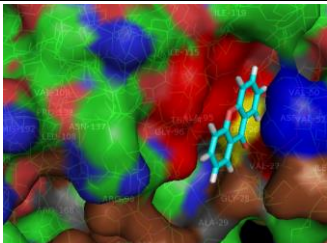
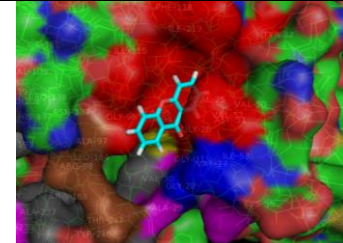
Με βάση τον παραπάνω πίνακα, προκύπτει ο ακόλουθος πίνακας όπου αναφέρονται τα κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A –αμινοξικά κατάλοιπα που συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις με πολλά φυσικά προϊόντα–, με βάση το LIGPLOT και το PISA.

| A.A. | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΤΑΛΟΙΠΟ (LIGPLOT) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (LIGPLOT) | ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΤΑΛΟΙΠΟ (PISA) | ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΤΟ ΑΜΙΝΟΞΙΚΟ ΚΑΤΑΛΟΙΠΟ ΣΧΗΜΑΤΙΖΕΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ (PISA) |
|------|------------------------------|---|---------------------------|--|
| 1    | VAL 25                       | 7/9   | VAL 25                    | 7/9  |
| 2    | ASP 51                       | 7/9   | ASP 51                    | 7/9  |
| 3    | ALA 95                       | 7/9   | ALA 95                    | 7/9  |
| 4    | GLY 96                       | 7/9   | GLY 96                    | 7/9  |
| 5    | ILE 115                      | 7/9   | ILE 115                   | 7/9  |
| 6    | ILE 119                      | 7/9   | ILE 119                   | 7/9  |
| 7    | VAL 52                       | 5/9   | VAL 52                    | 7/9  |
| 8    | GLY 26                       | 4/9   | GLY 26                    | 7/9  |
| 9    | GLY 28                       | 2/9   | GLY 28                    | 6/9  |
| 10   | ILE 53                       | 2/9   | ILE 53                    | 6/9  |
| 11   | ARG 98                       | 2/9   | ARG 98                    | 3/9  |
| 12   | LEU 108                      | 2/9   | LEU 108                   | 2/9  |
| 13   | VAL 109                      | 2/9   | VAL 109                   | 2/9  |
| 14   | ASN 137                      | 2/9   | ASN 137                   | 2/9  |

|    |         |     |         |     |
|----|---------|-----|---------|-----|
| 15 | PRO 138 | 2/9 | PRO 138 | 2/9 |
| 16 | HIS 192 | 2/9 | HIS 192 | 2/9 |
| 17 | ILE 241 | 2/9 | ILE 241 | 2/9 |
| 18 | THR 247 | 2/9 | THR 247 | 2/9 |
| 19 | VAL 27  | 1/9 | VAL 27  | 2/9 |
| 20 | ALA 29  | 1/9 | ALA 29  | 1/9 |
| 21 | VAL 50  | 1/9 | VAL 50  | 7/9 |
| 22 | THR 94  | 1/9 | THR 94  | 4/9 |
| 23 | ARG 105 | 1/9 | ARG 105 | 2/9 |
| 24 | ARG 168 | 1/9 | ARG 168 | 2/9 |
| -  | -       | -   | TYR 82  | 7/9 |
| -  | -       | -   | PHE 118 | 7/9 |
| -  | -       | -   | ALA 97  | 3/9 |
| -  | -       | -   | VAL 30  | 2/9 |
| -  | -       | -   | ILE 141 | 2/9 |
| -  | -       | -   | LEU 164 | 2/9 |
| -  | -       | -   | GLY 193 | 2/9 |
| -  | -       | -   | ALA 237 | 2/9 |
| -  | -       | -   | TYR 246 | 2/9 |
| -  | -       | -   | ILE 325 | 2/9 |
| -  | -       | -   | GLY 31  | 1/9 |
| -  | -       | -   | LYS 56  | 1/9 |
| -  | -       | -   | GLU 191 | 1/9 |
| -  | -       | -   | ASP 194 | 1/9 |
| -  | -       | -   | TYR 238 | 1/9 |

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται κάποιες εικόνες, στις οποίες φαίνονται τα φυσικά προϊόντα έτσι όπως τοποθετούνται μέσα στα κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, καθώς επίσης και τα αλληλεπιδρώντα αμινοξικά κατάλοιπα της πρωτεΐνης, όπως προέκυψαν με βάση το LIGPLOT και το PISA.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ                 | ΕΙΚΟΝΑ (LIGPLOT)   | ΕΙΚΟΝΑ (PISA)   |
|------|-----------------------|--|---|
| 1    | 4-METHYLUMBELLIFERONE |    |    |
| 2    | GRAMINE               |   |   |
| 3    | INDIRUBIN             |  |  |
| 4    | INDOLE-3-CARBINOL     |  |  |
| 5    | INOSINE               |  |  |

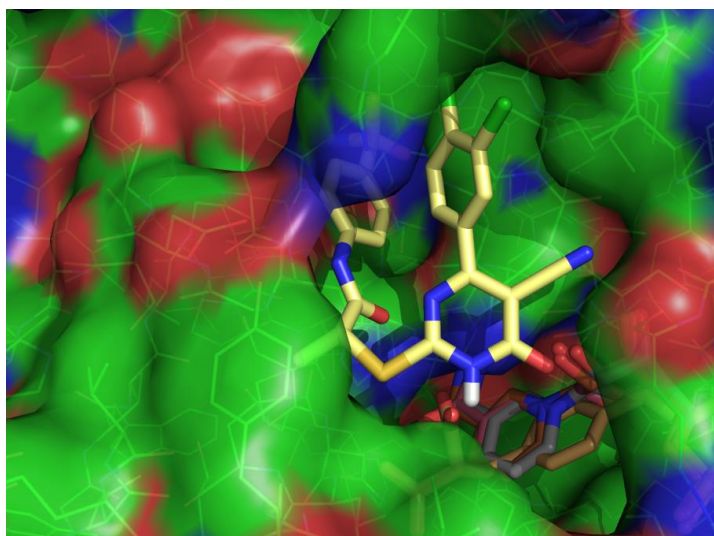
|   |                      |   |  |
|---|----------------------|---|--|
| 6 | N6-METHYLADENOSINE   |   |   |
| 7 | TANGERETIN           |   |   |
| 8 | TETRAHYDROPAPAVERINE |   |   |
| 9 | XANTHONE             |  |  |



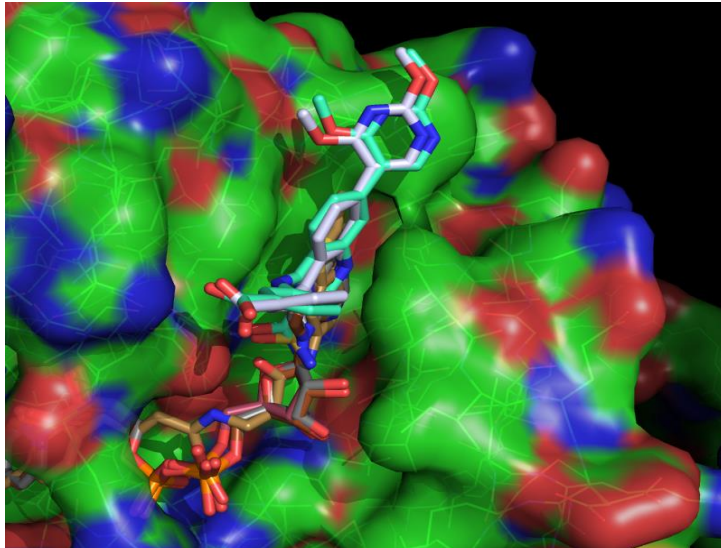
## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε και στην εισαγωγή, η παρούσα διπλωματική εργασία είχε σκοπό τη μελέτη της *in silico* αναστολής της γαλακτικής αφυδρογονάσης A. Η μελέτη χωρίστηκε σε τρία μέρη, σε καθένα από τα οποία πραγματοποιήθηκε ελλιμενισμός των αντίστοιχων ενώσεων στην πειραματική τρισδιάστατη δομή της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A (4JNK\_A).

