

**INHIBITORY CHOLINOESTERAZ
W TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA**
CHOLINESTERASE INHIBITORS IN ALZHEIMER
DISEASE THERAPY

Anna Zawadzka*, Zbigniew Czarnocki

Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa
*e-mail: azawadzka@chem.uw.edu.pl

*Praca została opublikowana w specjalnym numerze
„Wiadomości Chemicznych”, poświęconym pamięci Profesora Stanisława Głaba,
w 70-tą rocznicę Jego urodzin*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Hipoteza cholinergiczna
2. Inhibitory cholinoesteraz – leki w terapii choroby Alzheimera
3. „Podwójne” inhibitory acetylocholinoesterazy
4. Związki o wielokierunkowym działaniu
 - 4.1. Inhibitory cholinoesteraz o działaniu antyoksydacyjnym
 - 4.2. Inhibitory cholinoesteraz i β -sekreazy (BACE-1)
 - 4.3. Inhibitory cholinoesteraz wpływające na stężenie jonów wapnia
 - 4.4. Inhibitory cholinoesteraz działające na inne układy neuroprze-
kazyńnikowe

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Dr Anna Zawadzka urodziła się w roku 1973. W roku 1997 uzyskała stopień magistra, a w 2003 obroniła doktorat w Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Czarnockiego. W latach 2006–2007 odbyła roczny staż podoktorski w College of Pharmacy University of Illinois w Chicago. Od grudnia 2007 do lutego 2009 była pracownikiem w Zakładzie Chemii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Obecnie pracuje w Pracowni Chemii Związków Naturalnych Wydziału Chemii UW na stanowisku adiunkta. Zainteresowania naukowe obejmują syntezę i badanie aktywności biologicznej potencjalnych inhibitorów cholinoesteraz, w tym tzw. związków hybrydowych oraz stereoselektywną syntezę związków naturalnych.

Prof. Dr hab. Zbigniew Czarnocki – urodzony w 1954 roku w Warszawie, ukończył w 1977 roku studia w Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod opieką prof. dr hab. Jerzego T. Wróbla. Doktorat obronił w 1983 roku. W latach 1984–1986 odbył staż podoktorski współpracując z Prof. Davidem B. MacLeanem w McMaster University (Hamilton, Kanada). W późniejszym okresie powracał do tej uczelni kilkakrotnie, uzyskując finansowanie swych badań od rządu kanadyjskiego. Stopień doktora habilitowanego otrzymał w 1993 roku, a tytuł profesora nauk chemicznych w 2002 roku. Od 2010 pracuje w swym Wydziale macierzystym na stanowisku profesora zwyczajnego. Zainteresowania naukowe obejmują syntezę stereoselektywną, chemię związków naturalnych, katalizę i organokatalizę w syntezie asymetrycznej, a także chemię i biochemię melatoniny. Jest autorem lub współautorem 120 publikacji w recenzowanych czasopismach, wielu artykułów popularnonaukowych oraz rozdziału w książce. Uzyskał 5 patentów (2 krajowe i 3 zagraniczne). Wypromował 16 doktorów i 56 magistrów. Otrzymał szereg nagród za pracę naukową i dydaktyczną, w tym Złoty Krzyż Zasługi 2002 roku. Jest członkiem komitetów redakcyjnych czterech czasopism zagranicznych.

ABSTRACT

In recent years, a progressive increase in age-related disorders could be observed in most western countries, among which Alzheimer's disease (AD) is one of the most challenging. The progress of AD is characterized by a severe loss in memory and cognition, leading to behavioral changing, depression and death. Currently approved treatments, including the acetylcholinesterase inhibitors (AChEIs) donepezil, galantamine and rivastigmine and *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist memantine, do not halt the progression of the disease. The discovering of multifunctional compounds considering that several dual binding site AChEIs were able to reach different targets, guided the development of new drug design strategy, the multi-target-directed ligand (MTDL) approach. This review shows briefly summaries past and present research on the cholinesterase inhibitors (ChIs) able to interact with other targets contributing in aetiology of Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer disease, cholinesterase inhibitors, hybrid drugs, multi-target-directed ligands (MTDLs)

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, inhibitory cholinoesteraz, leki hybrydowe, związki o wielokierunkowym działaniu

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A β	- β -amyloid
ACh	- acetylocholina
AChE	- acetylocholinoesteraza
AChEI	- inhibitor acetylocholinoesterazy
AD	- choroba Alzheimera
APP	- białko prekursorowe β -amyloidu (ang. <i>amyloid precursor protein</i>)
BACE-1	- β -sekretaza
BuChE	- butyrylocholinoesteraza
CAS	- katalityczne miejsce anionowe (ang. <i>catalytic anionic site</i>)
ChAT	- acetylotransferaza cholinowa (ang. <i>choline acetyl transferase</i>)
GSK-3 β	- kinaza syntazy glikogenu-3 β (ang. <i>glycogen synthase kinase 3β</i>)
MAO	- monoaminooksydaza
MTDLs	- związki o wielokierunkowym działaniu (ang. <i>multi-target-directed ligands</i>)
nAChRs	- nikotynowy receptor acetylocholine (ang. <i>nicotinic acetylcholine receptors</i>)
NFTs	- splątki neurofibrylarne (ang. <i>neurofibrillary tangles</i>)
NMDAr	- receptor N-metylo-D-asparaginowy
PAS	- peryferyjne miejsce aninowe (ang. <i>peripheral anionic site</i>)
SERT	- białko transportujące serotoninę (ang. <i>serotonin reuptake transporter</i>)
τ	- białko tau

WPROWADZENIE

Pierwszy przypadek nieznanej dotychczas choroby, nazwanej później chorobą Alzheimera (AD), zdiagnozowany został przez niemieckiego neurologa Aloisa Alzheimera. W swojej pracy, „O szczególnej chorobie kory mózgowej” z roku 1907, opisał on badania mózgu 56-letniej pacjentki z demencją, które wykazały obecność splątków neurofibrylarnych wypełniających neurony oraz blaszek starczych zlokalizowanych na zewnątrz neuronów [1].

Choroba Alzheimera jest najczęstszą przyczyną otępień u osób powyżej 65 roku życia, objawia się zaburzeniami funkcji poznawczych, takich jak m.in. myślenie, orientacja, zdolność do uczenia się i zapamiętywania oraz towarzyszącym jej zaburzeniom emocjonalnym i zaburzeniom zachowania. Objawy te mają ogromny wpływ na pracę, funkcjonowanie społeczne i relacje z otoczeniem. Ciężar zmagania się z chorobą Alzheimera dotyczy nie tylko pacjentów ale również ich rodzin i opiekunów. Obecnie na AD choruje około 44 milionów ludzi na świecie, a ze względu na wydłużający się czas życia oraz zwiększenie populacji osób starszych szacuje się, że liczba ta się podwoi, a do roku 2050 wzrośnie nawet trzykrotnie [2].

Przyczyny choroby Alzheimera, jak dotąd, nie zostały ustalone. Cukrzyca, nadciśnienie, palenie papierosów i otyłość sprzyjają jej rozwojowi, z kolei aktywność fizyczna i intelektualna czy niskotłuszczowa dieta zmniejszają ryzyko zachorowania na chorobę Alzheimera [3].

Wśród czynników odgrywających istotną rolę w patogenezie choroby wymienia się: tworzenia złogów białka zwanego β -amyloidem ($A\beta$) (hipoteza tworzenia się złogów β -amyloidu) [4], agregację hiperfosforylowanego białka tau (τ) [5, 6], stres oksydacyjny [7] i obniżenie się poziomu acetylocholin (ACh) [8]. Blaszkki starcze powstające w wyniku nagromadzenia β -amyloidu uniemożliwiają prawidłowe funkcjonowanie komórek mózgowych. Hipoteza tau zakłada tworzenia się nieprawidłowych białek tau, które w standardowych warunkach stabilizują mikrotubule występujące w ciele komórki nerwowej, a w wyniku nadmiernej fosforylacji białek tau, tworzą splątki neurofibrylarne (NFTs) odkładające się we wnętrzu komórek nerwowych. Powoduje to nieprawidłowe funkcjonowanie przekazu nerwowego między neuronami, a dalej śmiercią komórek i w konsekwencji zanikiem kory mózgowej.

Obecnie leczenie w chorobie Alzheimera koncentruje się przede wszystkim na łagodzeniu jej objawów i dotyczy wpływu na układy neuroprzebieżnikowe, zwłaszcza układ cholinergiczny [9]. Stosuje się inhibitory cholinoesterazy podnoszące naturalny poziom acetylocholin i zapobiegające jej szybkiemu rozkładowi. Jedy-nym stosowanym lekiem działającym na układ glutaminergiczny jest memantyna – antagonist receptoru *N*-metylo-*D*-asparaginowego (NMDA) [10], wpływający na kontrolę przepływu jonów Ca^{2+} [11]. Leki te podnoszą jakość życia pacjentów chorych na AD, nie mają jednak wpływu na postęp choroby i nie hamują zmian neurodegeneracyjnych.

