

NÁVRH ŠTRUKTÚRY, SYNTÉZA A BIOLOGICKÁ AKTIVITA NOVÝCH KARBAMÁTOVÝCH INHIBÍTOROV CHOLÍNESTERÁZ

LUCIA UNGVARSKÁ MALUČKÁ^{a,b} a JOZEF CSÖLLEI^b

^a Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra chémie, biochémie a biofyziky, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, ^b Masarykova univerzita, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických liečiv, Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno, Česká republika

Lucia.Ungvarska.Malucka@uvlf.sk

Došlo 10.6.21, prepracované 28.3.22, prijaté 1.4.22.

Kľúčové slová: acetylcholinesteráza, butyrylcholinesteráza, syntéza, nové inhibitory, karbamátové deriváty, multifunkčne zamerané látky

• <https://doi.org/10.54779/chl20220372>

Obsah

1. Alzheimerova choroba
2. Syntéza nových karbamátových inhibítorov cholinesteráz
 - 2.1. Inhibitory acetylcholin/butyrylcholinesterázy
 - 2.2. Multifunkčne zamerané látky ako novodobé liečivá
 - 2.2.1. Rivastigminové hybridy
 - 2.2.2. Iné hybridné zlúčeniny
3. Záver

1. Alzheimerova choroba

Podľa najnovšej správy Svetovej zdravotníckej organizácie s názvom „Demencia – priorita verejného zdravia“ sa odhadovaný počet ľudí na celom svete, ktorí trpia demenciou, zvýšil na 36 miliónov a predpokladá sa, že každých 20 rokov sa toto množstvo takmer zdvojnásobí¹. Zo všetkých foriem demencie tvorí približne 60–70 % prípadov Alzheimerova choroba (ACH). ACH je neurodegeneratívne ochorenie, ktoré sa prejavuje progresívnou stratou pamäti a kognitívnych funkcií a ktoré môže viesť k invalidite a smrti. U pacientov s ACH je prítomná kortikálna atrofia, pričom dochádza k poklesu počtu neurónov hlavne v temporálnych a parietálnych lalokoch. Hlavnou neuropatologickou črtou ACH je prítomnosť neurofibrilárnych kĺbek a senilných plakov obsahujúcich β -amyloid. Komplexná diagnostika ACH je zložitá a vyžaduje použitie

mnohých klinických a pomocných vyšetrení. Najskôr je dôležité zhodnotiť pamäť a ďalšie kognitívne funkcie pacienta pomocou krátkych či komplexných neuropsychologických testov. Ako sa uvádza v práci Fialová spol.², pri diagnostike ACH sa využíva metóda, ktorá sleduje triplet biomarkerov v mozgovomiešnom moku: β -amyloid 42 (A β 42), celkový tau proteín (t-tau) a fosforylovaný tau proteín (p-tau). Zmeny koncentrácie tripletu proteínov v extracelulárnej tekutine sa prejavujú aj v rôznych biologických tekutinách, v ktorých sa bežne vykonávajú laboratórne vyšetrenie. Obvykle sú biomarkery ACH stanovované v mozgovomiešnom moku a perspektívne sa zdá byť vyšetrenie aj z krvi, no opísané sú stanovenia aj z moču. Táto diagnostická metóda dokáže významne diferencovať kognitívne zdravé osoby od pacientov nielen s rozvinutou ACH, ale aj s miernou kognitívnou poruchou a poskytuje aj prognostickú informáciu².

Neuropatologické lézie môžu byť pozorované hlavne v mozgových oblastiach súvisiacich s pamäťou a učením. Zistenie, že tieto lézie ovplyvňujú hlavne cholinergný systém (ovplyvňuje funkcie vegetatívneho nervového systému; funkcie motorické, ale aj chovanie jedinca, pamäť a psychické funkcie) viedlo k hypotéze, podľa ktorej môže inhibícia degradácie neurotransmitera acetylcholínu spomaliť progresiu ACH. Za hydrolyzu acetylcholínu sú zodpovedné dva enzýmy: acetylcholinesteráza (AcChE) a butyrylcholinesteráza (BuChE). Pretože AcChE v centrálnom nervovom systéme bola pôvodne definovaná ako hlavný, zodpovedný enzým, považovala sa za jediný „cholinergný cieľ“ pri hľadaní nových liečiv pri terapii ACH. Najnovšie štúdie naznačujú, že AcChE aj BuChE sa podieľajú na regulácii bunkovej proliferácie a rastu neuritov počas vývoja centrálnej nervovej sústavy, a že BuChE môže zohrávať taktiež dôležitú úlohu v cholinergnej neurotransmisii^{1,3}. Napriek rôznym teóriám v rámci patogenézy ACH, je zvýšenie cholinergného prenosu stále hlavným prístupom pri liečbe ACH a inhibitory AcChE sú stále hlavným liekom farmakoterapie ACH. V súčasnej dobe je známa iba symptomatická liečba ACH, ktorá je zameraná hlavne na zlepšenie kognitívnych a pamäťových funkcií^{4,5}.

Klinicky sa používajú liečivá ako donepezil, rivastigmin a galantamín, zatiaľ čo takrín sa používa iba na výskum kvôli jeho hepatotoxicite. Inhibitory cholinesteráz odďaľujú progresiu symptómov ACH, zlepšujú denné aktivity i neuropsychiatrické symptómy^{6–8}. Donepezil a galantamín vykazujú relatívnu selektivitu voči acetylcholinesteráze, zatiaľ čo takrín a rivastigmin inhibujú aj butyrylcholinesterázu⁹. Závažnosť vedľajších účinkov spojených s vysokými dávkami napr. fyzostigminu podnietila snahu k hľadaniu ďalších inhibítorov cholinesteráz, ktoré sú bezpečnejšie a lepšie tolerované. Ako vhodní kandidáti sa ukázali zlúčeniny, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú

karbamátovú funkčnú skupinu. Príkladom takýchto liečiv sú rivastigmín a experimentálne liečivo fenserín¹⁰.