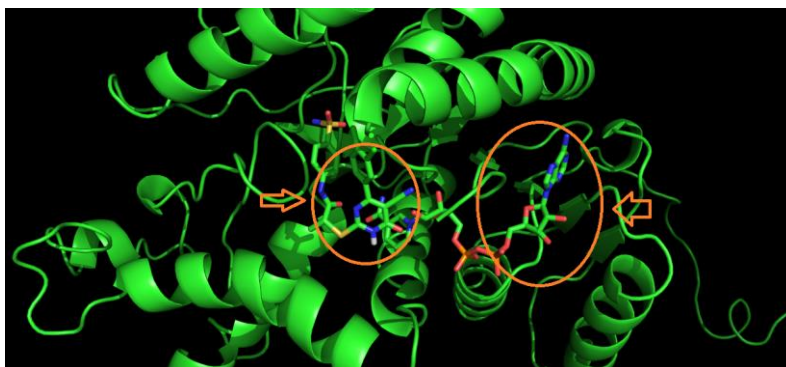
Στο πρώτο μέρος, μελετήθηκε η πρόσδεση των ενώσεων που έχουν προσδεθεί πειραματικά και έχουν προσδιοριστεί δομικά ως υποστρώματα της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A, με σκοπό να εντοπιστούν αναλυτικά οι αλληλεπιδράσεις που σχηματίζονται μεταξύ πρωτεΐνης και υποστρώματος. Το συμπέρασμα που προέκυψε από τους ελλιμενισμούς των υποστρωμάτων επάνω στη δομή της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A (human LDH-A), είναι ότι το ένζυμο έχει δύο κέντρα πρόσδεσης υποστρώματος (binding sites), τα οποία παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες:



Κέντρο πρόσδεσης 1



**Κέντρο πρόσδεσης 2**



**Κέντρα πρόσδεσης 1 και 2**

Στο δεύτερο μέρος, οι ενώσεις που αναλύθηκαν ήταν γνωστοί αναστολείς της ανθρώπινης LDH-A. Από τους ελλิเมτισμούς των αναστολέων επάνω στη δομή της LDH-A, πρόεκυψαν οι αλληλεπιδράσεις που σχηματίζει το ένζυμο με ενώσεις που είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρούν μ' αυτό.

Στο τρίτο μέρος, οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν διάφοροι αναστολείς οι οποίοι έχουν τις απαραίτητες ιδιότητες ώστε να χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα ή χρησιμοποιούνται ήδη ως φάρμακα ή ως αναστολείς άλλων πρωτεϊνών του ανθρώπινου κυττάρου.

Μετά την ανάλυση των αποτελεσμάτων, προέκυψε ότι οι ενώσεις που, μετά από ελλิเมτισμό στη δομή της LDH-A, έδωσαν λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης ικανοποιούν τις απαραίτητες αλληλεπιδράσεις και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν υποστρώματα για την αναστολή της δράσης της ανθρώπινης LDH-A στο καρκινικό κύτταρο, με σκοπό την αναστολή του κύκλου

της γλυκόλυσης σ' αυτό και κατ' επέκταση την καταστροφή του. Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται τόσο οι ενώσεις που προτείνονται να χρησιμοποιηθούν σαν αναστολείς για την καταστολή των καρκινικών κυττάρων, όσο και η υπάρχουσα φαρμακευτική τους δράση.

| A.A. | ΕΝΩΣΗ                           | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ                 | ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ   |
|------|---------------------------------|---------------------------|--|
| 1    | ALOPRIM<br>(Allopurinol Sodium) | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση<br>υπερουριχαιμίας  |
| 2    | ANASTROZOLE                     | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκίνου του στήθους  |
| 3    | BIBR1532                        | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση διάφορων<br>κακοηθειών  |
| 4    | BOSUTINIB                       | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία χρόνιας μυελώδους<br>λευχαιμίας   |
| 5    | BRIVANIB                        | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκίνου των<br>ηπατοκυττάρων και του παχέος<br>εντέρου                 |
| 6    | CAPECITABINE                    | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία μεταστατικού<br>καρκίνου του στήθους και<br>καρκίνου του παχέος εντέρου |
| 7    | CEP-33779                       | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία θρομβοκυτταραιμίας  |
| 8    | CHRYSOPHANIC ACID               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία ψωρίασης και<br>αλωπεκίας   |
| 9    | CLADRIBINE                      | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία χρόνιας<br>λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας                                   |
| 10   | CLOFARABINE                     | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία οξείας ή<br>υποτροπιάζουσας<br>λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας               |
| 11   | DOVITINIB                       | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκινικών κυττάρων   |

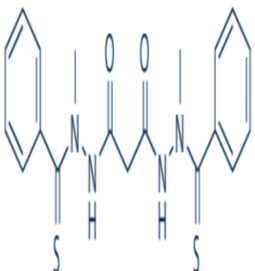
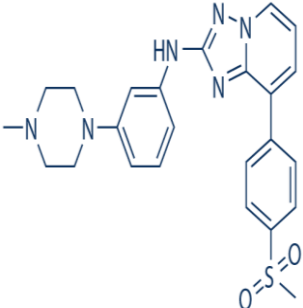
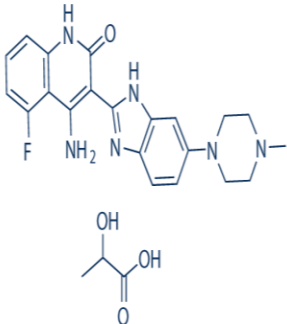
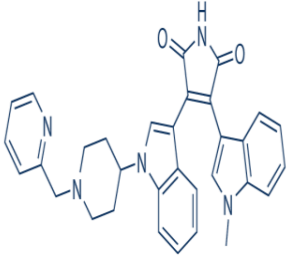
|    |                                    |                           |  |
|----|------------------------------------|---------------------------|--|
| 12 | ELESCLOMOL                         | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία διάφορων<br>μελανωμάτων                                   |
| 13 | ENZALUTAMIDE                       | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκίνου του<br>προστάτη                                  |
| 14 | ENZASTAURIN                        | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία μεταστατικών όγκων  |
| 15 | FLUDARA<br>(Fludarabine phosphate) | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία χρόνιας<br>λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας<br>των Β - κυττάρων |
| 16 | FLUDARABINE                        | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία χρόνιας<br>λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας<br>των Β - κυττάρων |
| 17 | FLUVASTATIN SODIUM                 | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία<br>υπερχοληστερολαιμίας                                   |
| 18 | GDC-0941                           | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκίνου του στήθους<br>και του πνεύμονα                  |
| 19 | GEFITINIB                          | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία μεταστατικού<br>καρκίνου του πνεύμονα                     |
| 20 | INIPARIB                           | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία οξείας<br>λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας<br>των Τ - κυττάρων  |
| 21 | IOX1                               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση καρκινικών<br>κυττάρων                                |
| 22 | LENALIDOMIDE                       | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία πολλαπλού<br>μυελώματος                                   |
| 23 | LINIFANIB                          | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία μεταστατικών όγκων  |
| 24 | METHAZOLASTONE<br>(Temozolomide)   | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία αναπλαστικού<br>αστροκυττώματος                           |

|    |                        |                           |  |
|----|------------------------|---------------------------|--|
| 25 | PD184352               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκίνου του πνεύμονα, του στήθους, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου |
| 26 | RSL3                   | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση σιδηρόπτωσης  |
| 27 | SB203580               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση διάφορων φλεγμονών  |
| 28 | SB431542               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση καρκινικών κυττάρων   |
| 29 | SNS-314                | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία προχωρημένων όγκων  |
| 30 | SRT1720                | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση του διαβήτη   |
| 31 | THALIDOMIDE            | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση πολλαπλού μυελώματος  |
| 32 | TRICHOSTATIN_A         | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση διάφορων νεοπλασμάτων   |
| 33 | VELIPARIB              | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία καρκινικών όγκων  |
| 34 | WZ4002                 | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία επιθηλιακού καρκίνου του πνεύμονα   |
| 35 | ZILEUTON               | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση άσθματος  |
| 36 | ZOCOR<br>(Simvastatin) | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία πρωτοπαθούς υπερχοληστερολαιμίας  |
| 37 | ZSTK474                | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Καταπολέμηση διάφορων κακοηθειών   |
| 38 | LOMEGUATRIB            | ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ                | Θεραπεία καρκινικών όγκων  |