Wśród nowych strategii terapii choroby Alzheimera zwraca się obecnie szczególną uwagę na jej złożony charakter. Melchiorre i współpracownicy [12] zapro-

ponowali nową koncepcję tzw. „Multi-Target-Directed Ligands (MTDLs)”, według której poszukiwania nowych potencjalnych leków poszerzyły się o grupę związków o wielokierunkowym działaniu. Poszukuje się związków oddziałujących na kluczowe w patogenezie choroby Alzheimera cele molekularne, między innymi: białko prekursorowe β -amyloidu (APP) [13], β -sekretazę (BACE-1) [14], kinazę syntazy glikogenu-3 β (GSK-3 β) [15], splątki neurofibrylarne, stężenie jonów wapnia Ca²⁺ [16] czy stres oksydacyjny [17].

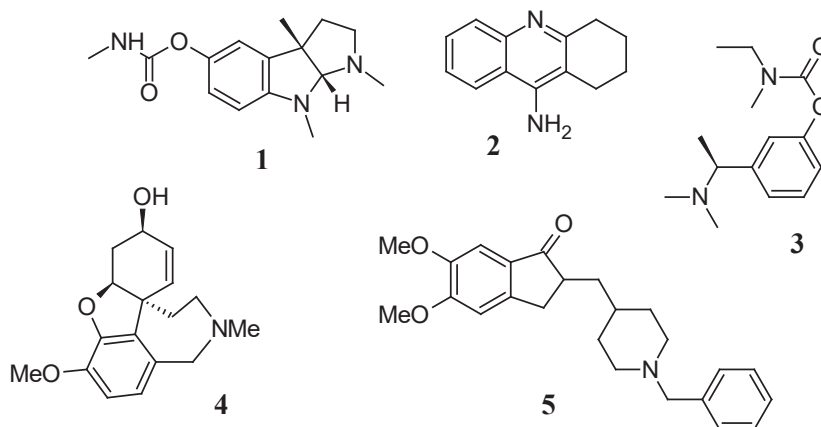
1. HIPOTEZA CHOLINERGICZNA

Najstarszą hipotezą jest hipoteza cholinergiczna, według której bezpośrednią przyczyną zaburzeń poznawczych, będących objawem AD, jest niewydolność przekazywania sygnałów w układzie cholinergicznym, odpowiadającym za procesy uwagi i przywoływanie śladów pamięciowych [18–20]. Hipoteza cholinergiczna opiera się na obserwacji niedoboru acetylocholiny w ośrodkowym układzie nerwowym [8]. Odkryto również degenerację neuronów w jądrze podstawnym Meynerta [21]. Ponadto, u pacjentów z AD obserwacja wykazała zaburzenia, takie jak: zmniejszenie aktywności acetylotransferazy cholinowej (ChAT) [22] – enzymu odpowiedzialnego za syntezę ACh, wzrost aktywności butyrylocholinoesterazy (BuChE) i obniżenie aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) oraz zmniejszenie stężenia receptorów nikotynowych (*n*AChR) [22]. W wyniku tego odkrycia, podstawowym podejściem terapeutycznym, podnoszącym jakość przeżywalności w uszkodzonym przez chorobę układzie cholinergicznym, było stosowanie leków stymulujących receptory cholinergiczne (muskarynowy i nikotynowy) oraz inhibitorów acetylocholinoesterazy [23]. W ostatnich latach okazało się, że butyrylocholinoesteraza także bierze udział w kontroli neurotransmisji. W zdrowym mózgu acetylocholinoesteraza odpowiada za 80% całkowitej aktywności cholinoesterycznej, jednak u osób cierpiących na chorobę Alzheimera jej aktywność spada do ok. 60% początkowej wartości, gdy tymczasem rola butyrylocholinoesterazy wzrasta [24]. Znaczne ilości BuChE stwierdza się w blaszkach starczych, splątkach neurofibylarnych, a także w dystroficznych komórkach nerwowych w mózgu chorych na AD [25]. Wydaje się zatem, że lepsze efekty terapeutyczne może przynosić strategia ukierunkowana na hamowanie aktywności butyrylocholinoesterazy [26] bądź też obu enzymów jednocześnie.

2. INHIBITORY CHOLINOESTERAZ – LEKI W TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA

Leki hamujące aktywność cholinoesteraz mają najszersze zastosowanie w objawowym leczeniu choroby Alzheimera. Najstarszym lekiem z tej grupy była fizostygmina **1** (Rys. 1), inhibitor cholinoesterazy pochodzenia naturalnego, który z uwagi

na skutki uboczne (zaburzenia wegetatywne) oraz niekorzystne parametry farmakokinetyczne nie był szeroko stosowany [27].



Rysunek 1. Fizostygmina 1 i takryna 2 oraz inne inhibitory cholinoesteraz w leczeniu AD
Figure 1. Physostigmine 1, Tacrine 2 and other cholinesterase inhibitors in AD therapy

Takryna 2 (Cognex) (Rys. 1) została dopuszczona do stosowania klinicznego przez Urząd ds. Żywności i Leków w USA (FDA) w roku 1993. Istotne działanie objawowe stwierdzono u 20–30% leczonych, a u ponad połowy poprawę [28, 29], jednak ze względu na liczne objawy niepożądane, zwłaszcza hepatotoksyczność, zaniechano jej stosowania [30].

Kolejne trzy inhibitory cholinoesteraz (Rys. 1): rywastygmina (Exelon) 3 [31], galantamina (Remeryl) 4 [32] i donepezil (Aricept) 5 [33], stosowane są w leczeniu łagodnych i średnio zaawansowanych stadiów choroby Alzheimer. Ich użyteczność kliniczna jest ograniczona, głównie z powodu występowania skutków ubocznych, takich jak splątanie, halucynacje, nagłe zmiany w zachowaniu, nudności i bóle żołądka [34]. Rywastygmina 3, w odróżnieniu od pozostałych, jest inhibitorem zarówno acetylocholinoesterazy, jak i butyrylocholinoesterazy, której obecność stwierdzono w blaszkach starczych [25, 35]. Inhibicja BuChE może mieć istotne znaczenie w zaawansowanych stadiach AD, kiedy na skutek zaniku neuronów cholinergicznym i zawartej w nich acetylocholinoesterazy swoiste inhibitory AChE nie mają już czego hamować [26].

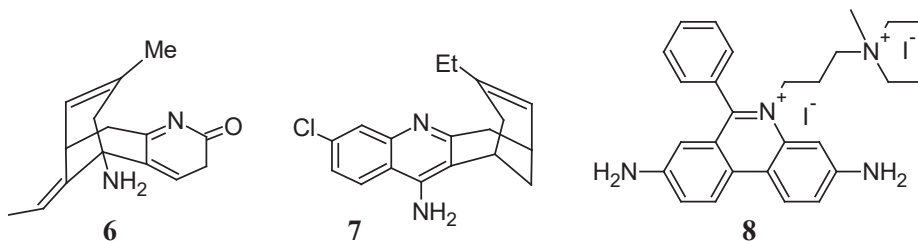
3. „PODWÓJNE” INHIBITORY ACETYLOCHOLINOESTERAZY

W roku 1996 stwierdzono, że poza rolą w układzie cholinergicznym, acetylocholinoesteraza może przyspieszać formowanie β -amyloidu [36–38]. W wyniku oddziaływania z peryferyjnym miejscem anionowym (PAS) acetylocholinoesterazy β -amyloid szybciej ulega agregacji [39], a samo oddziaływanie katalizuje przejście do

konformacji β -kartki, która również przyspiesza agregację tego toksycznego białka [40]. Zatem inhibitory acetylocholinoesterazy oddziałujące z peryferyjnym miejscem anionowym (PAS) mogą zmniejszać szybkość agregacji A β . Ta nowa strategia terapii choroby Alzheimera łączy hipotezę cholinergiczną i hipotezę amyloidu.

Struktury krystalograficzne acetylocholinoesterazy [41] oraz kompleksu donepezil-AChE [42] pozwoliły na wyciągnięcie wniosków o jednoczesnym oddziaływaniu fragmentów donepezilu **5** z miejscem aktywnym (CAS), jak i peryferyjnym (PAS) acetylocholinoesterazy [43]. Badania agregacji β -amyloidu potwierdziły zdolność do jej hamowania przez donepezil **5** i inne inhibitory acetylocholinoesterazy oddziałujące z CAS i PAS tego enzymu [39].

Na bazie podwójnych inhibitorów acetylocholinoesterazy powstała nowa koncepcja tzw. leków hybrydowych – związków łączących w swojej budowie znany lek lub jego kopię, bądź też fragmenty różnych leków. W efekcie połączenia, struktury hybrydowe wykazują często znacznie większą aktywność w porównaniu do ich prekursorów „niehybrydowych”, a nawet obserwuje się synergizm ich działania [44]. Otrzymano szereg homodimerów i heterodimerów zawierających znane inhibitory cholinoesteraz, m.in. takrynę **2** (Rys. 1), donepezil **5** (Rys. 1) [45], fizostyginę **1** (Rys. 1) [46], galantaminę **4** (Rys. 1) [32], (-)-huperycynę A **6** (Rys. 2) [47], huprynę X **7** (Rys. 2) [48] i jodek propidiowy **8** (Rys. 2) [49].



