

**UNIVERSITY OF PATRAS
DEPARTMENTS OF CHEMISTRY, MEDICINE AND
PHARMACY**

**13th Medicinal
Chemistry Conference**

**MEDICINAL CHEMISTRY:
Drug Discovery and Design**

May 9-12, 2012

**Conference and Cultural Center
University of Patras, Patras, Hellas**

Letter from Guest Editor

Welcome to the Medicinal Chemistry Graduate Program from Basic to Applied Research

Euromaster Labeled Program (ECTN Association)

The Graduate Program *Medicinal Chemistry: Drug Discovery and Design* of the University of Patras has completed its 15th year of operation. The program is a joint collaboration of researchers from the Departments of Chemistry, Pharmacy and Medicine. The Program has been successful so far with outstanding research and academic activities in the field of Medicinal Chemistry, attracting the interest of world leading scientists for participation and research collaboration. The Program is the first in Greece among graduate programs to be evaluated with the title of *Euromaster* from the European Chemistry Thematic Network Association. It has also been evaluated as a center of excellence by the Ministry of Education. (<http://excellence.minedu.gov.gr/listing/106-graduateprogram>)

Main research interests of the Program are focused on the Organic and Peptide Synthesis of Biomolecules, Rational Design with Aided Computer and Modeling Methods, Biological Evaluations *in vivo* and *in vitro*, Molecular Biology, Molecular Medicine, Toxicology, Biomedical Analysis, Pharmacognocny, Pharmacokinetics, Research Methods. The program has organized thirteen (13) Medicinal Chemistry Conferences with International participation. The Program honors each year a distinguished scientist for the important contribution to Biomedical Research and Science. So far the Program has honored outstanding scientists in the field: *Kleomenis Barlos*, University of Patras (2012); James D. Watson, Nobel of Medicine and Physiology, Cold Spring Harbor Laboratory, USA (2011); *Andrew V. Schally*, Nobel of Medicine and Physiology, University of Miami, USA (2010); *Dimitrios Nanopoulos*, University of Texas, USA (2009); *Jean-Marie Lehn*, Nobel of Chemistry, Louis Pasteur University, College de France (2008); *Kyriakos Nikolaou*, Scripps Research Institute, USA (2007); *Aristidis Patrinos* President Synthetic Geonomics Inc., USA (2006), *Charalambos Gavras*, Boston University, USA (2005); *Konstantinos Sekeris*, University of Athens (2004); *Michael Maragoudakis*, University of Patras (2003), *Chris Plat-soukas*, Temple University, USA (2002); *Athanasios Giannis*, University of Leipzig, Germany (2001); *Vasso Apostolopoulou*, Austin- Burnet Research Institute, Australia (2000).

Since 2000, over two hundred and fifty M.Sc. and PhD students have graduated from the Program, which offered 225 titles for the Master and 25 titles for the PhD Degree, all of the graduates with successful careers in the Academia, Public or Industrial Sector. The Program provides highly trained students to the benefit of the European Economy and Society. The Program is giving emphasis to research which is carried out during the last two semesters. Innovative Products and methods from the graduate students are produced research findings are published annually in high stand journals.

The Guest Editor, on behalf of the Postgraduate Program Committee, wishes to express his deep appreciation to all contributors in this book. We also thank

the Editorial Board of *Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics* in particular Journal Editors Prof. S. T. Plessas and Dr C. T. Plessas for invitation and for providing the suitable and high-standard forum through which important findings of this research will become available to the scientific community.

The Guest Editor
John M. Matsoukas

Professor of Chemistry, University of Patras, Greece
Head of Medicinal Chemistry Program
Medicinal Chemistry: Drug Discovery and Design

The Art of Chemical Synthesis: Insulin and Derivatives. Insulin Structure *via* DNA Recombination or *via* Chemical Synthesis?

Kleomenis Barlos

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, GR-26500, Rio, Hellas

Key words: Chemical synthesis, Insulin and derivatives, DNA recombination

Η Τέχνη της Χημικής Σύνθεσης: Σύνθεση Ινσουλίνης και Παραγώγων. Βιοπαρόμοια Δομή Ινσουλίνης μέσω Ανασυνδυασμένου DNA ή Ταυτόσημη μέσω Χημικής Σύνθεσης;

Κλεομένης Μπάρλος

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Οι ασθένειες διαμόρφωσης/δίπλωσης αποτελούν >75% του συνόλου των ασθενειών. Παραδείγματα τέτοιων ασθενειών είναι οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις όπως η γύρανση και το Αλτσχάιμερ, ο διαβήτης, πολλές μορφές καρκίνου και η αρθρίτις. Η αρχή της ασθένειας είναι η δημιουργία μεταλλαγμένων πρωτεϊνών ή οφείλεται σε διάφορες δυσλειτουργίες και καταστάσεις, όπως το οξειδωτικό στρες που επιβραδύνουν ή αποτρέπουν τη σωστή δίπλωση συγκεκριμένων πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα, πολλές φορές τον ολιγομερισμό και την καταβύθισή τους. Λόγω της μεγάλης ομοιότητας των μεταλλαγμένων, λάθος δίπλωμένων ή πολυμερισμένων πρωτεϊνών με τις φυσικές, το αμυντικό σύστημα του κυττάρου δεν τις αναγνωρίζει σαν ξένες και έτσι αυτές δεν αποικοδομούνται με καταστροφικά αποτελέσματα για τον οργανισμό. Τα σημερινά φάρμακα καταπολεμούν την ασθένεια μετά την εμφάνιση της και για αυτό το λόγο μπορούν να θεωρηθούν σαν

δεύτερης γραμμής φαρμακευτική αγωγή. Πρώτης γραμμής θεραπευτική αγωγή θα μπορούσε να θεωρηθεί η υποβοήθηση των πρωτεϊνών να διπλωθούν σωστά ή αποπολυμερισθούν ή να αναγνωρισθούν από το αμυντικό σύστημα του κυττάρου και καταστραφούν. Αυτό θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με τη χορήγηση μικρών πρωτεϊνών οι οποίες, μεταξύ των άλλων, θα αναγνώριζαν τις μεταλλαγμένες πρωτεΐνες και διπλούμενες μαζί τους θα δημιουργούσαν συμπλέγματα άγνωστα στο αμυντικό ανοσοποιητικό σύστημα. Με αυτό τον τρόπο η ασθένεια δεν θα εμφανιζόταν ή θα μπορούσε να επιβραδυνθεί σημαντικά η εμφάνισή της. Δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει κατανοητό για ποιους λόγους μία πρωτεΐνη διπλώνει με μία άλλη. Επίσης δεν θεωρείται πιθανό μία συνθετική πρωτεΐνη να διπλώνει με μία άλλη με την απαιτούμενη μεγάλη ταχύτητα έτσι ώστε να μπορούσε να χορηγηθεί σαν φαρμακευτική αγωγή.

Πρόσφατα ανακαλύψαμε στο εργαστήριό μας ότι η δίπλωση των δύο πρωτεϊνικών αλυσίδων των ινσουληνοειδών πεπτιδίων γίνεται με εκπληκτική ταχύτητα σε εξαιρετικά μεγάλη αραιώση παρόμοια με αυτή που θα μπορούσε να υπάρχει στα κύτταρα. Αυτό μας δίνει την αισιοδοξία ότι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν πρωτότυπα για την εξέλιξη φαρμακευτικών προϊόντων κατά πολλών ασθενειών διαμόρφωσης συμπεριλαμβανομένου του γείρατος που μέχρι σήμερα θεωρούνται ανίατες.



Darwin: A Life in Poems

Ruth Padel

Royal Society of Literature and Zoological Society of London, London, UK

Key words: Poetry, Science, Charles Darwin, John Milton, Samuel Teylor Coleridge

Ποίηση και Επιστήμη

Ruth Padel

Συγγραφέας- Ποιήτρια

Η άποψη, ότι η Ποίηση αφορά στο συναίσθημα και η Επιστήμη στα εμπειρικά δεδομένα και ότι ανάμεσα στις δύο δεν υπάρχει καμιά σχέση, είναι πολύ διαδεδομένη. Στην πραγματικότητα αυτές οι δύο διατηρούν μια γόνιμη σχέση για πάνω από δύο χιλιετίες.

Η Ποίηση υπήρξε ο πρώτος γραπτός τρόπος για να τεθούν ερωτήματα όπως, *Από τι φτιάχτηκε ο κόσμος; Πώς γεννήθηκε;* Τον έκτο και πέμπτο αιώνα π.Χ. οι προσωκρατικοί ασχολήθηκαν με αυτά τα ερωτήματα και συνεισέφεραν στη Φυσική, τη Χημεία, τη Γεωλογία, την Αστρονομία, τη Θεολογία, τη Μεταφυσική και στην Επιστημολογία, συχνά σε στίχο. Το έπος του Λατίνου Titus Lucretius Carus (94-55 π.Χ.) για τα άτομα, *Περί της Φύσεως των Πραγμάτων*, συνέχισε αυτή την παράδοση. Παρόμοια, κατά τον 18^ο αιώνα ο Βρετανός Δρ Erasmus Darwin (1731-1802 μ.Χ.), παππούς του Charles Darwin (1809-1882 μ.Χ.), του οποίου το ποίημα *Ο Ναός της Φύσης (Temple of Nature)* (1,2) αποτέλεσε μια θεωρία της εξέλιξης, που εξέταζε τις ζωικές μορφές από τους μικροοργανισμούς έως την ανθρώπινη κοινωνία.

Η Ποίηση και η Επιστήμη έχουν πολλά κοινά στοιχεία. Και οι δύο στηρίζονται στη μεταφορά, η οποία είναι εξίσου κρίσιμη στην επιστημονική ανακάλυψη όσο και στο λυρισμό. Μια καινούργια μεταφορά είναι μια νέα χαρτογράφηση του κόσμου. Η επιστημονική σκέψη του Charles Darwin (1809-1882) διαμορφώθηκε από την ποίηση. Ο ποιητής που κουβαλούσε μαζί του στις αποστο-

λές του στη Νότια Αφρική ήταν ο Άγγλος John Milton (1608-1674 μ.Χ.) (3). Είκοσι χρόνια αργότερα, Η καταγωγή των Ειδών όπως ο Χαμένος Παράδεισος (*Paradise Lost*), έχει ως αφετηρία την απώλεια, την απώλεια εξαφανισμένων ειδών (3).

Η Ποίηση, όπως και η Επιστήμη, επισκοπεί το συμπαντικό μέσα από το ειδικό. Ο Darwin συγκρότησε τις θεωρίες του εστιάζοντας σε ελάχιστες συμπαγείς ολότητες. Πέρασε επτά χρόνια μελετώντας τις πεταλίδες πριν γράψει το γενικό βιβλίο για τα είδη. Επίσης, και οι δύο καταλήγουν σε αφηρημένες και γενικές ιδέες μέσω της ακρίβειας και οι επιστήμονες και οι ποιητές εστιάζουν σε λεπτομέρειες. Η ποίηση βρίσκεται στους αντίποδες του θολού ή του αφηρημένου. Η αφηρημένη ποίηση είναι κακή ποίηση, που σημαίνει, κατά τον Βρετανό Samuel Teylor Coleridge (1772-1834 μ.Χ.), ότι δεν είναι καν ποίηση και η θολή Επιστήμη δεν είναι Επιστήμη.

Το σημαντικό ερώτημα που τίθεται είναι σε τι αφορά η ποίηση ή η επιστήμη. Αυτό το σε τι είναι μια φράση που προκαλεί σύγχυση. Επιστήμη σημαίνει γνώση. Η επιστήμη, κατά τη γνώμη μου, δεν αφορά τα δεδομένα, αλλά αφορά την ιδέα για τα δεδομένα. Παρόμοια, η Ποίηση μπορεί να πει κανείς ότι αφορά τις σχέσεις ανάμεσα στη λέξη και στον ήχο, στη λέξη και στο πράγμα, στη λέξη και στην ιδέα, στον ήχο και στο νόημα, στις λέξεις και στις άλλες λέξεις. Το ίδιο ισχύει και για την Επιστήμη. Ο Darwin όλο τον καιρό αναζητούσε τις σχέσεις των οργανικών μορφών στο χώμα, στην πέτρα, σε όσα συμβαίνουν ανάμεσα στο κόκκινο τριφύλλι και στις μελισσούλες.

Αλλά η βαθύτερη σχέση Επιστήμης και Ποίησης βρίσκεται στον τρόπο με τον οποίο χειρίζονται την αβεβαιότητα. Και οι δύο δεν οφείλουν να πουν ότι έχουν δίκιο και είναι τόσο αληθινές όσο μπορούν να είναι εκείνη τη χρονική στιγμή. Ένας

επιστήμονας είναι ο πρώτος που οφείλει να πει ότι δεν ξέρει, μου απάντησε ένας βιολόγος που μελετούσε τις τίγρεις, όταν τον ρώτησα μια λεπτομέρεια για τη συμπεριφορά της τίγρης. Ένας επιστήμονας προχωρά προς την αλήθεια, αλλά ποτέ δεν τη φτάνει. Την ίδια ιδέα διατύπωσε και ο Άγγλος ποιητής John Donne 1572-1631 μ.Χ.): Πάνω σε έναν μεγάλο λόφο, Απόκρημνο και απότομο, η Αλήθεια στέκεται, και αυτός που θα τη φτάσει, με το που ανέβει, πρέπει να κατέβει.

REFERENCES

1. Erasmus Darwin: *The Botanic Garden. Part I: The Economy of Vegetation*. J. Johnson, London, 1791
2. Erasmus Darwin: *The Botanic Garden. Part II: The Loves of the Plants*. J. Johnson, London, 1789
3. John Milton: *Paradise Lost*. 2nd ed., S. Simmons, London, 1674



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 133 (2012)
©PHARMAKON-Press

Higgs Boson and the LHC

Dimitri Nanopoulos

Distinguished Professor of High Energy Physics, University of Texas A&M, USA

Key words: Higgs boson, LHC

The main characteristic of matter, from which everything else is produced, is mass. All the fundamental constituents of matter, quarks, leptons..., have mass and according to the Standard Model of Particle physics, this mass is generated from the Higgs mechanism, proposed back in 1964! We had to wait for 50 years in order to see, finally, the first tantalizing hints for the existence of the Higgs boson/particle at the LHC experiments at CERN. This discovery goes beyond the limited interests of just a group of physicists, as it answers one of the biggest questions of all times: WHAT IS THE ORIGIN OF MASS? The (experimentally based) answer to this grand question should be of interest to all of us and will be the gist of my talk.

REFERENCE

John Ellis (King's Coll. London & CERN), Mary K. Gaillard (UC, Berkeley & LBL, Berkeley), Dimitri V. Nanopoulos (Texas A-M & HARC, Woodlands & Athens Academy): A Historical Profile of the Higgs Boson. *High Energy Physics - Phenomenology arXiv.org/hep-ph* arXiv:1201.6045. Submitted on 29 Jan 2012

Το Σωματίδιο Higgs και το LHC

Δημήτριος Νανόπουλος

University of Texas A&M, U.S.A.

Χαρακτηριστικό της ύλης από την οποία ΟΛΑ είναι παράγωγα, είναι η μάζα. Όλα τα βασικά συστατικά της ύλης quarks, λεπτόνια, ... έχουν μάζα και σύμφωνα με το Καθιερωμένο πρότυπο (Standard Model) η μάζα αυτή προέρχεται από τον μηχανισμό του Higgs, που προτάθηκε το 1964!