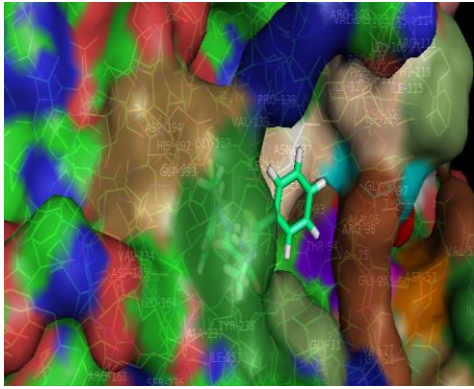
|    |                           | ΕΝΩΣΕΙΣ               |  |
|----|---------------------------|-----------------------|--|
| 39 | NECROSTATIN-1             | ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ<br>ΕΝΩΣΕΙΣ | Θεραπεία κυτταρικής νέκρωσης                   |
| 40 | 4-<br>METHYLUMBELLIFERONE | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία χρόνιας ηπατίτιδας                    |
| 41 | GRAMINE                   | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Καταπολέμηση υπέρτασης                         |
| 42 | INDIRUBIN                 | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία χρόνιας<br>γλυκοκυτταρικής λευχαιμίας |
| 43 | INDOLE-3-CARBINOL         | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία καρκίνου του στήθους                  |
| 44 | INOSINE                   | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία στεφανιαίας νόσου                     |
| 45 | N6-METHYLADENOSINE        | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία διάφορων μορφών<br>καρκίνου           |
| 46 | TANGERETIN                | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Θεραπεία γλοιοσαρκώματος                       |
| 47 | TETRAHYDROPAVERINE        | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Καταπολέμηση διάφορων<br>νεοπλασμάτων          |
| 48 | XANTHONE                  | ΦΥΣΙΚΑ<br>ΠΡΟΪΟΝΤΑ    | Καταπολέμηση διάφορων<br>ασθενειών             |

Επειδή, οι ενώσεις που, μετά από ελλειμνισμό στη δομή της LDH<sub>A</sub>, έδωσαν λύση που βρισκόταν σε κάποιο από τα δύο κέντρα πρόσδεσης της πρωτεΐνης είναι 48, από ένα αρχικό δείγμα περισσότερο των 2.500, εξακολουθεί να είναι ασύμφορη οικονομικά η πειραματική δοκιμή όλων, ως αναστολέων της δράσης της ανθρώπινης γαλακτικής αφυδρογονάσης A στα καρκινικά κύτταρα. Ως εκ τούτου, προτείνονται οι 4 ενώσεις που έδωσαν την καλύτερη (χαμηλότερη) ενεργειακά αλληλεπίδραση *in silico* και θεωρητικά την καλύτερη πρόσδεση.

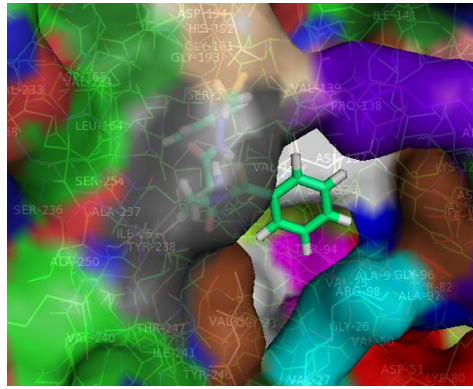
Τα στοιχεία των συγκεκριμένων ενώσεων, παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

| A.A. | ΟΝΟΜΑ ΕΝΩΣΗΣ | ΣΤΕΡΕΟΔΟΜΗ  | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ              | ΕΝΕΡΓΕΙΑ (kcal/mol) |
|------|--------------|---|------------------------|---------------------|
| 1    | ELESCLOMOL   |    | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ | -8,5                |
| 2    | CEP-33779    |    | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ | -8,5                |
| 3    | DOVITINIB    |   | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ | -8,4                |
| 4    | ENZASTAURIN  |  | ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ | -8,4                |

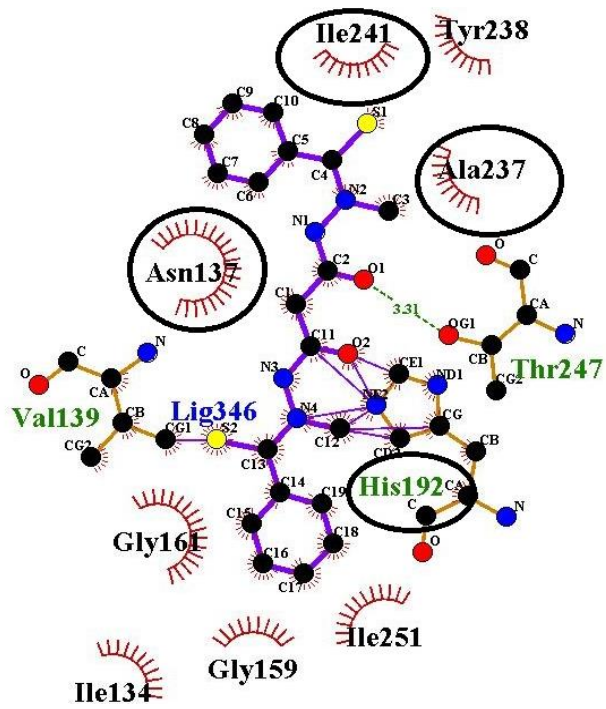
Στις παρακάτω εικόνες, παρουσιάζεται ο τρόπος με τον οποίο οι 4 παραπάνω ενώσεις τοποθετούνται μέσα στα κέντρα πρόσδεσης της LDH-A, καθώς επίσης και τα αλληλεπιδρώντα κατάλοιπα της πρωτεΐνης, όπως προέκυψαν με βάση το LIGPLOT και το PISA. Επίσης, παρουσιάζονται τα διαγράμματα απεικόνισης που πραγματοποιήθηκαν, με τη χρήση του LIGPLOT, για τις ενώσεις (στα διαγράμματα, εμφανίζονται κυκλωμένα τα πιο κρίσιμα αμινοξικά κατάλοιπα της LDH-A).



ELESCLOMOL (LIGPLOT)

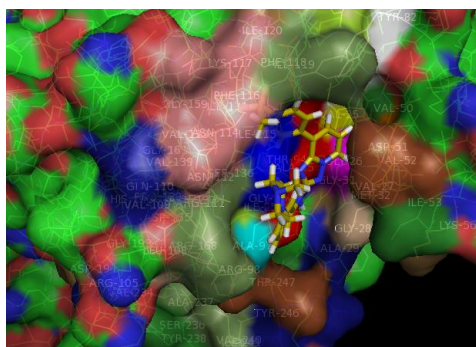


ELESCLOMOL (PISA)

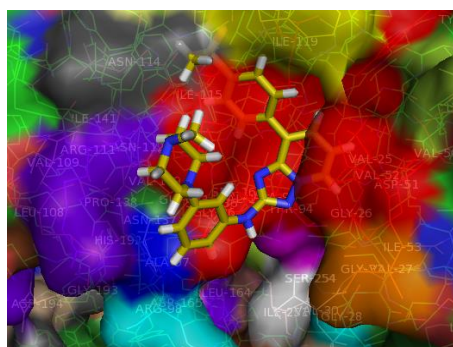


ELESCLOMOL

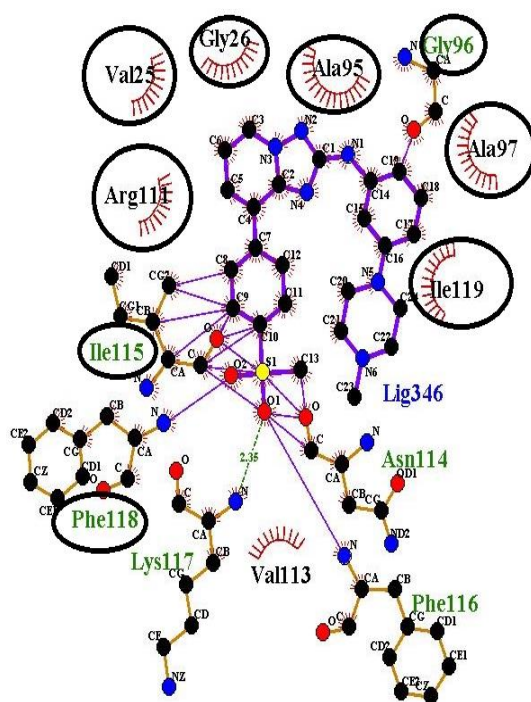




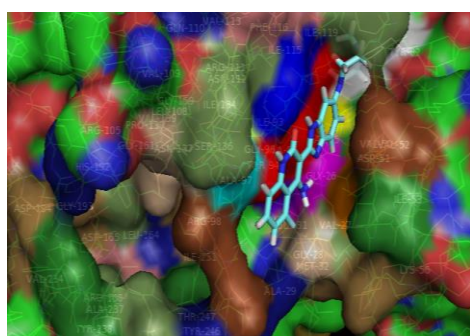
CEP- 33779 (LIGPLOT)