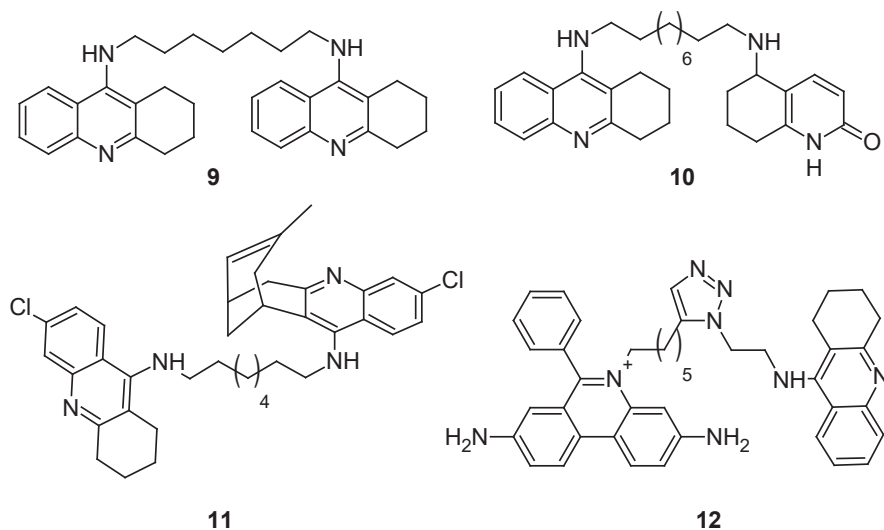
Rysunek 2. Inhibitory AChE: (-)-huperycyna A **6**, hupryna X **7** i jodek propidiowy **8**
 Figure 2. AChE inhibitors: (-)-huperzine A **6**, huprine X **7** and propidium iodide **8**

Jednym z pierwszych homodimerów, w którym jednostki takryny **2** zostały połączone łańcuchem heptametylenowym była bis(7)-takryna **9** (Rys. 3) [50]. Okazało się, że związek **9** jest 1000-krotnie lepszym inhibitorem acetylocholinoesterazy od takryny **2** [50], wpływa na poprawę funkcji pamięciowych [51], posiada znaczące działanie neuroprotektcyjne, dzięki oddziaływaniu z receptorem NMDA [52, 53] i syntazą tlenu azotu [54], oraz hamuje agregację β -amyloidu [55, 56]. Bis(7)-takrynę **9** można zatem zaliczyć do związków o wielokierunkowym działaniu. Strukturę homodimeru **9** modyfikowano w celu otrzymania lepszych inhibitorów AChE oraz analogów o szerszym spektrum działania biologicznego [56, 57].

W wyniku połączenia takryny **2** (Rys. 1) z fragmentem strukturalnym pochodzącym od (-)-huperycyny A **6** (Rys. 2) otrzymano heterodimer **10** (Rys. 3) [48], będący 25-krotnie lepszym inhibitorem AChE i 10-krotnie lepszym inhibitorem BuChE od takryny **2**. Heterodimer **11** (Rys. 3) zbudowany z takryny **2** i hupryny Y

(analogu hupryny **X 7**, w którym zamiast grupy etylowej w pozycji 9 jest podstawnik metylowy) okazał się efektywnym inhibitorem cholinoesteraz już w nanomolowym stężeniu [58].

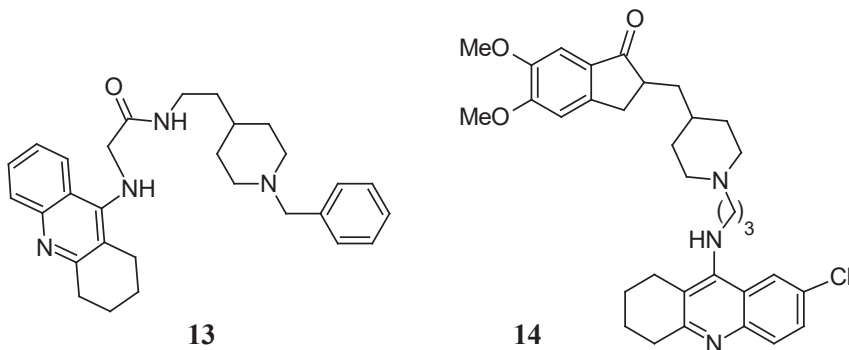
W roku 2002 Sharpless i współpracownicy [59] otrzymali w tzw. „click” reakcji jeden z najsilniejszych jak dotąd inhibitorów AChE ($K_d = 77$ fM). Heterodimer **12** (Rys. 3) składający się z jednostki takryny **2** i fragmentu propidiowego **8**, połączonych linkerem zbudowanym z pierścienia triazolowego wykazuje nie tylko spodziewane oddziaływanie z acetylocholinoesterazą monomerycznych fragmentów, występuje również trzecie oddziaływanie – wiązania wodorowe z pierścieniem triazolowym [60].



Rysunek 3. Homodimery i heterodimery zawierające ugrupowanie takryny

Figure 3. Homodimers and heterodimers of tacrine

W roku 2004 otrzymano rodzinę heterodimerów o strukturze **13** (Rys. 4), zbudowanych z jednostek takryny **2** i donepezilu **5**, o aktywności porównywalnej do donepezilu **5** [61]. Inne połączenie takryny **2** i donepezilu **5** zaproponował Camps i współpracownicy [62] otrzymując heterodimery o strukturze **14** (Rys. 4). Związki te wykazywały inhibicję AChE w stężeniach nanomolowych, a najlepszy z nich związek **14** – subnanomolowym, były bardzo dobrymi inhibitorami BuChE oraz hamowały agregację β -amyloidu indukowaną przez acetylocholinoesterazę.



Rysunek 4. Heterodimery takryny i donepezilu
Figure 4. Tacrine-donepezil heterodimers

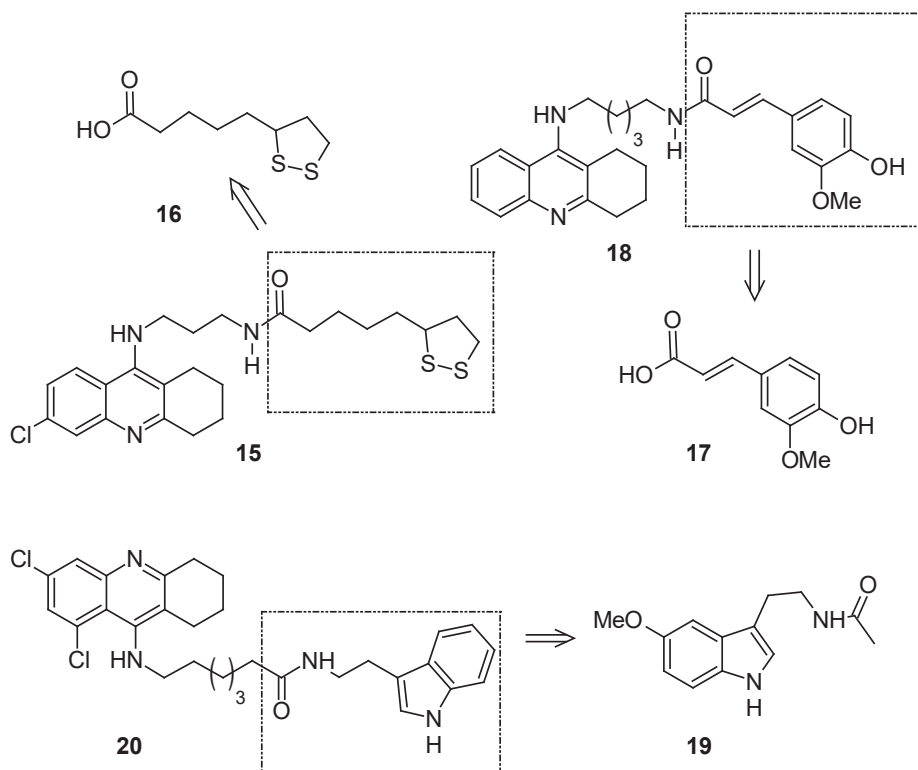
4. ZWIĄZKI O WIELOKIERUNKOWYM DZIAŁANIU

4.1. INHIBITORY CHOLINOESTERAZ O DZIAŁANIU ANTYOKSYDACYJNYM

Stres oksydacyjny to ważny czynnik sprzyjający chorobom neurodegeneracyjnym, wpływający na tworzenie hiperfosforylowanego białka tau oraz agregację β -amyloidu [63, 64]. Z wiekiem, który jest głównym czynnikiem ryzyka w chorobie Alzheimera, stężenie wolnych rodników odpowiedzialnych za neurodegenerację wzrasta [65]. Zatem, korzystną rolę w leczeniu AD może odgrywać stosowanie związków posiadających właściwości antyoksydacyjne [66].