Περιμέναμε περίπου 50 χρόνια για να δούμε τελικά τα πρώτα ίχνη του σωματιδίου Higgs στο μεγάλο πείραμα LHC του CERN. Η ανακάλυψη αυτή ξεφεύγει από τα στενά όρια μιας συγκεκριμένης ομάδας φυσικών και απαντά σε ένα από τα μεγαλύτερα ερωτήματα όλων των εποχών: *ΑΠΟ ΠΟΥ ΠΡΟΕΡΧΕΤΑΙ Η ΜΑΖΑ*

Η πειραματικά τεκμηριωμένη, με ισχυρές ενδείξεις, απάντηση σε αυτό το τόσο μεγάλο ερώτημα που θέλω να πιστεύω ότι αφορά όλους μας, θα είναι το κεντρικό θέμα της ομιλίας μου.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 134 (2012)
©PHARMAKON-Press

Chemistry, Honoré de Balzac and...Proteins

By Anastasios Varvoglis

Emeritus professor of Chemistry, University of Thessaloniki

Key words: Chemistry, proteins, Honoré de Balzac, Julian Voss-Andreae, Mara Haselstein, Julie Newdoll

The presentation is an attempt to demonstrate links of Chemistry with Literature (through Balzac's work) and Art (through sculpture and paintings of proteins).

Several works by Honoré de Balzac (1799-1850) deal with aspects of chemistry of his time as well as of alchemy (1). It is shown that Balzac is well informed using aptly chemical metaphors as well as historical and philosophical issues; because of the dual character of chemistry, synthesis and decay, we detect in his writings a special relation of love and hatred about chemistry.

Proteins with their fascinating shapes and function have served as a source of inspiration for many artists, especially sculptors Julian Voss-Andreae (2) and Mara Haselstein, and painters such as Julie Newdoll

1. Honoré de Balzac: La Comédie humaine
2. Julian Voss-Andreae: Protein Sculptures: Life's Building Blocks Inspire Art. *Leonardo* 38(1): 41-45 (2005)
3. Gerritsen V.B.: Protein grace. *Protein spotlight* 77: 2006
4. Newdoll J.: Dances and Ceremonies: The Inner World of Cells

Χημεία, Μπαλζάκ και... Πρωτεΐνες

Αναστάσιος Βάρβογλης

Τμήμα Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο,
Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

Χημεία και Τέχνη διαθέτουν αρκετά κοινά σημεία, καθώς διακρίνονται ιδίως για τον προοδευτικό και δημιουργικό χαρακτήρα τους, η Χημεία κατ' εξοχήν σε σχέση με τις άλλες Φυσικές

Επιστήμες. Και οι δύο μπορούν να προσφέρουν αισθητική απόλαυση, αν και η Χημεία μόνο στους μυημένους. Η Χημεία επιπλέον, υπό ποικίλες μορφές, αποτελεί πηγή έμπνευσης για τους καλλιτέχνες. Αυτή ακριβώς η σχέση εξετάζεται με συντομία: από την πλούσια παραγωγή της λογοτεχνίας και των εικαστικών τεχνών, εμπνευσμένη από τη Χημεία, παρουσιάζονται αφενός η σχετική συμβολή του Μπαλζάκ και αφετέρου οι πρωτεΐνες ως αντικείμενο καλλιτεχνικής δημιουργίας.

Στην *Ανθρώπινη Κωμωδία* του, ο Μπαλζάκ ασχολείται κάποτε διεξοδικά, και συχνά διαισθητικά, με τη Χημεία αλλά και με την Αλχημεία. Η Χημεία, λόγω του διπτού αντικείμενου της, σύνθεσης και αποσύνθεσης, εξασκεί στη φαντασία του Μπαλζάκ μια ειδική επίδραση αγάπης-μίσους που αποτυπώνεται σε πολλά έργα του. Έτσι, ενώ μιλά για τα θαύματα της σύγχρονης Χημείας, αλλού την χαρακτηρίζει ως διαβολική ενασχόληση. Παραδέχεται πάντως ότι *Η σύγχρονη Χημεία είναι ...πολλή και όμως λίγη*.

Οι πρωτεΐνες, μόρια κατ' εξοχήν διεπιστημονικού ενδιαφέροντος, με τις απaráμιλλες μορφές τους, αλλά και εξαιτίας των συναρπαστικών ιδιοτήτων τους, ενέπνευσαν πολλούς ζωγράφους και γλύπτες που τις αποτύπωσαν στα έργα τους. Στον τομέα αυτό κυριαρχεί ο Τζούλιαν Βος-Αντρε, θεωρητικός φυσικός που σταδιοδρομεί ως γλύπτης, με ιδιαίτερη απήχηση και καταξίωση. Αξιόλογη παρουσία έχουν και άλλοι καλλιτέχνες με ποικίλα έργα που ξεκινούν από το μνημειώδες και φτάνουν στη μινιατούρα.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 135 (2012)
©PHARMAKON-Press

The Poetics of Crossing

Aikaterini Kostiou

Department of Philosophy, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Ruth Padel, Mara Crossing

Η Ποιητική της Μετάβασης

Αικατερίνη Κωστίου

Τμήμα Φιλολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

*Η κάθε μέρα είναι ένα ταξίδι και το ταξίδι το ίδιο γίνεται η Εστία. Ο παραπάνω στίχος του Μπασό μπορεί να πει κανείς ότι δίνει το κατ' εξοχήν στίγμα του τελευταίου βιβλίου της Ruth Padel *Διασχίζοντας τον Μάρα* (2012) (1), το οποίο αποτυπώνει ποιητικά την εμπειρία του Όντος ως ένα αέναο ταξίδι. Πεπεισμένη ότι η κίνηση, η μετακίνηση, η μετανάστευση, η αποδημία, η*

μετεμψύχωση είναι οι κατεξοχήν διαδικασίες του φαινομένου της ζωής, η συγγραφέας δημιουργεί μια ποιητική ανατομία όλης της ζωικής κλίμακας. Εκκινώντας από το πρώτο κύτταρο, τη δημιουργία της ζωής και περνώντας στην πανίδα και τη χλωρίδα η Παντέλ, καταγράφει την εμπειρία της ζωής ως *μετάβαση*, ένα ενδιάμεσο στάδιο ανάμεσα σε δύο κόσμους όπου ο άνθρωπος περιπλανιέται σπρωγμένος, είτε από την ελπίδα, είτε από την φαντασία.

1. Ruth Padel: *The Mara Crossing*. Chatto & Windus, The Random House Group, January 2012



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 136 (2012)
©PHARMAKON-Press

Generics: Morale Dilemmas and Legal Rights

Michael Parousis

Department of Philosophy, School of Human and Social Sciences, University of Patras,
Patras, GR-26500, Rio, Hellas

Key words: Generics, morale dilemmas, legal rights

Γενόσημα: Ηθικά Διλήμματα και Νομικά Δικαιώματα

Μιχαήλ Παρούσης

Τμήματα Φιλοσοφίας, Σχολή Ανθρωπιστικών και Κοινωνικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Ένα σημαντικό πεδίο των συγχρόνων πηγών του Δικαίου αποτελούν εκείνες οι ηθικοπολιτικές αρχές δικαιοσύνης που εκφράζονται μέσα από τις διακηρύξεις των ανθρωπίνων δικαιωμάτων των Διεθνών Οργανισμών ή μέσα από τα δημοκρα-

τικά Συντάγματα, τα οποία αποτελούν ταυτόχρονα τη θεμελιώδη βάση του Πολιτεύματος, αλλά και τον υπέρτατο και απαραβίαστο Νόμο της Πολιτείας. Στο βαθμό που τα εν λόγω δικαιώματα αναφέρονται σε οικουμενικές ηθικές αξίες, προκύπτουν κάποτε ρυθμιστικές συγκρούσεις που αντιστοιχούν σε ηθικά διλήμματα. Χαρακτηριστική περίπτωση για αυτό το φαινόμενο αποτελούν τα γενόσημα φάρμακα, τα οποία, προκειμένου να διαφυλαχθεί το δικαίωμα στην υγεία και τη ζωή, επιβάλλεται πολιτικά να κυκλοφορούν εις βάρος του δικαιώματος στη διανοητική ιδιοκτησία.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 137 (2012)
©PHARMAKON-Press

Hippocrates and a new Approach of Human Being

Christos A. Terezis

Department of Philosophy, University of Patras, Patras, GR-26500, Rio, Hellas

Key words: Hippocrates, human being

Ο Ιπποκράτης και η Νέα Προσέγγιση του Ανθρώπου

Χρήστος Αθ. Τερέζης

Τμήμα Φιλοσοφίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάδα

Ο Ιπποκράτης και η Ιατρική Σχολή της Κω αντιπροσωπεύουν σε κορυφαίο βαθμό ό,τι θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως αρχαίος ελληνικός διαφωτισμός. Από τη μία πλευρά, αναπτύσσουν ένα αυστηρά ορθολογικό παράδειγμα ιατρικής παρέμβασης, με την επιστήμη να θέτει στο περιθώριο τη δεισιδαιμονία και τις προκαταλήψεις και με την ερευνητική ανίχνευση της φύσης και του ανθρώπου να συνιστά κορυφαία κανονιστική αρχή. Από την άλλη, επιμένουν ιδιαίτερος όχι τόσο στην κατάσταση της ασθένειας, αλλά σε αυτή του ασθενούς, αναδεικνύοντας έτσι ένα αίτημα περί προσωποκεντρικής θέασης του ανθρώπου, η ιδιαιτερότητα του οποίου θα προβάλλεται εδραίως ως αξία. Σε ένα τέτοιο πλαίσιο ανοικτού και φιλελεύθερου στοχασμού, η ιατρική και η

φαρμακευτική αγωγή υπάγονται στην Ανθρωπολογία και αναδεικνύουν παράλληλα την κοινωνική αποστολή της επιστήμης, την μετάφρασή της σε συλλογικό αγαθό. Συγχρόνως, όμως, ο Ιπποκράτης φέρει στο προσκήνιο προτάσεις για μία ριζοσπαστική πολιτική μεταρρύθμιση, συνδέοντας την ποιότητα του τρόπου ύπαρξης των πολιτών με το σύστημα των πολιτειακών επιλογών που έχουν υιοθετηθεί ή επικρατήσει σε ένα συγκεκριμένο χωροχρονικό πλαίσιο κοινωνικών διαχειρίσεων-προοπτικών. Θα μπορούσε, λοιπόν, να υποστηριχθεί ότι η ιπποκρατική ιατρική συνιστά ένα ερεθιστικό ανάγνωσμα για επαναστατική διείσδυση στα κεφαλαιώδη της ύπαρξης και για ανάδειξη της άνευ όρων προσφοράς ως του χαρακτηριστικού εκείνου συγκεκριμένου που θα οδηγήσει τον άνθρωπο και την κοινωνία στην εντελέχειά τους. Αλλά και το έτι περαιτέρω: συνθέτει την στιγμή κατά την οποία η φύση ανακαλύπτει στην μεταφυσική τον ορίζοντα της ποιοτικής μετατροπής της.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 138 (2012)
©PHARMAKON-Press

DNA Sensors: Sociology and Architecture in the Nano World

Theodore Christopoulos

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, GR-26500, Rio, Hellas

Key words: DNA Sensors, Sociology, Architecture, Nano World

DNA analysis has found a wide spectrum of applications including pharmacogenetics, detection of mutations, detection of various pathogens, diagnosis and monitoring of disease. The progress in this field is remarkable. Indeed, for many years, these analyses required tedious and time consuming procedures based on radioactive isotopes. On the contrary, DNA sensors are small and portable devices that enable simple, rapid and low cost DNA analysis without the need of radioactivity.

The development and the functional aspects of DNA sensors reveal noteworthy examples of sociology and architecture in the *nano* world (molecular recognition and self-assembly) as well as intelligent ways of communication between the *nano* world and the *macro* world *via* excitation and signal generation.

Αισθητήρες DNA: Κοινωνιολογία και Αρχιτεκτονική στο Νανόκοσμο

Θεόδωρος Χριστόπουλος

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα,
Ρίο, Ελλάς

Οι αναλύσεις DNA έχουν ευρύ φάσμα εφαρμογών που περιλαμβάνει τη Φαρμακογενετική, την ανίχνευση μεταλλάξεων, την ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών, τη διάγνωση, πρόγνωση και παρακολούθηση ασθενειών. Η πρόοδος στο πεδίο αυτό είναι σημαντική δεδομένου ότι αναλύσεις, οι οποίες, πριν από μερικά χρόνια για να πραγματοποιηθούν απαιτούσαν επίπονες, χρονοβόρες και δαπανηρές διαδικασίες, με τη χρήση ραδιενεργών ισotόπων, τώρα εκτελούνται με αισθητήρες DNA, δηλαδή φορητές συσκευές χαμηλού κόστους, που καθιστούν εφικτή την ανίχνευση με απλή και ταχεία διαδικασία χωρίς ραδιενέργεια.

Ο σχεδιασμός και η λειτουργία των αισθητήρων DNA περιλαμβάνουν αξιόλογα παραδείγματα κοινωνιολογίας και αρχιτεκτονικής στο νανόκοσμο (μοριακή αναγνώριση και αυτοοργάνωση) καθώς και ευφυείς τρόπους επικοινωνίας του νανόκοσμου με το μακρόκοσμο μέσω διέγερσης και παραγωγής σήματος.



From Peptides to Mimetics, a new Generation of Drugs: The examples of angiotensin II and myelin

John Matsoukas

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, GR-26500, Rio, Hellas

Key words: Angiotensin II, myelin, elmyelin, Losartan, Multiple Sclerosis

The discovery of Losartan a non peptide Angiotensin II Receptor antagonist was announced in 1989 during the Gordon Research Conference on Angiotensin and the Renin-Angiotensin-System (RAS). The drug was discovered in the Laboratories of Dupont and the announcement at the Conference was the approval for Clinical trials which led to the first Angiotensin II nonpeptide Receptor antagonist. Previous Angiotensin II peptide antagonists such as Sarileins and Saralasin failed to become drugs due to its peptide nature rendering them susceptible to proteolytic enzymes which hydrolyze them. The announcement was the result of many years work on Angiotensin and the RAS System, since it was discovered 80 years ago. Breakthroughs in this evolution were the discovery of Captopril by Miguel Ondetti in 1975 and Losartan by Timmermans in 1989. The main steps followed in our laboratories in Patras towards new Sartans, are:

1. Peptide (The tool),
2. Peptide Model (The ligand-receptor interaction),
3. Cyclic Peptide (The drug lead),
4. Non-peptide mimetic (The Drug). Potent Sartans designed and synthesized in this work are 4-butyl-N,N'-bis[[2'-(2H-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]-methyl]imidazoli-um bromide (BV6) and 5. butyl-1-[[20-(2H-tetra-zol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]imidazole-2-carboxylic acid (V8COOH) (1,2). Immunodominant Epitopes MBP 83-99, PLP 139-151, MOG35-55 of human proteins MBP, PLP, MOG of myelin sheath are implicated in Multiple Sclerosis. These epitopes have been the tools in our laboratories for the Design, Synthesis and Preclinical Evaluation in a large number of rationally designed linear and cyclic analogues

conjugated to reduced or oxidized mannan via [Lys-Gly] bridge. Specific analogues have been found to immune rats rendering them potential therapeutic vaccine drugs in the Immunotherapy of Multiple Sclerosis. Furthermore, our cyclic MBP 83-99 peptides, for the first time to be reported as HLA and MHC binders and more stable compared to linear counterparts, possess a series of important immunomodulatory properties rendering them as putative drugs for treating multiple sclerosis and potentially other Th1 – mediated autoimmune diseases. In the light of the results and findings in our research, the main immunodominant peptides MOG35-55, PLP139-151 and MBP83-99 and their head to tail cyclic counterparts conjugated to reduced mannan have been selected to constitute a mixture cocktail drug for preclinical investigation. A New Drug Application (NDA) for Clinical Phase I and II studies in the Immunotherapy of Multiple Sclerosis, is in preparation to be submitted to FDA and EMEA for clinical trials approval [3,4].