Z tohto dôvodu je potrebné sa zamerať na syntézu nových liečiv na báze karbamátov, u ktorých by sa predpokladal vyšší inhibičný potenciál voči cholinesterázam a nové syntetické liečivá by tak mohli byť použité v terapii neurodegeneratívnych ochorení. Najnovšie výskumy ukazujú, že inhibitory cholinesteráz na báze karbamátových liečiv, resp. proliečiv zohrávajú dôležitú úlohu v terapii ACH, ale našli si uplatnenie aj pri terapii iných ochorení (napr. bambuterol – terapia astmy).

2. Syntéza nových karbamátových inhibítorov cholinesteráz

Inhibícia AcChE, resp. BuChE karbamátmi je založená na karbamoylácii serínu (Ser128 v BuChE) v katalytickom mieste enzýmu. Vysoká stabilita karbamátovej funkčnej skupiny v porovnaní s esterovou funkčnou skupinou zabezpečuje dostatočnú inhibíciu AcChE a BuChE. Nekarbamátová časť molekuly liečiva rozhoduje o selektivitě a môže zvyšovať účinnosť prostredníctvom nevážbových interakcií v aktívnom centre enzýmu^{11,12}.

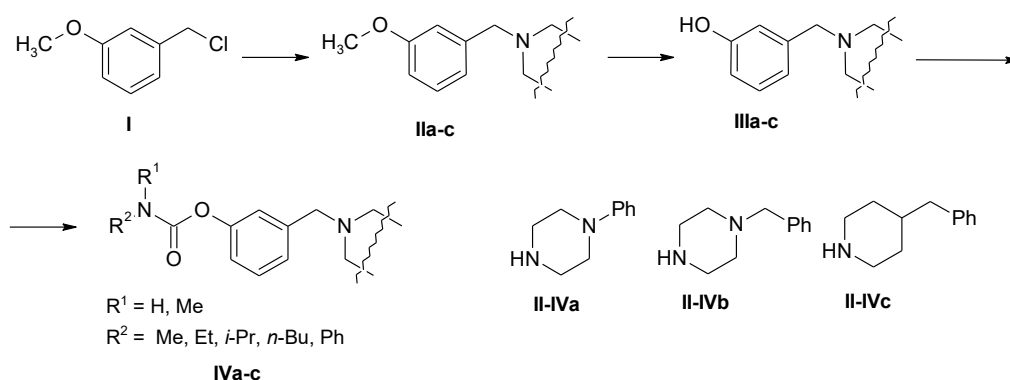
V súčasnosti sú dizajn a syntéza liečiv v rámci terapie ACH zamerané na prípravu takých zlúčenín, ktoré by ovplyvňovali niekoľko biologických systémov súčasne¹³. Pomocou tohto prístupu sa dva a viac farmakofórov kombinuje, spája v rámci jednej molekuly, pričom nová molekula, ako potenciálne liečivo, by mala mať vlastnosti, ktoré sú charakteristické pre oba východiskové farmakofóry. Tieto nové multipotentné zlúčeniny sa označujú ako „multi-target-directed ligands“ (MTDL)^{14,15}. Vo väčšine prípadov syntézy takýchto liečiv pre terapiu ACH je jedným z farmakofórov inhibítor cholinesterázy. Úspešnosť MTDL stratégie však stále potrebuje svoje potvrdenie v rámci klinického testovania.

2.1. Inhibitory acetylcholin/butyrylcholinesterázy

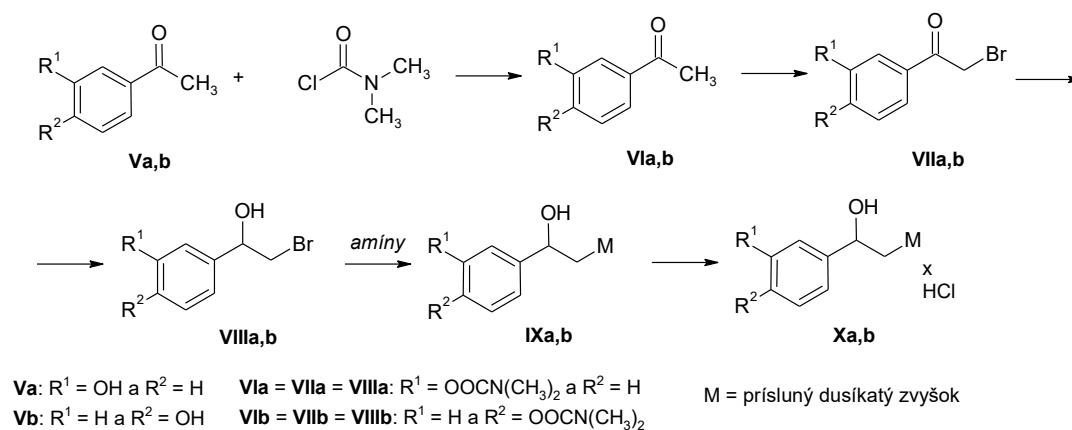
Bajda¹⁶ a jeho pracovná skupina sa zaoberali syntézou nových karbamátových derivátov (**IVa-c**), ktoré vo svojej molekule obsahujú *N*-fenylniperazínový (**a**), *N*-benzylpiperazínový (**b**) a 4-benzylpiperidínový (**c**) heterocyklus. Karbamátové deriváty (**IVa-c**) boli pripravené trojstupňovou syntézou (obr. 1) z *m*-metoxybenzylchloridu (**I**). U pripravených zlúčenín (**IVa-c**) bola testovaná ich schopnosť inhibície enzýmov BuChE a AcChE a bola porovnaná s aktivitou takrínu a rivastigmínu. Najaktívnejším derivátom sa ukázal byť derivát s fenylniperazínovým fragmentom (**IVa**) s hodnotou $IC_{50(BuChE)} = 2 \mu\text{mol l}^{-1}$.