Wychodząc z tego założenia, zaprojektowano wiele heterodimerów, łącząc inhibitory AChE ze związkami, które mają właściwości przeciwutleniające lub mogą zapobiegać tworzeniu wolnych rodników.

Lipokryna **15** (Rys. 5) - heterodimer takryny **2** i kwasu liponowego **16** (Rys. 5), przeciwutleniacza o działaniu neuroprotekcyjnym [67], okazał się bardzo dobrym inhibitorem AChE hamującym agregację β -amyloidu oraz posiadającym właściwości antyoksydacyjne [68].



Rysunek 5. Strategia syntezy „podwójnych” inhibitorów AChE o właściwościach antyoksydacyjnych na bazie struktury takryny **2** i znanych antyutleniaczy

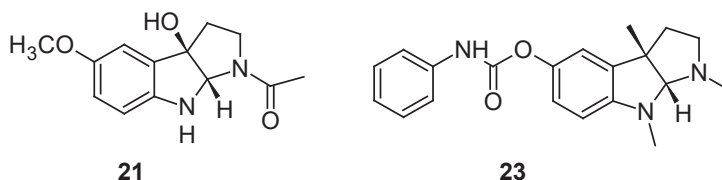
Figure 5. Design strategy leading to dual AChE inhibitors with antioxidant properties combining structure of tacrine **2** and known antioxidants

Kwas ferulowy **17** (Rys. 5), naturalnie występujący przeciwutleniacz o strukturze fenolu [69, 70], w połączeniu z takryną **1** tworzy heterodimer **18** (Rys. 5) [71], chroniący komórki mózgu przed szkodliwym wpływem β -amyloidu [72], zdolny do inhibicji AChE oraz pochłaniania reaktywnych form tlenu [71].

Takim pochłaniaczem wolnych rodników o ustalonym działaniu jest również wewnątrzpochodna melatonina **19** (*N*-acetylo-5-metoksytryptamina) (Rys. 5) [73, 74]. Koncepcję połączenia układów melatoniny **19** i tetrahydroakrydyny **2** wykorzystali w swych pracach Rodrigues-Franco i współpracownicy [75], opracowując heterodimery o strukturze **20** (Rys. 5). Związki te wykazują aktywność w kierunku inhibicji cholinoesteraz, a dodatkowo posiadają właściwości antyoksydacyjne i zapobiegają agregacji β -amyloidu, działają więc neuroprotekcynie [76].

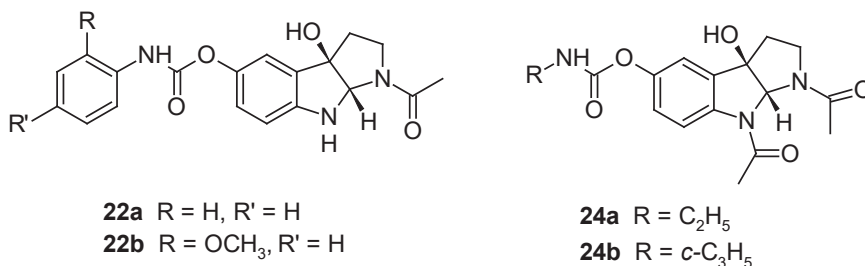
Bardzo silne właściwości antyoksydacyjne melatoniny **19** (Rys. 5) są również wynikiem zdolności do „zmiatania” wolnych rodników przez jej metabolity [77], wśród których jest cykliczna 3-hydroksymelatonina **21** (Rys. 6), produkt utleniania melatoniny **19** za pomocą tlenu singletowego. W naszych pierwszych pracach,

związanych z poszukiwaniem nowych inhibitorów cholinesteraz o potencjalnych właściwościach antyoksydacyjnych, otrzymaliśmy szereg fenylkarbaminianowych pochodnych cyklicznej 3-hydroksy melatoniny **22** [78] (Rys. 7). Związki te stały się obiektem naszego zainteresowania ze względu na ich strukturalne podobieństwo do znanych inhibitorów acetylocholinoesterazy, jakimi są fizostygmina **1** (Rys. 1) oraz jej fenylkarbaminianowy analog fenseryna **23** (Rys. 6) [79].



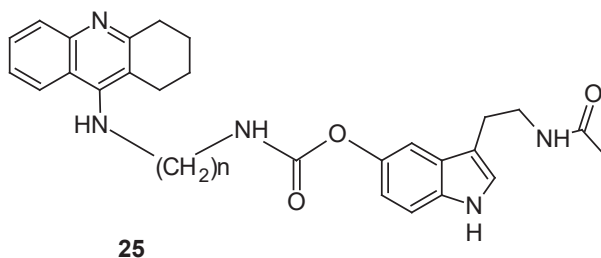
Rysunek 6. Struktura cyklicznej 3-hydroksy melatoniny **21** oraz fenseryny **23**
Figure 6. Structure of cyclic 3-hydroxymelatonin **21** and phenserine **23**

Na bazie struktury związku **21**, otrzymano także serię alkilkarbaminianowych analogów **24** [80] (Rys. 7). Najlepszymi inhibitorami acetylocholinoesterazy okazały się fenyl- i metoksy-fenylkarbaminianowe pochodne **22a** ($IC_{50} = 0,252 \mu M$) i **22b** ($IC_{50} = 3,804 \mu M$) [78], z kolei analogi alkilkarbaminianowe wykazały selektywność w kierunku inhibicji butyrylocholinoesterazy, na poziomie $0,468 \mu M$ (**24a**) i $0,166 \mu M$ (**24b**) [80].



Rysunek 7. Fenylkarbaminianowe **22** oraz alkilkarbaminianowe analogi **24** cyklicznej 3-hydroksy melatoniny
Figure 7. Phenylcarbamate **22** and alkylcarbamate analogs **24** of cyclic 3-hydroxy melatonin

Wykorzystując ideę podstawienia melatoniny **19** poprzez wiązanie karbaminianowe od strony atomu tlenu układu fenolowego oraz korzystając z koncepcji związków hybrydowych, otrzymaliśmy heterodimery takryny **2** i melatoniny **19** o strukturze **25** (Rys. 8) [81–84]. Związki te charakteryzują się zdecydowanie lepszą aktywnością biologiczną w kierunku hamowania cholinesteraz od dotychczas znanych pochodnych zawierających układ melatoniny **19** lub produktów utleniania melatoniny **21** [79, 80] oraz układy melatoniny **19** i tetrahydroakrydyny **2** połączone linkerem zawierającym wiązanie amidowe [75].

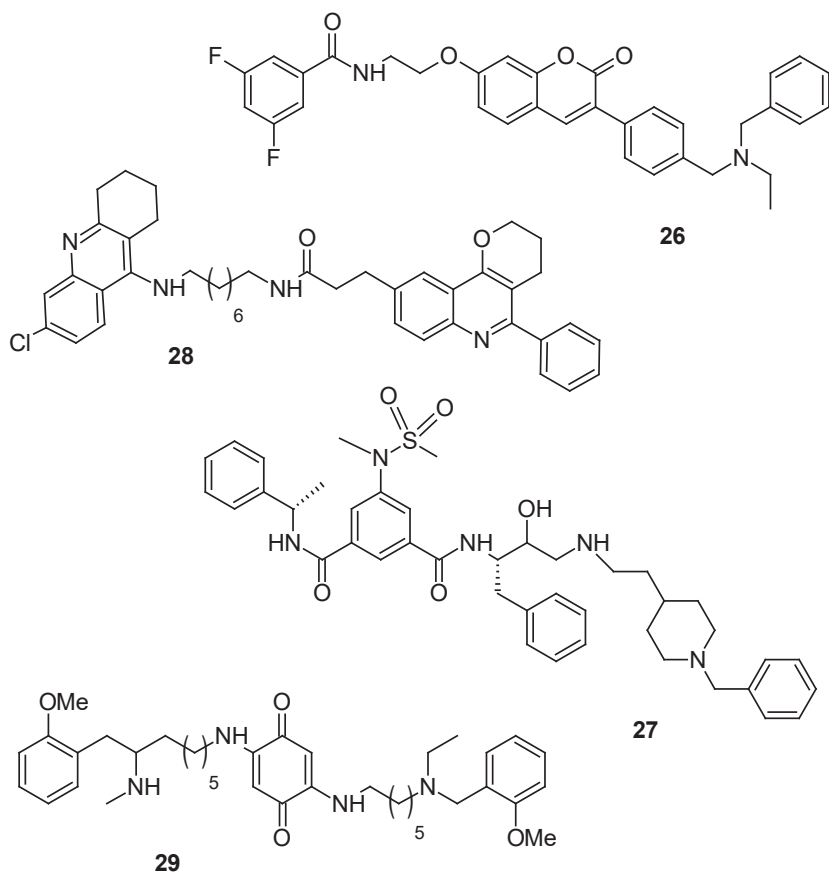


Rysunek 8. Karbaminianowe heterodimery melatoniny **19** i takryny **2**
Figure 8. Carbamate heterodimers of melatonin **19** and tacrine **2**

W przypadku inhibicji AChE wartość IC_{50} osiąga 1,18 nM, a dla najlepszego inhibitora BuChE 0,24 nM. Heterodimery te różnią się liczbą jednostek metylenowych w łańcuchu łączącym układy takryny **2** i melatoniny **19**, a optymalna liczba jednostek metylenowych wynosi od 7 do 12. Najlepszy inhibitor AChE ($n = 10$) jest lepszy od takryny 378 razy. Bardzo dobre wyniki inhibicji pozwalają przypuszczać, że związki te oddziałują jednocześnie z peryferyjnym i katalitycznym miejscem aktywnym acetylocholinoesterazy. Potencjalne właściwości antyoksydacyjne, hamowanie β -amyloidu czy też inne właściwości pozwalające na zakwalifikowanie otrzymanych przez nas pochodnych **25** (Rys. 8) do związków o wielokierunkowym działaniu, wymagają jednak dalszych badań i weryfikacji.

