

UNIWERSYTET MEDYCZNY
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY
ZAKŁAD CHEMII FARMACEUTYCZNEJ, ANALIZY LEKÓW I RADIOFARMACJI

**NOVEL MULTIFUNCTIONAL ACRIDINE HYBRIDS AS
ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS FOR ALZHEIMER'S DISEASE
TREATMENT**

Rozprawa doktorska

Nina Chufarova, MSc

Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. farm. Paweł Szymanski
Prodziekan ds. Dydaktyki
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny
Zakład Chemii Farmaceutycznej, Analizy Leków i Radiofarmacji

Łódź, Polska, 2018

Streszczenie

Choroba Alzheimera (AD, Alzheimer's disease) – jedna z wielu chorób otępiennych, która odpowiada za około połowę przypadków demencji. Jednym z najbardziej istotnych czynników jej ryzyka jest wiek pacjenta, a największe ryzyko występuje po ukończeniu przez pacjenta 65 roku życia.

Patofizjologia tej choroby nie jest do końca wyjaśniona. Jedną z koncepcji jest hipoteza amyloidowa, odnosząca się do odkładania β -amyloidu w komórkach nerwowych. Płytki amyloidowe są tworzone przez patologiczne peptydy polimerowe – amyloidogenne, które są wynikiem enzymatycznego cięcia białka prekursorowego β -amyloidu. Druga hipoteza mówi o tym, że choroba Alzheimera jest powiązana z formowaniem się splątek neurofibrylarnych hiperfosforylowanego białka tau wewnątrz komórek nerwowych mózgu. Białko stabilizuje cytoskielet neuronów. Przy zaburzeniach fosforylacji białko to traci swoje właściwości i tworzy agregaty, destabilizując cytoskielet neuronowy i powodując tym samym degenerację neuronów. Najbardziej popularna jest hipoteza cholinergiczna, zgodnie z którą chorobę Alzheimera powoduje obniżona aktywność acetylotransferazy cholinowej w neuronach cholinergicznym. Jednocześnie zmniejsza się również synteza acetylocholin i serotoniny. Leki opracowane w oparciu o tę teorię są obecnie stosowane w terapii AD; jednak wszystkie zapewniają wyłącznie leczenie objawowe.

Celem niniejszej pracy doktorskiej jest synteza, testy biologiczne i modelowanie komputerowe nowych hybryd takryny jako potencjalnych leków w terapii choroby Alzheimera. Badania polegały na zsyntezowaniu 16 hybryd takryna-akrydyna o różnych długościach łańcucha alifatycznego pomiędzy cząsteczkami. Następnie 8 zsyntezowanych związków (w postaci chlorowodoru) zostało poddanych badaniom *in vitro* jako potencjalnych inhibitorów acetylocholinoesterazy i butyrylocholinesterazy. Typ inhibicji został określony w trakcie badań kinetycznych. Najaktywniejszy związek **3d** ($IC_{50} = 7,6$ pM dla AChE i 1,7 pM dla BuChE) wykazał aktywność większą niż takryna ($IC_{50} = 89914,1$ pM dla AChE i 14982,4 pM dla BuChE); badania kinetyczne wykazały mieszany typ inhibicji. Następnie wykazano zdolność inhibicji agregacji β -amyloidu. Najbardziej aktywny związek **3d** wykazał efekt w zakresie od 31,66% przy najmniejszym stężeniu (10 μ M) do 57,77% dla stężenia 100 μ M. W celu wykluczenia możliwych efektów cytotoksycznych wykonane były testy cytotoksyczności. Ostatecznie, związek **3d** przy największym stężeniu (100 μ M) powoduje zmniejszenie przeżywalności komórek do 43%, ale przy obniżeniu stężenia badanego związku przeżywalność komórek rośnie. Związek nie wykazał znaczącego efektu cytotoksycznego w zakresie wartości IC_{50} (1,7-7,6 pM). Ostatnim punktem badań

było wykonanie modelowania komputerowego, polegającego dokowaniu związku **3d** do enzymów AChE i BuChE. Okazało się, iż inhibitor wiąże się z dwoma częściami enzymu jednocześnie tj. z anionową częścią katalityczną oraz peryferyjnym miejscem wiązania. Badania pokazały, że zsyntezowany hybrydowy związek **3d** to potencjalny lek o wielokierunkowym działaniu. Może on być stosowany w terapii choroby Alzheimera i wymaga dalszych badań *in vitro* oraz *in vivo* w celu potwierdzenia bezpieczeństwa, efektywności i braku cytotoksyczności w leczeniu AD.