V roku 2020 pripravila pracovná skupina pod vedením Wu¹⁷ päťstupňovú syntézu karbamátové deriváty (**Xa,b**), ktorých chemická štruktúra obsahovala arylaminoetanolový fragment (obr. 2). Celkovo bolo pripravených 16 derivátov s modifikáciou chemickej štruktúry v bázeickej a karbamátovej časti, z ktorých deväť vykazovalo anticholinergnú aktivitu (AcChE aj BuChE) porovnateľnú s aktivitou rivastigmínu. Hodnoty inhibičnej aktivity pre rivastigmín boli $IC_{50(AcChE)} = 22,7 \pm 4,8 \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(BuChE)} = 0,785 \pm 0,056 \mu\text{mol l}^{-1}$. U dvoch zlúčenín boli zistené najnižšie hodnoty IC_{50} , *meta*-substituovaný karbamát 3-(2-(cyklohexylamino)-1-hydroxyetyl)fenyl dimetylkarbamát (**IXa**) s hodnotami $IC_{50(AcChE)} = 792,0 \text{ nmol l}^{-1}$, $IC_{50(BuChE)} = 2,2 \text{ nmol l}^{-1}$, a *para*-substituovaný karbamát 4-(2-(cyklohexylamino)-1-hydroxyetyl)fenyl dimetylkarbamát (**IXb**) s hodnotami $IC_{50(AcChE)} = 266,0 \text{ nmol l}^{-1}$ a $IC_{50(BuChE)} = 10,6 \text{ nmol l}^{-1}$.

V práci Hudcovej a spol.¹⁸ bola pripravená séria nových derivátov arylaminopropanónu s *N*-fenylniperazínovým zvyškom (obr. 3) ako potenciálnych inhibítorov AcChE a BuChE. Šesťnásť finálnych zlúčenín bolo pripravených dvojstupňovou syntézou z karbamátov (**XIIa-d**), ktoré boli získané z 4-aminofenylmetylketónu (**XI**). Inhibičné aktivity pripravených látok vyjadrené ako IC_{50} boli porovnané s referenčnými liečivami galantamínom a rivastigmínom, pričom ako najúčinnnejšie sa ukázali tri deriváty piperidínu (**XIIIa-c**). Predpokladaný mechanizmus in-



Obr. 1. Príprava nových karbamátových derivátov (**IVa-c**)



amíny: piperidín, pyrrolidín, morfolín, cyklohexylamín, cyklopentylamín, 2-fenylpropán-2-amín, anilín, 4-flóránilín, 4-jódanilín, 3-etinylanilín, 2-metylpropán-2-amín, 2-metylbután-2-amín

Obr. 2. Syntéza karbamátových derivátov s arylaminoctanolovým fragmentom v molekule

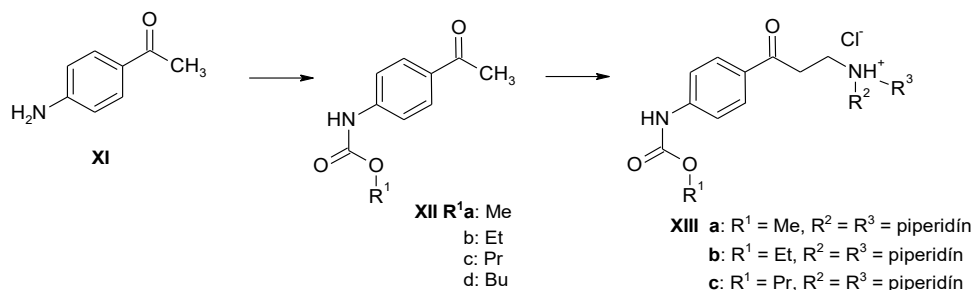
terakcie týchto troch derivátov (**XIIIa-c**) v aktívnom mieste AcChE bol určený zo štúdie molekulového modelovania pomocou kombinovaných techník dokovania, simulácií molekulárnej dynamiky a výpočtov kvantovej mechaniky.

Dvadsať nových salicylanilidových *N*-substituovaných karbamátových zlúčenín (**XVII**) bolo pripravených dvojstupňovou syntézou za použitia mikrovlnného žiarenia zo substituovaných derivátov kyseliny salicylovej (**XIVa,b**) a *p*-substituovaných aromatických aminorov (**XVa-d**) (obr. 4). Anticholinesterázová aktivita bola u všetkých

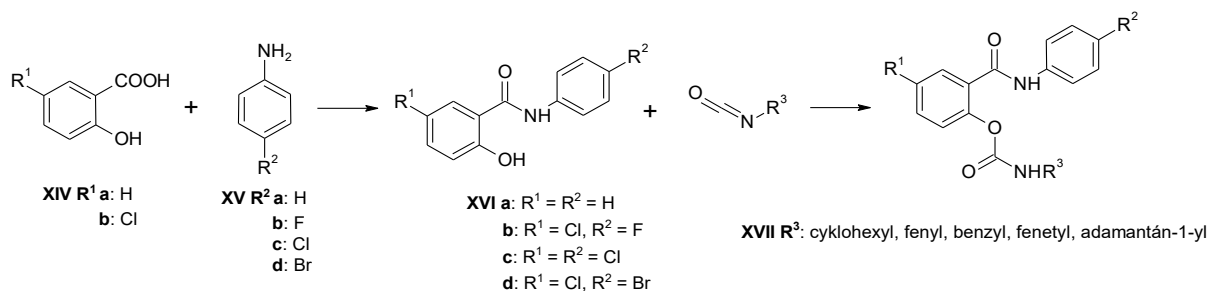
pripravených zlúčenín testovaná *in vitro* Ellmanovou metódou. Hodnoty IC_{50} karbamátových derivátov (**XVII**), ako inhibítorov AcChE a BuChE sa pohybovali v rozmedzí 5–235 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a boli porovnávané voči liečivu rivastigminu¹⁹.