4.2. INHIBITORY CHOLINOESTERAZ I β -SEKRETAZY (BACE-1)

β -amyloid powstaje z białka prekursorowego APP, występującego we wszystkich komórkach ustroju. APP jest cięty przez enzymy β -sekretazę (BACE-1), a następnie γ -sekretazę, w rezultacie czego powstają włókienka $A\beta$, które następnie zmieniając swoją konformację z rozpuszczalnej α -helisy do nierozpuszczalnej β -kartki, tworzą nierozpuszczalne agregaty β -amyloidu [85]. Zgodnie z hipotezą amyloidową związki wpływające na zmniejszenie poziomu $A\beta$ mogą okazać się skutecznymi lekami w terapii choroby Alzheimer. W związku z tym poszukuje się związków ukierunkowanych na oddziaływanie zarówno z acetylocholinoesterazą jak i β -sekretażą, zgodnie ze strategią MTDLs, gdyż te dwa enzymy zaangażowane są w proces tworzenia i agregacji β -amyloidu.



Rysunek 9. Związki o wielokierunkowym działaniu – „podwójne” inhibitory AChE i inhibitory BACE-1
 Figure 9. Multitarget-directed ligands as dual inhibitors of AChE and BACE-1

Wspomniana już wcześniej bis(7)-takryna **9** (Rys. 3) redukuje ilość powstającego $A\beta$, poprzez inhibicję BACE-1 i aktywację α -sekretazy [56].

„Podwójnym” inhibitorem AChE i inhibitorem BACE-1 jest związek **26** (Rys. 9), otrzymany w roku 2008 [86] na bazie struktury otrzymanego wcześniej heterodimeru kumaryny i *N*-benzylaminy APP2238 [87] – inhibitora AChE hamującego agregację $A\beta$ oraz inhibitorów β -sekretazy zawierających fragment dihalogenofenylowy [88, 89]. Modyfikacja polegająca na zastąpieniu grup metoksyłowych kumaryny funkcją amidową w związku **26** pozwoliła otrzymać skuteczniejszy inhibitor BACE-1.

Tą samą metodologię zastosował Zhu i współpracownicy [90] projektując związek **27** (Rys. 9) na bazie fragmentu struktury donepezylu **5** i inhibitorów β -sekretazy z izoftalamidową grupą farmakoforową [91–93]. Związek **27** wykazuje dobrą inhibicję obu enzymów AChE i BACE-1, zdolność hamowania agregacji β -amyloidu

oraz posiada właściwości neuroprotektcyjne zmniejszając wpływ H_2O_2 na komórki PC12 [90].

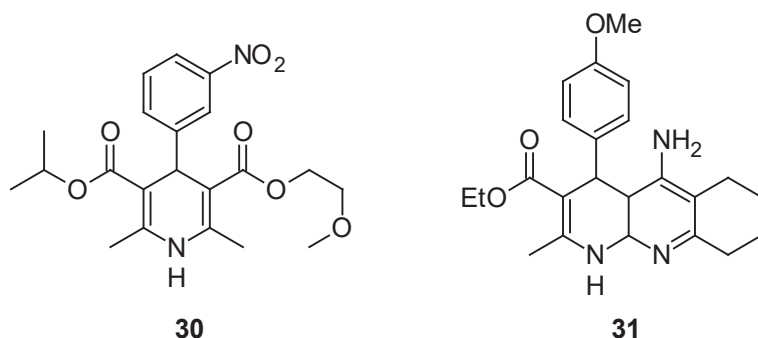
Przedstawicielem kolejnej grupy związków jest pochodna **28** (Rys. 9), która łączy 6-chlorotakrynę i zmodyfikowany tricykliczny układ strukturalnie podobny do jodku propidiiowego **8** (Rys. 2). Związki te przenikają barierę krew-mózg, są dobrymi inhibitorami AChE i umiarkowanymi inhibitorami β -sekratazy oraz hamują agregację $A\beta$ [94, 95].

Najbardziej obiecującym inhibitorem obu enzymów AChE i BACE-1 jest memoquina **29** (Rys. 9) otrzymana przez Cavalligo i współpracowników [96]. Struktura związku **29** jest wynikiem modyfikacji otrzymanych wcześniej pochodnych poliaminowych [68, 87, 97–99], będących dobrymi inhibitorami AChE, hamującymi agregację $A\beta$ a jej modyfikacja polega na wprowadzeniu fragmentu 1,4-benzochinonu w celu uzyskania właściwości przeciwutleniających [100].

4.3. INHIBITORY CHOLINOESTERAZ WPŁYWAJĄCE NA STĘŻENIE JONÓW WAPNIA

Istotną rolę w patogenezie choroby Alzheimera pełnią również jony Ca^{2+} [101–103]. Stężenie tych jonów w komórce jest regulowane przez pompy wapniowe, potasowe lub przez przyłączanie do białek. Ca^{2+} jest wtórnym przekaźnikiem sygnału działającym zarówno na błony komórkowe, jak i wewnątrz komórki. Transport Ca^{2+} odgrywa ważną rolę m.in. w apoptozie oraz w uszkodzeniach mózgu charakteryzujących się niedokrwieniem prowadzącym do śmierci komórek nerwowych [104]. Stabilizacja poziomu wapnia może mieć zatem istotne znaczenie w terapii choroby Alzheimera [105]. Przykładem związku o wielokierunkowym działaniu otrzymanym na bazie struktury takryny **2** i nimodypiny **30** [106] znanego blokera kanału wapniowego, jest takrypyryna **31** (Rys. 10) [107].

Związek **31** (Rys. 10) jest 4-krotnie silniejszym inhibitorem AChE niż takryna **2**, wchodzi w interakcję z PAS acetylocholinoesterazy, hamuje agregację $A\beta$ i blokuje sygnał wapniowy. Wielokierunkowość działania czyni więc takrypyrynę **31** (Rys. 10) interesującym kandydatem w poszukiwaniu skutecznego leku w terapii choroby Alzheimera.

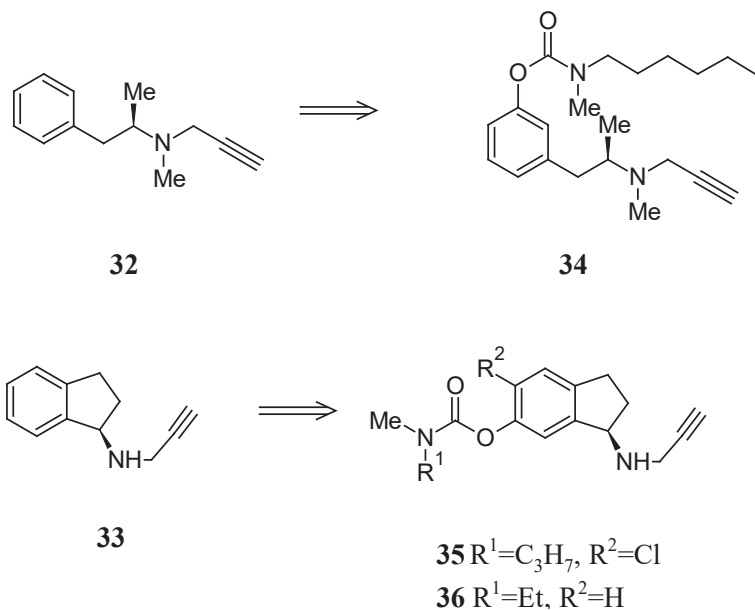


Rysunek 10. Nimodypina **30** (bloker kanału wapniowego) i takrypyryna **31** (związek o wielokierunkowym działaniu)

Figure 10. Nimodipine **30** displaying Ca^{2+} blocking activity and tacipryryne **31** (MTDL)