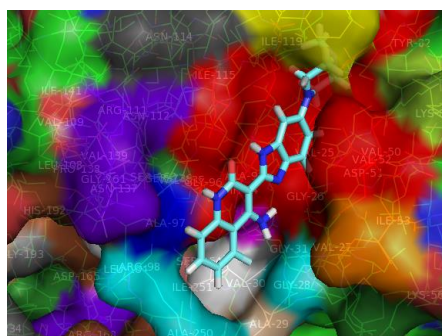
CEP-33779 (PISA)



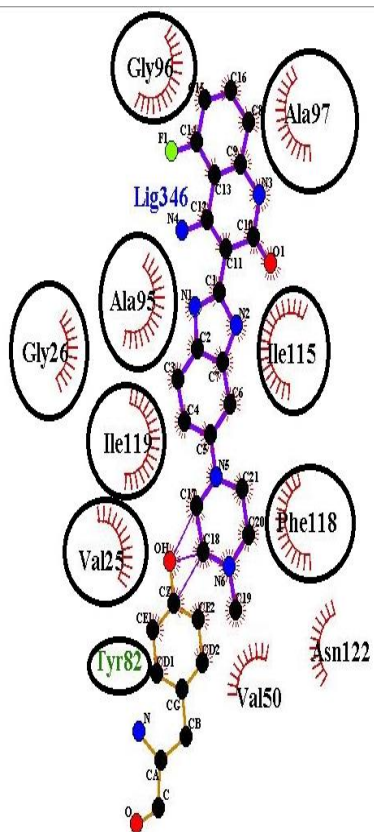
CEP-33779



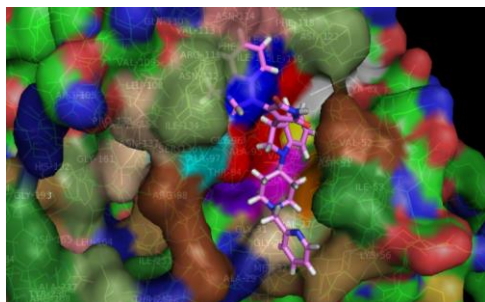
DOVITINIB (LIGPLOT)



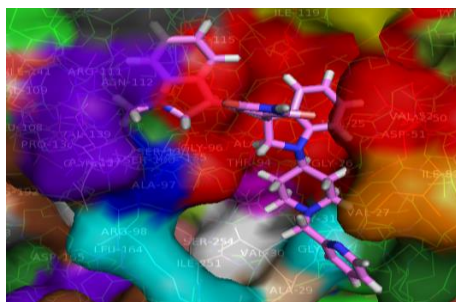
DOVITINIB (PISA)



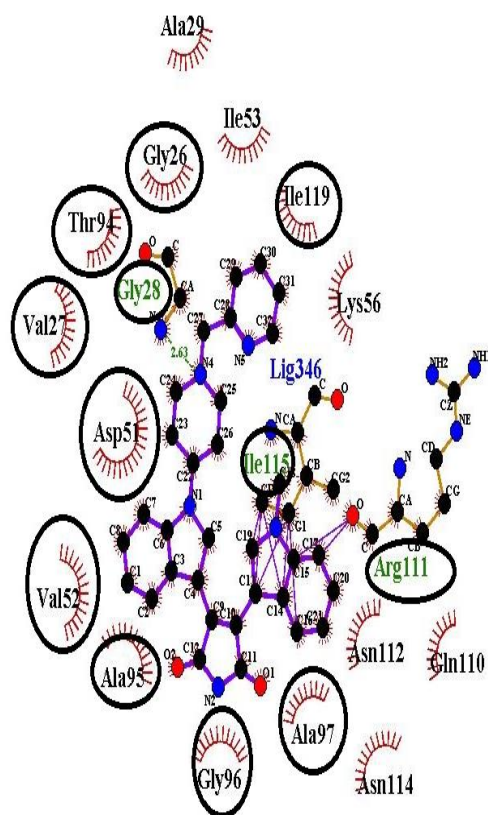
DOVITINIB



ENZASTAURIN (LIGPLOT)



ENZASTAURIN (PISA)



## ENZASTAURIN

Μ' αυτήν την προσέγγιση, του *in silico* ελλιμενισμού ενός μεγάλου αριθμού γνωστών ενώσεων που κατέχουν φαρμακοφορικές ιδιότητες, μπορούν να προσδιοριστούν τόσο τα σημαντικά στοιχεία της αλληλεπίδρασης σε μία πρωτεΐνη ή σ' ένα κέντρο πρόσδεσης, όσο και τα φαρμακοφορικά στοιχεία των υποστρωμάτων που εμπλέκονται σ' αυτήν την αλληλεπίδραση. Το πρακτικό αποτέλεσμα όμως, είναι ο σημαντικός περιορισμός των υποψήφιων αναστολέων που πρέπει να δοκιμαστούν πειραματικά.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 6.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗΣ (2003), ΗΛΙΑΣ ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ
- 2) ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ (2013), ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΛΩΝΗΣ
- 3) ΕΝΖΥΜΟΛΟΓΙΑ (2007), ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΛΩΝΗΣ

### 6.2 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Identification of substituted 2-thio-6-oxo-1,6-dihydropyrimidines as inhibitors of human lactate dehydrogenase (2013), Peter S. Dragovich, Benjamin P. Fauber, Laura B. Corson, Charles Z. Ding, Charles Eigenbrot, HongXiu Ge, Anthony M. Giannetti, Thomas Hunsaker, Sharada Labadie, Yichin Liu, Shiva Malek, Borlan Pan, David Peterson, Keith Pitts, Hans E. Purkey, Steve Sideris, Mark Ultsch, Erica VanderPorten, BinQing Wei, Qing Xu, Ivana Yen, Qin Yue, Huihui Zhang, Xuying Zhang, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* Vol. 23, pp. 3186-3194
- 2) Structural characterization of the apo form and NADH binary complex of human lactate dehydrogenase (2014), Sally Dempster, Stephen Harper, John E. Moses, Ingrid Dreveny, *Acta Crystallographica* Vol.D70, pp.1484-1490
- 3) Identification of 2-amino-5-aryl-pyrazines as inhibitors of human lactate dehydrogenase (2013), Benjamin P. Fauber, Peter S. Dragovich, Jinhua Chen, Laura B. Corson, Charles Z. Ding, Charles Eigenbrot, Anthony M. Giannetti, Thomas Hunsaker, Sharada Labadie, Yichin Liu, Shiva Malek, David Peterson, Keith Pitts, Steve Sideris, Mark Ultsch, Erica VanderPorten, Jing Wang, BinQing Wei, Ivana Yen, Qin Yue, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* Vol. 23, pp. 5533-5539
- 4) Interaction of Oxamate with the Gluconeogenic Pathway in Rat Liver (1986), Angeles Merin-Requero, Matilde S. Ayuso, Roberto Parrilla, *Archives of Biochemistry and Biophysics* Vol.246, pp. 114-127

- 5) Molecular evolution within the L-malate and L-lactate dehydrogenase super-family (2002), Madern D., *Journal of Molecular Evolution* Vol.54, pp. 825-840
- 6) An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise (2000), Spriet LL, Howlett RA, Heigenhauser GJ., *Medicine & Science in Sports & Exercise* Vol.32, pp.756-763
- 7) O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* Vol. 31 (2010), pp. 455-461.
- 8) "Best Practices of Computer-Aided Drug Discovery: Lessons Learned from the Development of a Preclinical Candidate for Prostate Cancer with a New Mechanism of Action" (2017), Ban, F.; Dalal, K.; Li, H.; LeBlanc, E.; Rennie, P.S.; Cherkasov, A., *J. Chem. Inf. Model.*, 2017, Vol. 57(5), pp. 1018–1028
- 9) Wallace A C, Laskowski R A, Thornton J M (1996). LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions, *Protein Eng.*, Vol. 8, pp. 127-134.
- 10) E. Krissinel and K. Henrick (2007). 'Inference of macromolecular assemblies from crystalline state', *J. Mol. Biol.* Vol. 372, pp. 774-797
- 11) Open Babel: An open chemical toolbox (2011), Noel M O'Boyle, Michael Banck, Craig A James, Chris Morley, Tim Vandermeersch and Geoffrey R Hutchison, *Journal of Cheminformatics* Vol. 3.
- 12) Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive (2017) In *Methods in Molecular Biology: Protein Crystallography Methods and Protocols* (eds. A. Wlodawer, Z. Daugherty, M. Jaskolski) Springer New York Vol. 1607, pp. 627-641
- 13) Liu, T., Lin, Y., Wen, X., Jorissen, R.N. and Gilson, M.K. BindingDB: a web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities, *Nucleic Acids Research* Vol. 35, pp.198-201 (2007).
- 14) ZINC 15 – Ligand Discovery for Everyone (2015), Teague Sterling and John J. Irwin, *J. Chem. Inf. Model* Vol. 55, pp. 2324–2337
- 15) Functionally defined therapeutic targets in diffuse intrinsic pontine glioma. (2015), Grasso CS, Tang Y, Truffaux N, Berlow NE, Liu L, Debily MA, Quist MJ1, Davis LE, Huang EC, Woo PJ, Ponnuswami A, Chen S, Johung TB, Sun W, Kogiso M, Du Y, Qi L, Huang Y, Hütt-Cabezas M, Warren KE, Le Dret L, Meltzer PS, Mao H, Quezado M, van Vuurden