2.2. Multifunkčne zamerané látky ako novodobé liečivá

Príčinou komplexných ochorení, medzi ktoré patria aj neurodegeneratívne poruchy, je väčšinou niekoľko abnor-



Obr. 3. Syntéza karbamátových medziproduktov a finálnych zlúčenín (**XIIIa-c**)



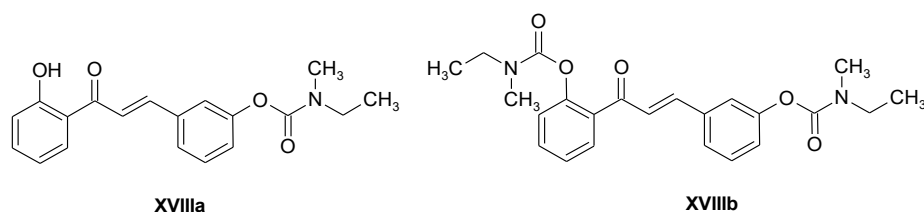
Obr. 4. Salicylanilidové *N*-monosubstituované karbamáty

malít na molekulárnej úrovni. Liečba zameraná iba na jednu zo známych abnormalít sa nestretla s príliš veľkým úspechom, pretože bunky sú schopné nájsť si spôsob, ako kompenzovať aktivitu proteínu, ktorý je ovplyvnený liečivom. Tento poznatok viedol k tomu, že sa začali navrhovať a syntetizovať chemické štruktúry liečiv, ktoré môžu súčasne ovplyvňovať niekoľko biologických cieľov²⁰. Pomocou tejto stratégie je dva a viac farmakofórov spojených do jednej molekuly. Nová, cieľová molekula tak disponuje vlastnosťami charakteristickými pre oba tieto farmakofóry. Pri návrhu takýchto molekúl v terapii ACH je jednou z molekúl inhibitor AcChE, čo momentálne tvorí základný pilier štandardnej terapie ACH. Multifunkčne zamerané látky (MTDL)^{21,22}, ako novodobé liečivá, by mali disponovať multipotentným účinkom v terapii ACH a môžu v sebe kombinovať aj priaznivý vplyv druhého farmakofóru, ako je napr. antioxidačná alebo chelatačná aktivita, inhibícia monoaminoxidázy A (MAO-A) a B (MAO-B), selektívna inhibícia spätného vychytávania serotonínu a pod.²³

2.2.1. Rivastigminové hybridy

Návrhom štruktúry, syntézou, *in silico* analýzou a biologickým výskumom nových 1,3-difenyprop-2-én-1-ónových derivátov (chalkónov), ako multifunkčne zameraných látok (MTDL), sa zaoberala pracovná skupina Sang²⁴. Nové karbamátové deriváty s chalkónovým fragmentom boli pripravené dvojstupňovou syntézou. Na základe MTDL stratégie, chalkón-rivastigminové hybridy vykazovali inhibičnú aktivitu voči MAO-B a cholinesterázam. U pripravených zlúčenín boli testované aj chelatačné vlastnosti, za ktoré je zodpovedný chalkónový fragment. Tento fragment bol zodpovedný aj za inhibíciu A β -agregácie. Z testovaných zlúčenín najvyššiu selektivitu voči BuChE s hodnotou $IC_{50(BuChE)} = 3,1 \mu\text{mol l}^{-1}$ a $1,2 \mu\text{mol l}^{-1}$ vykazovali deriváty (XVIIIa, XVIIIb, obr. 5). U týchto dvoch látok bola zistená aj najvyššia selektivita a inhibícia enzýmu MAO-B, A β_{1-42} antiagregačná aktivita a selektívna chelatačná schopnosť Cu²⁺ a Al³⁺ iónov²⁴.

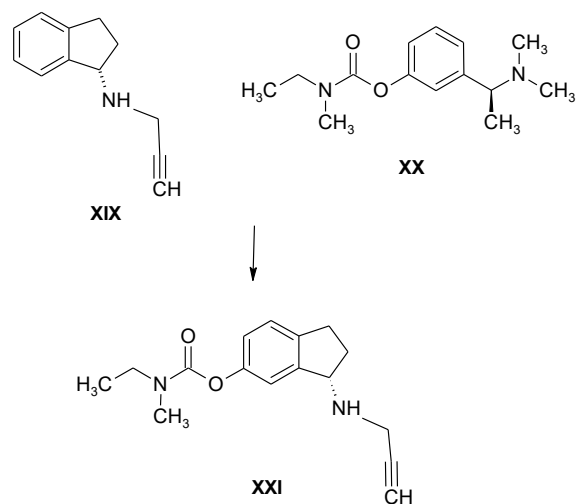
Ladostigil TV-3326 (XXI) (obr. 6) je aminoindanový derivát rasagilínu (XIX), v ktorom sa karbamátová funkčná skupina rivastigminu (XX) nachádza v polohe 6. Derivát (XXI) je v druhej fáze klinického výskumu v terapii ACH. U tejto zlúčeniny sa potvrdila inhibícia AcChE ako aj BuChE a inhibícia enzýmov MAO-A a MAO-B. Pôsobí aj antiapopticky a neuroprotektívne²⁵.



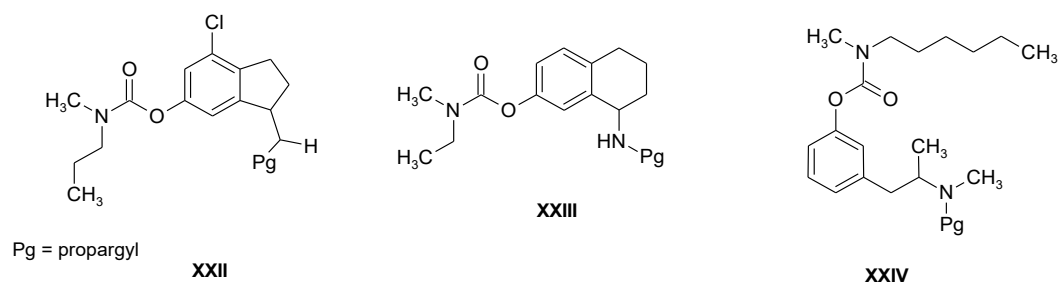
Obr. 5. MTDL liečiva s chalkónom a rivastigminovým farmakofórom

Sterling²⁶ a jeho pracovná skupina sa zaoberali návrhom štruktúry a syntézou karbamátových derivátov (obr. 7), v ktorých farmakofór rivastigmin a propargylamin rasagilínu/selegilínu (selektívne MAO-B inhibítory) boli navzájom spojené za vzniku nových karbamátových derivátov *N*-propargylaminoindánov a *N*-propargylfenetylaminov. Štúdium vzťahu štruktúry a aktivity (SAR) ukázalo, že vhodnými kandidátmi pre ďalší výskum sú zlúčeniny s indánovým (XXII), tetralínovým (XXIII) a fenetylaminovým skeletom (XXIV).