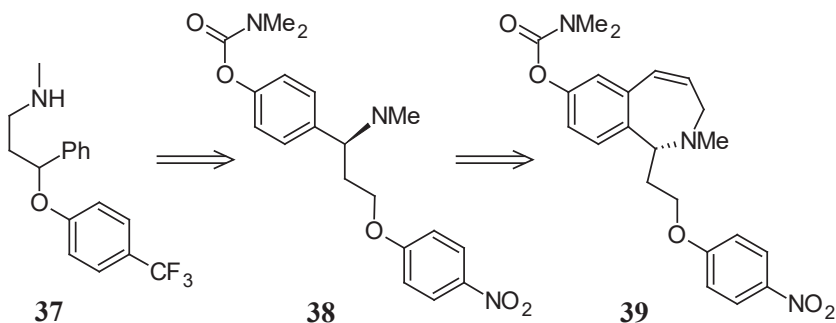
4.4. INHIBITORY CHOLINOESTERAZ DZIAŁAJĄCE NA INNE UKŁADY NEUROPRZEKAŹNIKOWE

Zaburzeniom w sferze poznawczej w chorobie Alzheimera towarzyszą również zaburzenia behawioralne i psychologiczne, które znacznie obniżają jakość życia chorych oraz ich rodzin i opiekunów [108]. Wzmoczona agresywność jest wynikiem zwiększonej wrażliwości układu adrenergicznego [109], z kolei obniżenie poziomu serotoniny w mózgu powoduje zarówno agresywność [110], jak i obniżenie nastroju oraz depresję [111]. Połączenie związków zwiększających aktywność biogennych amin z inhibitorami cholinoesteraz jest szansą na zwiększenie możliwości terapeutycznych potencjalnego leku. Za metabolizm neuroprzekaźników (dopaminy, noradrenaliny i serotoniny) odpowiada monoaminooksydaza (MAO), która katalizując reakcję deaminowania wytwarza nadtlenek wodoru H_2O_2 , mogący być źródłem stresu oksydacyjnego [112]. Inhibitory MAO mają zatem dodatkową zaletę – działanie neuroochronne. Dowiedziono również, że stosowanie nieselektywnych inhibitorów MAO oraz inhibitorów izoformy A monoaminooksydazy (MAO-A) powoduje działania niepożądane – występowanie tzw. reakcji serowej [113]. Na bazie struktury rywastygminy **3** (Rys. 1) oraz selegiliny **32** (Rys. 11) i rosagiliny **33** (Rys. 11) – selektywnych inhibitorów monoaminooksydazy B (MAO-B) otrzymano serię związków o wielokierunkowym działaniu – inhibitorów AChE/MAO, reprezentowanych przez pochodne **34–36** [114] (Rys. 11). Ladostigil **36**, poza inhibicją AChE i BuChE oraz monoaminooksydazy B (w mniejszym stopniu MAO-A), wykazuje działanie antydepresyjne i neuroochronne [115, 116].



Rysunek 11. Inhibitory monoaminoooksydazy (MAO) **32** i **33** oraz inhibitory AChE/MAO **34–36**
 Figure 11. Monoamineoxidase inhibitors **32** and **33**, and AChE/MAO inhibitors **34–36**

Depresję u pacjentów z AD, poza inhibitorami MAO, leczy się inhibitorami transportera serotoniny (SERT). W celu zwiększenia korzyści terapeutycznych, korzystne jest zatem połączenie aktywności hamowania SERT i AChE. Na bazie struktury fluoksetyny (Prozac) **37** – leku przeciwdepresyjnego oraz rywastygminy **3**, zaprojektowano i zsyntezowano związki **38** i **39** [117–119] (Rys. 12). Okazało się, że cykliczna pochodna **39** jest zdecydowanie lepszym inhibitorem transportera serotoniny i acetylocholinoesterazy niż związek **38**, a aktywność związku **39** potwierdzono również w testach *in vivo* [120].



Rysunek 12. Fluoksetyna **37** (inhibitor SERT) oraz inhibitory AChE/SERT **38** i **39**
 Figure 12. Fluoxetine **37** (SERT inhibitor) and AChE/SERT inhibitors **38** and **39**

PODSUMOWANIE

Poszukiwanie skutecznych leków w terapii choroby Alzheimera jest ogromnym wyzwaniem dla współczesnej nauki. Poznanie mechanizmów leżących u podstaw procesów neurodegeneracyjnych nadal ma charakter hipotetyczny. Stosowane w terapii inhibitory cholinioesteraz łagodzą objawy AD, poprawiają tymczasowo jakość życia pacjentów, nie są jednak w stanie powstrzymać procesów, które są kluczowe dla rozwoju i patologii AD. Liczne prace opublikowane w ostatnich latach opisują projektowanie i syntezę ligandów o wielokierunkowym działaniu, uzyskanych przez włączenie lub dołączenie dodatkowych farmakoforów do struktury znanych inhibitorów cholinioesteraz.

W niniejszym przeglądzie przedstawione zostały wybrane przykłady inhibitorów cholinioesteraz będących zarówno inhibitorami β -sekreazy, czy inhibitorami agregacji β -amyloidu. Wymienione są również AChEIs o działaniu antyoksydacyjnym czy wpływające na kanały wapniowe lub inne układy neuroprzekaznikowe. Brak skutecznej terapii AD sprawia, że koncepcja związków hybrydowych i związków o wielokierunkowym działaniu nadal jest bardzo atrakcyjna.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] A. Alzheimer, R. A. Stelzmann, H.N. Schnitzlein, F.R. Murtagh, *Clinical Anat.*, 1995, **8**, 429.
- [2] M. Prince, E. Albanese, M. Guerchet, M. Prina, *World Alzheimer Report 2014, Alzheimer's Disease International (ADI)*, Londyn, 2014.
- [3] R. Mayeux, Y. Stern, *Cold Spring Harb Perspect. Med.*, 2012, **2**, a006239.
- [4] A. Castro, A. Martinez, *Curr. Pharm. Des.*, 2006, **12**, 4377.
- [5] A.C. Alons, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *Nat. Med.*, 1996, **2**, 783.
- [6] A. Mudher, S. Lovestone, *Trends in Neurosciences*, 2002, **25**, 22.
- [7] J.K. Andersen, *Nat. Med.*, 2004, **10**, S18.
- [8] J.L. Cummings, *Rev. Neurol. Dis.*, 2004, **1**, 60.
- [9] P.T. Francis, A.M. Palmer, M. Snape, G.K. Wilcock, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1999, **66**, 137.
- [10] C.G. Parsons, A. Stoffler, W. Danysz, *Neuropharmacology*, 2007, **53**, 699.
- [11] C.G. Parsons, W. Danysz, G. Quack, *Neuropharmacology*, 1999, **38**, 735.
- [12] A. Cavalli, M.L. Bolognesi, A. Minarini, M. Rosini, V. Tumiatti, M. Recanatini, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 347.
- [13] J. Hardy, D.J. Selkoe, *Science*, 2002, **297**, 353.
- [14] C. Venugopal, C.M. Demos, K.S. Rao, M.A. Pappolla, K. Sambamurti, *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, 2008, **7**, 278.
- [15] F. Hernandez, E. Gomez de Barreda, A. Fuster-Matanzo, J.J. Lucas, J. Avila, *Exp. Neurol.*, 2010, **223**, 322.
- [16] M.J. Berridge, *Neurochem Res* 2011, **36**, 1149.
- [17] D. Di Bona, G. Scapagnini, G. Candore, L. Castiglia, G. Colonna-Romano, G. Duro, D. Nuzzo, F. Iemolo, D. Lio, M. Pellicano, V. Scafidi, C. Caruso, S. Vasto, *Curr. Pharm. Des.*, 2010, **16**, 684.
- [18] B.J. Everitt, T.W. Robbins, *Annu. Rev. Psychol.*, 1997, **48**, 649.
- [19] M.E. Hasselmo, *Trends Cogn. Sci.*, 1999, **3**, 351.
- [20] E. Perry, M. Walker, J. Grace, R. Perry, *Trends Neurosci.*, 1999, **22**, 273.