DG, Abraham J, Fouladi M, Svalina MN, Wang N, Hawkins C, Nazarian J, Alonso MM, Raabe EH, Hulleman E, Spellman PT, Li XN, Keller C, Pal R, Grill J, Monje M, Nat Med. Vol. 21, pp. 555–559.

- 16) PubChem Substance and Compound databases (2015), Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J, Yu B, Zhang J, Bryant SH, Nucleic Acids Res Vol. 44, pp.1202–1213

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στο παράρτημα της συγκεκριμένης διπλωματικής μελέτης, παρατίθενται τα βιβλιογραφικά δεδομένα που συλλέχθηκαν από τη βάση δεδομένων PUBCHEM για τις ενώσεις των τριών κατηγοριών που χρησιμοποιήθηκαν στο τρίτο μέρος του ελλιμενισμού.

### ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

#### 1) ALOPRIM (Allopurinol Sodium)

Το Alopriim, είναι ένα δομικό ανάλογο της υποξανθίνης, που χρησιμοποιείται για την πρόληψη της ουρικής αρθρίτιδας και την καταπολέμηση της υπερουριχαιμίας (πολύ υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος), της ουρικής νεφροπάθειας και διάφορων, στερεάς μορφής, όγκων. Αναστέλλει την οξειδάση της ξανθίνης (EC: 1.17.3.2), ένα ένζυμο που μετατρέπει τις οξυπουρίνες σε ουρικό οξύ. Μπλοκάροντας την παραγωγή ουρικού οξέος, το Alopriim, μειώνει τη συγκέντρωση του ουρικού οξέος στον ορό και στα ούρα, παρέχοντας έτσι προστασία έναντι της βλάβης που θα δημιουργηθεί από την υπερβολική παραγωγή ουρικού οξέος.

#### 2) ANASTROZOLE

Το Anastrozole, είναι ένας δυναμικός και επιλεκτικός αναστολέας της αρωματάσης (Uniprot ID: P11511), που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου του στήθους σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση. Στις συγκεκριμένες γυναίκες, η κύρια πηγή οιστρογόνου προέρχεται από τη μετατροπή της ανδροστενοδιόνης, που παράγεται μέσω των επινεφριδίων σε οιστρόνη από την αρωματάση, ένα ένζυμο του κυτοχρώματος P – 450, σε διάφορους περιφερειακούς

ιστούς, όπου γίνεται περαιτέρω μετατροπή της οιστρόνης σε οιστραδιόλη. Επομένως, το Anastrozole ως αναστολέας της αρωματάσης, αναστέλλει τη σύνθεση της οιστρόνης, παρεμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη του όγκου σε περιπτώσεις, εξαρτώμενου από την οιστρόνη, καρκίνου του στήθους.

### 3) BIBR1532

Το BIBR1532, είναι ένας αναστολέας της τελομεράσης (EC: 2.7.7.49), που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση διάφορων κακοηθειών, καθώς προκαλεί γήρανση των καρκινικών κυττάρων μέσω αναστολής της τελομεράσης.

### 4) BOSUTINIB

Το Bosutinib, είναι ένας αναστολέας που στοχεύει τις κινάσες τυροσίνης Abl(Uniprot ID: P00519) και Src (Uniprot ID: P12931) και έχει αντινεοπλασματική δράση. Πιο συγκεκριμένα, αναστέλλει την αυτοφωσφορυλίωση των παραπάνω κινασών, παρεμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων και την απόπτωση. Εξαιτίας του διπλού μηχανισμού δράσης του, το Bosutinib,χρησιμοποιείται στη θεραπεία της χρόνιας μυελώδους λευχαιμίας καθώς επίσης και στη θεραπεία διάφορων μυελωδών κακοηθειών και όγκων στερεάς μορφής.

### 5) BRIVANIB

Το Brivanib,είναι ένας αναστολέας του υποδοχέα 2 του ενδοθηλακιοαγγειακού παράγοντα ανάπτυξης, VEGFR-2, (Uniprot ID:P35968) με αντινεοπλασματική δράση. Το Brivanib, στοχεύει και δεσμεύεται ισχυρά στον ανθρώπινο VEGFR-2,που είναι ένας υποδοχέας κινάσης τυροσίνης, που εκφράζεται σχεδόν αποκλειστικά στα ενδοθηλακιοαγγειακά κύτταρα. Μπλοκάροντας το VEGFR-2, το Brivanib,οδηγεί σε αναστολή του πολλαπλασιασμού της διεγερόμενης από τον VEGF μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, αναστέλλοντας έτσι την αγγειογένεση του όγκου. Το Brivanib, έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές μελέτες για την καταπολέμηση του καρκίνου των ηπατοκυττάρων και του καρκίνου του παχέος εντέρου.



## 6) CAPECITABINE

Το Capecitabine, είναι ένα καρβαμίδιο φθοροπυριμιδίνης με αντινεοπλασματική δράση, που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του μεταστατικού καρκίνου του στήθους και του καρκίνου του παχέος εντέρου. Είναι ένα διά στόματος χορηγούμενο προφάρμακο, το οποίο έχει μικρή φαρμακολογική δράση πριν μετατραπεί σε φθοροουρακίλη από ένζυμα που εκφράζονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε διάφορους όγκους. Στη συνέχεια, η φθοροουρακίλη μεταβολίζεται τόσο στα φυσιολογικά κύτταρα, όσο και στα κύτταρα του όγκου, σε μονοφωσφορική 5- φθορο-2-δεοξουριδίνη(FdUMP) και σε τριφωσφορική 5- φθοροουριδίνη(FUTP). Η FdUMP αναστέλλει τη σύνθεση του DNA και την κυτταρική διαίρεση, ενώ η FUTP, αναστέλλει τη σύνθεση του RNA και την πρωτεϊνοσύνθεση. Επίσης, η δράση του Capecitabine σχετίζεται με τα γονίδια CES2 (Uniprot ID: Q6IPK9) και CDA (Uniprot ID: P32320)

## 7) CEP – 33779

Το CEP – 33779, είναι ένας αναστολέας της κινάσης τυροσίνης Janus 2(JAK 2) (Uniprot ID:O60674) και χρησιμοποιείται στη θεραπεία διάφορων μυελοπολλαπλασιαστικών διαταραχών όπως η θρομβοκυτταραιμία. Η Janus 2,είναι μία κινάση τυροσίνης που εμπλέκεται στη σηματοδότηση και η πρόκληση μεταλλάξεων σ' αυτήν, φαίνεται να οδηγεί στην εμφάνιση των μυελοπολλαπλασιαστικών διαταραχών. Γι' αυτόν το λόγο, αναστέλλεται η δράση της από το CEP – 33779.

## 8) CHRYSOPHANIC ACID

Το Chrysophanic acid (chrysophanol),ανήκει στην οικογένεια των ανθρακινονών και έχει αντιφλεγμονώδη δράση. Σε φαρμακευτικές αγωγές, η αντίστοιχη ένωση του Chrysophanic acid, η οποία και χορηγείται, είναι το Anthralin.Πρόκειται για αντιψωριακή και αντιφλεγμονώδη ουσία που ελέγχει την ανάπτυξη του δέρματος, μειώνοντας τη σύνθεση του DNA και τη μιτωτική δραστηριότητα στην υπερπλαστική επιδερμίδα, αποκαθιστώντας ένα φυσιολογικό ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Χρησιμοποιείται τοπικά για τη θεραπεία της

ψωρίασης και της αλωπεκίας, ενώ ιδιαίτερα διαδεδομένη είναι η χρήση του στη Βιοϊατρική έρευνα, καθώς εμπλέκεται στην αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα του επιδερμικού παράγοντα ανάπτυξης (EGFR) (Uniprot ID: P00533).