REFERENCES

1. Agelis G., Resvani A., Durdagi S., Spyridaki K., Tůmová T., Slaninová J., Giannopoulos P., Vlahakos D., Liapakis G., Mavromoustakos T., Matsoukas J.: The Discovery of new potent non-peptide Angiotensin II AT1 receptor blockers: A concise synthesis, molecular docking studies and biological evaluation of N-Substituted 5-butylimidazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 55: 358-374 (2012)
2. Agelis G., Roumelioti P., Resvani A., Durdagi S., Androutsou M.-E., Kelaidonis K., Mavromoustakos T., Matsoukas J.: An efficient synthesis of a rationally designed 1,5 disubstituted imidazole AT1 Angiotensin II receptor antagonist: reorientation of imidazole pharmacophore groups in Losartan reserves high receptor affinity and confirms docking studies. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 24: 749-758 (2010)
3. Katsara M., Deraos G., Tselios T., Matsoukas J.M., Apostolopoulos V.: Design of novel cyclic altered peptide

ligands of myelin basic protein MBP83-99 modulate immune responses in SJL/J mice. *J. Med. Chem.* 51: 3971-3978 (2008)

4. Ioannou M., Alissafi T., Lazaridis I., Deraos G., Matsoukas J., Gravanis A., Mastorodemos V., Plaitakis A., Sharpe A., Boumpas D., Verginis P.: Crucial role of granulocytic myeloid-derived suppressor cells in the regulation of central nervous system autoimmune disease. *J. Immunol.* 188: 1136-1146 (2012)

Η Χημεία στην Υπηρεσία της Ιατρικής και της Κοινωνίας

Γιάννης Ματσούκας

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Ελμυελίνη, εν δυνάμει εμβόλιο στην ανοσοθεραπεία της Σκλήρυνσης κατά Πλάκας

Πολλές ανοσοτροποποιητικές θεραπείες έχουν εγκριθεί για τη διαχείριση της σκλήρυνσης κατά πλάκας (ΣΚΠ), οι οποίες αρχικά στοχεύουν στα αυτοαντιδρώντα Τ κύτταρα, τα οποία, με τη σειρά τους, εμπλέκονται στην παθολογία της ΣΚΠ. Οι παραπάνω θεραπείες μειώνουν τη συχνότητα των ώσεων, εμποδίζοντας την περιαγγειακή φλεγμονή, τις εστίες απομυελίνωσης και περαιτέρω την αξονική βλάβη. Παρά την διαθεσιμότητα πολλών φαρμακευτικών σκευασμάτων, υπάρχει η ανάγκη για νέα δυναμικά ανάλογα για την ανοσοθεραπεία της ΣΚΠ. Ο σχεδιασμός τροποποιημένων πεπτιδικών αναλόγων, αυτοαντιγόνων της μυελίνης, αποτελούν θεραπευτική προσέγγιση της ΣΚΠ. Επομένως, σχεδιάστηκαν και συντέθησαν πεπτιδικά ανάλογα με τροποποιήσεις σε κύριες θέσεις πρόσδεσης του πεπτιδίου με τον υποδοχέα TCR και συζεύχθηκαν με ανηγμένη μαννάνη. Μελετήθηκαν κυτταρικές και χυμικές αποκρίσεις με στόχο την εύρεση του καλύτερου αναλόγου ως υποψήφιο για την ανοσοθεραπεία της ΣΚΠ. Μοριακός σχεδιασμός των τροποποιημένων αναλόγων βοήθησε στην καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων van der Waals και των δεσμών υδρογόνου με το MHC τάξεως II (I-

A^s). Τρέχουσες θεραπείες και ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις για την ΣΚΠ θα συζητηθούν και θα συγκριθούν με τη δική μας ανοσοθεραπευτική στρατηγική. Ειδικότερα, στο Εργαστήριό μας έχουν σχεδιασθεί και συντεθεί παράγωγα επιτόπων της πολυπρωτεΐνης Μυελίνης. Οι βιολογικές αξιολογήσεις έχουν οδηγήσει σε δραστικά παράγωγα, ένα των οποίων έχει επιλεγεί για ανάπτυξη και κλινικές δοκιμές.

Ελσαρτάνη, εν δυνάμει αντιυπερτασικό διαδερμικής χορήγησης

Τον Φεβρουάριο του 1989 στο Gordon Conference με αντικείμενο την πεπτιδορμόνη Αγγειοτενσίνη και το σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτενσίνης στο Los Angeles στις ΗΠΑ, ανακοινώθηκε από την Φαρμακευτική Εταιρία Dupont ότι ο πρώτος μη πεπτιδικός αναστολέας της Αγγειοτενσίνης ήταν ήδη σε κλινική δοκιμή. Πεπτιδικοί ανταγωνιστές, όπως η Σαριλεσίνη και η Σαραλασίνη, είχαν αποτύχει να γίνουν φάρμακα λόγω ακριβώς της πεπτιδικής των φύσης, η οποία τα καθιστούσε ασταθή λόγω της υδρόλυσης των πεπτιδικών δεσμών. Σε εκείνο το Συνέδριο ανακοινώθηκε για πρώτη φορά η Λοζαρτάνη για να ακολουθήσουν άλλες οκτώ Σαρτάνες μέχρι σήμερα οι οποίες αποτελούν τη νέα γενιά αντιυπερτασικών. Η ανακοίνωση για την πρώτη Σαρτάνη ήταν το επιστέγασμα μιας ερευνητικής προσπάθειας πολλών δεκαετιών αφ' ότου είχε ανακαλυφθεί και αναφερθεί στη βιβλιογραφία πριν 80 χρόνια περίπου το σύστημα Ρενίνης-Αγγειοτενσίνης σαν το υπεύθυνο για τη ρύθμιση της Αρτηριακής Πίεσης. Σταθμοί αυτής της μακροχρόνιας προσπάθειας ήταν η ανακάλυψη της Καπτοπρίλης (Καποτέν) από τον M. Ondetti το 1975 και της Λοσαρτάνης (Kozzar) από τον Timmermans το 1989. Στο Εργαστήριό μας έχουν συντεθεί δεκάδες ανάλογα της Ελσαρτάνης και έχουν αξιολογηθεί για διαδερμική χορήγηση στη ρύθμιση της αρτηριακής Υπέρτασης. Έχει επιλεγεί δομή Ελσαρτάνης για ανάπτυξη και κλινικές δοκιμές.



The Antioxidant Response System in the Thyroid Gland

Panos G. Ziros, Stavroula Manolakou, Michalis Bakakis, Dionysios V. Chartoumbekis, Venetsana E. Kyriazopoulou, Chrisoula D. Scopa, Dionysios J. Papachristou, Ioannis G. Habeos, Gerasimos P. Sykiotis*

Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology, University of Patras Medical School, 26500 Patras, Hellas, *correspondence: gsykiotis@upatras.gr

Key words: Thyroid gland, antioxidant response system

Oxidative stress is an imbalance between pro-oxidative substances and antioxidant defences. Unchecked oxidative stress can threaten homeostasis by oxidizing lipids, proteins, and DNA. Aerobic organisms are continuously exposed to reactive oxygen species, produced during mitochondrial respiration, and they are also subjected to various environmental oxidative insults. Thus, organisms have evolved specialized systems with the ability to sense and neutralize oxidants. One such strategy is to respond to stress by mounting antioxidant transcriptional responses that counteract oxidation. The transcription factor Nrf2 (NFE2-related factor 2) is a major mediator of transcriptional antioxidant responses involving hundreds of protective genes that aim to sustain homeostasis and avert permanent cell damage. The presence and inducibility of the Nrf2 pathway has been documented in multiple tissues, and it has been implicated in defending model organisms and humans against numerous pathologies associated with oxidative stress. Therefore, Nrf2 is a major target for drug discovery across a wide panel of disease areas.

The goal of our studies is to investigate the presence, inducibility and potential functional significance of Nrf2 in the thyroid gland. Through the secretion of thyroid hormones, the thyroid is essential for development, growth and metabolism. The synthesis of thyroid hormones entails the oxidation of dietary iodide to iodine, which is further used to oxidize thyroglobulin, the protein precursor from which the thyroid hormone peptides are derived. For these purposes, thyroid

follicular cells continuously generate the oxidant hydrogen peroxide, via dedicated enzymes. Probably because oxidation is central to thyroid biology, the gland has increased capacity to mount antioxidant defences. However, the precise molecular nature of the thyroid's antioxidant systems is not sufficiently known. Our preliminary findings suggest that the Nrf2 pathway is activated by oxidative stimuli and select pharmaceuticals in thyroid cells in both *in vitro* and *in vivo* models, and that it controls the expression of antioxidant response genes. In addition, human thyroid cancer shows increased activity of the Nrf2 pathway. Lastly, we are outlining current approaches to drug discovery targeting the Nrf2 pathway.

Acknowledgement: This research is supported by a Marie Curie Fellowship (FP7-PEOPLE-IRG 268266) to GPS

Η Αντιοξειδωτική Άμυνα του Θυρεοειδούς Αδένα

Πάνος Ζήρος, Σταυρούλα Μανωλάκου, Grace Adhiambo Onjaro, Μιχάλης Μπακάκης, Διονύσιος Χαρτουμπέκης, Βενετσάνα Κυριαζοπούλου, Χρυσούλα Σκόππα, Διονύσιος Παπαχρήστου, Ιωάννης Χαμπαίος, Γεράσιμος Συκιώτης

Ενδοκρινολογικό Τμήμα, Παθολογική Κλινική, Ιατρικό Τμήμα, Πανεπιστημίο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάδα

Οξειδωτικό στρες έχουμε όταν οι προ-οξειδωτικές ουσίες, στις οποίες εκτίθεται ο οργανισμός, υπερβαίνουν την αντιοξειδωτική του άμυνα. Το ανεξέλεγκτο οξειδωτικό στρες απειλεί την ομοιοστασία μέσω οξείδωσης των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και του DNA. Οι αερόβιοι οργανισμοί εκτίθενται συνεχώς σε ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες παράγονται στα μιτοχόνδρια από το φυσιολογικό μεταβολισμό και επίσης υφίστανται διάφορες εκθέσεις σε οξειδωτικές προσβολές από το περιβάλλον (όπως ο καπνός του τσιγάρου). Συνεπώς, οι οργανισμοί έχουν εν εξελίξει εξειδικευμένα συστήματα ικανά να αισθάνονται και να εξουδετερώνουν τις οξειδωτικές ουσίες. Μία τέτοια στρατηγική είναι να αποκρίνονται στο στρες επάγοντας τη μεταγραφή αντιοξειδωτικών γονιδίων.

Ο μεταγραφικός παράγοντας Nrf2 (NFE2-related factor 2) είναι μία πρωτεΐνη που ελέγχει τέτοιες μεταγραφικές αντιοξειδωτικές αποκρίσεις που έχουν ως στόχο να διατηρήσουν την ομοιοστασία και να αποτρέψουν τη μόνιμη κυτταρική βλάβη. Η παρουσία και επαγωγιμότητα του Nrf2 έχει δείχθει σε πολλαπλούς ιστούς, και έχει βρεθεί ότι ενέχεται στην προστασία των πειραματοζώων, αλλά και του ανθρώπου από διάφορες παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με οξειδωτικό στρες. Συνεπώς, ο Nrf2 θεωρείται σημαντικός στόχος για ανακάλυψη φαρμάκων για ένα ευρύ φάσμα ασθενειών.

Ο στόχος των ερευνών μας είναι να διερευνήσουν την παρουσία, επαγωγιμότητα και ενδεχόμενη λειτουργική σημασία του Nrf2 στο

θυρεοειδή αδένα. Μέσω της έκκρισης των θυρεοειδικών ορμονών, ο θυρεοειδής είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη, την αύξηση και το μεταβολισμό. Η σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών περιλαμβάνει την οξείδωση του ιωδίου που προσλαμβάνεται από τη διατροφή και την επακόλουθη χρήση του για να οξειδωθεί η θυρεοσφαιρίνη, μία πρωτεΐνη από την αποδόμηση της οποίας προκύπτουν οι θυρεοειδικές ορμόνες. Για τις διεργασίες αυτές τα θυλακιοειδή κύτταρα του θυρεοειδούς παράγουν συνεχώς υπεροξειδίο του υδρογόνου, μία κατεξοχήν οξειδωτική ουσία, μέσω εξειδικευμένων ενζύμων. Δεδομένου ότι η οξείδωση είναι βασικό φαινόμενο για τη Βιολογία του θυρεοειδούς, δεν είναι παράδοξο που ο αδένας έχει αυξημένη ικανότητα να ασκεί αντιοξειδωτική άμυνα. Ωστόσο, η ακριβής μοριακή φύση των αντιοξειδωτικών συστημάτων του θυρεοειδούς δεν είναι επαρκώς γνωστή. Οι μελέτες μας δείχνουν ότι το σύστημα του Nrf2 ενεργοποιείται από οξειδωτικά ερεθίσματα και φαρμακολογικές ουσίες στα θυρεοειδικά κύτταρα, τόσο σε *in vitro* όσο και σε *in vivo* μοντέλα, και ότι ελέγχει την έκφραση γονιδίων αντιοξειδωτικής απόκρισης. Επίσης, έχουμε βρει αυξημένη ενεργότητα του Nrf2 σε δείγματα καρκίνου του θυρεοειδούς από ανθρώπους. Απώτερος σκοπός μας είναι η φαρμακολογική στόχευση του Nrf2 για την πρόληψη και θεραπεία των ποικίλων και συχνών παθολογικών καταστάσεων που αφορούν το θυρεοειδή αδένα.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 143 (2012)
©PHARMAKON-Press

FP7-REGPOT-2011-1 *SEE-DRUG* Program of University of Patras University

George A. Spyroulias

Department of Pharmacy, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: <http://www.seedrug.upatras.gr>
& *SEE-DRUG*@CORDIS http://cordis.europa.eu/projects/rcn/101515_en.html

FP7-REGPOT-2011-1 *SEE-DRUG* Πρόγραμμα του Πανεπιστημίου Πατρών

Γεώργιος Α. Σπυρούλιας

Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Ο άξονας *Ερευνητικό Δυναμικό* (Unlocking Research Potential) του Προγράμματος FP7-Capacities, χρηματοδοτεί προτάσεις Ευρωπαϊκών ερευνητικών/ακαδημαϊκών φορέων, οι οποίοι επιδεικνύουν αριστεία. Στόχος του συγκεκριμένου άξονα είναι η ενδυνάμωση των υποδομών και του ερευνητικού δυναμικού, ώστε να καθίσταται δυνατή η υψηλής ποιότητας ερευνητική δραστηριότητα και ενσωμάτωση των φορέων αυτών σε μεγάλα ευρωπαϊκά δίκτυα. Στα πλαίσια του Προγράμματος αυτού, το 2011 χρηματοδοτήθηκαν 20 προτάσεις (σε σύνολο 293), με την πρόταση του Πανεπιστημίου Πατρών *SEE-DRUG* να λαμβάνει χρηματοδότηση 3,2 Meuros (συνολικό κόστος έργου 3,6 Meuros). Η ερευνητική πρόταση *SEE-DRUG* βασίστηκε στις εξαιρετικές επιδόσεις του ερευνητικού δυναμικού του Πανεπιστημίου Πατρών στον τομέα της Δομικής Βιολογίας, της Βιοχημείας, της Φαρμακολογίας και της Βιοπληροφορικής.