- [21] P.J. Whitehouse, D.L. Price, R.G. Struble, A.W. Clark, J.T. Coyle, M.R. Delon, *Science*, 1982, **215**, 1237.
- [22] E.K. Perry, B.E. Tomlinson, G. Blessed, K. Bergmann, P.H. Gibson, R.H. Perry, *Br. Med. J.*, 1978, **2**, 1457.
- [23] J.J. Buccafusco, A.V. Terry Jr., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2000, **295**, 438.
- [24] N.H. Greig, T. Utsuki, Q.S. Yu, *Curr. Med. Res. Opin.*, 2001, **17**, 159.
- [25] A.L. Guillozet, J.F. Smiley, D.C. Mash, M.M. Mesulam, *Ann. Neurol.*, 1997, **42**, 909.
- [26] J. Vetulani, *Roczn. Psychogeriatr.*, 2003, **6**, 1.
- [27] S. Bellantonio, G.A. Kuchel, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002, **23**, 192.
- [28] R.J. Harvey, S. Eagger, *Rev. Contemp. Pharmacother.*, 1995, **6**, 335.
- [29] J.M. Knapp, D.S. Knopman, P.R. Solomon, W.W. Pendlebury, C.S. Davis, S.I. Gracon, *JAMA*, 1994, **271**, 985.
- [30] M.W. Fariss, V.R. Mumaw, L.P. Walton, *Toxicol. In Vitro*, 1996, **10**, 383.
- [31] R.J. Polinsky, *Clin. Ther.*, 1998, **20**, 634.
- [32] L.J. Scott, K.L. Goa, *Drugs*, 2000, **60**, 1095.
- [33] H.M. Bryson, P. Benfield, Donepezil. *Drugs Aging.*, 1997, **10**, 234.
- [34] A. Nordberg, A.L. Svensson, *Drug. Saf.*, 1998, **19**, 465.
- [35] S.M. Stahl, *J. Clin. Psychiat.*, 2000, **61**, 710.
- [36] N.C. Inestrosa, A. Alvarez, F. Calderon, *Mol. Psychiatry*, 1996, **1**, 359.
- [37] M. Hoshi, A. Takashima, M. Murayama, K. Yasutake, N. Yoshida, K. Ishiguro, T. Hoshino, K. Imahori, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**, 2038.
- [38] D.J. Selkoe, *Nature*, 1999, **399**, A23.
- [39] G.V. De Ferrari, M.A. Canales, I. Shin, L.M. Weiner, I. Silman, N.C. Inestrosa, *Biochemistry*, 2001, **40**, 10447.
- [40] M. Bartolini, C. Bertucci, V. Cavrini, V. Andrisano, *Biochem. Pharmacol.*, 2003, **65**, 407.
- [41] J.L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science*, 1991, **253**, 872.
- [42] G. Kryger, I. Silman, J.L. Sussman, *Structure*, 1999, **7**, 297.
- [43] H.M. Greenblatt, I. Sillman, J.L. Sussman, *Drug. Dev. Res.*, 2000, **50**, 573.
- [44] D. Munoz-Torrero, P. Camps, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 399.
- [45] Y.P. Pang, F. Hong, P. Quiram, T. Jelacic, S. Brimijoin, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1997, 171.
- [46] L. Nilsson, A. Nordberg, J. Hardy, P. Wester, B. Winblad, *J. Neural. Transm.*, 1986, **67**, 275.
- [47] X.C. Tang, P. De Sarno, K. Sugaya, E. Giacobini, *J. Neurosci. Res.* 1989, **24**, 276.
- [48] P. Camps, B. Cusack, W.D. Mallender, R.E. El Achab, J. Morral, D. Munoz-Torrero, T.L. Rosenberry, *Mol. Pharmacol.*, 2000, **57**, 409.
- [49] A. Cavalli, G. Bottegoni, C. Raco, M. De Vivo, M. Recanatini, *J. Med. Chem.*, 2004, **47**, 3991.
- [50] Y.P. Pang, P. Quiram, T. Jelacic, F. Hong, S. Brimijoin, *J. Biol. Chem.*, 1996, **271**, 23646.
- [51] J. Liu, W. Ho, N.T. Lee, P.R. Carlier, Y. Pang, Y. Han, *Neurosci. Lett.*, 2000, **282**, 165.
- [52] W. Li, R. Pi, H.H. Chan, H. Fu, N.T. Lee, H.W. Tsang, Y. Pu, D.C. Chang, C. Li, J. Luo, K. Xiong, Z. Li, H. Xue, P.R. Carlier, Y. Pang, K.W. Tsim, M. Li, Y. Han, *J. Biol. Chem.*, 2005, **280**, 18179.
- [53] H. Fu, W. Li, Y. Lao, J. Luo, N.T. Lee, K.K. Kan, H.W. Tsang, K.W. Tsim, Y. Pang, Z. Li, D.C. Chang, M. Li, Y. Han, *J. Neurochem.*, 2006, **98**, 1400.
- [54] X.Q. Xiao, N.T. Lee, P.R. Carlier, Y. Pang, Y.F. Han, *Neurosci. Lett.*, 2000, **290**, 197.
- [55] M.L. Bolognesi, A. Cavalli, L. Valgimigli, M. Bartolini, M. Rosini, V. Andrisano, M. Recanatini, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 6446.
- [56] H. Fu, W. Li, J. Luo, N.T. Lee, M. Li, K.W. Tsim, Y. Pang, M.B. Youdim, Y. Han, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008, **366**, 631.

- [57] M.L. Bolognesi, M. Bartolini, F. Mancini, G. Chiriano, L. Ceccarini, M. Rosini, A. Milelli, V. Tumiatti, V. Andrisano, C. Melchiorre, *Chem. Med. Chem.* 2010, **5**, 1215.
- [58] P. Camps, X. Formosa, D. Munoz-Torrero, J. Petrignet, A. Badia, M.V. Clos, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 1701.
- [59] W.G. Lewis, L.G. Green, F. Grynszpan, Z. Radic, P.R. Carlier, P. Taylor, M.G. Finn, K.B. Sharpless, *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 2002, **41**, 1053.
- [60] R. Manetsch, A. Krasinski, Z. Radic, J. Raushel, P. Taylor, K.B. Sharpless, H.C. Kolb, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 12809.
- [61] D. Shao, C. Zou, C. Luo, X. Tang, Y. Li, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, **14**, 4639.
- [62] P. Camps, X. Formosa, C. Galdeano, T. Gomez, D. Munoz-Torrero, M. Scarpellini, E. Viayna, A. Badia, M.V. Clos, A. Camins, M. Pallas, M. Bartolini, F. Mancini, V. Andrisano, J. Estelrich, M. Lizondo, A. Bidon-Chanal, F.J. Luque, *J. Med. Chem.*, 2008, **51**, 3588.
- [63] A. Gella, N. Durany, *Cell Adh. Migr.*, 2009, **3**, 88.
- [64] H.P. Lee, X. Zhu, G. Casadesus, R.J. Castellani, A. Nunomura, M.A. Smith, H.G. Lee, G. Perry, *Expert Rev. Neurother.*, 2010, **10**, 1201.
- [65] G. Perry, A. Nunomura, K. Hirai, X. Zhu, M. Perez, J. Avila, R.J. Castellani, C.S. Atwood, G. Aliev, L.M. Sayre, A. Takeda, M.A. Smith, *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, **33**, 1475.
- [66] R.A. Floyd, K. Hensley, *Neurobiol. Aging*, 2002, **23**, 795.
- [67] L. Holmquist, G. Stuchbury, K. Berbaum, S. Muscat, S. Young, K. Hager, J. Engel, G. Munch, *Pharmacol. Ther.*, 2007, **113**, 154.
- [68] M. Rosini, V. Andrisano, M. Bartolini, M.L. Bolognesi, P. Hrelia, A. Minarini, A. Tarozzi, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 360.
- [69] J. Heilmann, I. Calis, H. Kirmizibekmez, W. Schuhly, S. Harput, O. Sticher, *Planta Med.*, 2000, **66**, 746.
- [70] S. Trombino, S. Serini, F. Di Nicuolo, L. Celleno, S. Ando, N. Picci, G. Calviello, P. Palozza, *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2411.
- [71] L. Fang, B. Kraus, J. Lehmann, J. Heilmann, Y. Zhang, M. Decker, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 2905.
- [72] J.J. Yan, J.Y. Cho, H.S. Kim, K.L. Kim, J.S. Jung, S.O. Huh, H.W. Suh, Y.H. Kim, D.K. Song, *Br. J. Pharmacol.*, 2001, **133**, 89.
- [73] R.J. Reiter, D.X. Tan, J.C. Mayo, R.M. Sainz, J. Leon, Z. Czarnocki, *Acta Biochimica Polonica*, 2003, **50**, 1129.
- [74] R.J. Reiter, *Prog. Neurobiol.*, 1998, **56**, 359.
- [75] M.I. Rodriguez-Franco, M.I. Fernandez-Bachiller, C. Perez, B. Hernandez-Ledesma, B. Bartolome, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 459.
- [76] M.I. Fernandez-Bachiller, C. Perez, N.E. Campillo, J.A. Paez, G.C. Gonzalez-Munoz, P. Usan, E. Garcia-Palomero, M.G. Lopez, M. Villarroya, A.G. Garcia, A. Martinez, M.I. Rodriguez-Franco, *Chem. Med. Chem.*, 2009, **4**, 828.
- [77] R.J. Reiter, D.X. Tan, M. Pilar Terron, L.J. Flores, Z. Czarnocki, *Acta Biochimica Polonica*, 2007, **54**, 1.
- [78] A. Siwicka, Z. Mołęda, K. Wojtasiewicz, A. Zawadzka, J.K. Maurin, M. Panasiewicz, T. Pacuszka, Z. Czarnocki, *J. Pineal Res.*, 2008, **45**, 40.
- [79] N.H. Greig, X-F. Pei, T.T. Soncrant, D.K. Ingram, N.W. Shock, A. Brossi, *Med. Res. Rev.*, 1995, **15**, 3.
- [80] Z. Mołęda, K. Wojtasiewicz, M. Panasiewicz, Z. Czarnocki, *J. Pineal Res.*, 2010, **49**, 55.
- [81] A. Zawadzka, I. Łozińska, Z. Mołęda, M. Panasiewicz, Z. Czarnocki, *J. Pineal Res.*, 2013, **54**, 435.
- [82] A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Mołęda, M. Panasiewicz, US Patent No.: 8,841,453 B2; Sep. 23, 2014.