#### 9) CLADRIBINE

Το Cladribine, είναι ένα συνθετικό νουκλεοσίδιο πουρίνης που δρα σαν αντινεοπλασματικός παράγοντας με ανοσοκατασταλτική δράση. Το τριφωσφορικό Cladribine, ένας φωσφορυλιωμένος μεταβολίτης του Cladribine, ενσωματώνεται στο DNA, προκαλώντας σπασίματα στη μονόκλωνη αλυσίδα του, εξάντληση του δινουκλεοτιδίου νικοτινάμιδο αδενίνη (NAD), εξάντληση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και απόπτωση. Το Cladribine, ανήκει στην ομάδα των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων που είναι γνωστά ως αντιμεταβολίτες. Οι αντιμεταβολίτες, εμποδίζουν τη σύνθεση και επιδιόρθωση του DNA στα καρκινικά κύτταρα, διαδικασίες που είναι απαραίτητες προκειμένου αυτά να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν. Μερικά παραδείγματα ασθενειών στον οποίων τη θεραπεία συμμετέχει το Cladribine, είναι η λευχαιμία των τριχωτών κυττάρων, η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία και τα δερματικά λεμφώματα των T- κυττάρων.

#### 10) CLOFARABINE

Το Clofarabine, είναι ένας αντιμεταβολίτης που φαίνεται να παρεμβαίνει στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Συγκεκριμένα, φωσφορυλιώνεται ενδοκυτταρικά στον ενεργό κυτταροτοξικό μεταβολίτη 5- τριφωσφορικό, ο οποίος αναστέλλει τη δράση της ριβονουκλεοτιδικής ρεδοκτάσης (EC: 1.17.4.1) και της DNA πολυμεράσης (EC 2.7.7.7), οδηγώντας σε αναστολή της επιδιόρθωσης του DNA και της σύνθεσης των DNA και RNA στα καρκινικά κύτταρα. Επίσης, διαταράσσει τη λειτουργία των μιτοχονδρίων και την ακεραιότητα της μεμβράνης των καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση παραγόντων που ενεργοποιούν την απόπτωση. Το Clofarabine, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της οξείας ή υποτροπιάζουσας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, μετά το πέρας τουλάχιστον δύο θεραπευτικών σταδίων.

#### 11) DOVITINIB

Το Dovitinib, είναι μία ένωση που αναστέλλει τη φωσφορυλίωση των υποδοχέων 3 και 4 της κινάσης τυροσίνης (EC: 2.7.10.1), καθώς επίσης και τον ενδοθηλιακιοαγγειακό παράγοντα ανάπτυξης, VEGFR-2, (Uniprot ID:P35968). Χρησιμοποιείται στη θεραπεία των καρκινικών κυττάρων.

#### 12) ELESCLOMOL

Το Elesclomol, είναι ένα μικρό μόριο με αντινεοπλασματική δράση. Το Elesclomol επάγει οξειδωτικό stress, δημιουργώντας υψηλά επίπεδα ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) τόσο στα φυσιολογικά, όσο και στα καρκινικά κύτταρα. Επειδή, όμως τα καρκινικά κύτταρα έχουν εκ φύσεως υψηλότερα επίπεδα ενεργών μορφών οξυγόνου σε σχέση με τα φυσιολογικά, η περαιτέρω αύξησή τους οδηγεί σε εξάντληση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των καρκινικών κυττάρων, γεγονός που οδηγεί στην επαγωγή της απόπτωσης. Το Elesclomol, χρησιμοποιείται στη θεραπεία των διάφορων μελανωμάτων.

#### 13) ENZALUTAMIDE

Το Enzalutamide, είναι ένα μικρό μόριο που στοχεύει στον υποδοχέα ανδρογόνου (AR) (Uniprot ID: P10275), έχοντας αντινεοπλασματική δράση. Χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου του προστάτη. Συγκεκριμένα, αναστέλλει την ενζυμική δραστηριότητα των υποδοχέων ανδρογόνου στα καρκινικά κύτταρα του προστάτη, οδηγώντας σε μείωση του πολλαπλασιασμού τους.

#### 14) ENZASTAURIN

Το Enzastaurin, είναι ένας αναστολέας της πρωτεϊνικής κινάσης C (EC: 2.7.11.13), η οποία έχει βρεθεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της έκφρασης των ογκογονιδίων, προάγοντας έτσι την εμφάνιση καρκίνου. Το Enzastaurin, έχει

χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία των μεταστατικών όγκων και των δερματικών λεμφωμάτων των T- κυττάρων.

#### 15) FLUDARA (FLUDARABINE PHOSPHATE)

Το Fludara, είναι ένας αντιμεταβολίτης. Αυτοφωσφορολιώνεται ταχέως σε 2-fluoro-ara-A και φωσφορυλιώνεται ενδοκυτταρικά με τη δράση της κινάσης δεοξυκυτιδίνης στο δραστικό 2-fluoro-ara-ATP. Το 2-fluoro-ara-ATP, αναστέλλει τη DNA πολυμεράση A (EC: 2.7.7.7), τη ριβονουκλεοτιδική ρεδοκτάση (EC: 1.17.4.1) και τη DNA πριμάση (EC: EC 2.7.7.B16), διακόπτοντας έτσι τη σύνθεση του DNA και αναστέλλοντας την ανάπτυξη των κυττάρων του όγκου. Το Fludara, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας των B- κυττάρων.

#### 16) FLUDARABINE

Το Fludarabine, είναι ένα χημειοθεραπευτικό φάρμακο το οποίο χρησιμοποιείται στη θεραπεία της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας των B- κυττάρων. Αναστέλλει τη DNA πολυμεράση A (EC: 2.7.7.7), τη ριβονουκλεοτιδική ρεδοκτάση (EC: 1.17.4.1) και τη DNA πριμάση (EC: EC 2.7.7.B16), διακόπτοντας έτσι τη σύνθεση του DNA και αναστέλλοντας την ανάπτυξη των κυττάρων του όγκου.

#### 17) FLUVASTATIN SODIUM

Το Fluvastatin Sodium, είναι το νιτρικό άλας του Fluvastatin, μίας ένωσης με αντινεοπλασματική δράση. Το Fluvastatin, αναστέλλει τη δράση της ρεδοκτάσης του ηπατικού 3-υδρόξυ-3-μεθυλογλουταρικού συνενζύμου A (HMG – CoA) (UniProt ID: P04035), ενός ενζύμου που καταλύει τη μετατροπή του HMG – CoA σε μεβαλονικό, το οποίο αποτελεί βασικό βήμα για τη σύνθεση της χοληστερόλης. Επομένως, το Fluvastatin χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της υπερχοληστερολαιμίας, καθώς μειώνει τα επίπεδα χοληστερόλης και λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα.

#### 18) GDC – 0941

Το GDC-0941, είναι ένας αναστολέας της κινάσης PI3 (EC: 2.7.1.137), η οποία σε περιπτώσεις πρόκλησης της μετάλλαξης p110a, έχει βρεθεί ότι συμβάλλει σημαντικά στον κυτταρικό μετασχηματισμό και στην ανάπτυξη καρκίνου. Το GDC-0941, έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία του καρκίνου του στήθους και του καρκίνου του πνεύμονα.

#### 19) GEFITINIB

Το Gefitinib, αναστέλλει την ενδοκυτταρική φωσφορυλίωση διάφορων κινασών τυροσίνης, οι οποίες σχετίζονται με διαμεμβρανικούς υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων, καθώς και αυτών που σχετίζονται με τον υποδοχέα του επιδερμικού παράγοντα ανάπτυξης (EGFR) (Uniprot ID: P00533), οδηγώντας σε παρεμπόδιση, της εξαρτώμενης από την κινάση τυροσίνης, ανάπτυξης του όγκου. Συγκεκριμένα, το Gefitinib, εμποδίζει τη σύνδεση του ATP στην κινάση τυροσίνης που σχετίζεται με τον EGFR, αναστέλλοντας την αυτοφωσφορυλίωση του EGFR και οδηγώντας σε αναστολή της μεταγωγής του σήματος. Το Gefitinib, μπορεί ακόμη να προκαλέσει διακοπή του κυτταρικού κύκλου και αναστολή της αγγειογένεσης. Η βασική ασθένεια στις οποίες τη θεραπεία χρησιμοποιείται, είναι ο μεταστατικός καρκίνος του πνεύμονα.

