DESIGN AND SYNTHESIS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV INHIBITORS AS POTENTIAL ANTIGLYCEMIC AGENTS

SEWAN THEERAMUNKONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN PHARMACY
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2009

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

DESIGN AND SYNTHESIS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV INHIBITORS AS POTENTIAL ANTIGLYCEMIC AGENTS

SEWAN THEERAMUNKONG 4836152 PYPE/M

M.Sc. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITEE: OPA VAJRAGUPTA, Ph.D., KITTISAK SRIPHA, Dr.rer.nat.

ABSTRACT

In this study, dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) was selected as a drug target in searching for new antidiabetic drugs. Novel DPP-4 inhibitors were developed based on the information of medicinal herbs and structure-based drug design. The DPP-4 template was prepared from human DPP-4 crystal structure bound with sitagliptin (PDB: 1X70) and validated (RMSD 1.29 Å). The *S*-methylcysteine sulfoxide (SMCS), the active component of *Allium ascaloncu,* and *Allium cepa* Linn. in Alliaceae family and the chromone moiety, the structure found in most medicinal herbs were the starting core structures in the design. Forty-seven compounds including 37 structures of modified SMCS containing sulfur atom and 10 chromone-based structures were designed and docked with the prepared DPP-4 template by using AutoDock program suit. Thirteen hit compounds of eight SMCS derivatives and five chromone derivatives were identified. Compounds **[6] – [10]** and **[14]** – **[16]** were the modified SMCS, series SA and SS, respectively and compounds **[17]** – **[21]** were the chromone series C. The best binding energies of compounds in each series were -11.02 kcal/mol in series SA, -9.75 kcal/mol in SS series and -7.70 kcal/mol in series C. The identified hits were synthesized and evaluated for the DPP-4 inhibitory action *in vitro*. Among sulfur containing compounds, compound **[8]** in the series SA was most active with IC_{50} of 344.0 μM and the activity of all compounds in SS series were weak. Chromone amide **[21]** was the most potent in this study with IC_{50} of 81.05 μM despite weaker binding than **8**. The uniformity of interaction across the structure and percent membership in the highest cluster from docking study appeared to have significant contribution on the activity. The binding mode of chromone **[21]** showed three hydrogen bond interactions, one hydrogen bonding with Tyr547, two hydrogen bondings with Glu206 residue and an additional π-π interaction between benzene and the side chain of Phe357. The designed structure **21** accommodates the hydrophobic chromone nucleus to occupy in the S-1 pocket of the enzyme and interacts with the amino acid residue in this pocket (Tyr547) resulting in the highest potency. However, **21** was found to be less potent than sitagliptin. Compounds **8** and **21** are the leads for further design and modification.

KEY WORDS: DPP-4 INHIBITORS/ AUTODOCK / NOVEL ANTIDIABETIC AGENTS / SMCS / CHROMONES / DOCKING / DRUG DESIGN

242 pages.

Copyright by Mahidol University

การออกแบบและสังเคราะห์สารยับยั้งเอนไซม์ไดเปปทิดิลเปปทิเดสสี่ที่มีศักยภาพในการเป็นสารลดน้ำตาล
DESIGN AND SYNTHESIS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV INHIBITORS AS POTENTIAL ANTIGLYCEMIC AGENTS

ศรีวรรณ ธีระมั่นคง 4836152 PYPE/M

ภ.ม. (เภสัชเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : โอภา วัชระคุปต์, Ph.D., กิตติศักดิ์ ศรีภา, Dr.rer.nat.