Kogen a spol.²⁷ publikovali prácu, v ktorej sa venovali syntéze nových hybridných MTDL molekúl, v ktorých boli finálne zlúčeniny pripravené kombináciou fluoxetinu (XXV) ako selektívneho inhibítora spätného vychytávania serotonínu (SSRI) s rivastigminom (XX, obr. 8). V poslednom reakčnom kroku došlo k cyklizácii a vzniku sedemčlánkového heterocyklického kruhu. Deriváty (XXVI) a (XXVII) vykazovali najvýraznejšiu aktivitu voči AcChE a selektívne inhibovali spätné vychytávanie serotonínu. Derivát (XXVI) s otvoreným sedemčlánkovým kruhom vykazoval duálnu aktivitu. Pre jeho (*S*)-enantiomér boli zistené hodnoty $IC_{50(AcChE)} = 101 \text{ nmol l}^{-1}$ a $IC_{50(SSRI)} = 42 \text{ nmol l}^{-1}$. U kondenzovaného derivátu (XXVII) boli najnižšie hodnoty pre $IC_{50(AcChE)}$ a $IC_{50(SSRI)}$ zistené pre čistý enantiomér (*R*), ($IC_{50(AcChE)} = 14 \text{ nmol l}^{-1}$,



Obr. 6. Príprava ladostigilu TV-3326



Obr. 7. Nové deriváty s propargylovou skupinou

$IC_{50(SSRI)} = 6 \text{ nmol l}^{-1}$). U zlúčeniny **XXVII** bolo zistené, že tento derivát netvorí konformačné izoméry v dôsledku prítomnosti metylamino skupiny a *o*-atómu uhlíka benzénového jadra, ktorý je súčasťou aj tetrahydroazepínového heterocyklu.

Telpoukhovskaia a spol.²⁸ pripravili nové hybridné zlúčeniny (**XXXI–XXXIII**), ktoré vznikli spojením molekuly rivastigminu (**XX**) s analógmi tioflavínu-T (**XXVIII**) a (**XXIX**) a deferiprónového analógu (**XXX**) prostredníctvom *O*-derivatizácie (obr. 9). Deriváty (**XXXI–XXXIII**) výrazne inhibovali AcChE no pri testoch cytotoxicity *in vitro* precipitovali. Najnižšia hodnota $IC_{50(AcChE)} = 20,9 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ bola zistená u derivátu (**XXXII**) s benzotiazolovým heterocyklom. Viac ako dvojnásobne vyššia hodnota $IC_{50(AcChE)}$ bola zistená u zlúčeniny s deferiprónovým fragmentom (**XXXIII**), kde $IC_{50(AcChE)} = 48,8 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$. Trojnásobne vyššiu hodnotu (v porovnaní s derivátom **XXXII**) $IC_{50(AcChE)} = 58,2 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ vykazoval benzoxazolový derivát (**XXXI**).

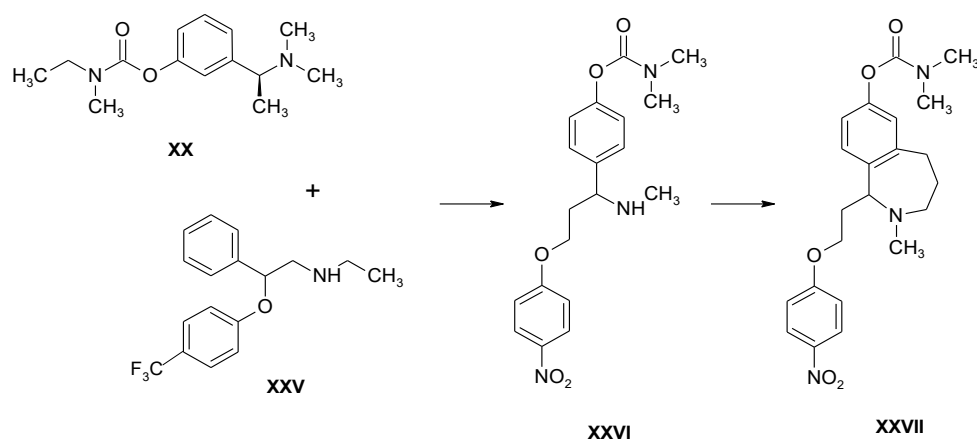
Návrhom štruktúry a syntézou MTDL molekúl s (2-metoxyfenyl)dimetyl karbamátovou skupinou sa zaoberal Li a spol.²⁹. Spojením rivastigminu (**XX**) s *o*-metoxyfenylovou skupinou kurkumínu (vychytávanie voľných radikálov, chelatácia kovov, inhibícia

A β -agregácie) bol získaný derivát s piperidín-1-ylmetyl substituentom (**XXXIV**), u ktorého bola zistená výrazná antiesterázová aktivita ($IC_{50(BuChE)} = 0,024 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$, $IC_{50(AcChE)} = 0,097 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$, obr. 10).