- [83] A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz, EP No.: 2 714 658 B1; Apr. 29, 2015.
- [84] A. Zawadzka, Z. Czarnocki, I. Łozińska, Z. Molęda, M. Panasiewicz, PL Patent Nr: 219106 B1; 31.03.2015.
- [85] J. Lundkvist, J. Naslund, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2007, **7**, 112.
- [86] L. Piazzzi, A. Cavalli, F. Colizzi, F. Belluti, M. Bartolini, F. Mancini, M. Recanatini, V. Andrisano, A. Rampa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 423.
- [87] L. Piazzzi, A. Rampa, A. Bisi, S. Gobbi, F. Belluti, A. Cavalli, M. Bartolini, V. Andrisano, P. Valenti, M. Recanatini, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 2279.
- [88] T. Guo, D.W. Hobbs, *Curr. Med. Chem.*, 2006, **13**, 1811.
- [89] L. Piazzzi, A. Cavalli, F. Belluti, A. Bisi, S. Gobbi, S. Rizzo, M. Bartolini, V. Andrisano, M. Recanatini, A. Rampa, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 4250.
- [90] Y. Zhu, K. Xiao, L. Ma, B. Xiong, Y. Fu, H. Yu, W. Wang, X. Wang, D. Hu, H. Peng, J. Li, Q. Gong, Q. Chai, X. Tang, H. Zhang, J. Li, J. Shen, *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, **17**, 1600.
- [91] J.N. Cumming, T.X. Le, S. Babu, C. Carroll, X. Chen, L. Favreau, P. Gaspari, T. Guo, D.W. Hobbs, Y. Huang, U. Iserloh, M.E. Kennedy, R. Kuvelkar, G. Li, J. Lowrie, N.A. McHugh, L. Ozgur, J. Pan, E.M. Parker, K. Saionz, A.W. Stamford, C. Strickland, D. Tadesse, J. Voigt, L. Wang, Y. Wu, L. Zhang, Q. Zhang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 3236.
- [92] W. Yang, W. Lu, Y. Lu, M. Zhong, J. Sun, A.E. Thomas, J.M. Wilkinson, R.V. Fucini, M. Lam, M. Randal, X.P. Shi, J.W. Jacobs, R.S. McDowell, E.M. Gordon, M.D. Ballinger, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 839.
- [93] A.K. Ghosh, N. Kumaragurubaran, L. Hong, S. Kulkarni, X. Xu, H.B. Miller, D.S. Reddy, V. Weerasena, R. Turner, W. Chang, G. Koelsch, J. Tang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2008, **18**, 1031.
- [94] P. Camps, X. Formosa, C. Galdeano, D. Munoz-Torrero, L. Ramirez, E. Gomez, N. Isambert, R. Lavilla, A. Badia, M.V. Clos, M. Bartolini, F. Mancini, V. Andrisano, M.P. Arce, M. Rodriguez-Franco, O. Huertas, T. Dafni, F.J. Luque, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 5365.
- [95] P. Camps, X. Formosa, C. Galdeano, T. Gomez, D. Munoz-Torrero, L. Ramirez, E. Viayna, E. Gomez, N. Isambert, R. Lavilla, A. Badia, M.V. Clos, M. Bartolini, F. Mancini, V. Andrisano, A. Bidon-Chanal, O. Huertas, T. Dafni, F.J. Luque, *Chem. Biol. Interact.*, 2010, **187**, 411.
- [96] A. Cavalli, M.L. Bolognesi, S. Capsoni, V. Andrisano, M. Bartolini, E. Margotti, A. Cattaneo, M. Recanatini, C. Melchiorre, *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 2007, **46**, 3689.
- [97] C. Melchiorre, V. Andrisano, M.L. Bolognesi, R. Budriesi, A. Cavalli, V. Cavrini, M. Rosini, V. Tumiatti, M. Recanatini, *J. Med. Chem.*, 1998, **41**, 4186.
- [98] M.L. Bolognesi, V. Andrisano, M. Bartolini, R. Banzi, C. Melchiorre, *J. Med. Chem.*, 2005, **48**, 24.
- [99] M.L. Bolognesi, A. Minarini, V. Tumiatti, C. Melchiorre, *Mini Rev. Med. Chem.*, 2006, **6**, 1269.
- [100] M.L. Bolognesi, A. Cavalli, C. Melchiorre, *Neurotherapeutics*, 2009, **6**, 152.
- [101] C. Holscher, *Neurobiol. Dis.*, 1998, **5**, 129.
- [102] T. Yagami, H. Kohma, Y. Yamamoto, *Curr. Med. Chem.*, 2012, **19**, 4816.
- [103] D.H. Small, *Neurochem. Res.*, 2009, **34**, 1824.
- [104] D. Ripova, V. Platilova, A. Struneka, R. Jirak, C. Hoschl, *Neurobiol. Aging*, 2000, **5**, 729.
- [105] A. Demuro, I. Parker, G.E. Stutzmann, *J. Biol. Chem.*, 2010, **285**, 112463.
- [106] R. Towart, S. Kazda, *Br. J. Pharmacol.*, 1979, **67**, 409P.
- [107] J. Marco-Contelles, R. Leon, C. de los Rios, A. Samadi, M. Bartolini, V. Andrisano, O. Huertas, X. Barril, F.J. Luque, M.I. Rodriguez-Franco, B. Lopez, M.G. Lopez, A.G. Garcia, C. Carreiras Mdo, M. Villarroya, *J. Med. Chem.*, 2009, **52**, 2724.
- [108] F. Leblhuber, *Acta Med. Aust.*, 1994, **21**, 104.
- [109] M.A. Raskind, *J. Clin. Psychiat.*, 1999, **60**, 45.

- [110] E.F. Coccaro, L.J. Sievier, *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2002, str. 1709.
- [111] A.F. Schatzberg, S.J. Garlow, C.B. Nemeroff, *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2002, str. 11039.
- [112] G. Alper, F.K. Girgin, M. Ozgonul, G. Menten, B. Ersoz, *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1999, 9, 247.
- [113] R. Tabakman, S. Lecht, P. Lazarovici, *BioEssays*, 2003, **26**, 8090.
- [114] J. Sterling, Y. Herzig, T. Goren, N. Finkelstein, D. Lerner, W. Goldenberg, I. Miskolczi, S. Molnar, F. Rantal, T. Tamas, G. Toth, A. Zagyva, A. Zekany, J. Finberg, G. Lavian, A. Gross, R. Friedman, M. Razin, W. Huang, B. Kraiss, M. Chorev, M.B. Youdim, M. Weinstock, *J. Med. Chem.*, 2002, **45**, 5260.
- [115] M.B. Youdim, T. Amit, O. Bar-Am, O. Weinreb, M. Yogev-Falach, *Neurotoxic. Res.*, 2006, **10**, 181.
- [116] M.B. Youdim, *Exp. Neurobiol.*, 2013, **22**, 1.
- [117] H. Kogen, N. Toda, K. Tago, S. Marumoto, K. Takami, M. Ori, N. Yamada, K. Koyama, S. Naruto, K. Abe, R. Yamazaki, T. Hara, A. Aoyagi, Y. Abe, T. Kaneko, *Org. Lett.*, 2002, **4**, 3359.
- [118] N. Toda, K. Tago, S. Marumoto, K. Takami, M. Ori, N. Yamada, K. Koyama, S. Naruto, K. Abe, R. Yamazaki, T. Hara, A. Aoyagi, Y. Abe, T. Kaneko, H. Kogen, *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, **11**, 1935.
- [119] N. Toda, K. Tago, S. Marumoto, K. Takami, M. Ori, N. Yamada, K. Koyama, S. Naruto, K. Abe, R. Yamazaki, T. Hara, A. Aoyagi, Y. Abe, T. Kaneko, H. Kogen, *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, **11**, 4389.
- [120] Y. Abe, A. Aoyagi, T. Hara, K. Abe, R. Yamazaki, Y. Kumagai, S. Naruto, K. Koyama, S. Marumoto, K. Tago, N. Toda, K. Takami, N. Yamada, M. Ori, H. Kogen, T. Kaneko, *J. Pharmacol. Sci.*, 2003, **93**, 95.

Praca wpłynęła do Redakcji 24 czerwca 2015