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการค้นหายาต้านเบาหวานโดยใช้เอนไซม์ไดเปบทิดิลเปบทิเดสสี่ (ดีพีพี-4) เป็นโมเลกุลเป้าหมายยา ทำโดยการใช้ข้อมูลสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลผนวกกับการออกแบบยาโดยใช้โมเลกุล เป้าหมายยา ในการศึกษาเริ่มจากการเตรียมแม่แบบของเอนไซม์ดีพีพี-4 โดยใช้ข้อมูลการเอ็กซเรย์ผลึกของเอนไซม์ดีพีพี-4 ที่จับกับยาซิตากลิบซิน (PDB: 1X70) จากนั้นทำการตรวจสอบความถูกต้องของแม่แบบซึ่งผลการตรวจสอบได้ค่า RMSD 1.29 อังสตรอม โครงสร้างหลักที่นำมาใช้ในการออกแบบ คือ เอส-เมทิลซิสเซอีนซัลฟ็อกไซด์ (SMCS) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในพืชตระกูลหัวหอมวงศ์ Alliaceae และ โครโมน (chromone) เป็นสารสำคัญที่พบได้ในพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ งานวิจัยนี้ได้ออกแบบสาร 47 สารซึ่งประกอบด้วยสารอนุพันธ์ SMCS จำนวน 37 สาร และ อนุพันธ์โครโมนจำนวน 10 สาร แล้วนำไปด็อกกิงกับเอนไซม์แม่แบบที่เตรียมไว้โดยโปรแกรมออโตด็อก ผลการด็อกกิงได้สารที่มีศักยภาพ 13 สารซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ SMCS 8 สาร และสารอนุพันธ์โครโมน 5 สาร โดยสารประกอบ **[6]** – **[10]** ในอนุกรมเอสเอมีซัลเฟอร์ 1 อะตอม และสาร **[14]** – **[16]** ในอนุกรมเอสเอสมีซัลเฟอร์ 2 อะตอมในโครงสร้าง ส่วนสารประกอบ **[17]** – **[21]** เป็นสารโครโมนในอนุกรมซี ค่าพลังงานในการจับกับเอนไซม์ที่จับแน่นสุดของอนุพันธ์ SMCSในอนุกรมเอสเอและเอสเอส มีค่า -11.02 กิโลแคลอรีต่อโมลและ -9.75 กิโลแคลอรีต่อโมล ตามลำดับ และสำหรับสารอนุพันธ์โครโมนในอนุกรมซี มีค่า -7.70 กิโลแคลอรีต่อโมล จากนั้นทำการสังเคราะห์สารประกอบทั้ง 13 สารพร้อมพิสูจน์เอกลักษณ์ แล้วนำสารที่สังเคราะห์ได้ไปประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ดีพีพี-4 ในหลอดทดลอง พบว่าสารประกอบ **[8]** ที่มีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบในอนุกรมเอสเอมีฤทธิ์ยับยั้งสูงด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 344.0 ไมโครโมลาร์ และสารในอนุกรมเอสเอสทั้งหมดมีฤทธิ์ต่ำ สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งมากสุดในการศึกษาครั้งนี้คือ โครโมน **[21]** ในอนุกรมซีมีค่า IC_{50}เท่ากับ 81.05 ไมโครโมลาร์ ปัจจัยที่สำคัญที่ก่อให้เกิดฤทธิ์น่าจะเกิดจากการจับกับเอนไซม์อย่างทั่วถึงตลอดความยาวของโครงสร้าง และผลการด็อกกิงมีค่าเปอร์เซ็นต์สมาชิกสูงในคลัสเตอร์สูงสุด การจับกับเอนไซม์ของสาร **[21]** ประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะในตำแหน่งไทโรซีน547 จำนวน 1 พันธะ และ กลูตามีน206 จำนวน 2 พันธะ นอกจากนี้สาร **[21]** ยังมีแรงยึดแบบไพ-ไพ (π-π) กับ ฟีนิลอะลานีน357 ของเอนไซม์ ฤทธิ์ที่เพิ่มขึ้นของสารประกอบ **[21]** นี้ เป็นผลมาจากโครโมนในโครงสร้างที่ออกแบบสามารถเข้าไปอยู่ในโพรงเอส-1 ของเอนไซม์และเกิดแรงยึดแบบไม่ชอบน้ำ รวมทั้งการเกิด รวมทั้งการเกิดพันธะไฮดดรเจนกับไทโรซีน547 ซึ่งอยู่ในโพรงนี้ แต่อย่างไรก็ตามสารประกอบ **[21]** มีฤทธิ์ยับยั้งน้อยกว่าซิตากลิบซิน จากการศึกษานี้สารประกอบ **[8]** และ **[21]** จะนำไปเป็นสารต้นแบบเพื่อนำไปใช้ในการออกแบบและพัฒนาโครงสร้างยาในอนาคตต่อไป

242 หน้า

Copyright by Mahidol University