Το πρόγραμμα *SEE-DRUG* θέτει τις βάσεις για έρευνα αιχμής στους τομείς της *Μοριακής* και *Δομικής Βιολογίας* καθώς και της *Φαρμακολογίας* με στόχο την παρασκευή, τη δομική μελέτη νέων φαρμακευτικών στόχων και το χαρακτηρισμό, εν δυνάμει, θεραπευτικών μορίων σε *in vitro*, *in vivo* και *ex vivo* συστήματα. Μεταξύ άλλων, στις προβλεπόμενες δράσεις, συμπεριλαμβάνεται η ενί-

σχυση του ερευνητικού δυναμικού του Πανεπιστημίου Πατρών, η ανταλλαγή τεχνογνωσίας με Κέντρα Αριστείας της ΕU και η εγκατάσταση μοντέρνου εξοπλισμού, όπως: (α) Φασματοσκόπιο NMR 700MHz εφοδιασμένο με κρυογονικά ψυχόμενα probe, (β) αναβαθμισμένο Συνεστιακό Μικροσκόπιο και άλλων τύπων μικροσκόπια (π.χ. Intravital, myographs), και (γ) ρομποτικό σύστημα κρυστάλλωσης πρωτεϊνών. Τα μελλοντικά οφέλη του Πανεπιστημίου Πατρών μέσω της ολοκλήρωσης του *SEE-DRUG* προγράμματος αναμένεται να είναι πολλαπλά, και συνοψίζονται στα εξής: (α) *Δημιουργία ενός Περιφερειακού Ερευνητικού Πόλου Αριστείας* και τεχνογνωσίας με σύγχρονο επιστημονικό εξοπλισμό, μοναδικό για τον ελληνικό Ακαδημαϊκό/Ερευνητικό ιστό, (β) *Αναβάθμιση του ρόλου του Πανεπιστημίου Πατρών στη ΝοτιοΑνατολική Ευρώπη* στο πεδίο της μελέτης, εν δυνάμει, θεραπευτικών στόχων και συναφών μορίων, (γ) *Διασύνδεση* του Πανεπιστημίου Πατρών με Κέντρα Αριστείας στον Ευρωπαϊκό, κι όχι μόνο, Ερευνητικό Ιστό, και (δ) *Σύσταση μιας πλατφόρμας ανταλλαγής και μεταφοράς τεχνογνωσίας* από Ευρωπαϊκά κέντρα Αριστείας στο Πανεπιστήμιο Πατρών και στην τοπική Φαρμακοβιομηχανία. Τέλος, ένας τέτοιος Πόλος *Τεχνολογικής Υπεροχής* και *Καινοτομίας* θα δημιουργήσει ένα σημαντικό αριθμό νέων θέσεων εργασίας για ικανούς και άριστα καταρτισμένους ερευνητές της ημεδαπής ή της αλλοδαπής. Ως εκ τούτου, θα συνεισφέρει αποτελεσματικά στην εξασφάλιση νέων ερευνητικών προγραμμάτων και στην εισροή κονδυλίων, προσδίδοντας προστιθέμενη αξία στο Πανεπιστήμιο Πατρών και την Περιφέρεια Δυτικής Ελλάδας.

Design and Synthesis of Potent Linear and Cyclic Dirucotide Analogues

Kyriaki Mauridaki¹, Georgios Deraos¹, Spiros Deraos¹, Theodore Tselios¹, Athanasia Mouzaki², John Matsoukas¹

^aDepartment of Chemistry, ^bDepartment of Medicine, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Potent linear and cyclic dirucotide analogues dirucotide (MBP₈₂₋₉₈), design, synthesis

Dirucotide (MBP₈₂₋₉₈) is a synthetic peptide analog of MBP, that consists of 17 amino acids and tested in a phase III trial were failed to reach his tolerance level on previous phase II in RPMS patients. One of the major disadvantages of peptide therapy is the activation of proteolytic enzymes, leading to peptide degradation. Thus we synthesise a linear and cyclic analogues of dirucotide. The two analogues were synthesized by changing the amino acid residue at position 91 from Lys to Ala. The synthesis of the linear peptide, as well as of the cyclic one, was carried out by the Fmoc/tBu methodology, utilizing the 2-chlorotrityl chloride resin (CLTR-Cl). The linear and cyclic peptide analogues will be used in human T-cell cultures to test their immunogenicity in patients versus healthy controls.

Σχεδιασμός και Σύνθεση Σημαντικών Γραμμικών και Κυκλικών Αναλόγων του Dirucotide

¹Κυριακή Μαυριδάκη, ¹Γεώργιος Δεράος, ¹Σπυρίδων Δεράος, ¹Θεόδωρος Τσέλιος, ²Αθανασία Μουζάκη, ¹Ιωάννης Ματσούκας

¹Τμήμα Χημείας, ²Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο

Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Το dirucotide (MBP₈₂₋₉₈) είναι ένα συνθετικό πεπτιδικό ανάλογο της MBP που αποτελείται από 17 αμινοξέα και αξιολογήθηκε σε κλινική δοκιμή φάσης III όπου απέτυχε να φθάσει το επίπεδο ανοχής της φάσης II σε ασθενείς που πάσχουν από υποτροπιάζουσα μορφή σκλήρυνσης. Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα της χρήσης αυτών των πεπτιδίων είναι η γρήγορη αποικοδόμησή τους εξαιτίας της δράσης των πρωτεολυτικών ενζύμων. Για το λόγο αυτό συντέθηκαν κυκλικά ανάλογα. Έτσι, συνθέσαμε ένα γραμμικό και ένα κυκλικό ανάλογο του dirucotide. Τα δύο ανάλογα συντέθηκαν με αλλαγή του αμινοξικού καταλοίπου στη θέση 91 από Lys σε Ala. Η σύνθεση του γραμμικού καθώς και του κυκλικού αναλόγου έγινε σε στερεή φάση επί της 2-χλωροτριτυλοχλωριδίου ρητίνης που συνδυάζεται με την Fmoc/tBu μεθοδολογία. Το γραμμικό και το κυκλικό πεπτιδικό ανάλογο θα χρησιμοποιηθούν σε ανθρώπινες καλλιέργειες T-κυττάρων, για να εξεταστεί η ανοσογονικότητα των ασθενών σε σχέση με των υγιών οργανισμών.



Raman Spectroscopic Study of Structural Changes in Human Osteoarthritic Meniscus

*Panagiota Papaspyridakou*¹, *Dionysios Papachristou*^{2,3}, *Panagiotis Megas*⁴, *Nikoletta Prokopi*², *Christos Kontoyannis*^{1,5} and *Malvina Orkoula*^{1,*}

¹Department of Pharmacy, University of Patras, ²Department of Anatomy-Histology-Embryology, School of Medicine, University of Patras, Patras, Rio, Hellas; ³Department of Pathology, University of Pittsburgh, School of Medicine, Pittsburgh, PA, USA, ⁴Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, University of Patras, ⁵ICE/HT-FORTH, Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Human osteoarthritic meniscus, structural changes, Raman spectroscopic study

Meniscus is a crescent-shaped fibrocartilagenous structure located in the joint cavity, responsible of load bearing and knee stability enhancement. Osteoarthritis is a very common skeletal disease, characterized by degeneration of the articular/hyaline cartilage. Meniscus health is usually assessed by clinical examination and by histopathologic evaluation of excised specimens.

In the present work, Laser Raman Spectroscopy, a vibrational technique yielding information on the chemical composition of the irradiated specimen with non-destructive and *in vivo* capabilities, was employed for the study of human osteoarthritic meniscus. The scope of the study was the investigation of the possibility of the technique to be used as an alternative or complementary method for cartilaginous tissue quality assessment.

Areas of different morphology were tracked down by visual inspection. Collagen type II accompanied with high concentrations of chondroitin sulfate was identified in healthy areas while collagen type I was found in osteoarthritic spots. Bioapatite was also traced. Spectral differences were localized in regions which correspond to the secondary structure of the collagen molecules as well as in the regions where sulphur groups appear.

Μελέτη των Δομικών Αλλαγών Ανθρώπινου Οστεοαρθρικού Μηνίσκου με Χρήση Φασματοσκοπίας Raman

*Παναγιώτα Παπασπυριδάκου*¹, *Διονύσιος Παπαχρήστου*^{2,3}, *Παναγιώτης Μέγας*⁴, *Νικολέττα Προκόπη*², *Χρίστος Κοντογιάννης*^{1,5} και *Μαλβίνα Όρκουλα*^{1,*}

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, ²Τμήμα Ανατομίας-Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, ³Τμήμα Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Pittsburgh Pittsburgh, PA, USA, ⁵ΕΙΧΗΜΥΘ/ΙΤΕ, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Ο μηνίσκος είναι ημισεληνοειδής δομή που εντοπίζεται στην περιοχή του γονάτου, προσδίδοντας του αντοχή στα φορτία, καθώς απορροφά τους κραδασμούς και ενισχύει τη σταθερότητά του. Η οστεοαρθρίτιδα είναι μία συχνά εμφανιζόμενη σκελετική νόσος που χαρακτηρίζεται από αποδόμηση του αρθρικού χόνδρου. Η εκτίμηση της κατάστασης του μηνίσκου πραγματοποιείται με κλινική εξέταση και με ιστοπαθολογική ανάλυση χειρουργικά αφαιρούμενων δειγμάτων.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ανθρωπίνος οστεοαρθρικός μηνίσκος με χρήση της Φα-

σματοσκοπίας Raman, μιας τεχνικής μη καταστροφικής με δυνατότητα *in vivo* εφαρμογής, που λαμβάνει πληροφορίες από τις δονήσεις των δεσμών των χημικών συστατικών του δείγματος. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί κατά πόσο θα μπορούσε η τεχνική αυτή να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματική ή εναλλακτική μέθοδος για τη διάγνωση της οστεοαρθρίτιδας με χρήση οπτικών ινών συμβατών με τα αρθροσκόπια.

Κατά τη μελέτη ταυτοποιήθηκαν δομικές αλλαγές στον μηνίσκο οι οποίες συνοδεύουν τη νόσο.

Συγκεκριμένα, ανιχνεύτηκε κολλαγόνο τύπου II στο υγιές τμήμα του μηνίσκου συνοδευόμενο από υψηλή συγκέντρωση θειικής χονδροϊτίνης και κολλαγόνο τύπου I στην οστεοαρθρική περιοχή του δείγματος, καθώς επίσης και ίχνη βιοαπατίτη. Οι διαφορές στα φάσματα των περιοχών αυτών εντοπίζονται στις περιοχές που αντιστοιχούν στη δευτεροταγή δομή του κολλαγόνου καθώς και στην περιοχή όπου εμφανίζονται οι δονήσεις της θειικής ομάδας.



Study of Chlorotoxin Peptide Synthesis

Anthoula Konstantara, Dimitrios Gatos

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Chlorotoxin peptide, synthesis

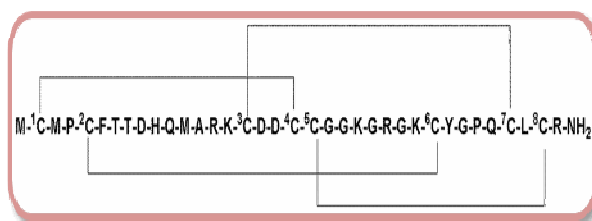


Figure: Sequence of 36 amino acids of Chlorotoxin.

The Disulfide bond is a covalent bond which determines the shape of a protein in space ensures its structural stability and contributes its biological action. The aim of this research project is the study of synthetic peptides, which are rich in disulfide bonds. For this investigation chlorotoxin was chosen, which is a 36 amino acid peptide with four disulfide bonds and has amide group at C-terminal residue. It is the first reported high affinity peptide ligand for Cl⁻ channels and it blocks small conductance chloride channels. Chlorotoxin specifically and selectively interacts with MMP-2 leading to inhibition of angiogenesis. The peptide was synthesized by standard Fmoc/tBu solid phase synthesis on CTC-resin. Furthermore, partial condensation of two peptide segments was applied in liquid phase. The formation of disulfide bonds was achieved using random fold in different oxidizing conditions.

Μελέτη Σύνθεσης του Πεπτιδίου Χλωροτοξίνη

Ανθούλα Κωνσταντάρα, Δημήτριος Γάτος

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα,

Ρίο, Ελλάδα

Ο δισουλφιδικός δεσμός είναι ένας τύπος ομοιοπολικού δεσμού που καθορίζει το σχήμα μιας πρωτεΐνης στο χώρο, εξασφαλίζει τη δομική της σταθερότητα και συμβάλλει στη βιολογική δράση της. Η παρούσα εργασία είχε σκοπό τη μελέτη σύνθεσης πεπτιδίων πλούσιων σε δισουλφιδικούς δεσμούς. Το πεπτίδιο που επιλέχθηκε γι' αυτή τη μελέτη ήταν η Χλωροτοξίνη (ClTx), που διαθέτει 36 αμινοξέα εκ των οποίων τα 8 είναι κυστεΐνες ενωμένες με 4 δισουλφιδικούς δεσμούς. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ClTx στο C-τελικό άκρο της διαθέτει αμιδίο. Ο βιολογικός ρόλος της είναι να μπλοκάρει τους μικρής αγωγιμότητας διαύλους Cl⁻ και να δεσμεύει τις πρωτεΐνες MMP-2, οδηγώντας σε αναστολή της αγγειογένεσης. Η σύνθεσή της ClTx έγινε με επιμήκυνση της αλυσίδας κατά στάδια (step by step) σε στερεή φάση χρησιμοποιώντας ως στερεό υπόστρωμα την CTC-ρητίνη, καθώς και με τμηματική συμπύκνωση δύο πεπτιδικών τμημάτων σε υγρή φάση, σύμφωνα με την Fmoc/tBu μεθοδολογία. Για το σχηματισμό των δισουλφιδικών δεσμών εφαρμόστηκε η τυχαία οξειδωτική αναδίπλωση σε διάφορες οξειδωτικές συνθήκες



Brain Region-specific Protection of Developing Rats against Selenium Induced-oxidative Stress with Saffron Extract

Athanasia Mitropoulou¹, Anastasia-Varvara Ferlemi¹, Olga Makri², Konstantinos Georgakopoulos², Margariti Marigoula³, Foteini Lamari¹

¹Department of Pharmacy, ²Department of Ophthalmology, Medical School, ³Department of Biology, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Brain region-specific protection, developing rats, selenium induced-oxidative stress, Saffron extract

Selenium (Se) is an important constituent of many antioxidant enzymes. In large quantities, however, it is highly toxic and carcinogenic. According to previous *in vitro* and *in vivo* studies in our laboratory, the extract from *Crocus sativus* (saffron) stigmas shows significant antioxidant activity. In this study, our aim was to study the effect of administration of high concentrations of sodium selenite (Na₂SeO₃) and also of the co-administration of the saffron extract in individual brain regions (cortex, midbrain, cerebellum) in developing rats. The rats were divided into four groups (n = 6/group): Se: 20 μmol Na₂SeO₃/kg (subcutaneous-10th day after birth), CrSeCr: 60 mg dry saffron extract/kg (intraperitoneally - day 9)/20 μmol Na₂SeO₃/kg (subcutaneous - day 10)/60 mg extract/kg (intraperitoneally - day 12), CrSeCr: 20 μmol Na₂SeO₃/kg (subcutaneous - day 10)/60 mg saffron extract/kg (intraperitoneally on 11th and 12th day). Control animals received normal saline injections on the respective days. The animal body weight was recorded at regular intervals. Levels of lipid peroxidation (malondialdehyde, MDA) were determined fluorimetrically and the activity of catalase with a photometric assay in tissue homogenates. The weight of animals in all groups was significantly reduced (Se: 13.21%, CrSeCr: 13.83%, CrSeCr: 10.69%) compared with controls. MDA levels were significantly increased (45.32%) only in the

midbrain of the animals that received Na₂SeO₃ and not in the cortex and cerebellum compared to controls. In the groups treated with saffron extract, the lipid peroxidation was significantly reduced (CrSeCr: 41.48%, CrSeCr: 36.16%) only in the cerebellum compared with controls. In addition, in the group SeCrCr, MDA level was significantly reduced in the midbrain (34.37%) compared with the elevated peroxidation recorded in the Se group. In conclusion, administration of Na₂SeO₃ to developing rats negatively affected their development. Our results show cerebral antioxidant protection of rats with saffron against selenite-induced oxidative stress in a region-specific way.