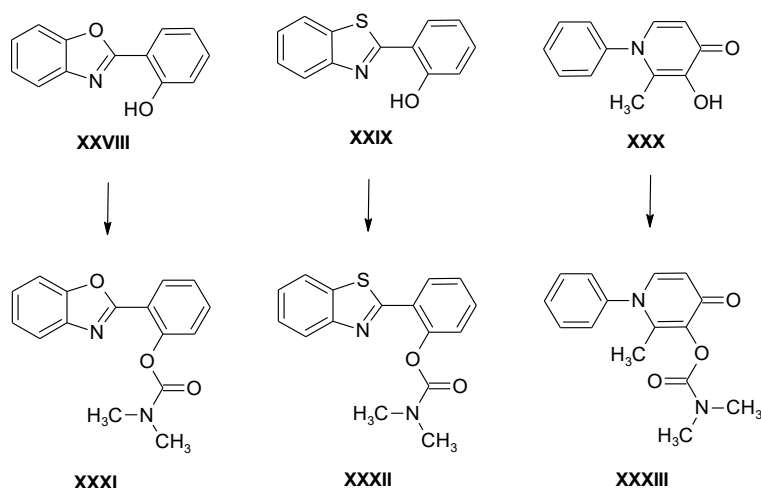
Spojením molekuly scutellarinu (**XXXV**) (vychytávanie voľných radikálov, protizápalová aktivita, komplexácia kovov, neuroprotektívne vlastnosti)^{30–33} s rivastigminom (**XX**) vznikli nové karbamátové zlúčeniny. U derivátu (**XXXVI**) (obr. 11) bola zistená inhibičná aktivita $IC_{50(BuChE)} = 22,6 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(AcChE)} = 0,57 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$. Tento derivát vykazoval aj neuroprotektívny efekt a anti-oxidačnú aktivitu 1,3krát vyššiu v porovnaní s troloxom²⁸.

Wang a spol.³⁴ publikovali prácu, v ktorej sa venovali štúdiu chalkón-rivastigminových MTDL hybridov (obr. 12). Z pripravených derivátov sa ukázal najúčinnjší derivát (**XXXVIII**) s hodnotami $IC_{50(BuChE)} = 0,36 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ a $IC_{50(AcChE)} = 0,87 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$.

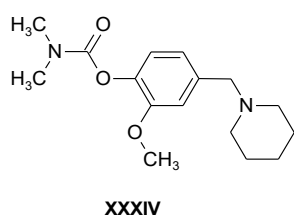
U nových hybridných molekúl označovaných ako MTDL, ktoré vznikli kombináciou apigenínu (**XXXIX**) s rivastigminom bola *in vivo* študovaná ich antioxidačná, ako aj anticholinesterázová aktivita. Bolo pripravených 11 derivátov z ktorých zlúčenina (**XLI**) sa ukázala ako najúčinnjší reverzibilný inhibítor ($IC_{50(AcChE)} = 6,8 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$) a ($IC_{50(BuChE)} = 16,1 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$). Okrem toho, derivát (**XLI**)



Obr. 8. Rivastigmin-fluoxetinové hybridy



Obr. 9. Prístup k príprave tioflavínu-T a deferiprónových hybridov

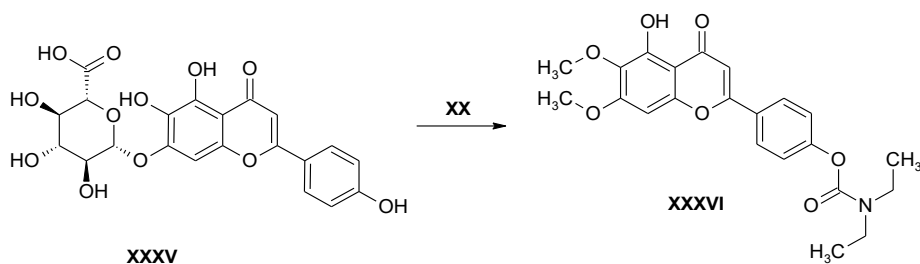


Obr. 10. 2-metoxy-4-[(piperidín-1-yl)metyl]fenyl dimetylkarbamát (XXXIV)

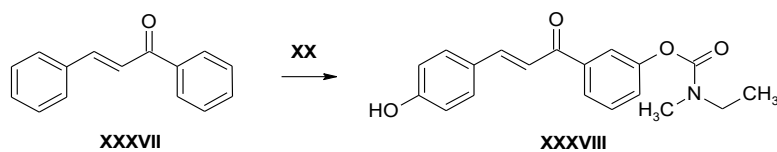
vykazoval aj silný chelatačný účinok k Cu^{2+} iónom a pôsobil hepatoprotektívne a neuroprotektívne³⁵. Najúčinnější derivát (**XLI**) bol pripravený jednostupňovou syntézou (obr. 13).

2.2.2. Iné hybridné zlúčeniny

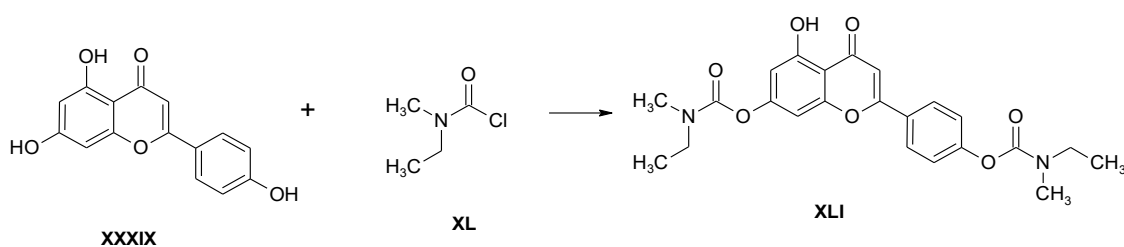
Bola pripravená séria 36 nových *N*-alkylpiperidínových karbamátov, u ktorých bola testovaná ich antiesterázová aktivita (AcChE a BuChE), antimonooxidázová aktivita (MAO-A a MAO-B) a $\text{A}\beta_{1-42}$ antiagregačná aktivita³⁶. Tieto deriváty boli pripravené MTDL stratégiou, kedy sa kombinovali fragmenty z viacerých molekúl liečiv (donepezil, fenserín, rasagilín), ktoré vykazujú selektívnu inhibíciu enzýmov AcChE a BuChE a MAO-B. Celkovo 36 derivátov bolo pripravených trojstupňovou syntézou