#### 20) INIPARIB

Το Iniparib, είναι ένα μικρό μόριο με κυτταροτοξικές και αντινεοπλασματικές δράσεις. Είναι κυτταροτοξικό σε κύτταρα με βλάβες ή αλλοιώσεις στο DNA, όπως αυτές που εντοπίζονται σε κύτταρα όγκου στα οποία έχει πραγματοποιηθεί μετάλλαξη στο γονίδιο ATM (Uniprot ID: Q13315). Το γονίδιο ATM, κωδικοποιεί μία πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης και η πρόκληση μετάλλαξης σ' αυτό, οδηγεί στην εμφάνιση διάφορων τύπων καρκίνου, όπως η οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία των T- κυττάρων, η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία των B-κυττάρων και διάφορα λεμφώματα των B- κυττάρων. Επομένως, το Iniparib χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των παραπάνω ασθενειών.

## 21) IOX1

Το IOX1, είναι μία ένωση που δρα σαν αναστολέας της απομεθυλάσης της ιστόνης JmjC(InterPro ID: IPR003347) στα καρκινικά κύτταρα. Ως γνωστόν, η απομεθυλάση ιστόνης, αφαιρεί απ' αυτήν μία ομάδα CH<sub>3</sub>, ρυθμίζοντας έτσι τα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA. Με την αναστολή της δράσης της απομεθυλάσης, επιτυγχάνεται μη ελεγχόμενη αύξηση των επιπέδων μεθυλίωσης του DNA των καρκινικών κυττάρων, η οποία εμποδίζει την ομαλή λειτουργία και ανάπτυξή τους.

## 22) LENALIDOMIDE

Το Lenalidomide, είναι ένας ανοσορυθμιστικός παράγοντας με αντιαγγειογενετικές ιδιότητες. Αναστέλλει την έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινινών και αυξάνει την έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτοκινινών από μονοκύτταρα του αίματος. Παρεμποδίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό με μεγάλη αποτελεσματικότητα σε ορισμένες, αλλά όχι σ' όλες τις κυτταρικές σειρές. Αναστέλλει την παραγωγή του παράγοντα TNF(Tumor Necrosis Factor) (UniProt ID: P01375) ο οποίος υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα, διεγείρει τα T- κύτταρα και παρεμποδίζει την αγγειογένεση. Επίσης, προάγει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση των κακοηθών κυττάρων. Το Lenalidomide, εμπλέκεται κυρίως στη θεραπεία του πολλαπλού μυελώματος.

## 23) LINIFANIB

Το Linifanib, είναι ένας αναστολέας του υποδοχέα της κινάσης τυροσίνης (RTK) (EC:2.7.10.1) με πιθανή αντινεοπλασματική δράση. Αναστέλλει τα μέλη του υποδοχέα του ενδοθηλιακιοαγγειακού παράγοντα ανάπτυξης (VEGF) (EC: 2.7.1.112) και του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα που προέρχεται από τα αιμοπετάλια (PDGF) (InterPro ID: IPR000072). Το Linifanib, έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία μεταστατικών όγκων, του καρκίνου του παχέος εντέρου, του μεταστατικού καρκίνου του στήθους και του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.

24) METHAZOLASTONE (Temozolomide)

Το Methazolastone, είναι ένας παράγοντας με αντινεοπλασματική δράση. Σαν φάρμακο έχει ελάχιστη δραστηριότητα μέχρι να υδρολυθεί στο 5-(3-methyltriazen-1-yl)imidazole-4-carboxamide (MTIC) που αποτελεί την ενεργή του μορφή. Η ενεργή μορφή του φαρμάκου είναι τοξική για τα καρκινικά κύτταρα, καθώς προκαλεί μεθυλίωση του DNA και αναστολή της αντιγραφής του. Το Methazolastone, χορηγείται διά στόματος και διεισδύει στο νευρικό σύστημα. Η ασθένεια στις οποίας τη θεραπεία χρησιμοποιείται το Methazolastone, είναι το αναπλαστικό αστροκύτωμα (όγκος στον εγκέφαλο).

25) PD184352

Το PD184352, έχει αντινεοπλασματική δράση. Αναστέλλει την κινάση MAP(Mitogen-Activated Protein Kinase) (EC:2.7.11.24),η οποία εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Το PD184352, έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, του καρκίνου του στήθους, του καρκίνου του παγκρέατος και του καρκίνου του παχέος εντέρου.

26) RSL3

Το RSL3, είναι ένας αναστολέας που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση της σιδηρόπτωσης, που προκαλείται από την υπερβολική συσσώρευση λιπιδικών υπεροξειδίων. Αναστέλλει τη δράση της φωσφολιπιδικής υδροπεροξειδάσης GPX4 (Uniprot ID: P36969), η οποία προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα έναντι της υπεροξειδωσής των λιπιδίων της μεμβράνης.

27) SB203580

Το SB203580, είναι ένας αντιφλεγμονώδης παράγοντας. Μαζί με τις αντιφλεγμονώδεις δράσεις, έχει αναλγητικές και αντιπυρετικές δράσεις. Μπλοκάρει

τη σύνθεση προσταγλανδινών αναστέλλοντας την κυκλοξυγονάση (EC:1.14.99.1),η οποία μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε κυκλικά ενδοπεροξειδία, τα οποία είναι πρόδρομες ενώσεις των προσταγλανδινών. Το SB203580, χρησιμοποιείται στην καταπολέμηση των διάφορων μορφών φλεγμονής.

28) SB431542

Το SB431542, είναι ένας αναστολέας του υποδοχέα beta-1 του αυξητικού παράγοντα μετασηματισμού (TGF beta receptor – 1) (Uniprot ID: P36897).Αναστέλλει τη δράση του παράγοντα TGF στα καρκινικά κύτταρα, με σκοπό τη θεραπεία τους.

29) SNS-314

Το SNS-314, είναι ένας παράγοντας ο οποίος έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία προχωρημένων όγκων στερεάς μορφής.

30) SRT1720

Το SRT1720, είναι ένας δυνητικός ενεργοποιητής της σιρτουίνης 1(SIRT-1) (Uniprot ID:Q96EB6),η οποία αποακετυλιώνει τις πρωτεΐνες που συμβάλλουν στην κυτταρική ρύθμιση. Μέσω της ενεργοποίησης της SIRT-1,το SIRT1720,συμβάλλει στη καταπολέμηση του διαβήτη. Επίσης, υπάρχουν αναφορές ότι συμμετέχει και στην καταπολέμηση της παχυσαρκίας.

31) THALIDOMIDE

Το Thalidomide, είναι ένας αντινεοπλασματικός παράγοντας με ανοσορυθμιστική δράση. Χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του erythema nodosum leprosum (ENL), το οποίο είναι μία φλεγμονή των λιποκυττάρων του δέρματος. Επίσης, σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα, συμβάλλει στην καταπολέμηση του πολλαπλού μυελώματος.



### 32) TRICHOSTATIN\_A

Το Trichostatin\_A, αναστέλλει εκλεκτικά και αντιστρεπτά τις αποακετυλάσες των ιστονών (EC: 3.5.1.98), προκαλώντας υπερακετυλίωση των ιστονών που τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης. Η αύξηση των επιπέδων ακετυλίωσης των ιστονών, προάγει την αναστολή της ανάπτυξης του όγκου. Το Trichostatin\_A, ως ένας ισχυρός επαγωγέας της διακοπής της ανάπτυξης των κυττάρων του όγκου, συμβάλλει στην καταπολέμηση των διάφορων πολλαπλασιαστικών νεοπλασμάτων.

### 33) VELIPARIB

Το Veliparib, είναι ένας αναστολέας της πολυμεράσης poly ADP- ριβόζης (poly(ADP-ribose)polymerase) (PARP) (EC: 2.4.2.30). Συγκεκριμένα, αναστέλλει την PARP1 (Uniprot ID: P09874) και την PARP2 (Uniprot ID: Q9UGN5). Αναστέλλοντας τις PARPs, παρεμποδίζει την επισκευή του DNA στα κύτταρα του όγκου, ενισχύοντας την κυτταροτοξικότητα των παραγόντων που βλάπτουν το DNA. Το Veliparib, έχει χρησιμοποιηθεί σε διάφορες κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία καρκινικών όγκων.