Ιστοειδική Προστασία Εγκεφαλικών Περιοχών Αναπτυσσομένων Επιμύων από την Σεληνιο-επαγομένη Οξειδωτική Καταπόνηση με Συγχορήγηση Εκχυλίσματος Κρόκου

Αθανασία Μητροπούλου¹, Αναστασία-Βαρβάρα Φερλέμη¹, Όλγα Μακρή², Κωνσταντίνος Γεωργακόπουλος², Μαριγούλα Μαργαρίτη³, Φωτεινή Λάμαρη¹

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, ²Τμήμα Οφθαλμολογίας, Ιατρική Σχολή, ³Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάδα

Το σεληνίο (Se) είναι σημαντικό συστατικό πολλών αντιοξειδωτικών ενζύμων. Σε μεγάλες ποσότητες, ωστόσο, είναι ιδιαίτερα τοξικό και καρκινογόνο. Σύμφωνα με προηγούμενες *in vitro* και *in vivo* μελέτες του εργαστηρίου μας, το εκχύλισμα των στύλων του *Crocus sativus* (κρόκος Κοζάνης) εμφανίζει σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Σκοπός της εργασίας μας ήταν η μελέτη της επίδρασης της χορήγησης υψηλών συγκεντρώσεων σεληνιώδους νατρίου (Na_2SeO_3) καθώς και της χορήγησης μεθανολικού εκχυλίσματος κρόκου σε επιμέρους εγκεφαλικές περιοχές (φλοιός, μεσεγκέφαλος, παρεγκεφαλίδα) αναπτυσσόμενων επίμυων. Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες (n=6/ομάδα): Se: 20 $\mu\text{mol Na}_2\text{SeO}_3/\text{kg}$ (υποδόρια -10^η ημέρα μετά τη γέννηση τους), CrSeCr: 60 mg εκχυλίσματος κρόκου/ kg (ενδοπεριτοναϊκά - 9^η ημέρα) / 20 $\mu\text{mol Na}_2\text{SeO}_3/\text{kg}$ (υποδόρια - 10^η ημέρα) / 60 mg εκχυλίσματος/kg (ενδοπεριτοναϊκά - 12^η ημέρα), SeCrCr: 20 $\mu\text{mol Na}_2\text{SeO}_3/\text{kg}$ (υποδόρια - 10^η ημέρα) / 60 mg εκχυλίσματος κρόκου/kg (ενδοπεριτοναϊκά - 11^η και 12^η ημέρα), μάρτυρες: ενέσιμα φυσιολογικός ορός στις αντίστοιχες ημέρες. Το σωματικό βάρος των ζώων καταγραφόταν ανά

τακτά διαστήματα. Στους υπό μελέτη ιστούς προσδιορίστηκαν, φθορισμομετρικά, τα επίπεδα της λιπιδικής υπεροξειδωσης και φωτομετρικά η ενεργότητα της καταλάσης. Το σωματικό βάρος των ζώων όλων των ομάδων ήταν στατιστικώς σημαντικά μειωμένα (Se: 13,21%, CrSeCr: 13,83%, SeCrCr: 10,69%) συγκριτικά με τους μάρτυρες. Όσον αφορά στη λιπιδική υπεροξειδωση, στα ζώα που έλαβαν το Na_2SeO_3 τα επίπεδα της MDA αυξήθηκαν (45,32%) μόνο στο μεσεγκέφαλο σε σύγκριση με τους μάρτυρες και όχι στο φλοιό και στην παρεγκεφαλίδα των επίμυων. Στις ομάδες που χορηγήθηκε το εκχύλισμα του κρόκου η λιπιδική υπεροξειδωση ήταν σημαντικά ελαττωμένη (CrSeCr: 41,48%, SeCrCr: 36,16%) σε σχέση με τους μάρτυρες μόνο στην περιοχή της παρεγκεφαλίδας. Επιπλέον, στην ομάδα SeCrCr η MDA ήταν στατιστικώς σημαντικά μειωμένη στο μεσεγκέφαλο (34,37%), σε σύγκριση με τα αυξημένα επίπεδα υπεροξειδωσης που εντοπίστηκαν στην ομάδα Se. Συμπερασματικά, η χορήγηση του Na_2SeO_3 στους αναπτυσσόμενους επίμυες επηρέασε αρνητικά την ανάπτυξή τους. Τα αποτελέσματα δείχνουν προστασία του εγκεφάλου των επίμυων με το εκχύλισμα κρόκου έναντι της σεληνιο-επαγόμενης οξειδωτικής καταπόνησης με ιστοειδικό τρόπο.



Regulatory T-cells in *in situ* Squamous Cell Carcinoma of the Skin

A. Stravodimou¹, H. Papaioannou², J. Lakoumentas³, H. Papadaki⁴, C. Scopa², H. Kourea²

¹Interdepartmental Postgraduate Training Program of Medicinal Chemistry; ²Department of Pathology, ³Department of Medical Physics, ⁴Department of Anatomy, School of Medicine, University of Patras, Patras, Rio, Hellas

Key words: Cell carcinoma of the skin, *in situ* squamous, regulatory T-cells

Background: Regulatory T-cells (Tregs) are a subpopulation of CD4 T-lymphocytes, which maintain tolerance to self-antigens and participate in tumor tolerance thus facilitating tumor growth. Tregs are defined by expression of transcription factor Forkhead box P3 (Foxp3), which is necessary and sufficient for their development and function. Foxp3 is considered the most reliable marker to detect Tregs and can be used for detecting this cell population in tumor.

Purpose: In this study, we evaluated the presence of Tregs in *in situ* (IS) squamous cell carcinoma (SCC) of the skin in order to find differences in the density of Tregs between IS carcinoma, adjacent benign tissue (BN) and actinic keratosis (AK), a precancerous lesion often present at the edges of the neoplastic tissue.

Methods: We investigated 21 cases of *in situ* SCC of skin, 10 of which had adjacent AK and 18 had adjacent BN. Tregs were identified using immunohistochemistry with monoclonal antibody for Foxp3. In every case, Tregs were detected around IS SCC, AK and BN. The areas of heaviest infiltration by Tregs were recognized and analyzed using image analysis. Statistical analysis was performed using Wilcoxon's rank Sum test. *p-values* <0.05 were considered statistically significant.

Results: The median of Tregs' number around BN, AK and IS SCC was 29, 117 and 174, respectively. Tregs around IS and AK were more numerous than those adjacent BN (174 vs. 29, $p < 0,001$ and 117 vs. 29, $p < 0,014$, respectively).

Conclusions: Treg infiltration of the skin increases early from the precancerous AK and IS SCC indicating early involvement of Tregs in the development of SCC.

Ρυθμιστικά Τ-Λεμφοκύτταρα σε Ενδοεπιθηλιακό (*in situ*) Πλακώδες Καρκίνωμα Δέρματος

A. Στραβοδήμου¹, Ε. Παπαϊωάννου², Ι. Λακουμέντας³, Ε. Παπαδάκη⁴, Χ. Σκόπα², Ε. Κουρέα²

¹Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιατρικής Χημείας, ²Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, ³Εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής, ⁴Εργαστήριο Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Εισαγωγή: Τα ρυθμιστικά Τ-λεμφοκύτταρα (Tregs) είναι υποπληθυσμός των CD4+ Τ-λεμφοκυττάρων, τα οποία επάγουν την αυτοανοχή, ενώ στους όγκους επάγουν ανοσοανοχή. Τα Tregs χαρακτηρίζονται από την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Forkhead box P3 (Foxp3), ο οποίος είναι αναγκαίος και ικανός για την ανάπτυξη και λειτουργία τους. Ο Foxp3 θεωρείται ο πλέον αξιόπιστος δείκτης ανίχνευσης των Τ-ρυθμιστικών κυττάρων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση αυτού του κυτταρικού πληθυσμού στους όγκους.

Σκοπός: Σε αυτή τη μελέτη εκτιμήσαμε την πα-

ρουσία των Tregs στο ενδοεπιθηλιακό (*in situ*/IS) πλακώδες καρκίνωμα του δέρματος για αναζήτηση διαφορών στην πυκνότητα αυτών στο IS καρκίνωμα, σε σύγκριση με την συχνά παρούσα ακτινική κεράτωση (AK), η οποία αποτελεί την πρόδρομη προκαρκινική αλλοίωση και το παρακείμενο καλόηθες δέρμα.

Υλικό και μέθοδοι: Μελετήσαμε 21 βιοψίες δέρματος ασθενών με *in situ* πλακώδες καρκίνωμα, εκ των οποίων οι 10 βιοψίες εμφάνιζαν παρακείμενες αλλοιώσεις AK και οι 18 ταυτόχρονη ύπαρξη παρακείμενου καλοήθους επιθηλίου. Για την ανίχνευση των Tregs διενεργήθηκε ανοσοϊστοχημικός έλεγχος με μονοκλωνικό αντίσωμα για τον παράγοντα Foxp3. Σε κάθε περιστατικό αναζητήθηκαν τα Tregs γύρω από την παρυφή του IS ΠΚ, της AK και του καλοήθους (benign/Bn) επιθηλίου. Στις περιοχές αυτές διακρίθηκαν οι θέ-

σεις με το μεγαλύτερο αριθμό Tregs και καταμετρήθηκε με σύστημα ανάλυσης εικόνας ο αριθμός αυτών. Ακολούθησε στατιστική ανάλυση με το Wilcoxon's rank Sum test. Ως όριο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το $p < 0.05$.

Αποτελέσματα: Η διάμεση τιμή του αριθμού των Tregs γύρω από το Bn δέρμα, την AK και το IS ΠΚ ήταν 29, 117 και 174, αντίστοιχα. Τα Tregs ήταν περισσότερα γύρω από το IS σε σχέση με το καλόηθες δέρμα (174 vs 29, $p < 0.001$) και γύρω από την AK σε σχέση με το καλόηθες δέρμα (117 vs 29, $p = 0.014$).

Συμπεράσματα: Η αύξηση του αριθμού των Tregs από το καλόηθες δέρμα προς την AK και το IS ΠΚ εισηγείται τη συμμετοχή των κυττάρων αυτών στην ανάπτυξη και εξέλιξη του



Expression, Purification and Biochemical Characterization of N-Acetylglucosamine Deacetylase (BC2929) of *Bacillus cereus*

Konstantina Mpoura

The bacterial cell wall gives stability and viability to the bacterial cell. It is composed of peptidoglycan, a polymer of repeating disaccharide-tetrapeptide unit (GlcNac-MurNAc-pp). For the creation of bacterial cell is required the deacetylation of peptidoglycan, that is performed by homonymous enzymes.

Peptidoglycan deacetylases are members of carbohydrate esterase superfamily 4 (CE4). They have a highly conserved catalytic center, the NodB domain. The genome of *B.cereus* has 6 peptidoglycan deacetylases, three of them have already been studied (BC1960, BC3618, BC1974).

In this study, the gene of BC2929 was expressed in *E.coli* and purified via NiNTA affinity chromatography and size exclusion chromatography. The overall yield was determined at 1 mg purified protein /culture L, using Bradford assay. Quantities of purified BC2929 have already been used for crystal trials.

Έκφραση, Καθαρισμός και Βιοχημικός Χαρακτηρισμός της N-Ακετυλογλυκοζαμινικής Απακετυλάσης (BC2929) του *Bacillus cereus*

Κωνσταντίνα Μπούρα

Το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα προσδίδει σταθερότητα και προστασία στα βακτήρια. Αυτό αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη, ένα πολυμερές που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες: δισακχαρίτη-τετραπεπτιδίου (GlcNAc-MurNAc-pp). Για τη δημιουργία του κυτταρικού τοιχώματος απαιτείται απακετυλίωση της πεπτιδογλυκάνης, η οποία εκτελείται από ομόνυμα ένζυμο.

Οι απακετυλάσες της πεπτιδογλυκάνης είναι μέλη της υπεροικογένειας 4 (CE 4). Αυτές έχουν ένα υψηλά συντηρημένο καταλυτικό κέντρο, την NodB περιοχή. Το γονιδίωμα του *B. cereus* έχει 6 απακετυλάσες της πεπτιδογλυκάνης, τρεις εκ των οποίων έχουν ήδη μελετηθεί (BC1960, BC3618, BC 1974).

Σε αυτή τη μελέτη, το γονίδιο BC2929, εκφράστηκε σε *E. coli* και καθαρίστηκε μέσω χρωματογραφίας συγγένειας ιόντων νικελίου και χρωματογραφίας μοριακού αποκλεισμού. Η απόδοση προσδιορίστηκε σε 1 mg καθαρισμένης πρωτεΐνης/L καλλιέργειας, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Bradford. Ποσότητες της καθαρισμένης BC2929 έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί σε δοκιμές κρυστάλλωσης.



Study of Collagen in Biogenic Materials Using Raman Spectroscopy: The Dehydration Effect

Sofia Kouvaritaki¹, Martha Vardaki¹, Sofia Panteliou², Christos Kontoyannis^{1,3} and Malvina Orkoula^{1*}

¹Department of Pharmacy, ²Department of Mechanical Engineering and Aeronautics, University of Patras, ³Institute of Chemical Engineering and High Temperature Chemical Processes, FORTH, GR-26500, Patras, Rio, Hellas

Key words: Collagen, biogenic materials, dehydration effect, Raman spectroscopy

Bone is a biogenic material that consists of an inorganic phase, the bioapatite, and an organic matrix which main constituent is collagen type I. Collagen is a highly cross-linked fibrillar protein which enhances the mechanical and biochemical properties of bone. In this study, the changes of collagen due to different storage and degradation conditions (i.e. dehydration) are presented. Several parts of human bones (mandible, femoral head) were analyzed with Raman spectroscopy. Spectra were recorded from both dehydrated and specimens placed in PBS solution (Phosphate Buffered Saline), which is used for collagen's hydration. After deconvolution of bands under the amide I envelope (1595-1710 cm⁻¹), the ratio of the non-reducible to reducible collagen cross-links [$I(1658\text{ cm}^{-1} + 1668\text{ cm}^{-1})/I(1680\text{ cm}^{-1} + 1690\text{ cm}^{-1})$], which is an indicator of the quality of collagen, was calculated. In the dehydrated specimens, a shift of the maximum and also a change in the ratio of amide I sub-bands were observed. These changes were reversible for limited stay in this state. After prolonged exposure of bone in environmental conditions and dehydration, the reversibility is restricted.