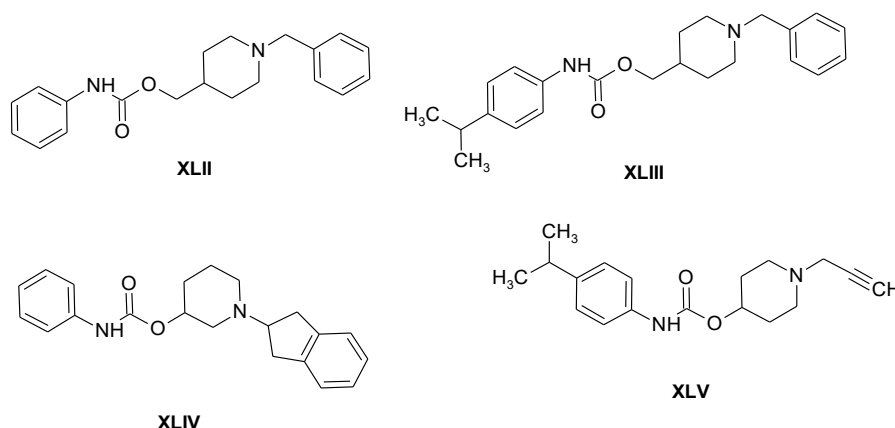
Obr. 11. Prístup k príprave scutellarinových hybridov s rivastigminovým farmakofórom



Obr. 12. MTDL hybridy s chalkónovým fragmentom v molekule



Obr. 13. Syntéza molekuly XLI



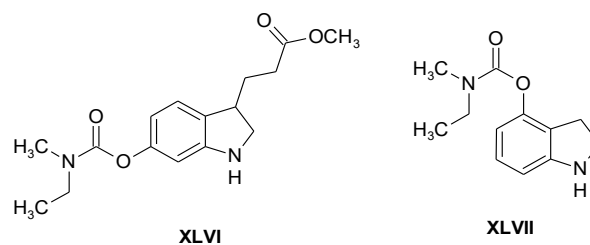
Obr. 14. MTDL hybridy s benzylpiperidínovým (XLII, XLIII) a piperidínovým fragmentom (XLIV, XLV)

z 3- resp. 4-substituovaných derivátov piperidínu s následnou alkyláciou atómu dusíka v heterocykle. Karbamátová funkčná skupina bola do molekúl (XLII–XLV) zavedená reakciou alkoholovej funkčnej skupiny s príslušnými derivátmi karbamoylchloridu (obr. 14). Derivát (XLII) s fenylovým a benzylovým substituentom vykázal inhibíciu všetkých troch vyššie spomenutých enzýmov. U derivátu (XLIII) s 4-izopropylfenylovým a benzylovým substituentom sa preukázal jeho duálny charakter v inhibícii AcChE a BuChE. Selektívna inhibícia BuChE bola zistená u zlúčeniny (XLIV) a derivát (XLV) s alkenylovým a aromatickým fragmentom selektívne inhiboval enzým MAO-B (cit.³⁶).

Indolínové karbamátové deriváty (XLVI) a (XLVII) pripravené Yanovskym³⁷ (obr. 15) obsahujú ako základ indolín-3-propánovú kyselinu, ktorá je prírodnou látkou s antioxidantnými vlastnosťami. Chemickou modifikáciou, zavedením karbamátovej funkčnej skupiny v polohách 4, 6, resp. 7 na indolínovom skelete boli pripravené vyššie spomenuté zlúčeniny, u ktorých sa potvrdil antioxidantný a neuroprotektívny účinok. Karbamátové deriváty (XLVI) a (XLVII) inhibovali enzýmy AcChE ako aj BuChE a mali schopnosť potláčať bunkovú smrť indukovanú oxidatívnym stresom v kardiomyocytoch.

3. Záver

Za posledných 20 rokov sa vedecký výskum v oblasti terapie ACh extenzívne zaoberá návrhom štruktúry a syntézou ligandov s účinkom zameraným na viac cieľov. Tento vývoj nepochybne dosahuje vynikajúce výsledky, a touto metódou bolo pripravených mnoho hybridných molekúl so zaujímavými biologickými vlastnosťami (napr. ladostigil). Aj keď niektoré hybridné molekuly uvádzané v práci sa do klinického testovania nedostali, štúdium ich biologických vlastností prispelo k porozumeniu komplexu patogenézy ACh. MTDL zlúčeniny vyvinuté pre terapiu



Obr. 15. Zlúčeniny odvodené od prírodnej látky indolínu

ACH majú tiež vlastnosti spojené s chelataciou kovov, vykazujú antioxidačnú a protizápalovú aktivitu a preventívne pôsobia proti A β -agregácii. Taktiež bránia aj nadmernému ukladaniu tau proteínu v mozgu pacientov postihnutých ACH. Návrh štruktúry MTDL molekúl môže byť tiež veľmi prospešný pre štúdie molekulového modelovania a výpočtov kvantovej mechaniky, ktoré môžu prispieť k objasneniu vzťahov štruktúry a účinku nových, účinnejších liečiv v terapii neurodegeneratívnych ochorení.

Zoznam skratiek

A β 42	β -amyloid 42
ACH	Alzheimerova choroba
AcChE	acetylcholinesteráza
BuChE	butyrylcholinesteráza
IC ₅₀	50% inhibičná koncentrácia
MAO-A	monoaminoxidáza A
MAO-B	monoaminoxidáza B
MTDL	multifunkčne zamerané látky
p-tau	fosforylovaný tau proteín
SAR	štúdia zaoberajúca sa vzťahom medzi štruktúrou a aktivitou
SSRI	selektívny inhibítor spätného vychytávania serotonínu
t-tau	celkový tau proteín