### 34) WZ4002

Το WZ4002, είναι ένας αναστολέας του υποδοχέα του επιδερμικού παράγοντα ανάπτυξης (EGFR) (Uniprot ID: P00533) και εμπλέκεται στη θεραπεία του επιθηλιακού καρκίνου του πνεύμονα. Υπάρχουν αναφορές ότι αναστέλλει, επίσης, τη δράση της κινάσης τυροσίνης Janus 2 (JAK 2) (Uniprot ID : O60674).

### 35) ZILEUTON

Το Zileuton, είναι ένα συνθετικό παράγωγο υδροξυουρίας με αντιασθματικές ιδιότητες. Αναστέλλει την 5-λιποξυγονάση (Uniprot ID: P09917), ένα ένζυμο, που καταλύει το σχηματισμό λευκοτριενίων από το αραχιδονικό οξύ. Προκαλεί βρογχοδιαστολή. Επίσης, μειώνει την έκκριση βρογχικού βλεννογόνου και προλαμβάνει ή μειώνει τα συμπτώματα του άσθματος.

### 36) ZOCOR (Simvastatin)

Το Zocor, είναι ένας αναστολέας της ρεδουκτάσης του ηπατικού 3-υδρόξυ-3-μεθυλογλουταρικού συνενζύμου A (HMG – CoA) (Uniprot ID: P04035), ενός ενζύμου που καταλύει τη μετατροπή του HMG – CoA σε μεβαλονικό, το οποίο αποτελεί βασικό βήμα για τη σύνθεση της χοληστερόλης. Χρησιμοποιείται στη θεραπεία της πρωτοπαθούς υπερχοληστερολαιμίας και είναι αποτελεσματικό όσον αφορά στη μείωση της ολικής και της LDL- χοληστερόλης, καθώς επίσης και στη μείωση των τριγλυκεριδίων του πλάσματος.

### 37) ZSTK474

Το ZSTK474, είναι ένας αναστολέας της κινάσης PI3 (EC: 2.7.1.137), η οποία σε περιπτώσεις πρόκλησης της μετάλλαξης p110a, έχει βρεθεί ότι συμβάλλει σημαντικά στον κυτταρικό μετασχηματισμό και στην ανάπτυξη καρκίνου. Αναστέλλει και τις 4 ισομορφές της PI3K. Η αναστολή της δράσης της PI3K, έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των κυττάρων του όγκου και τη μη επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Το ZSTK474, έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές κλινικές δοκιμές για την καταπολέμηση διάφορων μορφών κακοήθειας.

## **ΕΝΩΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ**

### 1) LOMEGUATRIB

Το Lomeguatrib, είναι ένας αναστολέας της O(6)-μεθυλογουανίνης DNA μεθυλοτρανσφεράσης (MGMT) (Uniprot ID: P16455), μίας πρωτεΐνης που επιδιορθώνει βλάβες που προκύπτουν από μεταλλάξεις στο DNA. Η εν λόγω πρωτεΐνη, κωδικοποιείται από το γονίδιο MGMT, η μεθυλίωση του υποκινητή του οποίου παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση. Το Lomeguatrib, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία καρκινικών όγκων, όπου αναστέλλει τη λειτουργία

της O(6)-μεθυλογουανίνης DNA μεθυλοτρανσφεράσης, έτσι ώστε να μην επιδιορθώνει το DNA των καρκινικών κυττάρων.

## 2) NECROSTATIN – 1

Το Necrostatin-1, είναι ένας αναστολέας που συμβάλλει στη θεραπεία της κυτταρικής νέκρωσης. Αναστέλλει τη δράση του παράγοντα TNF (Tumor Necrosis Factor) (Uniprot ID: P01375), ο οποίος υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα και του υποδοχέα αλληλεπίδρασης 1 της πρωτεϊνικής κινάσης σερίνης/θρεονίνης (RIPK-1) (Uniprot ID: Q13546), που επάγει τη νέκρωση και την απόπτωση σ' όλα τα κύτταρα. Επίσης, παρεμποδίζει τη δράση της 2,3 δυοξυγονάσης της ινδολαμίνης (Indoleamine 2,3-dioxygenase) (Uniprot ID: P14902), ενός ενζύμου που ενεργοποιείται κατά την ανάπτυξη καρκινικών όγκων και βοηθά τα καρκινικά κύτταρα να επιβιώσουν.

## ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

### 1) 4-METHYLUMBELLIFERONE

Το 4-Methylumbelliferone, είναι μία ουσία που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση, την ταυτοποίηση και την ανάλυση διάφορων χημικών, βιολογικών ή παθολογικών διεργασιών. Έχει χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας B και της χρόνιας ηπατίτιδας C.

### 2) GRAMINE

Το Gramine, είναι ένας επιλεκτικός αναστολέας της συνθάσης της θρομβοξάνης (Uniprot ID: P24557). Η θρομβοξάνη, είναι ένας αγγειοσυσταλτικός και υπερτασικός

παράγοντας που διευκολύνει τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων, το οποίο αποτελεί το πρώτο στάδιο στη δημιουργία θρόμβου.

### 3) INDIRUBIN

Το Indirubin, είναι μία ένωση που παρεμποδίζει ή αποτρέπει τον πολλαπλασιασμό νεοπλασμάτων. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης ή σαν αντιδραστήριο για την ανίχνευση, την ταυτοποίηση και την ανάλυση διάφορων χημικών, βιολογικών ή παθολογικών διεργασιών. Το Indirubin, έχει χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία της χρόνιας γλυκοκυτταρικής λευχαιμίας.

### 4) INDOLE – 3 – CARBINOL

Το Indole-3-carbinol, ανήκει σε μία κατηγορία παραγόντων που μειώνουν τη συχνότητα ή το ρυθμό των αυθόρμητων ή των επαγόμενων όγκων ανεξαρτήτως του εμπλεκόμενου μηχανισμού. Παράγεται από μέλη της οικογένειας Cruciferae και κυρίως από μέλη του γένους Brassica. Συμβάλλει στη θεραπεία διάφορων μορφών καρκίνου, όπως ο καρκίνος του στήθους, ο καρκίνος του ενδομητρίου, ο καρκίνος του προστάτη και ο καρκίνος του παχέος εντέρου. Το Indole –3–carbinol, παρεμποδίζει τη δέσμευση της στεροειδούς ορμόνης 3H-μεθυλτριενολόνης (PUBCHEM CID:261000), στην τρανσφεράση της γλουταθειόνης. Η 3H-μεθυλτριενολόνη, έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στην εμφάνιση διάφορων μορφών καρκίνου, με πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα τον καρκίνο του στήθους.

### 5) INOSINE

Το Inosine, είναι ένας παράγοντας με νευροπροστατευτικές, καρδιοπροστατευτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Σε μελέτες κυτταροκαλλιέργειας, έχει βρεθεί ότι το Inosine αναστέλλει την παραγωγή του παράγοντα TNF(Tumor Necrosis Factor) (Uniprot ID: P01375) σε ανοσοδιεγερμένα κύτταρα. Το Inosine, συμβάλλει στη θεραπεία της στεφανιαίας νόσου.

#### 6) N6-METHYLADENOSINE

Το N6-Methyladenosine, είναι ένα ενδογενές ουρητικό νουκλεοσιδικό προϊόν της αποικοδόμησης του tRNA. Το tRNA, έχει βρεθεί ότι εκκρίνεται σε ανώμαλες ποσότητες στα ούρα καρκινοπαθών. Χρησιμοποιείται στη θεραπεία διάφορων μορφών καρκίνου, όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου, όπου τα ουρητικά νουκλεοσίδια χρησιμοποιούνται σαν βιολογικοί δείκτες.

#### 7) TANGERETIN

Το Tangeretin, είναι ένα φλαβονοειδές με αντινεοπλασματική δράση. Χρησιμοποιείται στη θεραπεία διάφορων μορφών καρκίνου όπως το γλοιοσάρκωμα, όπου αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων.

#### 8) TETRAHYDROPAPAVERINE

Το Tetrahydropapaverine, είναι ένας παράγοντας με πιθανή αντινεοπλασματική δράση. Έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τη βιοσύνθεση της σεροτονίνης (PDB CID: 5202) στα καρκινικά κύτταρα. Το Tetrahydropapaverine, συμβάλλει στη θεραπεία καρκινικών κυττάρων του μυοκαρδίου του ποντικού.

#### 9) XANTHONE

Το Xanthone, είναι μία ένωση που έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τη συνθάση της θρομβοξάνης, με σκοπό την αποφυγή της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων. Τόσο το Xanthone, όσο και τα διάφορα παράγωγά του χρησιμοποιούνται σαν θεραπευτικά μέσα για την καταπολέμηση διάφορων ασθενειών.