Μελέτη του Κολλαγόνου σε Βιογενή Υλικά με Χρήση Φασματοσκοπίας Raman. Η Επίπτωση της Αφυδάτωσης

Σοφία Κουβαριτάκη¹, Μάρθα Βαρδάκη¹, Σοφία Παντελιού², Χρίστος Κοντογιάννης^{1,3} και Μαλβίνα Όρκουλα^{1,*}

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, ²Τμήμα Μηχανολόγων

Μηχανικών και Αεροναυπηγών, Πανεπιστήμιο Πατρών, ³ΕΙΧΗΜΥΘ/ΙΤΕ, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Το οστό είναι ένα βιογενές υλικό που αποτελείται από την ανόργανη φάση, το βιοαπατίτη, και την οργανική, που συνίσταται κυρίως από κολλαγόνο τύπου I. Το κολλαγόνο είναι μια εξαιρετικά ινώδης πρωτεΐνη με σταυροδεσμούς, που ενισχύει τις μηχανικές και βιοχημικές ιδιότητες του οστού. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάδειξη των μεταβολών του κολλαγόνου σε τμήματα οστού, οφειλόμενες στον τρόπο αποδόμησης και συντήρησής του (π.χ αφυδάτωση). Μελετήθηκαν τμήματα ανθρώπινων οστών (κάτω γνάθος, κεφαλή μηριαίου οστού) με φασματοσκοπία Raman. Καταγράφηκαν φάσματα σε δείγματα αφυδατωμένα και σε δείγματα που είχαν τοποθετηθεί σε ρυθμιστικό διάλυμα PBS (Phosphate Buffered Saline) για ενυδάτωση του κολλαγόνου. Ύστερα από επεξεργασία των φασμάτων και διαχωρισμό των κορυφών που συνυπάρχουν κάτω από την ευρεία μπάντα του αμιδίου I (1595-1710 cm⁻¹) του κολλαγόνου υπολογίστηκε η αναλογία μη αναγώγιμων προς αναγώγιμους σταυροδεσμούς του κολλαγόνου [$I(1658\text{ cm}^{-1} + 1668\text{ cm}^{-1}) / I(1680\text{ cm}^{-1} + 1690\text{ cm}^{-1})$] παράμετρος η οποία απεικονίζει την κατάσταση στην οποία βρίσκεται το δίκτυο του κολλαγόνου. Στα αφυδατωμένα δείγματα παρατηρήθηκε μετατόπιση του μεγίστου καθώς και μεταβολή στην αναλογία των κορυφών του αμιδίου I, μεταβολές αντιστρεπτές για περιορισμένη παραμονή στην κατάσταση αυτή. Μετά από παρατεταμένη αφυδάτωση και έκθεση του οστού σε συνθήκες περιβάλλοντος η αντιστρεπτότητα περιορίζεται.

Synthesis of Novel Halogenated 2'-Hydroxy-chalcone Analogues: Conformational Analysis and Evaluation of their Antioxidant and LOX Inhibitory Activity

D. Podaras^{1,2}, T. Liargkova³, P. Kefalas⁴, D. Hatzipavlou-Litina³, A. Detsi¹, P. Zoumpoulakis²

¹National Technical University of Athens, School of Chemical Engineering, Department of Chemical Sciences, Laboratory of Organic Chemistry, Zografou Campus, 15780 Athens, Hellas; ²Institute of Organic and Pharmaceutical Chemistry, National Hellenic Research Foundation, 48 Vas. Constantinou Ave., 11635 Athens, Hellas; ³Aristotle University of Thessaloniki, School of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, 54124 Thessaloniki, Hellas; ⁴Department of Food Quality and Chemistry of Natural Products, Mediterranean Agronomic Institute of Chania, 73100 Chania, Crete, Hellas

Key words: Synthesis halogenated 2'-hydroxy-chalcone analogues, synthesis, conformational analysis, antioxidant, LOX inhibitory activity

Lipoxygenases (LOX) are iron-containing enzymes which, in humans, play a key role in the biosynthesis of leukotrienes. Inhibitors of lipoxygenases have attracted attention as potential agents for the treatment of inflammatory and allergic diseases, but their therapeutic potential has now been expanded to certain types of cancer, cardiovascular diseases and pathophysiological conditions involving oxidative stress.

As a continuation of our ongoing research toward the design and synthesis of compounds possessing dual antioxidant-anti-inflammatory activity aiming mainly at the inhibition of LOX, we have focused on the α,β -unsaturated carbonyl framework of chalcones, the flavonoid precursors, as a potential lead structure. Herein we present the synthesis of the novel halogenated 2'-hydroxy-chalcone analogues and the evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory activity. Finally, a correlation between their biological activities with their conformational features in solution was attempted using conformational analysis studies.

Σύνθεση Νέων Αναλόγων Αλογονωμένων 2'-υδροξυ-χαλκονών. Διαμορφωτική Ανάλυση και Αξιολόγηση της Αντιοξειδωτικής και της Αντιφλεγμονώδους Δράσης

Δ. Ποδάρας^{1,2}, Θ. Λιαργκόβα³, Π. Κεφάλας⁴, Δ. Χατζηπαύλου-Λίτινα³, Α. Δέτση¹, Π. Ζουμπουλάκης²

¹Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου 15780, Αθήνα, ²Ινστιτούτο Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας, Εθνικό Ίδρυμα Έρευνών, Βασ. Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα, ³Εργαστήριο Φαρμακευτικής Χημείας, Φαρμακευτική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, 54124 Θεσσαλονίκη, ⁴Τμήμα Ποιότητας Τροφίμων και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων, 73100 Χανιά, Κρήτη, Ελλάς

Οι λιποξυγονάσες (LOX) αποτελούν μεταλλοένζυμα τα οποία στον ανθρώπινο οργανισμό, διαδραματίζουν κύριο ρόλο στη βιοσύνθεση των λευκοτριενίων. Οι αναστολείς των ενζύμων αυτών διαθέτουν σημαντικό θεραπευτικό εύρος που πε-

ριλαμβάνει φλεγμονώδεις και αλλεργικές παθήσεις, διάφορους τύπους καρκίνου, καρδιαγγειακές παθήσεις και παθοφυσιολογικές καταστάσεις που οφείλονται σε οξειδωτικό στρες.

Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση νέων αναλόγων 2'-υδροξυ-χαλκονών, πρόδρομων ενώσεων των φλαβονοειδών που διαθέτουν α,β-ακόρεστο καρβονυλικό ύστημα ως κύριο δομικό χαρακτηριστικό και η μελέτη της

αντιοξειδωτικής δράσης καθώς και της ικανότητάς τους να αναστέλουν τη δράση της λιποξυγονάσης. Επιχειρήθηκε, τέλος, η συσχέτιση της βιολογικής δράσης των νέων αναλόγων με τα διαμορφωτικά τους χαρακτηριστικά σε διάλυμα, που προέκυψαν με χρήση αλγορίθμων διαμορφωτικής ανάλυσης.



Structural Characterization of Glycosaminoglycans Using Raman micro-Spectroscopy

*Eleni Kamilari*¹, Christos Kontoyannis^{1,2}, Fotini Lamari¹ and Malvina Orkoula^{1,*}

¹Department of Pharmacy, University of Patras, ²ICE/HT-FORTH, Patras, Rio, Hellas

Key words: Glycosaminoglycans, structural characterization, Raman micro-spectroscopy

Glycosaminoglycans (GAGs) are anionic linear polysaccharides containing a repeating disaccharide unit. GAGs, as major constituents of extra-cellular matrix, regulate various cellular functions and have a broad variety of cosmetic and pharmaceutical applications. The commonest methods for identifying GAGs, include enzymatic digestion and analysis with separation techniques. In this work, GAG compositional data was obtained by micro-Raman spectroscopy, a rapid, accurate and non-destructive technique, for the identification and structural characterization of GAGs in various pharmaceutical forms and the determination of possible GAG-protein interactions. Comparing the Raman spectra, characteristic vibrational frequencies of the functional groups of GAGs were detected to be used for the direct identification of these molecules. In addition, this methodology was applied for the qualitative determination of GAGs in snail mucus and we were able to identify hyaluronan, while there is also strong evidence for the existence of heparan sulfate and heparin.

Δομικός Χαρακτηρισμός Γλυκοζαμινογλυκανών με Φασματοσκοπία micro-Raman

*Ελένη Καμηλάρη*¹, Χρίστος Κοντογιάννης^{1,2}, Φωτεινή Λάμαρη¹ και Μαλβίνα Όρκουλα^{1,*}

¹Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών,
²ΕΙΧΗΜΥΘ/ΙΤΕ, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Οι γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs), ανιοντικοί γραμμικοί πολυσακχαρίτες που αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες δισακχαριτικές μονάδες, ρυθμίζουν διάφορες κυτταρικές διαδικασίες και χρησιμοποιούνται ευρέως τόσο στην κοσμετολογία όσο και στην φαρμακευτική. Οι πιο γνωστές μέθοδοι για την ταυτοποίηση των GAGs περιλαμβάνουν κατεργασία με ειδικές λυάσεις και στη συνέχεια ανάλυση των προκύπτοντων δισακχαριτών με διαχωριστικές μεθόδους. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία micro-Raman, μια γρήγορη, ακριβής και μη καταστρεπτική τεχνική, για την ταυτοποίηση και το δομικό χαρακτηρισμό των GAGs σε διάφορες φαρμακοτεχνικές μορφές, καθώς επίσης και για τον προσδιορισμό πιθανών αλληλεπιδράσεων των GAGs με πρωτεΐνες. Από τη σύγκριση των φασμάτων προέκυψε ότι χαρακτηριστικές συχνότητες δόνησης των λειτουργικών ομάδων των GAGs μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την άμεση ταυτοποίηση και διάκριση αυτών. Η εν λόγω μεθοδολογία εφαρμόστηκε επίσης για την ποιοτική ανάλυση της βλέννας σαλιγκαριού, όπου ταυτοποιήθηκε υαλουρονικό οξύ, ενώ υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις για την ύπαρξη ηπαρίνης και θεικής ηπαράνης.



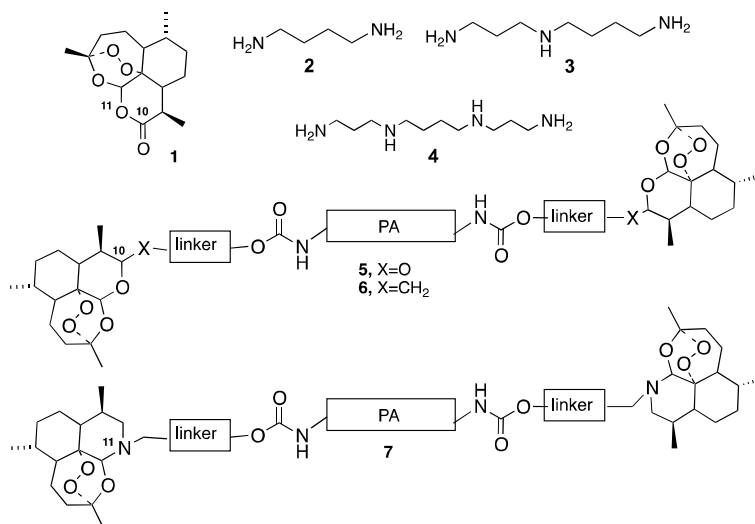
Syntheses of Artemisinin Conjugates with Polyamines

P. Tsoukala, G. Magoulas, D. Papaioannou, C. M. Athanassopoulos*

Synthetic Organic Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, University of Patras, Patras, Rio, Hellas
kath@chemistry.upatras.gr

Artemisinin (**1**, Qinqhaosu) is a natural occurring sesquiterpene isolated from the plant *Artemisia Annu*a known for its antimalarial (1) and anticancer activities (2). On the other hand, the naturally occurring polyamines (PAs), such as putrescine (**2**), spermidine (**3**), spermine (**4**) or their conjugates with other biomolecules show interesting biological activities and indeed conjugation of

biologically interesting molecules with PAs is a means of either improving the activity of the non-PA moiety (**3**). In the context of this work we describe the chemical modification of artemisinin at positions 10 and 11 in order to bear suitable linkers for the synthesis of symmetric polyaminic conjugates (**5-7**), aiming to improved biological activities.



1. Haynes R.K., Krishna S.: Artemisinins: activities and actions. *Microbes Infect.* 6: 1339-1346 (2004)
2. Chadwick J., Jones, M., O'Neill, P.M., et al.: Design, synthesis and antimalarial/anticancer evaluation of spermidine linked artemisinin conjugates designed to exploit polyamine transporters in *Plasmodium falciparum* and HL-60 cancer cell lines. *Bioorg. Med. Chem.* 18: 2586-2597 (2010)

3. Karigiannis G., Papaioannou D.: Structure, biological activity and synthesis of polyamine analogues and conjugates. *Eur. J. Org. Chem.* 10: 1841-1863 (2000)

Συνθέσεις Συζευγμάτων της Αρτεμισινίνης με Πολυαμίνες

Π. Τσουκαλά, Γ. Μαγουλάς, Δ. Παπαϊωάννου, Κ. Μ. Αθανασόπουλος*

Εργαστήριο Συνθετικής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

kath@chemistry.upatras.gr

Η αρτεμισινίνη (1, Quinohaosu) είναι ένα σεσκιτερπένιο, που απομονώνεται από το φυτό *Artemisia Annua* και εμφανίζει σημαντικές ανθελονοσιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Έως σήμερα έχουν δημοσιευτεί πολλές μελέτες για τη σύνθεση νέων αναλόγων της αρτεμισινίνης οι

οποίες καταδεικνύουν τη μεγάλη σημασία των διμερών αναλόγων και συζευγμάτων της. Αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η σύζευξη βιοδραστικών μορίων με φυσικά απαντώμενες πολυαμίνες (PAs), όπως πουτρεσκίνη (2), σπερμιδίνη (3) και σπερμίνη (4) βελτιώνει τη βιολογική τους δράση μας οδήγησε στο σχεδιασμό νέων πρωτότυπων διμερών πολυαμινικών συζευγμάτων της αρτεμισινίνης. Στην παρούσα εργασία περιγράφουμε τη χημική τροποποίηση του μορίου της αρτεμισινίνης στις θέσεις 10 και 11 ώστε να φέρει κατάλληλους συνδέτες για τη σύνθεση συμμετρικών πολυαμινικών συζευγμάτων (5-7), με στόχο τη βελτίωση της βιολογικής τους δράσης.



Studies toward a Novel Total Synthesis of Ecteinascidin-743: Discovery of a New and Practical Synthesis of B-Lactams

M. Panagiotou, P. Nikolopoulos and P. A. Magriotis*

Department of Pharmacy, University of Patras, Patras, Rio 26500, Hellas
 pmagriotis@upatras.gr

Key words: Ecteinascidin-743, Synthesis, B-Lactams

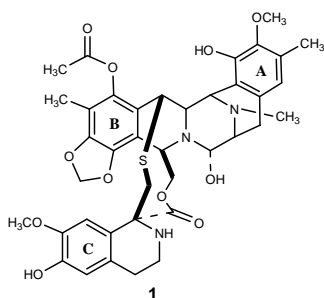


Figure 1

Ecteinascidin 743 (Fig. 1) isolated from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata* (1), is arguably the most potent cytotoxin known as indicated by its evaluation against the National Cancer Institute's human *in vitro* cell line panel including melanoma, non-small-cell lung, ovarian, renal, prostate, and breast cancer, demonstrating potencies ranging from 1 pM to 10 nM (2). In fact, the antiproliferative activity of Et 743 is greater than that of Taxol, camptothecin, adriamycin, mitomycin C, cisplatin, bleomycin, and etoposide by 1-3 orders of magnitude, propelling trabectedin (Fig. 1) to become the first marine anticancer drug to be approved (October 2007) in the European Union (EU) (3), as a first-line treatment for soft tissue sarcomas. The complexity of molecular architecture, the remarkable biological activities, and the restricted natural availability (1.0 g from about 1.0 ton of tunicate) have made trabectedin an exceedingly attractive synthetic target for total synthesis (4). Our studies toward the valida-

tion of key elements of our retrosynthetic analysis will be presented including the general and useful reaction of the title.