LITERATÚRA

- Wieckwska A., Wieckowski K., Bajda M., Brus B., Salat K., Czerwińska P., Gobec S., Filipek B., Malawska B.: *Bioorg. Med. Chem.* **23**, 2445 (2015).
- Fialová L., Zima T., Bartoš A.: *Chem. Listy* **114**, 537 (2020).
- Marucci G., Buccioni M., Dal Ben D., Lambertucci C., Volpini R., Amenta F.: *Neuropharmacology* **190**, 108352 (2021).
- Jiráček R.: *Neurol. Praxi* **9**, 240 (2008).
- Doležal M.: *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*, 1. vyd. Karolinum, Praha 2013.
- Birks J.: *Cochrane Database Syst. Rev.* **1**, CD005593 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD005593.
- Birks J., Harvey R. J.: *Cochrane Database Syst. Rev.* **1**, CD001190 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD001190.pub2.
- Loy C., Schneider L.: *Cochrane Database Syst. Rev.* **1**, CD001747 (2006). DOI: 10.1002/14651858.CD001747.pub3.
- Lane R. M., Potkin S. G., Enz A.: *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **9**, 101 (2006).
- Verheijen J. C., Wiig K. A., Du S., Connors S. L., Martin A. N., Ferreira J. P., Slepnev V. I., Kochendörfer U.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19**, 3243 (2009).
- Bar-On P., Millard C. B., Harel M., Dvil H., Enz A., Sussman J. L., Silman I.: *Biochemistry* **41**, 3555 (2002).
- Bacalhau P., San Juan A. A., Goth A., Caldeira A. T., Martins R., Burke A. J.: *Bioorg. Chem.* **67**, 105 (2016).
- Morphy R., Rankovic Z.: *Curr. Pharm. Des.* **15**, 6 (2009).
- Rampa A., Belluti F., Gobbi S., Bisi A.: *Curr. Top. Med. Chem.* **11**, 2716 (2011).
- Cavalli A., Bolognesi M. L., Minarini A., Rosini M., Tumiatti V., Recanatini M., Melchiorre C.: *J. Med. Chem.* **51**, 347 (2008).
- Bajda M., Łatka K., Hebda M., Jończyk J., Malawska B.: *Bioorg. Chem.* **78**, 29 (2018).
- Wu J., Pistolozzi M., Liu S., Tan W.: *Bioorg. Med. Chem.* **28**, 115324 (2020).
- Hudcová A., Kroutil A., Kubinová R., Garro A. D., Gutierrez L. J., Enriz D., Oravec M., Csöllei J.: *Molecules* **25**, 1751 (2020).
- Krátký M., Štěpánková Š., Vorčáková K., Vinšová J.: *Bioorg. Chem.* **80**, 668 (2018).
- Morphy R., Rankovic Z.: *Curr. Pharm. Des.* **15**, 587 (2009).
- Rampa A., Belluti F., Gobbi S., Bisi A.: *Curr. Top. Med. Chem.* **11**, 2716 (2011).
- Cavalli A., Bolognesi M. L., Minarini A., Rosini M., Tumiatti V., Recanatini M., Melchiorre C.: *J. Med. Chem.* **51**, 347 (2008).
- Mishra P., Kumar A., Panda G.: *Bioorg. Med. Chem.* **27**, 895 (2019).
- Sang Z., Wang K., Shi J., Liu W., Tan Z.: *Eur. J. Med. Chem.* **178**, 726 (2019).
- Youdim M. B., Weinstock M.: *Cell. Mol. Neurobiol.* **21**, 555 (2001).
- Sterling J. a 20 spoluautorov: *J. Med. Chem.* **45**, 5260 (2002).
- Kogen H. a 14 spoluautorov: *Org. Lett.* **4**, 3359 (2002).
- Telpoukhovskaia M. A., Patrick B. O., Rodriguez-Rodriguez C., Orvig C.: *Mol. Biosyst.* **9**, 792 (2013).
- Li Y., Peng P., Tang L., Hu Y., Hu Y., Sheng R.: *Bioorg. Med. Chem.* **22**, 4717 (2014).
- Guo L. L., Guan Z. Z., Huang Y., Wang Y. L., Shi J. S.: *Exp. Toxicol. Pathol.* **65**, 579 (2013).
- Ghosh N., Ghosh R., Bhat Z. A., Mandal V., Bachard S. C., Nimae N. D., Sundayf O. O., Mandal S. C.: *Nat. Prod. Commun.* **9**, 1045 (2014).
- Qian L., Shen M., Tang H., Tang Y., Zhang L., Fu Y., Shi Q., Li N. G.: *Molecules* **17**, 10667 (2012).
- Sang Z., Li Y., Qiang X., Xiao G., Liu Q., Tan Z., Deng Y.: *Bioorg. Med. Chem.* **23**, 668 (2015).
- Wang L., Wang Y., Tian Y., Shang J., Sun X., Chen H., Wang H., Tan W.: *Bioorg. Med. Chem.* **25**, 360 (2017).
- Sang Z., Wang K., Shi J., Cheng X., Zu G., Wei R., Ma Q., Yu L., Zhao Y., Tan Z., Liu W.: *Eur. J. Med. Chem.* **187**, 111958 (2020).
- Košák U. a 10 spoluautorov: *Eur. J. Med. Chem.* **197**, 112282 (2020).
- Yanovsky I., Finkin-Groner E., Zaikin A., Lerman L., Shalom H., Zeeli S., Weill T., Ginsburg I., Nudelman A., Weinstock M.: *J. Med. Chem.* **55**, 10700 (2012).

L. Ungvarská Maľučká^{a,b} and J. Csöllei^b
(^a *Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovak Republic,* ^b *Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Czech Republic*): **Design, Synthesis and Biological Activity of New Carbamate Cholinesterase Inhibitors**

The work deals with the design, synthesis and biological activity of new carbamate cholinesterase inhibitors. It is focused on selected syntheses of new carbamate derivatives, which were tested for their anticholinesterase activity against acetylcholinesterase as well as butyrylcholinesterase. Despite various theories in the pathogenesis of Alzheimer's disease, drugs that can inhibit these two enzymes still represent the major approach to the treatment of this neurodegenerative disease. Many of the newly synthesized compounds have unique chemical structure. Recently, the approach to the synthesis of new cholinesterase inhibitors

has focused on the preparation of potential drugs, containing in their chemical structure fragments of already known drugs, commonly used in the pharmacotherapy of Alzheimer's disease, but also other diseases. The aim of preparing these compounds is to affect several biological systems simultaneously. These multipotent compounds have been termed "multi-target-directed ligands"; the molecules of drugs used to treat Alzheimer's disease always contain a pharmacophore acting as a cholinesterase inhibitor, which represents the mainstay of therapy.

Keywords: acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, synthesis, new inhibitors, carbamate derivatives, multi-target directed ligands

- Ungvarská Maľučká L., Csöllei J.: Chem. Listy 116, 372–380 (2022).
- <https://doi.org/10.54779/chl20220372>