REFERENCES

- (a) Rinehart K.L., Holt T.G., Fregeou N.L., Stroh J.G., Keifer P.A., Sun F., Li L.H., Martin D.G.: Ecteinascidins 729, 743, 745, 759A, 759B, and 770: potent antitumor agents from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *J. Org. Chem.* 55: 4512- 4515 (1990) (b) Rinehart K.L.: Antitumor compounds from tunicates. *Med. Res. Rev.* 20: 1-27 (2000)
- (a) Zewail-Foote M., Hurley L.H.: Ecteinascidin 743: a minor groove alkylator that bends DNA toward the major groove. *J. Med. Chem.* 42: 2493-2497 (1999). (b) Hedge S., Schmidt M.: *Ann. Rep. Med. Chem.* 43: 492-493 (2008)
- Molinski T.F., Dalisay D.S., Lievens S.L., Saludes J.P.: Drug development from marine natural products. *Nat. Rev. Drug Discov.* 8: 69-85 (2009)
- Fishlock D., Williams R.: Synthetic studies on Et-743. Assembly of the pentacyclic core and a formal total synthesis. *J. Org. Chem.* 73: 9594-9600 (2008)

Μελέτες για μια Νέα Ολική Σύνθεση της Ecteinascidin-743: Ανακάλυψη μίας Νέας και Πρακτικής Σύνθεσης Β-Λακταμών

Μαρία Παναγιώτου, Παναγιώτης Νικολόπουλος Παναγιώτης, και Πλάτων Μαγκριώτης*

Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο 26500, pmagriotis@upatras.gr

Η Ecteinascidin 743 που απομονώθηκε από τον θαλάσσιο μικροοργανισμό της Καραϊβικής *Ecteinascidia turbinata*, είναι μία από τις πιο ισχυρές κυτταροτοξίνες όπως φαίνεται από τη δραστηριότητά της σε *in vitro* ανθρώπινες καρκινικές σειρές μελανώματος, μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονος, καρκίνου των ωθηκών και καρκίνων των νεφρών, του προστάτου και του μαστού, που ευρίσκεται μεταξύ 1 pM και 10 nM. Συγκεκριμένα, η αντινεοπλασματική δραστηριότητα της Et-743 είναι πολύ μεγαλύτερη αυτής των γνωστών αντικαρκινικών φαρμάκων Taxol, camptothecin, adriamycin, mitomycin C, cisplatin, bleomycin, και etoposide, ιδιότητα η οποία εκτόξευσε την tra-

bectidin (1) ώστε να γίνει το πρώτο θαλάσσιο φυσικό αντικαρκινικό φάρμακο που εγκρίθηκε (October 2007) από την Ευρωπαϊκή Ένωση (EU), για θεραπεία πρώτης γραμμής του σαρκώματος μαλακού ιστού. Η περίπλοκη μοριακή αρχιτεκτονική δομή της, η σημαντική βιολογική δραστηριότητα της, και η περιορισμένη φυσική διαθεσιμότητα της (1,0 g από περίπου 1,0 ton του tunicate) κατέστησαν την 1 ένα πολύ ελκυστικό στόχο για Ολική Σύνθεση. Θα παρουσιάσουμε τις μελέτες μας προς ισχυροποίηση βασικών στοιχείων της ρετροσυνθετικής μας ανάλυσης που οδήγησαν στην ανακάλυψη της γενικής αντίδρασης του τίτλου.



NMR Screening for Putative Repellents Targeting Odorant Binding Protein 1 (OBP1) of the Primary Vector for Malaria, Mosquito *Anopheles Gambiae*

C. Potamitis^a, M. Zervou^a, P. Zoumpoulakis^a, S.E. Zographos^a, K.E. Tsitsanou^a, C. Drakou^a, K. Iatrou^b, U. Zelenko^c, S. Golic Grdadolnik^c

¹Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, Athens, Hellas; ²Insect Molecular Genetics and Biotechnology Group, Institute of Biology, NCSR *Demokritos*, Athens, Hellas; ³National Institute of Chemistry, Ljubljana, Slovenia

Key words: Odorant Binding Protein 1 (OBP1), NMR Screening Malaria, Mosquito *Anopheles Gambiae*

The mosquito *Anopheles gambiae* (*Agam*) is the major vector of malaria in sub-Saharan Africa. Although the role of olfaction in *Agam* host detection has been demonstrated, little is known about the interactions of ligands and OBPs that can produce specific odor-related responses *in vivo* (1). Our goal is the development of environmentally friendly mosquito repellents, which may ultimately contribute to reduction of mosquito biting and disease transmission.

This study focuses on the NMR screening of commercially available ligands, which have shown insect repellent properties on *Agam*OBP1 protein target. The employed NMR screening schemes, Saturation Transfer Difference (STD) and tr-NOESY has been validated by probing the molecular recognition of *N,N*-diethyl-3-methylbenzamide (DEET) by OBP1 in accordance with the recently published crystal complex (2). Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol), known for its mosquito repellent activity, was ranked among the identified hits for the studied target. STD competition studies have indicated that OBP1 is able to bind both of them with similar binding constants.

Σάρωση με Φασματοσκοπία NMR Ενώσεων με Στόχο την Πρωτεΐνη Πρόσδεσης Οσμογόνων 1 (OBP1) του Κουνουπιού *Anopheles gam-biae*, Κύριο Φορέα του Παρασίτου της Ελονοσίας

Κ. Ποταμίτης¹, Μ. Ζερβού¹, Π. Ζουμπουλιάκης¹, Σ.Ε. Ζωγράφος¹, Κ.Ε. Τσιτσάνου¹, Χ. Δράκου¹, Κ. Ιατρού², U. Zelenko³, S. Golic Grdadolnik³

¹Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, Ελλάδα; ²Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ *Δημόκριτος*, Αθήνα, Ελλάδα; ³Εθνικό Ινστιτούτο Χημείας, Λουμπλιάνα, Σλοβενία

Το κουνούπι *Anopheles gambiae* (*Agam*) αποτελεί τον κύριο φορέα μετάδοσης της ελονοσίας στην υποσαχάρια Αφρική. Παρά το ότι ο ρόλος του οσφρητικού συστήματος του *Agam* στην ανίχνευση τροφής έχει διερευνηθεί, λίγα είναι γνωστά για τις αλληλεπιδράσεις των ενώσεων προσδετών με τις OBPs που επάγουν οσφρητική απόκριση *in vivo*¹. Στόχος είναι η ανάπτυξη περιβαλλοντολογικά φιλικών απωθητικών ουσιών, που θα μπορούσαν να συμβάλουν στη αντιμετώπιση μετάδοσης της ασθένειας. Η παρούσα μελέτη εστιάζεται στη σάρωση, με χρήση φασματοσκο-

πίας NMR, εμπορικά διαθέσιμων ενώσεων με εντομοαπωθητική δράση στοχεύοντας στην ανίχνευση μορίων προσδετών της πρωτεΐνης *Agam* OBP1. Συγκεκριμένα έγινε χρήση των πειραμάτων Saturation Transfer Difference (STD) και tr-NOESY με ουσία αναφοράς το N,N-δισουλ-3-μεθύλβενζαμίδιο (DEET), το οποίο έχει κρυσταλ-

λωθεί πρόσφατα με την OBP1². Η καρβακρόλη (5-ισοπρόπυλ-2-μεθυλφαινόλη), γνωστή για την εντομοαπωθητική της δράση, είναι μία από τις ενώσεις που ανιχνεύθηκαν ως προσδέτες του πρωτεϊνικού στόχου. Μελέτες ανταγωνισμού STD έχουν δώσει ενδείξεις για την ικανότητα της OBP1 να προσδένει και τις δύο αυτές ενώσεις.



Hydroxytyrosol and Methyl Tabogonate Hybrids as Potential Tyrosinase Inhibitors

Michael Pavlou, Kyriakos Prousis, Theodora Calogeropoulou, Panagiotis Zoumpoulakis

Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation, 48 Vas. Constantinou Ave., GR-11635, Athens, Hellas

Key words: Tabogonate hybrids, hydroxytyrosol, methyl, potential tyrosinase inhibitors

Tyrosinase is a multifunctional, glycosylated, and copper-containing oxidase, which is responsible for enzymatic browning reactions in damaged fruits during post-harvest handling and processing. Tyrosinase also acts as a catalyst in mammalian melanogenesis causing dermatological problems such as flecks, melasma and ephelide due to overproduction of melanin. This class of enzyme is widely distributed in the plant, animal and microorganism kingdoms. Currently, an effort to discover and develop novel and potent tyrosinase inhibitors has become increasingly important to the food industry as well as for medicinal and cosmetic products due to the low potency or incompatibility with safety regulations imposed on cosmetic additives. In this work we describe the design and synthesis of novel hybrid molecules of hydroxytyrosol (HTyr), a small-molecule phenolic compound found in the leaves and fruits of olive (*Olea europaea*) as a metabolite of oleuropein (Ole), and methyl tabogonate, a prenylated natural product with antifungal and antimicrobial activity, isolated from the leaves of Panamanian shrub *P. taboganum*. HTyr possesses a variety of biological properties including antibacterial activity, scavenging of free radicals, protection against oxidative DNA damage and LDL oxidation, prevention of platelet aggregation, and inhibition of 5- and 12-lipoxygenases. Molecular docking calculations using the resolved crystallographic structure of the oxy tyrosinase obtained from *Streptomyces castaneoglobisporus* were performed after the removal of the ORF378 Cu(II)-carrier protein (*caddie* pro-

tein). Promising candidates exhibited interactions with Arg55, Thr203 and Gly204, while the HTyr group was positioned towards Cu²⁺. Selected molecules are currently being synthesized.

1. Chang T.S.: An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 2440-2475 (2009)
2. Chiari M.E., Vera D.M.A., Palacios S.M., Carpinella M.C.: Tyrosinase inhibitory activity of a 6-isoprenoid-substituted flavanone isolated from *Dalea elegans*. *Bioorg. Med. Chem.* 19: 3474-3482 (2011)

Υβριδικά ανάλογα της Υδροξυτυροσόλης με το ταμπογκανικό μεθυλεστέρα ως Αναστολείς του ενζύμου Τυροσινάση

Μιχάλης Παύλου, Κυριάκος Προυσής, Θεοδώρα Καλογεροπούλου, Παναγιώτης Ζουμπουλάκης

Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Βασ. Κωνσταντίνου 48, 11635, Αθήνα.

Η τυροσινάση είναι μια πολυλειτουργική γλυκοσυλιωμένη οξειδάση, η οποία περιέχει χαλκό και είναι υπεύθυνη για την ενζυμική αμαύρωση των φρούτων κατά την κατεργασία μετά τη συγκομιδή. Η τυροσινάση επίσης δρα και ως καταλύτης για τη μελανογένεση στους ανθρώπους προκαλώντας διάφορα δερματολογικά προβλήματα λόγω υπερβολικής παραγωγής μελανίνης. Η τυροσινάση απαντάται στο φυτικό και ζωικό βασίλειο κα-

θώς και σε διάφορους μικροοργανισμούς. Τα τελευταία χρόνια η έρευνα για την ανακάλυψη αναστολέων της τυροσινάσης έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών, διότι οι υπάρχοντες αναστολείς είτε εμφανίζουν μειωμένη δράση είτε δεν είναι ασφαλείς ως πρόσθετα σε καλλυντικά. Στην παρούσα εργασία περιγράφουμε το σχεδιασμό και τη σύνθεση νέων υβριδικών ενώσεων οι οποίες συνδυάζουν την υδροξυτυροσόλη (HTyr), ένα μικρό φαινολικό μόριο το οποίο απαντάται στα φύλλα και στον καρπό της ελιάς ως μεταβολίτης της ελαιευρωπείνης (Ole), και του ταμπογκανικού μεθυλεστέρα, ενός πρενυλιωμένου φυσικού προϊόντος με αντιμηκυτιασική και αντιμικροβιακή δράση. Η HTyr εμφανίζει ποικιλία βιολογικών ιδιοτήτων συμπεριλαμβανομένων της

αντιβακτηριδιακής και αντιοξειδωτικής δράσης, της προστατευτικής δράσης της οξειδωτικής βλάβης του DNA και της οξειδωσης της LDL, την αναστολή της συγκόλησης των αιμοπεταλίων, και την παρεμπόδιση της 5- και 12-λιπoxυγενάσης. Μελέτες μοριακής πρόσδεσης πραγματοποιήθηκαν με χρήση της κρυσταλλικής δομής της οξυτυροσινάσης μετά την απομάκρυνση της ORF378 μεταφορικής πρωτεΐνης του Cu(II). Οι δομές με τη βέλτιστη πρόσδεση παρουσίασαν αλληλεπιδράσεις με τα αμινοξέα Arg55, Thr203 and Gly204, διευθετώντας την HTyr σε θέση σύμπλεξης με τον Cu(II). Η σύνθεση των επιλεγμένων αναλόγων βρίσκεται σε εξέλιξη.



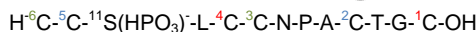
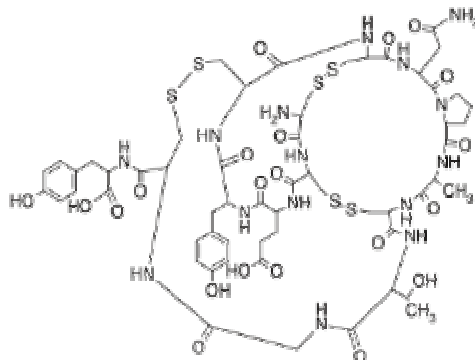


Figure: The Linaclootide drug with the 14 amino acids and the peptide sequence of IW-7929

Optimization Studies in the Synthesis of Linaclootide Derivatives

Aikaterini Perdikaki, Dimitrios Gatos

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, Rio 26500, Hellas

Key words: Linaclootide derivatives, synthesis, optimization studies

The aim of this research project is the study of synthetic approaches to peptides rich in disulfide bonds. For this investigation, was chosen the IW-7929, a phosphopeptide rich in Cys. This is a peptide consisting of 13 amino acids including 6 cysteines. For the chemical synthesis of this peptide was applied partial solid phase synthesis on 2-CLTR resin using Fmoc/tBu methodology, condensation in solid phase synthesis of the desired linear peptide where the peptide sequence was divided into two sections and synthesis on Mmt resin attachment of the side group of Cys. The formation of disulfide bonds was achieved using the random fold in different oxidizing conditions.

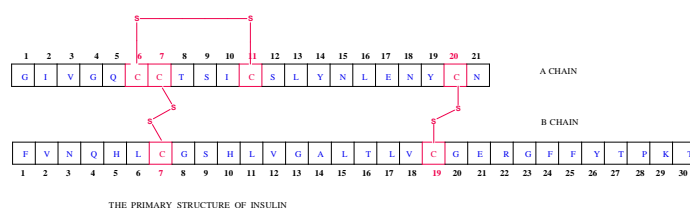
Μελέτες Βελτιστοποίησης της Σύνθεσης Παραγώγων του Πεπτιδίου Linaclootide

Αικατερίνη Περδικάρη, Δημήτριος Γάτος

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάς

Στη παρούσα ερευνητική εργασία, στόχος είναι η μελέτη συνθετικών προσεγγίσεων πεπτιδίων πλούσιων σε δισουλφιδικούς δεσμούς. Για την έρευνα αυτή, επιλέχθηκε το IW-7929, ένα φωσφοπεπτίδιο πλούσιο σε Cys. Πρόκειται για ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 13 αμινοξέα, εκ των οποίων 6 Cys. Για τη σύνθεσή του εφαρμόστηκε step by step synthesis στη 2-CLTR ρητίνη χρησιμοποιώντας την Fmoc/tBu μεθοδολογία, συμπύκνωση σε στερεά φάση για τη σύνθεση του επιθυμητού γραμμικού πεπτιδίου, όπου η πεπτιδική αλληλουχία χωρίστηκε σε δύο τμήματα, καθώς και σύνθεση στην Mmt ρητίνη με προσκόλλησή από την πλευρική ομάδα της Cys. Ο σχηματισμός των δισουλφιδικών δεσμών πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας την τυχαία αναδίπλωση σε διάφορες οξειδωτικές συνθήκες.

REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 166 (2012)
©PHARMAKON-Press



Improved Chemical Synthesis of the A and B Chains of Insulin and Insulin Analogs

Efstathios Liopyris, Dimitrios Gatos and Kleomenis Barlos

Department of Chemistry, University of Patras, Patras, Rio 26500, Hellas

Key words: Insulin and insulin analogs, A and B chains, improved chemical synthesis

Insulin is a peptide hormone containing 51 amino acid residues and is used in the treatment of diabetes mellitus. It consists of 2 peptide chains, A (21 aa) and B (30 aa), which are connected together by two intermolecular disulfide bonds and A chain has an intramolecular disulfide bond. In the treatment of diabetes, both human insulin and insulin analogs are used. The aim of the present work was to synthesize the individual A- and B-chains of human insulin and insulin analogs, by chemical methods, using the Fmoc/tBu methodology of Solid-Phase Peptide Synthesis (SPPS). Specifically, des-Thr³⁰-B chain insulin, B-chain of human insulin, as well as A- and B-chains of insulin Glargine (commercial name Lantus) have been synthesized either on the 4-methoxytrityl chloride resin (Mmt-Cl resin) via side-chain attachment or on 2-chlorotrityl chloride resin (CTC resin), in satisfactory yield and purity, in order to be used in appropriate chain combination reactions between A- and B-chains, towards the formation of insulin and insulin analogs.

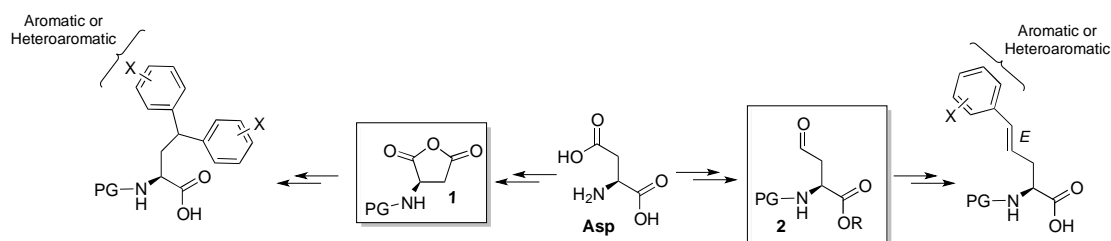
Βελτιωμένη Χημική Σύνθεση των Αλυσίδων A και B της Ινσουλίνης και αναλόγων Ινσουλίνης

Ευστάθιος Λιοπύρης, Δημήτριος Γάτος και Κλεομένης Μπάρλος

Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, 26500

Πάτρα, Ελλάδα

Η ινσουλίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη που περιέχει 51 αμινοξικά κατάλοιπα και χρησιμοποιείται στη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη. Συνίσταται από 2 πεπτιδικές αλυσίδες την A (21 αμινοξέα) και την B (30 αμινοξέα), που συνδέονται μεταξύ τους με δύο διαμοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς και η A διαθέτει ένα ενδομοριακό δισουλφιδικό δεσμό. Στη θεραπεία του διαβήτη χρησιμοποιούνται τόσο η ινσουλίνη όσο και ανάλογά της. Ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να συντεθούν οι ανεξάρτητες A- και B- αλυσίδες της ανθρώπινης ινσουλίνης και αναλόγων της με χημικές μεθόδους, χρησιμοποιώντας Fmoc/tBu μεθοδολογία της πεπτιδικής σύνθεσης σε στερεά φάση (SPPS). Πιο συγκεκριμένα, συντέθηκαν η des-Thr³⁰ B αλυσίδα της ινσουλίνης και η B αλυσίδα της ανθρώπινης ινσουλίνης Glargine (εμπορικό όνομα Lantus), καθώς και οι A και B αλυσίδες της ινσουλίνης στην 4-μεθοξυτριτυλοχλωρίδιο ρητίνη (Mmt-Cl Resin) μέσω πλευρικής σύνδεσης ή στη 2-χλωροτριτυλο χλωρίδιο ρητίνη (CTC Resin), σε ικανοποιητική απόδοση και καθαρότητα, με απώτερο σκοπό να χρησιμοποιηθούν σε αντιδράσεις κατάλληλου συνδυασμού των δύο αλυσίδων A και B, προς σχηματισμό ινσουλίνης και αναλόγων ινσουλίνης.



Synthetic Studies towards Methodologies, Leading to Novel Unnatural Amino Acids

A. Antoniou, S. E. Bariamis, C. M. Athanassopoulos*

Synthetic Organic Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, University of Patras
kath@chemistry.upatras.gr

Key words: Unnatural aminoacids novel, synthetic studies, methodologies

Unnatural amino acids (1), the non-genetically-coded amino acids that either occur naturally or are chemically synthesized, are becoming very important tools for modern drug discovery research. Due to their structural diversity and functional versatility, they are widely used as chiral building blocks and molecular scaffolds in constructing combinatorial libraries. Many of these unnatural amino acids are also critical components in pharmaceuticals and developmental drugs. On the other hand synthetic α -amino acids have played a significant role in the area of peptides research. They have been used extensively in peptide analogs to improve their pharmacodynamics, enzymatic stability and bioavailability.

In the context of this work we present our studies towards the development of a general methodology, which leads to novel unnatural amino acids bearing aromatic/ heteroaromatic rings on the side chain, by using aspartic acid (Asp) as chiral template. Thus, suitably protected Asp was transformed easily and in good yields to the anhydride 1 and aldehyde 2. These are the key-building blocks for the synthesis of a variety of aromatic/ heteroaromatic α -amino acids, through Grignard,

Wittig and Horner Emmons reactions.

1. James S.: Unnatural amino acids in drug discovery. *Chimica Oggi* 21: 65-68 (2003)

Μελέτες με Στόχο την Ανάπτυξη Μεθοδολογίας Σύνθεσης Πρωτότυπων μη Πρωτεϊνικών Αμινοξέων

A. I. Αντωνίου, Σ. E. Μπαριάμης, Κ. Μ. Αθανασόπουλος*

Εργαστήριο Συνθετικής Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα, Ρίο, Ελλάδα

kath@chemistry.upatras.gr

Τα μη φυσικά αμινοξέα είναι μη γενετικά κωδικοποιημένα αμινοξέα, τα οποία, είτε απαντώνται στη φύση, είτε συντίθενται χημικά και αποτελούν σημαντικά εργαλεία στην σύγχρονη έρευνα για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Επίσης, λόγω της δομικής τους ποικιλίας και της λειτουργικής τους ευελιξίας, χρησιμοποιούνται ευρέως και ως πρόδρομες χειρόμορφες ενώσεις.

Τέλος, σημαντική είναι η συμβολή τους στην πεπτιδική Χημεία, όπου χρησιμοποιούνται αντικαθιστώντας φυσικά αμινοξέα σε πεπτιδικές αλληλουχίες, με σκοπό τη βελτίωση της φαρμακοδυναμικής τους, της ενζυματικής τους σταθερότητας και της βιοδιαθεσιμότητάς τους.

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, παρουσιάζουμε τις μελέτες μας με σκοπό την ανάπτυξη γενικής μεθοδολογίας για τη σύνθεση πρωτότυπων μη φυσικών αμινοξέων που φέρουν αρωματικούς και ετεροαρωματικούς δακτυλίους στην

πλευρική τους αλυσίδα χρησιμοποιώντας το ασπαραγινικό οξύ (Asp) ως χειρόμορφο εκμαγείο. Έτσι, το κατάλληλα προστατευμένο Asp μετατρέπεται εύκολα και με καλές αποδόσεις στον ανυδρίτη 1 και την αλδεΐδη 2, που αποτελούν τις ενώσεις κλειδιά για τη σύνθεση μιας ποικιλίας αρωματικών και ετεροαρωματικών αμινοξέων, μέσω αντιδράσεων Grignard, Wittig και Horner Emmons.



REVIEW CLINICAL PHARMACOLOGY AND
PHARMACOKINETICS INTERNATIONAL
EDITION 26: 169 (2012)
©PHARMAKON-Press

Lessons from the small RNAs Role in Plant Biochemistry for Human Diseases' Cure

Dr Christos K. Kotakis

Biology Department, University of Crete, Hellas

Key words: small RNAs, Plant Biochemistry, Human Diseases' Cure

RNA silencing mechanism is conserved among most of eukaryotes and its role in gene regulation ranges from developmental networks to various stress responses. Evidence is provided by our current experimental findings, reporting that small RNAs are involved in energetic and redox homeostasis of the plant physiology. Based on such interactions inside the cell, innovative ideas are uprising for development of cheap pharmaceuticals from simple plant drastic substances, about the treatment of cancer and neurodegenerative diseases.

Μαθήματα από το Ρόλο των Μικρών RNA στη Βιοχημεία των Φυτών για την Αντιμετώπιση Ασθενειών στον Άνθρωπο

Δρ. Χρήστος Κ. Κωτάκης

Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ελλάδα

Ο μηχανισμός της RNA σίγησης είναι συντηρημένος στους περισσότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και ο ρόλος της γονιδιακής ρύθμισης σε αυτό το επίπεδο κυμαίνεται από αναπτυξιακά δίκτυα έως αποκρίσεις σε ποικίλες καταστάσεις καταπόνησης. Πρόσφατα πειραματικά μας ευρήματα από τη φυσιολογία των φυτών μαρτυρούν τη συνέργεια των μικρών RNA στη ενεργειακή και οξειδοαναγωγική ισοροπία του κυττάρου. Βασίζόμενοι σε τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις μέσα στο κυττάρο, προκύπτουν ιδέες για ανάπτυξη φτηνών φαρμακευτικών προσεγγίσεων από απλές φυτικές δραστικές ουσίες για την αντιμετώπιση του καρκίνου και νευροεκφυλιστικών ασθενειών.



Principles of Heterologous Protein Production: Two Case Studies

Prof. Dr. Constantinos E. Vorgias

Dept. of Biochemistry - Molecular Biology, Faculty of Biology, National And Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis-Zographou GR-157 84 Athens, Hellas
cvorgias@biol.uoa.gr

Key words: Heterologous protein production

Protein production refers to the way in which proteins are synthesized, modified and regulated in living organisms. In protein research, the term can apply to either the object of study or the laboratory techniques required to manufacture proteins. The presentation focuses on the principles governing protein production. In prokaryotes, the process of transcription and translation occur simultaneously. The translation of mRNA starts even before a mature mRNA transcript is fully synthesized. This simultaneous transcription and translation of a gene is termed coupled transcription and translation. In eukaryotes, the processes are spatially separated and occur sequentially with transcription happening in the nucleus and translation, or protein synthesis, occurring in the cytoplasm. After translation, polypeptides are modified in various ways to complete their structure, designate their location or regulate their activity within the cell. Post-translational modifications are various additions or alterations to the chemical structure and are critical features of the overall cell biology. Unlike proteins, DNA is simple to construct synthetically or *in vitro* using established recombinant DNA techniques. Therefore, DNA templates of specific genes, with or without add-on reporter or affinity tag sequences, can be constructed as templates for protein expression. Proteins produced from such DNA templates are called recombinant proteins. Traditional strategies for recombinant protein expression involve transfecting cells with a DNA vector that contains the template and then culturing the cells so that they transcribe and translate the desired protein. Typically, the cells are then lysed to extract the expressed protein for subsequent

purification. Both prokaryotic and eukaryotic *in vivo* protein expression systems are widely used. The selection of the system depends on the type of protein, the requirements for functional activity and the desired yield.

Bacterial protein expression systems are popular because bacteria are easy to culture, grow fast and produce high yields of recombinant protein. However, multi-domain eukaryotic proteins expressed in bacteria often are non-functional because the cells are not equipped to accomplish the required post-translational modifications or molecular folding. Also, many proteins become insoluble as inclusion bodies that are very difficult to recover without harsh denaturants and subsequent cumbersome protein-refolding procedures. Mammalian *in vivo* expression systems usually produce functional protein, but the yield is low, cost of production is high and mammalian cell culturing is time-consuming. In addition, *in vivo* systems are not conducive to either high throughput protein synthesis or expression of proteins that are toxic to host cells. Cell-free protein expression is the *in vitro* synthesis of protein using translation-compatible extracts of whole cells. In principle, whole cell extracts contain all the macromolecules components needed for transcription, translation and even post-translational modification. Few case studies will be presented focused on protein folding and protein thermostability studies.

1. Christodoulou E., Duffner F., Vorgias C. E.: Overexpression, purification, and characterization of a thermostable chitinase (Chi40) from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520. *Protein Expr. Purif.* 23: 97-105 (2001)

2. Christodoulou E., Vorgias C.E.: The thermostability of DNA-binding protein HU from mesophilic, thermophilic, and extreme thermophilic bacteria. *Extremophiles* 6: 21-31 (2002)
3. Christodoulou E., Rypniewski W., Vorgias C.E.: High-resolution X-ray structure of the DNA-binding protein HU from the hyper-thermophilic *Thermotoga maritima* and the determinants of its thermostability. *Extremophiles* 7: 111-122 (2003)
4. Pyrpassopoylos S., Vlassi M., Tsortos A., Papanikolaou Y.K., Petratos K., Vorgias C.E., Nounesis G.: Equilibrium heat-induced denaturation of chitinase 40 from *Streptomyces thermoviolaceus*. *Proteins* 64: 513-523 (2006)
5. Drikos I., Nounesis G., Vorgias C.E.: Characterization of cancer-linked BRCA1-BRCT missense variants and their interaction with phosphoprotein targets. *Proteins* 77: 464-476 (2009)



Cadmium(II) and Lanthanides(III) Chemistry: Complexes of Pyridyl Oximes and Triazolopyridines

Helen C. Mazarakioti

Key words: Cadmium(II), lanthanides, pyridyl oximes, triazolopyridines

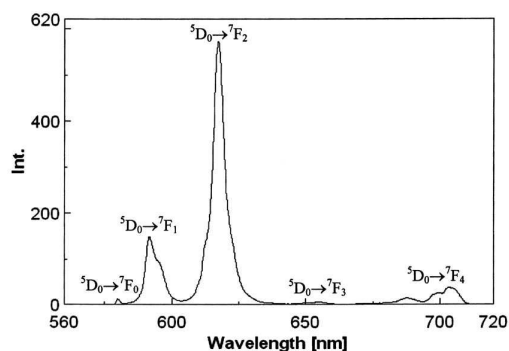
Η Χημεία του Καδμίου(II) και των Λανθανιδίων(III) - Σύμπλοκες Ενώσεις των Πυριδύλων Οξιμών και των Τριαζολοπυριδινών

Ελένη Χ. Μαζαρακιώτη

Η ανακοίνωση αυτή επικεντρώνεται στη σύνθεση πολυπυρηνικών και πολυμερών ετερομεταλλικών συμπλόκων $\text{Cd}^{\text{II}}/\text{Ln}^{\text{III}}$ (Ln = λανθανίδιο). Απώτερος στόχος μας είναι η μελέτη των οπτικών ιδιοτήτων των ενώσεων.

Θα αναφερθούμε :

(1) Στα βασικά χαρακτηριστικά της χημείας των τρισθενών λανθανιδίων και του καδμίου(II). Έμφαση θα δοθεί στη χημεία των συμπλόκων αυτών των μεταλλοϊόντων.



(2) Στη χημεία ένταξης των υποκαταστατών που σκοπεύουμε να χρησιμοποιήσουμε. Αυτοί είναι διάφορες πυριδύλο οξιμες καθώς και πολυδοντικοί N-δότες, π.χ. η 3-(2-πυριδύλο)τριαζολο[1,5-a]πυριδίνη.

